



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología  
Universidad Nacional Autónoma de México



# UTILIZACIÓN DE LOS CARBOHIDRATOS DIETÉTICOS EN LOS JUVENILES SILVESTRES DEL MERO ROJO EPINEPHELUS MORIO.

## TESIS

*Que para obtener el grado académico de Maestro en Ciencias*

*(Biología Marina)*

*presenta:*

**Ana María Castillo López**

Director de Tesis

Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés.

Comité Tutorial

Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés

Dra. Maria del Carmen Uribe Aranzabal

Dra. Ruth Pedroza Isla

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez.

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González.

M en C. Adolfo Sánchez

Noviembre 2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se llevó a cabo en al Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de Sisal bajo la dirección de la Dra. Gabriela Gaxiola Cortés y con el apoyo financiero del proyecto IN 220410.

A la M. en C. Ariadna Sánchez y M. en C. Karla Escalante por su apoyo en el Laboratorio Central .

M. en C. Reina Calva en la parte de Histología

Al Dr. Alfonso Álvarez por su apoyo en las técnicas enzimáticas.

Al M. en C. Adolfo Sánchez por su colaboración en los muestreos.

Al Ing. Jaime Suárez por su gran apoyo en la obtención de los juveniles silvestres y su colaboración en los muestreos.

AL GRUPO MERO formado por Adriana Da Silva, Natalia de los Santos y Oscar Santiago.

Al Dr. Gerard Cuzón por sus valiosas aportaciones y sugerencias durante el desarrollo de la investigación.

Al Dr. Gilberto Jerónimo por la ayuda en la interpretación de los resultados y análisis de la discusión de esta investigación.

A LA UNAM

iii Y A LA EDUCACION PUBLICA Y GRATUITA....

## DEDICATORIA

A VICTOR, VERA Y BRAULIO

A MIS PADRES

Antonia y Alberto

A mis sobrinos

Cedric, Abi, Luna, Emiliano

A MI FAMILIA EN MERIDA

One sin tu apoyo esto hubiera sido imposible, gracias por tus palabras y la fuerza que refleja tu ser.

Gladys, Fito, Pau, Fernandito

A MIS AMIGOS.

Cinthya Contreras, Eva Pego, Belinda Victoria, Adriana Corona, Oliver Schumacher, Andrés F., Ali Espinosa, Julieta Alejandra, Itzél Aguirre, María y Jesús, César Bernardo, Marcela Ruedas.

A toda la banda de Ciudad del Carmen

Marychuy Hernández, Eunice Lomelín, Zulema Ávalos, Gonzalo León, Irma Bobadilla, Rosa Arteaga, Yajaira Cardeño.

A mis alumnos del GYPSY

Marisol y Miguel Ángel Castañeda, Miguel Ábrego, Ana Karen Vincent, Gabriela Olvera.

A MI ORIGEN

María del Carmen López, Alejandra López, Teresa López, Yaqueline López, Silvestre López, Guadalupe López.

A MIS PRIMAS Y PRIMOS

### Summary

*E. morio* is the second species of economic value in the state of Yucatan, but the exploitation of wild populations have led to a drastic decline of the species. The development of diets for farming fish emerges as a viable strategy for conserving this species. The study of enzyme activity, morphology and digestive physiology in fish are key tools to determine the capacity for utilization of nutrients and development of diets to meet the requirements needed for growth and maintenance of optimum health.

This study aimed to determine the digestion capacity of wild juveniles of *E. morio*, through the activity of digestive enzymes like amylase and glucosidase, and the levels of glucose and glycogen present in three seasons (north, dry and rainy).

The metabolic and hematological changes had a marked influence by the seasonal variation of temperature and food availability. During the windy and dry season, fish had similar body weights and sizes ( $P < 0.05$ ), fish were larger and heavier in the rainy season ( $22.54 \pm 1.16$  cm and  $25.52 \pm 152.25$  g,  $P < 0.05$ ). The juveniles showed the highest value of hematocrit ( $42.4 \pm 2.2\%$   $P < 0.05$ ) perhaps related to the stress generated by the transition period of low temperatures of the cold period and the entry of warm water. In wild young fish the hematocrit values were similar ( $30.9 \pm 5.8$  and  $31.4 \pm 3.7$ , respectively,  $P > 0.05$ ) in rainy and dry season. During this time, when the temperature rose and the environmental conditions were stable, wild juveniles took advantage of the resources to grow and store energy as glycogen. Glycogen and glucose showed high values ( $208.77 \pm 75.11$  mg / g) ( $P < 0.05$ ). Probably at this time, the availability of food is increasing, and the young got the energy mainly by gluconeogenic and proteolytic pathways. In windy season glucosidase showed values significantly higher, which could indicate that the sources of glucose were non gluconeogenic routes. The amylase activity was not significantly different in the three seasons of the year ( $P > 0.05$ ). The factors that most influenced the metabolic changes of wild juvenile *E. morio* were temperature and the availability of preferred prey in different seasons

## Resumen

*E. morio* es la segunda especie de mayor valor económico en el estado de Yucatán, sin embargo la sobreexplotación de la población silvestre ha generado una disminución drástica de la especie. La elaboración de dietas para el cultivo, surge como una estrategia viable para la conservación de esta especie. El estudio de la actividad enzimática, morfología y fisiología digestiva en los peces son herramientas claves para conocer la capacidad de utilización de los nutrientes y elaborar dietas con los requerimientos necesarios para crecer y mantenerse en condiciones óptimas de salud.

El presente trabajo tuvo como objetivo conocer la capacidad de digestión de los juveniles silvestres de *E. morio* a través de la actividad de enzimas digestivas como la amilasa y la glucosidasa, así como los niveles de glucosa y glucógeno en tres épocas del año (nortes, secas y lluvias).

Las variaciones metabólicas y hematológicas presentaron una influencia marcada por la variación estacional de la temperatura y la disponibilidad del alimento. Los peces de nortes y secas presentaron pesos y tallas similares ( $P < 0.05$ ), los peces de lluvias fueron de mayor talla y peso ( $22.54 \pm 1.16$  cm y  $152.3 \pm 25.5$ g,  $P < 0.05$ ). De acuerdo a estos valores se puede considerar que los alimentándose y creciendo. Los juveniles de nortes presentaron el valor más alto de hematocrito ( $42.4 \pm 2.2\%$   $P < 0.05$ ) relacionado quizás al estrés generado por el periodo de transición de las temperaturas bajas del periodo frío y la entrada de aguas cálidas. Los juveniles silvestres de secas y lluvias presentaron valores de hematocrito similares ( $30.9 \pm 5.8$  y  $31.4 \pm 3.7$ , respectivamente,  $P > 0.05$ ), durante esta época donde la temperatura se elevó, y las condiciones ambientales fueron estables, los juveniles silvestres aprovecharon los recursos para crecer y almacenar energía en forma de glucógeno. El glucógeno y la glucosa también mostraron valores altos de  $209 \pm 75$  mg/g y  $1.74 \pm 0.59$  mg /ml, respectivamente ( $P < 0.05$ ),  $P < 0.05$ ), probablemente en esta época la disponibilidad del alimento se incremento, y los juveniles obtenían la energía principalmente por vías gluconeogénicas y proteolíticas. Los peces de nortes mostraron valores de glucosidasa significativamente más altos, lo que podría indicar que las fuentes de glucosa provenían de rutas no gluconeogénicas. La actividad de la amilasa no presentó diferencias significativas en las tres épocas de año ( $P > 0.05$ ). Los factores que más influyeron en las variaciones metabólicas y el hematocrito de los juveniles silvestres de *E. morio* fueron la temperatura y la disponibilidad de las presas preferenciales en las diferentes épocas del año.

## INDICE

1	Introducción	7
1.1	Situación actual de <i>E. morio</i>	8
1.2	Descripción de la especie	8
1.3	Distribución y hábitat	8
1.4	Hábitos alimenticios	9
1.5	Aparato digestivo	9
1.6	Enzimas digestivas	12
1.7	Obtención, digestión y absorción	13
1.8	Requerimiento de carbohidratos	14
2	Antecedentes	16
3	Justificación	24
4	Objetivos	26
5	Hipótesis	26
I	Capítulo I Anatomía del aparato digestivo e histología del páncreas	27
I.1.1	Metodología	27
I.2	Resultados	28
I.3	Discusión	32
II	Capítulo II	35
	Niveles de glucosa y glucógeno y actividades de amilasa y glucosidasa en diferentes estaciones del año	
II.1	Metodología	35
II.1.1	Datos merísticos	35
II.1.2	Obtención y determinación de glucosa	35
II.1.3	Diseción de los organismos	36
II.1.4	Glucógeno	36
II.1.5	Actividad enzimática	38
II.1.6	Estadística	39
II.2	Resultados	40
II.2.1	Sitios de Captura	40
II.2.2	Variación mensual en la temperatura	41
II.2.3	Talla y Peso de los juveniles silvestres estacionales	42
II.2.4	Hematocrito y Factor de Condición	43
II.2.5	Glucosa y Glucógeno	45
II.2.6	Actividad de la $\alpha$ -Amilasa y $\alpha$ -Glucosidasa	45
II.3	Discusión	46
II.3.1	Variación estacional de la Temperatura	47
II.3.2	Variación estacional del Peso y Talla	48
II.3.3	Variación estacional del Hematocrito.	49
II.3.4	Relación de la glucosa y glucógeno con la disponibilidad del alimento <i>in situ</i>	53
II.3.5	Relación entre la carga de alimento y la glucosa sanguínea	55
II.3.6	Digestión de carbohidratos: amilasa y glucosidas	55
6	Conclusiones	58
7	Referencias	59

## I.- INTRODUCCIÓN

### 1.1.- Situación Actual de *E. morio*

*E. morio* es una de las especies comerciales más importantes del Golfo de México, representa una de las principales fuentes de alimento e ingresos económicos para el estado de Yucatán (Brulé y Déniel, 1989). Sin embargo la población de *E. morio* ha disminuido en las últimas décadas. En la actualidad la población consiste sólo en un tercio de la población original (Doi et al., 1981; Arreguín- Sánchez, 1996; Zetina-Moguel et al., 1996; Arreguín- Sánchez, 1997; Burgos y Defeo, 2000; INP 2000, 2004; Giménez- Hurtado, 2005; Burgos-Rosas y Pérez-Pérez, 2006).

En los años setentas era posible obtener más de 19,000 toneladas al año. En años recientes se tienen registros de captura que indican una reducción a 8,000 toneladas al año (Giménez-Hurtado et al., 2005). Con esta tendencia a disminuir las poblaciones silvestres y en vista de la gran demanda del recurso, el futuro de la población de *E. morio* en las costas de Yucatán y Banco de Campeche resulta poco alentador.

Las estrategias que se han generado para tratar de disminuir la sobreexplotación de este recurso son pocas y contemplan restricciones en la talla de captura (talla mínima de captura 30 cm de longitud furcal), así como un periodo de veda decretado en el 2003 (del 15 de febrero al 15 de marzo) (Doi et al., 1981; Zetina-Moguel et al., 1996; Burgos y Defeo, 2000; Giménez-Hurtado, 2005; Burgos-Rosas y Pérez-Pérez, 2006).

Ante esta situación y con la necesidad de incrementar la producción acuícola que la población demanda, surge la acuicultura como una alternativa para garantizar la seguridad alimentaria y al mismo tiempo la conservación de las poblaciones silvestres. En países como Tailandia, Malasia, Singapur, Hongkong y China el cultivo de especies del género *Epinephelus* ha tenido resultados positivos. Estos países han logrado obtener tallas de 600 a 800 g en periodos de 6 a 8 meses (Chua y Teng, 1980). Sin embargo, las dietas balanceadas para el mero que son utilizadas para su cultivo son costosas y nutricionalmente deficientes.

Los requerimientos nutricionales para cualquier especie contempla diferentes etapas: comportamiento y toma alimentaria, digestión y absorción (fase digestiva), metabolismo de los nutrientes y eliminación de los desechos (Guillaume et al., 2002). Los requerimientos nutricionales deberán cubrir gastos energéticos así como mantener el buen estado fisiológico, inmunológico y reproductor de los organismos. Por lo anterior, se debe considerar que la nutrición se tiene que abordar desde la perspectiva del requerimiento, lo que involucra la realización de estudios bioquímicos y moleculares que intervienen en la alimentación y las condiciones adaptativas de los organismos (Guillaume et al., 2002).

## 1.2 .- Descripción de la especie

*E. morio* (Valenciennes, 1828) es una especie demersal tropical perteneciente a la familia Serranidae. Es una especie robusta de tamaño moderado, tiene ojos grandes y presenta aletas pélvicas más cortas que las pectorales, presenta piel y escamas gruesas en la base de de las aletas dorsal y anal. La especie *E. morio* se distingue de las otras especies del mismo género por que la membrana que se localiza entre las espinas de la aleta dorsal no está hendida; la segunda espina dorsal es más grande que la tercera y la aleta caudal no se encuentra truncada (Moe, 1969). La cabeza y el cuerpo presentan un color rojizo, cambiando a rosado hacia el vientre y los costados. Las aletas anal, dorsal y caudal presentan márgenes oscuros, pueden encontrarse manchas negras alrededor de los ojos y en el opérculo. Esta especie presenta fuertes dientes delgados que evitan el escape de las presas. (Florida Museum of Natural History Ichthyology Dpt., 2009).

## 1.3.- Distribución y hábitat

La especie *E. moriose* encuentra ampliamente distribuida desde Massachusetts en EUA y hasta Río de Janeiro, en Brasil. Dentro de esta área hay dos regiones donde son más abundantes son plataforma continental de Florida y el Golfo de México (Moe, 1969; Bullock y Smith, 1991). En México, *E. morio* se encuentra en los estados de Tamaulipas y Veracruz, pero las poblaciones mas grandes se encuetran en el Banco de Campeche (González et al., 1973; Moreno, 1980).

Se ha reportado que los cambios de temperatura regulan la abundancia y distribución de esta especie, ya que en presencia de aguas frías los peces presentan movimientos estacionales dentro del Banco de Campeche. Las surgencias originadas en el canal de Yucatán y que se introducen al Banco de Campeche con dirección oeste, produce la dispersión de los organismos en sentido de esta corriente (Valdés y Padrón, 1980; Guzmán, 1986; Arreguín-Sánchez et al., 1997; Arreguín-Sánchez y Pitcher, 1999).

Los juveniles de *E. morio* se encuentran a profundidades someras, a diferencia de los organismos de mayor talla, que buscan sus refugios a profundidades superiores a los 50 metros en fondos rocosos donde puede encontrar grietas, cavernas, cavidades y bordes (García et al., 1980; Guzmán, 1986; Valdés y Padrón, 1980; Bullock y Smith, 1991).

#### 1.4.-Hábitos alimenticios

Se ha documentado que los cangrejos son las presas más abundantes en los contenidos estomacales de *E. morio*. En el Banco de Campeche, la especie *Stenorynchus seticornis* es la presa predominante, así como algunos peneidos como el camarón *P. duorarum*, otros decápodos como *Palunirus argus*, *Scyllarus sp*, algunos braquiuros como majidos, portunidos, xantidos, calapidos, también se ha mencionado restos de anomuros, estomatópodos, moluscos como cefalópodos, octópodos. Los peces identificados como presas fueron, *Balistes sp*, *Apogo sp*, *Diplectrum formosum*, *Haemulon sp*, algunos tetradontidos, serranidos, haemulidos, morenidos y engraulidos (Giménez, E., et al., 2001).

Brulé y Déniel (1996) observaron restos de algas en estómagos de peces juveniles y adultos. Estos autores también mencionan a los crustáceos como principal componente en las dietas.

#### 1.5.-Aparato digestivo

La morfología del tubo digestivo no se ha descrito para la especie *E. morio*. En general la morfología en peces es muy variable y depende de los hábitos alimenticios de cada especie.

Los peces carnívoros presentan un estómago sigmoidal de gran tamaño, el interior puede dividirse en tres regiones, cardias, fundus y región pilórica. La mucosa del estómago presenta varios pliegues ricos en glándulas secretoras de pepsina y ácido clorhídrico. El estómago puede estar separado del intestino por una válvula o un esfínter pilórico. En peces carnívoros este órgano puede ser capaz de distenderse hasta contener grandes presas completas. La musculatura dominante es de tipo longitudinal. El epitelio contiene numerosas glándulas en forma de dedos de guante provistas de células secretoras de zimógenos y de ácido clorhídrico. Hay células secretoras de mucus. El pH en el estómago es de 2-3 y puede subir hasta pH 5 en especies marinas por la ingesta de agua marina con mayor alcalinidad (Guillaume et al., 2002).

Las especies carnívoras como *E. morio* presentan intestinos cortos, que pueden ser divididos en cuatro regiones: ciegos pilóricos, intestino proximal o craneal, intestino distal o caudal y el recto. El tubo digestivo formado por tres capas; la mucosa, la muscular y la serosa.

El epitelio intestinal está formado de una capa mucosa en donde se encuentran diferentes tipos de células; las células de absorción llamados enterocitos y que están especializados para la absorción de lípidos, estas células presentan en su región luminal microvellosidades formadas por microfilamentos de naturaleza polisacárida, las células caliciformes son células secretoras, en forma de pera. Las células de la absorción se encuentran regionalizadas en diferentes secciones del tracto digestivo en las cuales cumplen diversas funciones. La región proximal presenta células adaptadas para la absorción de lípidos. El intestino medio presenta células especializadas para la absorción de proteínas. La parte distal del intestino está especializado para el transporte de carbohidratos y minerales.

Los ciegos pilóricos son evaginaciones de la pared del intestino anterior, localizados en posición duodenal. Los ciegos pilóricos presentan una gran diversidad de formas y arreglos; bifurcados, ramificados, agrupados, digitaliformes. Puede encontrarse sólo uno o hasta miles, son usados como herramienta de identificación taxonómica, además el número de ciegos

pilóricos presentes se ha relacionado con el hábito alimenticio de los peces y particularmente con el tamaño de las presas (Guillaume et al., 2002).

Un corte histológico de ciego pilórico es muy similar al del intestino proximal. Dentro de los ciegos pilóricos pueden estar presentes secreciones biliares y pancreáticas que entran al lumen del ciego. Los ciegos pilóricos también funcionan como canales de retención del material digestivo, alargando el tiempo de digestión. Aunque también existe absorción activa de la glucosa, pero en general son considerados como órganos secretores de enzimas digestivas proteolíticas (Fontaine, 1979).

El hígado en los peces teleósteos se encuentra en nivel del abdomen anterior, a la altura del septum transversal que separa la cavidad cardíaca de la peritoneal. Presenta un gran volumen con respecto al cuerpo, es de color rojizo a marrón en especies carnívoras, sin embargo se ha observado que en algunas épocas del año puede adquirir un color amarillo a blanquecino (Hibiya, 1982). La superficie del hígado está cubierta por una serosa, y el tejido conectivo de la cápsula se conecta hacia el parénquima (Yasutake y Wales, 1983). Los hepatocitos se encuentran organizados en hileras de dos células por lo que el lobulillo hepático no se encuentra bien definido. Los sinusoides son fenestrados y se presentan en menor número; estos se encuentran distribuidos de manera irregular y están revestidos por células endoteliales con núcleos prominentes. En cuanto a las células de Küpffer, éstas no son funcionales. Por otra parte, el hígado de los peces posee un componente hematopoyético y centros melanomacrofágicos dispuestos en la periferia de los principales vasos sanguíneos (Roberts, 1989). El hígado juega un papel primordial como almacén de glucógeno y lípidos así como secretor de bilis.

El páncreas consta de una región exocrina y una endocrina. En los peces el páncreas no se encuentra bien definido, el tejido pancreático ha sido observado como un conjunto de células situadas alrededor de duodeno en la región de los ciegos pilóricos y en el mesenterio, en algunas especies estos grupos de células pueden formar racimos que migran hasta penetrar en el hígado, formando un hepatopáncreas (Guillaume et al., 2002).

La región endocrina del páncreas está formada por los islotes de Langerhans, que son una serie de cordones de células poligonales de origen epitelial y almacenamiento intracelular, se presentan al microscopio de luz como aglomerados redondeados y claros de células homogéneas pequeñas, dentro del tejido pancreático exocrino, con una rica red de capilares sanguíneos, los islotes de Langerhans contienen una fina capa de células secretoras de tres tipos, alfa, beta y delta; las cuales producen glucagón, insulina y gastrina, respectivamente (Guillaume et al., 2002).

La región exocrina presenta glándulas acinosas que sintetizan principalmente los zimógenos precursores de la lipasa, la amilasa, proteasas y nucleasas. Las células acinares son piramidales de núcleo redondo central y citoplasma basófilo.

El páncreas puede secretar exopeptidasas caracterizadas por tener actividad en pH alcalinos (pH 7-9). Las secreciones enzimáticas del páncreas dentro del intestino ocurren en respuesta a la presencia de alimento. Esta respuesta está controlada por la producción de hormonas como la secretina y la colecistocinina. La respuesta se desencadena por la presencia de lípidos y aminoácidos que entran en la parte superior del intestino en condiciones ácidas y desencadenan la cascada de señalización para la producción de enzimas pancreáticas.

En el recto los pliegues de la mucosa son cortos, la pared muscular gruesa, y con gran capacidad de distensión (Cano G., 2010).

#### 1.6.- Enzimas digestivas

Dependen de los hábitos alimenticios, edad del pez y adaptaciones fisiológicas al alimento. Los peces presentan una proteasa de tipo ácido: pepsina, secretada en el estómago y proteasas de tipo alcalino: tripsina, quimiotripsina, la colagenasa y elastasa, además la una peptidasa como la carboxipeptidasa. Todas las proteasas alcalinas son secretadas en el páncreas y son encontradas en pH mayores a 7pH, y se ha determinado su mayor actividad en temperaturas de 50° a 60 ° C.

En la región del estómago, los peces carnívoros liberan la pepsina que se mezcla con jugos gástricos y tiene como principal función romper los enlaces peptídicos de las proteínas. Estas enzimas presentan condiciones óptimas de temperatura y pH específicos en las cuales pueden tener mayor actividad. Para este grupo de enzimas se ha reportado condiciones óptimas de pH entre valores que van de 2 pH a 5 pH, y valores de temperatura entre 30° y 40°.

Las carbohidrasas presentan mayor actividad en la región del duodeno, en los ciegos pilóricos y en el páncreas (Hidalgo y Alliot, 2003). Las carbohidrasas pueden dividirse funcionalmente en polisacaridasas y glucosidasas. Las polisacaridasas hidrolizan los enlaces glucosídicos de los carbohidratos de cadena larga como el almidón y el glucógeno. La más común es la  $\alpha$ -amilasa que hidroliza todos los enlaces  $\alpha$ 1-4 glucosídico de la parte lineal de la molécula del almidón, produciendo disacáridos como la maltosa. En cambio un tipo de glucosidasa actúa sobre la amilopectina rompiendo los enlaces glucosídicos  $\alpha$ 1-6 glucosídico de las porciones ramificadas, y liberando así los disacáridos. Finalmente  $\alpha$  1-4 glucosidasa, romperá estos disacáridos para producir glucosa lista para ser integrada al metabolismo de los carbohidratos (Lehninger, 1995).

Las carbohidrasas presentan su mayor actividad en valores de pH que van de 7 a 9. En el páncreas se ha encontrado la mayor actividad de estas enzimas digestivas.

### 1.7 Obtención, digestión y absorción

El proceso de alimentación inicia desde la detección y localización de la presa. Se sabe que los peces nadan a lo largo del fondo buscando, escupiendo y tragando materiales de la superficie del suelo. Los peces presentan una conducta activa en la búsqueda del alimento. La detección de la presa puede involucrar el sentido de la visión y estructuras especializadas para la quimiorrecepción, electrorrecepción o mecanorrecepción.

La especialización y desarrollo de estos órganos olfatorios y gustativos depende de los hábitos alimenticios. Por ejemplo, las especies depredadoras no son capaces de responder a toda la gama de sustancias químicas que

proviene de la presa. Existen evidencias que comprueban que las especies depredadoras pueden tener más afinidad a presentar estímulos por detectar moléculas de ATP disueltas en el agua, mientras que el ADP o AMP pueden tener un bajo efecto en el estímulo e incluso ser inhibitorias. El ATP puede indicar la presencia de tejido fresco mientras que el ADP y AMP pueden estar asociados a tejidos muertos y en degradación (Castelló, 1993 ).

Cuando los peces han atrapado a su presa muchos de ellos las ingieren por completo y otros las desgarran a mordidas.

Las presas de los carnívoros suelen ser de gran tamaño aproximadamente de 40% del largo del depredador. Los depredadores como el *E. morio* atacan a sus presas sigilosamente e inesperadamente ocultándose en cavernas y son capaces de presentar mimetismo de acuerdo al entorno.

Al entrar al agua, el alimento es lixiviado, de esta forma es facilitada su detección por medio de órganos receptores que producen estímulos. El proceso de alimentación continúa cuando estos estímulos envían impulsos nerviosos al cerebro. Como resultado se produce en el estómago la secreción de enzimas como la pepsina, y ácido clorhídrico. La estimulación también produce la secreción de gastrina, en la sección inferior del estómago, esta hormona viaja por la sangre y logra la liberación de pepsina y ácido clorhídrico en el parte media y superior del estómago (Castelló, 1993).

Cuando el alimento entra en el estómago, éste órgano se distiende estimulando la secreción de las glándulas gástricas, formándose el quimo que contiene lípidos procedentes de la digestión de grasas, además de suficiente ácido clorhídrico, el quimo se introduce en el duodeno donde recibirá secreciones pancreáticas que continuarán la digestión con la acción de otras enzimas. Es este periodo de la digestión donde se secretan también enzimas pancreáticas como la amilasa.

Los nutrientes liberados como los carbohidratos serán absorbidos por las células epiteliales con borde de cepillo encargadas del transporte en el intestino. En particular el transporte de la glucosa y fructosa es facilitado por

acarreadores de Na<sup>+</sup>, la glucosa depende del Na<sup>+</sup> para ser transportada (Castelló,1993 ).

Para transportar la glucosa es necesario la acción de dos proteínas transmembranales, una es la proteína que genera un gradiente de concentración de Na<sup>+</sup> conocida como la bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>, y que aporta la energía quimiosmótica necesaria para que se activen las proteínas transmembranales transportadoras de glucosa (Castelló, 1993).

#### 1.8.- Requerimiento de carbohidratos

Los peces son capaces de sintetizar carbohidratos a partir de vías como el catabolismo de proteínas y la gluconeogénesis, por lo que estos nutrientes son considerados no esenciales para este grupo de vertebrados (Guillaume, 2002).

Diversos autores (Wilson, 1994; Krogh, et al., 2005; mencionan que el requerimiento nutricional de los carbohidratos en peces es muy bajo o casi nulo. Estos organismos podrían ingerir los carbohidratos de ciertos alimentos que consumen y que están presentes en los tejidos de las presas, como el glucógeno. Sin embargo otros trabajos han demostrado que el nivel óptimo de carbohidratos varía entre especies. Así mismo se ha encontrado una relación en cuanto a la utilización relativa de los carbohidratos y la complejidad del tipo de azúcar presente en las dietas (Wilson, 1994).

Los peces son capaces de utilizar carbohidratos complejos, pero su digestión y absorción es lenta, a diferencia de los azúcares simples que son absorbidos rápidamente. Sin embargo, la absorción de azúcares también está relacionada con la cantidad de  $\alpha$ -amilasa presente en el tracto digestivo, de manera que especies omnívoras presentan mayor actividad de la  $\alpha$ -amilasa que los peces carnívoros (Wilson, 1994).

Se ha observado que los peces se comportan como animales diabéticos, cuando se suministran concentraciones altas de carbohidratos. Esta hiperglucemia, podría ser el resultado de bajos niveles de insulina endógena. Pero a pesar de encontrarse niveles altos de insulina en la sangre los peces no toleran altas concentraciones de glucosa (Wilson, 1994).

De manera que los requerimientos de carbohidratos para los peces deben ser bajos. A pesar de lo mencionado anteriormente en la actualidad, los carbohidratos son una fuente importante de suministro de energía, esto los hace ingredientes importantes dentro de las dietas acuícolas debido, además, a su bajo costo (Krogdahl, et al., 2005).

## 2.- ANTECEDENTES

Con relación a los requerimientos nutricionales para el género *Epinephelus* la información es escasa. En las revisiones de la nutrición de los peces marinos de Taiwan, en el sureste de Asia, tanto Chen y Liao, (1991) como Boonyaratpalin (1997) incluyeron una pequeña sección para *Epinephelus spp.* En ambos artículos concluyen que los estudios científicos relacionados con los requerimientos nutricionales de estas especies son mínimos. Los autores mencionan que los alimentos balanceados para el mero, producidos a nivel comercial, están lejos de ser de bajo costo y nutricionalmente adecuados, y además que este hecho podría retrasar el desarrollo de la producción a gran escala de este grupo de peces marinos.

Se han realizado estudios para demostrar que los organismos del género de los meros pueden utilizar los carbohidratos para la formación de grasa mesenterial, permitiendo durante la formulación de dietas bajar la concentración de proteínas. Shiau y Lan, (1996), utilizaron dietas con diferentes niveles de energía (305, 340, 375 y 410 kcal por 100g de dieta), mantuvieron fijas las concentraciones de lípidos y sólo modificaron las concentraciones de carbohidratos utilizando dos porcentajes de proteínas (50% y 44 %). El experimento duró 8 semanas y obtuvieron como resultado el mayor crecimiento en la dieta que contenía menor porcentaje de proteínas (44%).

Los estudios realizados para el género *Epinephelus* señalan que el nivel de proteína dietética está alrededor del 50%, independientemente de las fuentes de proteína empleadas (Chen y Chen, 1986; Chen y Tsai, 1994). Los autores lograron bajar los niveles de caseína con dextrina, dejando fijos la concentración de lípidos. El máximo crecimiento se obtuvo cuando se utilizó una dieta con 48.7% de proteína, encontrando en 42% de este nutriente los

valores más bajos de contenido de lípidos en el cuerpo (Chen y Chen, 1996; Chen y Tsai, 1994).

Se ha estudiado la capacidad de digestión de los carbohidratos por medio de indicadores indirectos como la acumulación corporal de lípidos asociado al incremento del nivel de inclusión de carbohidratos y su interconversión a grasa mesenterial, no existe algún trabajo realizado en dietas para el género *Epinephelus* dirigido a resolver el porcentaje óptimo de inclusión de carbohidratos, sin embargo existen numerosos estudios en los que se han incorporado dietas con niveles altos de carbohidratos incluso en especies carnívoras (Cordier 1960; Chen y Chen, 1996; Chen y Tsai 1994; Soengas y Aldegunde, 2002; Riera et al., 1993; Espinós et al., 2003).

Se puede considerar a Cordier (1960) y su equipo de trabajo como los pioneros en los estudios de la absorción de carbohidratos en peces, logrando comprobar que la absorción de la glucosa en el intestino de los peces es más lenta que en los mamíferos. Los autores encontraron que determinados azúcares parecían ser absorbidos por medio de un transporte activo, saturable, ligado al metabolismo de la propia célula intestinal, mientras que otros tenían una transportación pasiva, proporcional a la concentración del azúcar.

Por otro lado, se ha descrito que los peces pueden tener intolerancia a la glucosa presentando hiperglucemia (Soengas y Aldegunde, 2002). Al respecto Moon (2001) menciona que esta intolerancia puede variar de acuerdo a los hábitos alimenticios del pez. Navarro et al., (2002) mencionan que esta intolerancia se encuentra relacionada con la disminución en la secreción de insulina.

Wilson (1994) determinó que la digestibilidad de los carbohidratos está en función también de la complejidad del carbohidrato y de los hábitos alimenticios, por lo que peces omnívoros muestran mejores índices de digestibilidad del almidón que los peces carnívoros.

Se han realizado trabajos en especies carnívoras como *Dentex dentex*, caracterizada por presentar una dieta alta de proteínas (43% a 59%), (Riera et al., 1993; Espinós et al., 2003). Para *Dentex dentex*, los autores de este trabajo

demonstraron que al bajar sus niveles de proteína en la dieta, e incluir niveles altos de lípidos y carbohidratos la especie no presentó problemas en su crecimiento ni en el rendimiento en la utilización de su alimento (Company et al., 1999; Espinós et al 2003; Skalli et al., 2004; Pérez-Jiménez, 2008). Estos resultados demostraron que *Dentex dentex* a pesar de ser un pez carnívoro, logró obtener eficientemente energía de los carbohidratos y los lípidos.

Como se ha mencionado anteriormente a través del estudio de las enzimas y su actividad es posible evaluar la capacidad de las especies de utilizar los nutrientes incluidos en las dietas de tal forma que existen diversos trabajos que describen el comportamiento de las especies para utilizar carbohidratos en los cuales se evalúan la actividad de las principales enzimas que participan en la degradación de los polímeros como el almidón y el glucógeno,(Divakaran, 1999; Douglas et al., 2000; Sarkar et al., 1999; Comavella et al., 2006; Darias et al., 2006; Enes et al., 2006).

Divakaran (1999), trabajó con las enzimas digestivas de *Polydactylus sexfilis* y *Caranxme lampyngus*, demostrando que estudiando el perfil enzimático de los peces es posible predecir, la capacidad de una especie para utilizar los diferentes nutrientes.

Las carbohidrasas han sido estudiadas sobre todo en larvas de peces (Douglas et al., 2000 Sarkar et al., 1999, Comavella, et al., 2006 Darias et al., 2006). Con relación a los juveniles de peces se ha reportado la actividad de las carbohidrasas en diversas especies (Wilson, 1994). En especial ha sido reportada la actividad de la  $\alpha$ -amilasa en la lubina, que es una especie carnívora (Enes et al, 2006).

Peisong Ma. et al., (2004) encontraron que la expresión del gen que codifica para la  $\alpha$ -amilasa, en larvas del pez carnívoro *Lates calcarifer*, ocurre en la primera alimentación durante su desarrollo larval. Estos autores sugieren que la ingesta de carbohidratos durante los estados tempranos larvales es de gran importancia para el desarrollo de estos peces carnívoros.

Para la especie del serranido *Paralabrax maculatofasciatus*, se evaluó la actividad de la amilasa durante la ontogenia, los autores encontraron que en

los primeros días de vida, las larvas presentaron un incremento en la actividad de esta enzima, la cual disminuyó y desapareció en el momento del suministrar alimento vivo y la incorporación de una dieta completa (Álvarez , 2003).. Este resultado permitió suponer que la actividad amilasa de las larvas de la cabrilla arenera era baja, pero suficiente para aprovechar en cierta medida la cantidad de carbohidratos disponibles en el alimento vivo y en la dieta completa (Álvarez, 2003).

Kumar et al., (2006), estudiaron los efectos de utilizar maíz gelatinizado y no gelatinizado en un herbívoro *Labeorohita*, algunas dietas también fueron evaluadas utilizando un suplemento de  $\alpha$ -amilasa exógena. Encontraron que al adicionar 50 mg  $\alpha$ -amilasa  $\text{kg}^{-1}$ , en la dieta de maíz no gelatinizado, mejoró la digestibilidad, encontrando respuesta en el incremento de la actividad de la  $\alpha$ -amilasa intestinal y del glucógeno en el hígado.

Douglas et al.,(2000), estudiaron la fisiología digestiva de la especie carnívora *Dentex dentex*, estos autores encontraron mayor actividad de la amilasa en los ciegos pilóricos y en el intestino posterior en grupos de peces alimentados con un mayor porcentaje de carbohidratos y bajos niveles de lípidos. Estos autores concluyen que el tracto digestivo de esta especie carnívora, se encuentra mejor adaptada a la digestión de proteínas, pero que posee un alto potencial para digerir otros macronutrientes de la dieta, observaron que los carbohidratos en la dieta inducen cambios no sólo en la actividad de la amilasa, si no también en otras enzimas como las proteasas y lipasas.

Krogdahl et al (2005), mencionan que la amilasas de los peces se encuentran muy relacionadas a la estructura molecular de las amilasas de los mamíferos. Estos autores mencionan que en el transporte de la glucosa así como de otros monosacáridos interviene un complejo de vesículas de membrana como transportadores. Sin embargo, estos autores sugieren que a pesar de existir numerosos estudios sobre la digestión del almidón y otros carbohidratos, no existe una información bien consolidada, desconociéndose los mecanismos fisiológicos entre las diferentes especies de peces. En su trabajo mencionan que las especies de peces que estudiaron, poseen mecanismos enzimáticos complejos para la hidrólisis y absorción de carbohidratos simples y complejos.

De manera que la digestión y absorción de estos carbohidratos parece presentar las mismas rutas en especies herbívoras, carnívoras y omnívoras.

La actividad de la  $\alpha$ -amilasa en peces sólo es producida de manera exocrina en el páncreas, encontrando para algunas especies como carpas y actividad también en el hígado y en la bilis (Kuwai y Ikeda 1972; Chiu y Benitez 1981; Chakrabarti et al, 1995; Alarcón et al 2001; Fernández et al., 2001).

La actividad de la amilasa ha sido localizada a través de todo el tracto digestivo en varias especies de peces. (Kuwai y Ikeda, 1972; Chiu y Benitez, 1981; Chakrabarti et al., 1995; Alarcón et al., 2001; Fernández et al., 2001). La enzima se encuentra presente en las partes distales del intestino y en algunas especies en el esófago. Encontrando su mayor actividad en el páncreas exocrino (Overnell, 1973; Yardeley y Wild, 1991). La presencia de amilasa en las regiones proximales del intestino puede estar originada en los tejidos pancreáticos. Sin embargo Sugita et al., (1997) mencionan que la producción además puede deberse a la actividad de la microflora digestiva.

En numerosas especies de peces la actividad de la  $\alpha$ -amilasa intestinal está correlacionada con las dietas de carbohidratos en diferentes niveles y la intensidad en los periodos de alimentación (Kawai y Ikeda, 1972; Cowey y Walton, 1989).

En algunas especies se ha observado que al incrementar la ingesta de carbohidratos se reduce la actividad de la amilasa, se ha considerado que esta reducción es producida por la inhibición de la enzima después de la absorción de las moléculas del almidón (Sturmbaeur y Hoffer, 1985). Muchos de los inhibidores de esta amilasa intestinal son proteínas o péptidos (Franco et al., 2002).

Las características de pH y temperatura de la  $\alpha$ -amilasa difieren entre especies. Estudios realizados en 6 especies de espáridos mostraron que los valores de pH óptimos para estas especies es de 4 y 9 (Fernandez et al., 2001; Alarcón et al, 2001). Algunas diferencias en las amilasas de diferentes especies radican en la dependencia con respecto a la concentración de iones (Munilla y Moran., 1996).

La primer amilasa secuenciada en un teleósteo fue en la especie *Pleuronectes americanus* (Douglas et al., 2000). Estos investigadores encontraron que las amilasas contienen aproximadamente 1500 nucleótidos, el monómero de la enzima contiene 500 aminoácidos con un peso de 55 a 56 KDa. La amilasa de mamíferos y peces contiene en sus genes, 9 exones y 8 intrones. Los autores suponen que los peces poseen múltiples genes que codifican para la síntesis de amilasas (Douglas et al., 2000).

La actividad de la amilasa en los mamíferos ha sido mejor estudiada demostrando que se encuentra regulada por la secreción de las hormonas VIP (vasoactive intestinal peptide), PACAP (pituitary adenylate cyclase activating peptide), la CCK (colecistoquina) y posiblemente por otras que activan las proteínas quinasa A y C (PKA y PKC) pancreáticas. En peces teleósteos existen diversos estudios que demuestran la presencia de células VIP y PACAP-inmunoreactivas en los tractos intestinales (Olsson y Karila, 1995).

Tan et al., (2006), definieron la función nutricional de monosacáridos, disacáridos y polisacáridos para una especie omnívora de carpa *Carassius auratusgibelio*, y una especie carnívora *Leiocassis longirostris* fue estudiada también con el objetivo de comparar la habilidad de estas dos especies en la utilización de los carbohidratos dietéticos. Dentro de los experimentos fueron suministradas dietas isoenergéticas e isonitrogenadas, utilizando diferentes fuentes de carbohidratos tales como glucosa, sacarosa, dextrina, almidón soluble y alfa-celulosa. Los resultados mostraron que dependiendo del hábito alimenticio se obtenía una utilización diferente de cada fuente de carbohidratos. Para la especie herbívora la fuente más aprovechable fue la que contenía almidón soluble y celulosa obteniéndose el mejor crecimiento específico y la mejor eficiencia alimenticia. Para la especie carnívora la mejor fuente de carbohidratos fue la dieta que contenía dextrina y sacarosa. En ambas especies no se encontraron diferencias significativas en la digestibilidad aparente de proteínas con las diversas fuentes de carbohidratos. Durante este experimento se observó que todas las fuentes de carbohidratos afectaron la actividad de la piruvato quinasa, la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa. Por último, el glucógeno contenido en el hígado de la carpa fue significativamente más alto que en la especie carnívora.

Polakof et al., (2008) y sus colaboradores, encontraron que la dieta de carbohidratos afectó significativamente la expresión de genes asociados a componentes precursores de transporte de glúcidos. Publicaron que los peces carnívoros tienen una capacidad limitada para la utilización de carbohidratos en la dieta. Estos investigadores trabajaron con altos niveles de carbohidratos en la dieta (20%) y bajos niveles (<3%) alimentaron a los organismos durante 10 días, evaluaron la capacidad de la dieta para regular la expresión de los genes que codifican a transportadores de glucosa. Estos resultados apoyaron la existencia de una eficiente adaptación para asimilar los componentes de dietas con altos contenidos de carbohidratos. Sin embargo estos autores concluyen que muchos de los teleósteos no toleran altas dietas en carbohidratos y que el nivel de inclusión depende de cada especie. Existe una inhabilidad caracterizada por una prolongada hiperglicemia, provocada por la ingesta en una dieta rica en carbohidratos. Finalmente los autores mencionan que existe muy poca información para entender el comportamiento a la intolerancia a la glucosa, estos autores argumentan varias hipótesis al respecto, una de ellas propone que hay un desbalance entre la fosforilación de la glucosa y hidrólisis de la glucosa-6-fosfatasa (G6-P) en el hígado, argumentan que existe un bajo número de transportadores de la glucosa en el músculo, así como de receptores de insulina y una capacidad baja de fosforilación de la glucosa también en el músculo.

Papoutsoglouand y Lyndond (2006), estudiaron el perfil enzimático digestivo de la especie herbívora mediterránea *Sparisoma cretense*, a lo largo del tubo digestivo *in vitro* y a diferentes niveles de temperatura. Esta especie mostró gran potencial para la digestión de carbohidratos y para la digestión de proteínas. La actividad de la amilasa, fue medida aumentando la temperatura hasta 37°C, durante este experimento se encontró la mayor actividad en la parte posterior del intestino, mientras que la enzima glucosidasa tuvo un decremento en su actividad. Los autores mencionan que esta especie a pesar de tener un estómago y ciegos pilóricos no especializados, mostró una gran capacidad de digestión de carbohidratos y proteínas. En este trabajo se también se encontró que los valores de la glucosidasa para *S. cretense* son generalmente comparables a los de otras especies sin importar el hábito

alimenticio. Por último los autores concluyen que esta enzima es más susceptible a responder a los cambios de la dieta.

Geurden et al. (2007), estudiaron en juveniles de *Oncorhynchus mykiss*, el efecto de una dieta hiperglúcida. En la dieta se suministró dextrina al 60% durante tres días. Los autores se basaron en un programa nutricional de vertebrados, para probar estímulos hiperglúcidos durante estados tempranos de edad de los organismos, esperando que se indujera un efecto prolongado de la utilización de carbohidratos. Los primeros individuos fueron alimentados durante su primera ingesta y el segundo grupo fue alimentado después de la absorción de la yema. Los efectos de estos estímulos hiperglucémicos fueron evaluados a partir de la expresión de 5 genes precursores de factores transcripcionales relacionados con el metabolismo de glucosa, tales como la alfa-amilasa, maltasa, proteínas transportadoras de glucosa sodio dependientes (SGLT1, transporte de la glucosa intestinal), glucoquinasa y G-6P. Geurden et al. (2007), encontraron que la dieta hiperglucémica estimulo rápidamente la expresión de maltasa, alfa-amilasa y glucoquinasa en el primer grupo de individuos y sólo de maltasa en el estímulo del segundo grupo, los autores argumentan que esto ocurrió por la baja plasticidad que el segundo grupo manifestó quizás por ser alimentado en un estadio más tardío con respecto al primero. Los autores concluyen que la trucha arco iris tiene la capacidad de modificar su fisiología para asimilar carbohidratos cuando éstos fueron proporcionados en estadios más tempranos de su desarrollo.

### 3.-JUSTIFICACIÓN

Es considerable la disminución de las poblaciones silvestres del mero rojo como consecuencia de la gran demanda que presenta en su consumo. Esta especie tiene un gran potencial para su cultivo. En Asia, por ejemplo se ha desarrollado un importante crecimiento en el cultivo de especies pertenecientes a este género, entre las cuales están *E. altiveles*, *E. akaara*, *E. coioides*, *E. lanceolatus* y *E. malabaricus* (Lupatsch,2004).

El éxito del cultivo de las especies acuícolas depende en alto grado del conocimiento de los requerimientos nutricionales, lo que permitirá la elaboración de dietas adecuadas que presenten un correcto equilibrio de los macronutrientes lo cual repercuta positivamente en el crecimiento y en la utilización del alimento.

Sin embargo muchas de estas dietas presentan grandes problemas debido al alto nivel de inclusión de harinas y aceites de pescado lo cual las hace muy costosas, sobre todo pensando en el cultivo extensivo. El reto al que se enfrenta la acuicultura, es encontrar alimentos que sean capaces de sustituir estas principales fuentes logrando un ahorro en costos, pero cumpliendo con los requerimientos nutricionales que favorezcan el mantenimiento y estado fisiológico óptimo. Por ejemplo, el diseño de estas dietas debe plantear el uso de las proteínas para el crecimiento y no para la producción de energía (Peres - Jimenez et al., 2009).

De esta necesidad surgen la inclusión de carbohidratos en la dietas como parte importante de sustitución energética. A pesar de que estos nutrientes no son esenciales en los peces, debido a que pueden ser sintetizados *de novo* en el metabolismo de estos organismos, se ha demostrado que los carbohidratos pueden ser asimilados por ciertas especies de peces, logrando mantener un balance energético y disminuir el porcentaje de proteína en las dietas (Chen y Chen,1986; Chen y Tsai 1994; Cordier,1960; Douglas et al., 2000). Existen numerosos trabajos en los cuales se demuestra la capacidad de los peces a cambiar su perfil metabólico al ser sometidos a cambios en su dieta.

En cuanto a los carbohidratos existen muchas interrogantes; las evidencias demuestran que en ciertos peces se puede presentar la maquinaria enzimática necesaria que le permita utilizar los carbohidratos como fuente energética. Diversos trabajos realizados demuestran que los peces pueden tener una rápida respuesta en la expresión de factores transcripcionales del metabolismo de carbohidratos al ser sometidos a dietas con altos porcentajes de carbohidratos. Sin embargo, y a pesar de lo anterior, existen muchas controversias sobre la capacidad de estos organismos de asimilar y utilizar los carbohidratos como fuente energética y, en consecuencia son necesarios estudios para conocer el verdadero estado fisiológico de las sustituciones en su alimentación (Douglas et al., 2000 Sarkar et al., 1999, Comavella, et al., 2006 Darias et al., 2006).

En la familia de los serranidos, en las especies *Paralabrax maculatofasciatus* y *Decentrarchus labrax* se han realizado trabajos para conocer la capacidad de utilización de estos nutrientes a través del estudio de la actividad de enzimas como la  $\alpha$ -amilasa (Tovar, 2002; Álvarez, 2003). Para el género *Epinephelus* se han variado los niveles de inclusión de carbohidratos en las dietas, obteniendo evidencias indicadoras de interconversión a lípidos corporales cuando se aumenta los niveles de carbohidratos (Cheng y Tsai, 1996).

Por lo tanto, el estudio de los organismos silvestres debe ser el primer paso que se debe dar para determinar las condiciones fisiológicas y metabólicas en las que se encuentran, lo que además permitirá conocer la capacidad y maquinaria enzimática con la que estos animales se encuentran en condiciones naturales y los posibles variaciones que existen de acuerdo a los cambios estacionales.

#### 4.- OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad de digestión de carbohidratos dietéticos y su utilización en juveniles silvestres del mero *E. morio*, tanto en el medio natural como en el proceso de aclimatación al alimento balanceado.

##### 5.1 Objetivos específicos:

- 1.- Definir los niveles de glucosa y glucógeno en los juveniles silvestres del mero *E. morio* en el medio natural.
- 2.- Identificar la capacidad de digestión de los carbohidratos dietéticos en los juveniles silvestres de *E. morio* en el medio natural.
- 3.- Identificar la anatomía del aparato digestivo y la histología de la región exocrina del páncreas de *E. morio*.

#### 5.-HIPÓTESIS

1.- *E. morio* es una especie típica carnívora que en el medio natural presenta una alta ingesta de proteínas derivadas de sus principales alimentos: crustáceos, peces y moluscos (Brule, 1996). Estos peces obtienen la glucosa y glucógeno a partir del catabolismo de proteínas y de la gluconeogénesis; por lo cual se espera encontrar en los juveniles silvestres de *E. morio*, una menor actividad de la  $\alpha$ -amilasa, la  $\alpha$ -glucosidasa, la glucosa y el glucógeno cuando la disponibilidad de alimento de las presas preferenciales sea alta, y una mayor actividad de estas dos enzimas cuando la disponibilidad de las presas preferenciales sea menor.

## CAPITULO I

### ANATOMÍA DEL APARATO DIGESTIVO E HISTOLOGÍA DEL PÁNCREAS

#### I.1.1.-Material y Método

Para determinar la ubicación de tejido pancreático, principal secretor de las enzimas amilasa y glucosidasa se realizaron cortes histológicos en juveniles silvestres.

#### Técnica histológica

Se realizó la disección de 5 juveniles silvestres de *E. morio* y los órganos fueron fijados en formol al 10% durante 3 días. Al pasar este tiempo fueron cambiados a alcohol al 70%, durante dos días mas.

Para la deshidratación se realizaron varios baños de alcohol etílico en proporciones graduales a partir del 70%, 80%,90%, 100% (primero baño y 100%(segundo baño). Después fueron aclarados con ultraclear de la marca JT. Baker. Posteriormente, se incluyeron en dos baños de parafina (a 54°C). Los tejidos fueron incluidos en moldes metálicos para obtener los bloques. Los cortes se hicieron de 5 micras en un microtomo. Se realizaron dos baños de xilol, y se continuó con los baños de alcohol en orden gradual decreciente: 100% al 70% , agua destilada y finalmente un baño de hematoxilina-eosina. A continuación nuevamente se dieron baños de alcohol pero ahora en proporciones crecientes graduales (70% al 100%). Finalmente se montaron las laminillas con resina sintética de la marca J.T. Baker y las observaciones se realizaron en microscopio óptico a 100X y 400Xy 1000X de resolución en un microscopio óptico (Nikon Eclipse E 600 Universal Condensador).

## RESULTADOS

*E. morio* presenta un aparato digestivo típico de los peces carnívoros. El estómago es grande, y de forma sigmoidal, tiene numerosos ciegos pilóricos ( $24.6 \pm 1.6$ ) que forman un anillo alrededor de la región pilórica posterior al estómago.

**Tabla1.- Número de ciegos pilóricos en 15 individuos de la época secas lluvias y nortes de los juveniles silvestres de *E. morio* .**

No. Ind	Estación	L total(cm)	L.estándar (cm)	No. Ciegos Pilóricos	Peso de ciegos (g)
1	Secas	21.5	18	26	0.75
2	Secas	25	21	22	1.2
3	Secas	21	17.5	27	0.57
4	Secas	22	18	24	0.7
5	Secas	19	16	24	0.3
6	Nortes	17	14.5	23	0.5
7	Nortes	31	29	26	3.1
8	Nortes	20	17	26	0.8
9	Nortes	19.5	16	24	0.52
10	Nortes	18.5	17	22	0.3
11	Lluvias	22	18.5	28	1.1
12	Lluvias	24	20	25	1.85
13	Lluvias	24	20	23	1.5
14	Lluvias	22.5	18.5	24	1.3
15	Lluvias	23	20	25	1.7

El intestino de *E. morio* es corto y el hígado es grande de color rojizo marrón, con un lóbulo derecho mayor que el izquierdo. El páncreas no es visible. Fue necesario la realización de cortes histológicos a la altura del la región pilórica para explorar y reconocer las células pancreáticas.

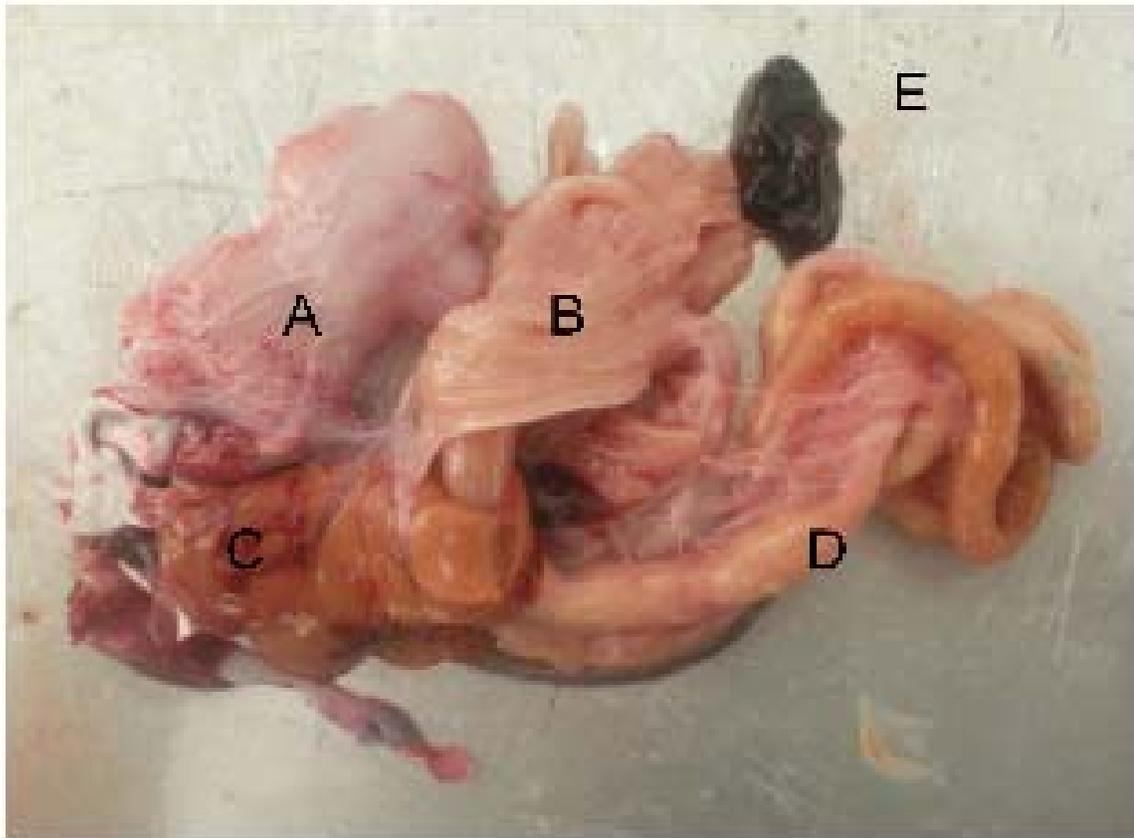


Figura 1.- Aparato digestivo de un juvenil silvestre de *F. morio*, A) estómago, B) ciegos pilóricos C) hígado, D) intestino, E) bazo

En los cortes histológicos de páncreas se encontraron células pancreáticas correspondientes a la región endocrina, alrededor del duodeno, entre los ciegos pilóricos. A nivel histológico, los ciegos pilóricos presentaron una capa mucosa, una capa submucosa, una capa muscular y una capa serosa.

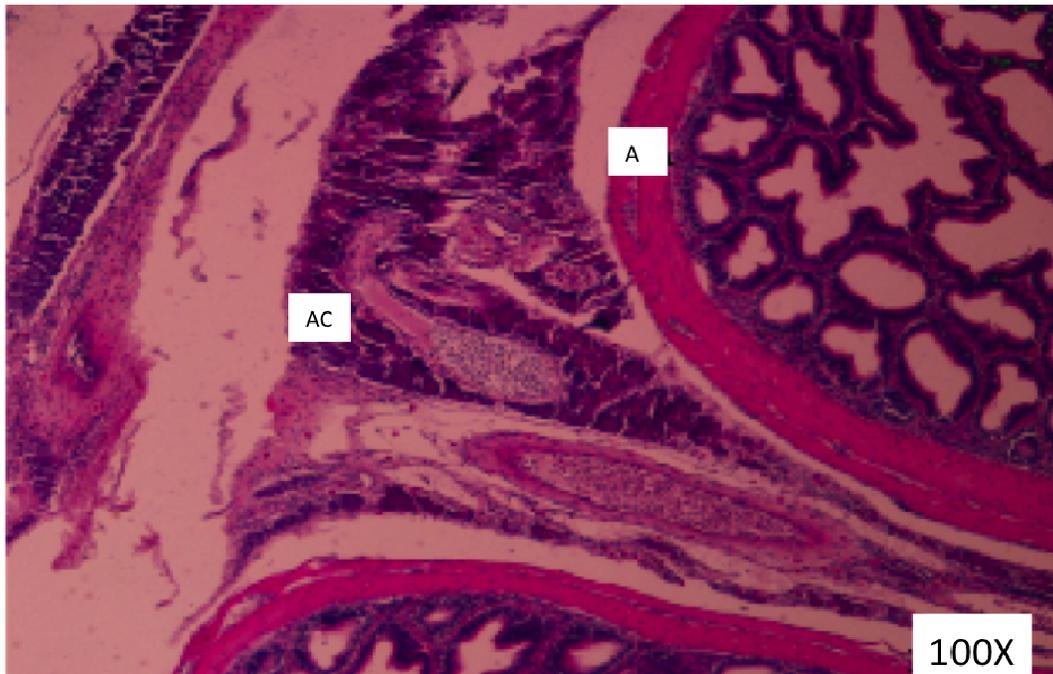


Figura 2- A)Ciegos pilóricos AC) Células acinares; Corte histológico de un juvenil silvestre de *E. morio*; Hematoxilina-eosina, observado a una resolución de 100X

Células acinares del páncreas fueron observadas entre los ciegos pilóricos. Cada acino está formado por una sola capa de células epiteliales piramidales que tiene una base mas amplia y se encuentran sobre una lámina basal. Los núcleos son basales, el citoplasma basófilo. Los gránulos se encuentran hacia el lumen y serán secretados hacia la luz acinar que conduce hacia los conductos pancreáticos. Los conductos estan formados por células columnares epiteliales rodeadas por una vaina de tejido conectivo.

Los islotes de Langerhans correspondientes a la región endócrina fueron identificados entre los acinos pancreáticos.

*Figura 3.- Región exócrina, acinos celulares (AC) y región endócrina, islotes de Langerhans (IL) del juvenil de E. morio. Hematoxilina-eosina 1000X.*

### I.3.-DISCUSIÓN

A través del estudio descriptivo de la morfología del aparato digestivo en los peces se puede determinar la función de algunas estructuras anatómicas especializadas en diversas adaptaciones alimenticias (Medina et al., 2009).

Los ciegos pilóricos, por ejemplo, son estructuras que sólo se encuentran en los peces, y pueden variar en forma, longitud, número y ubicación anatómica. En *E. morio*, los ciegos pilóricos se encontraron entre el estómago y el intestino, esta misma ubicación fue encontrada en otras especies de peces como *Mylossomaa canthogaster*, *M. duriventre*, *M. aureum*, *Pygocentrus caribay* *Cynopotamus venezuelae* (Medina et al., 2009).

Se ha reportado que los ciegos pilóricos se encuentran entre el estómago y el intestino (Medina et al., 2009). Especies carnívoras como el salmón, presentan el mismo patrón de distribución observado en *E. morio*; células acinares rodean los ciegos pilóricos y se encuentran rodeada de tejido adiposo y tejido conectivo, vasos sanguíneos.

La región endocrina del páncreas se encuentra rodeada de la región exocrina, en especies como *Limanda limanda*, *Garus morhua*, *Anarkichas lupus*. Los adultos pueden tener islotes ser muy grandes y formar agrupaciones visibles durante una disección, estos reciben el nombre de corpúsculos de Brockman, en los individuos estudiados en el presente trabajo no fue posible observar tales estructuras a simple vista, se sugiere realizar disecciones en organismos reproductores que permitan identificar a simple vista corpúsculos de Brockman.

En las últimas décadas se ha tenido un avance importante en la investigación del páncreas de mamíferos. Se sabe que presenta un origen ontogénico a partir de la fusión de evaginaciones ventrales y las dorsales del intestino primitivo, aparecen conductos pancreáticos que originan a los acinos y las células endocrinas (Teitelmann, 1986).

En los individuos analizados en este trabajo se buscaron células pancreáticas, para conocer en que porción de la región del tracto digestivo se esperaba

encontrar la mayor actividad de las enzimas digestivas por lo que determinar la ubicación de la región exocrina fue un resultado necesario para conocer las principales regiones de producción y secreción de enzimas que se evaluaron en esta investigación (*Figura 3 y 4*).

La mayor actividad de amilasa y glucosidasa fue encontrada en los ciegos pilóricos. Las células acinares son las secretoras de los zimógenos que dan origen a estas dos enzimas digestivas, estos acinos celulares presentan pequeños conductos pancreáticos que transportan a las enzimas hacia el interior de los ciegos pilóricos. En el salmón del Atlántico se ha encontrado que los conductos pancreáticos cuentan con un sistema colector en los cuales se unen desembocando en un solo ducto que entran al intestino y a los ciegos pilóricos (Einarsson y Davies, 1997).

Los ciegos pilóricos son estructuras que se presentan únicamente en los peces, la forma y el número varía dependiendo de la especie y del individuo (Tabla 1), como ya se ha mencionado en la parte introductoria de este trabajo, los ciegos pilóricos presentan diferentes funciones; son estructuras que aumentan el área de absorción de los nutrientes, sirven de reservorio de flora y fauna intestinal.

Svetovidov (1953), realizó estudios con el género *Caspialosa*, y determinó que el número de ciegos es más elevado en las carnívoras y menos en las planctófagas herbívoras, existiendo una relación inversa entre el número y el tamaño de las presas y el número de ciegos. Sin embargo, otros autores mencionan que estas afirmaciones no se pueden generalizar para todas las especies, incluso se han realizado trabajos en especies con diferentes hábitos alimenticios en donde se determinó el número y forma de ciegos de especies como *T. trachyrhynchus* (38.6, largos finos y ramificados), *M. moro* (16.2, largos cortos simples), *C. Mediterránea* (10.4, medianos y simples), *L. lepidon* (9.5, medianos y simples). Svetovidov (1953), concluye que el hábito alimenticio no es determinante para la cantidad y forma de los ciegos, lo que realmente es importante es la relación directamente proporcional entre el tamaño de las presas y el número de ciegos pilóricos. El mero rojo es una especie que está adaptado para consumir presas de gran tamaño por lo que se

podría esperar que el tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo debe ser más prolongado para digerir las presas. Los meros presentan numerosos ciegos pilóricos lo cual le permite aumentar el área de absorción de los nutrientes.

## CAPITULO II

### NIVELES DE GLUCOSA Y GLUCÓGENO Y ACTIVIDADES DE AMILASA Y GLUCOSIDASA EN DIFERENTES ESTACIONES DEL AÑO

#### II.1.-Metodología

Para cumplir con la evaluación estacional de los juveniles silvestres de *E. morio*, se realizaron tres muestreos: en época de nortes, secas y lluvias (15 de abril, 7 de junio y 30 de julio de 2010, respectivamente).

Los juveniles silvestres de *E. morio* se obtuvieron en colectas realizadas en las playas adyacentes a las costas de Yucatán (*Figura 4*). Para la captura se utilizó una lancha de motor fuera someras de 7 a 10 metros.

Los individuos fueron colocados en una hielera con agua del mar ligeramente más fría (5 grados menos que el medio natural), se mantuvo una aireación constante y fueron transportado a las instalaciones de la unidad. Al llegar al laboratorio los peces fueron colocados en tanques de 500L durante 24 horas con el fin de disminuir el efecto del estrés ocasionado por la captura.

#### II.1.1.-Datos merísticos

Al iniciar la biometría los peces fueron anestesiados con una solución de aceite de clavo (2.5 ml/10 l), que fue colocada en el agua del contenedor. Se registro el tiempo de exposición al anestésico. Una vez anestesiados los peces fueron medidos considerando la Longitud total (Lt.), Longitud furcal, altura y el peso (g) de cada individuo.

#### II.1.2.-Obtención y determinación de la glucosa

Después de registrar los datos merísticos los peces fueron colocados en posición horizontal y recta. La cola se sostuvo por la base y se realizó a punción a un centímetro posterior al término de la aleta anal donde se introdujo

la jeringa en un ángulo de 45° hasta sentir la columna, se retiró lentamente y se succionó la sangre.

Para realizar esta punción se utilizaron jeringas de 5 ml con 100µl de anticoagulante (Heparina marca Inhepar 5000U/ml). Se usó aceite de clavo 2.5 ml/10L para anestesiarlos. Toda la sangre extraída de cada pez fue cuantificada con micropipetas para obtener la cantidad exacta de sangre y de esta manera se pudo calcular el factor de dilución. Se trató de extraer 500µl en cada punción.

Para la cuantificación de la glucosa, la sangre heparinizada fue centrifugada a 800g por 5 minutos a 4°C. Después fue colectado el plasma y colocado en tubos Eppendorf. Se tomaron 20 µl de plasma y fueron diluidos en los 40µl de solución isotónica para peces (515 mOsm). La cuantificación de la glucosa se realizó con un kit comercial, Bayer-Sera-Pak Plus B01 4509-01y utilizando una curva patrón.

El plasma fue diluido en 1000 µl de agua estéril. Para evaluar la presión osmótica se tomo 20µl de sangre y se registro la osmolalidad con el osmómetro(Advanced Instruments. Inc. BIO –RAD).

#### II.1.3.-Disección de los organismos.

La disección de los individuos se realizó con un corte introduciendo unas tijeras finas por las cloacas y avanzando hacia el centro de los opérculos. Se realizó un segundo corte, desde el costado izquierdo del pez hasta el extremo superior del opérculo y un tercer corte, paralelo al opérculo que une a los dos anteriores permitiendo la separación la zona de tejido muscular, cortando previamente las costillas. En este momento los órganos quedaron descubiertos. El estómago, hígado intestino y páncreas fueron extraídos y pesados. Posteriormente fueron congelados en nitrógeno líquido y luego almacenados a -40°C en un ultracongelador (TOY-REY) hasta la realización del análisis bioquímico.

#### II.1.4.-Glucógeno

Para la medición del glucógeno se utilizó una porción de 20 mg aproximadamente de tejido del hígado, la cual fue pesada en la balanza

analítica Pionner TM OHAUS. El tejido fue colocado en un tubo Eppendorf de 1.5 ml, que contenía 200  $\mu$ l de ácido tricloroacético TCA al 5%. Se homogenizó el tejido en TCA al 5% durante un minuto. Se centrifugó a 7000rpm (centrífuga Eppendorf(Modelo 5415R), durante 6 minutos. Se tomó 100  $\mu$ l del sobrenadante (extracto y se colocó en un tubo Eppendorf de 1.5 ml con 500  $\mu$ l de etanol al 95%. Se homogenizó con ayuda de la micropipeta. Después se incubó en una estufa a 37 C por 3 horas. A continuación se centrifugó a 4550 g (7000 rpm) por 15 minutos. El sobrenadante se eliminó y se puso a escurrir los tubos en forma invertida sobre un papel absorbente. Como resultado se obtuvo un botón en la parte inferior de la pared del tubo Eppendorf “paquete sedimentado”.

Se continuó agregando 20  $\mu$ l de agua destilada a las muestras. Finalmente se agregaron 200  $\mu$ l de fenol al 5% a las muestras. Para preparar el blanco se utilizó 20  $\mu$ l de agua destilada hirviendo+200 $\mu$ l de fenol al 5%+1ml de ácido sulfúrico. La solución estándar se preparó con 10 $\mu$ l del estándar de glucosa (1 mg/ml)+200  $\mu$ l de fenol al 5%+1 ml de ácido sulfúrico.

Para realizar la lectura en el lector de microplacas se agregó 1 ml de ácido sulfúrico a las muestras. Después se agitó en vórtex y se dispensaron 200  $\mu$ l por pozo de la microplaca. Este mismo proceso se realizó para el blanco y el estándar y se realizó por triplicado.

La lectura de la absorbancia se hizo a 490 nm. en un lector de microplacas(Benchmark, Plus).

El cálculo de la concentración de glucógeno se realizó de la siguiente manera:

Donde:

PM=Promedio de absorbancia de la muestra

PBCO=Promedio de absorbancia del Blanco

PStd=Promedio de absorbancia del estándar

Estándar de glucosa (Kit comercial de Bayer) 100 mg/dl= 1mg/ml

Volumen del extracto = 100  $\mu$ L= 0.1 ml

Peso del tejido (g) = Pet

Factor de conversión de glucosa a valores de glucógeno = 0.9

Factor de Dilución= FD (se aplica solo en caso de que se haya hecho una disolución)

Preparación de los reactivos:

Se preparó ácido tricloroacético al 5%, fenol al 5% y alcohol etílico absoluto anhidro al 95% (etanol).

#### II.1.5.- Actividad enzimática

##### Actividad de $\alpha$ -amilasa

La técnica empleada para medir la actividad de esta enzima fue la de Somogy\_Nelson (Férrnandez I.2002). La actividad enzimática fue evaluada en ciegos pilóricos e intestino y se identificó usando como sustrato almidón al 2% en el tampón citrato-fosfato 100 mmol l<sup>-1</sup>, NaCl 50 mmol l<sup>-1</sup>, pH7.5 con una incubación de 30 minutos para medir los azúcares reductores a 600nm. La actividad específica fue expresada en U/mg de proteína soluble.

##### Actividad de $\alpha$ -glucosidasa

La actividad de  $\alpha$ -glucosidasa fue identificada utilizando 920  $\mu$ l de buffer sodio - fosfato a 7.6 pH, 60  $\mu$ l de extracto enzimático diluido 1:10 y 20  $\mu$ l de PNPG(para-nitrofenol glucopiranoside). Se evaluó en ciegos e intestinos. El ensayo fue incubado por 60 minutos a 37°C, la reacción se paro con carbonato de sodio 1M y finalmente se leyó la absorbancia en el lector de microplacas a 415 nm(Clark et al., 1984). La actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa, fue expresada en mU/mg de proteínas (Papoutsoglou y Lyndond, 2005).

Para realizar los cálculos de la actividad específica se utilizaron las siguientes ecuaciones:

Ecuación 1. Cálculo de la actividad en unidades por ml.

Unidad /ml =  $\Delta$ abs x volumen final reacción (ml) / CEM x tiempo (min) X volumen extracto (ml)

Ecuación 2. Cálculo de la actividad en unidades por mg de proteína soluble en el extracto.

Unidades /mg proteína soluble = (Unidades / ml) / mg soluble / ml

Donde:

La  $\Delta$ abs es el incremento de absorbancia a una determinada longitud de onda por minuto; volumen final reacción, el volumen final de la reacción; CEM, el coeficiente de extinción molar del producto de la reacción .

#### II.1.6.-Estadística

Para analizar los valores de peso, longitud, hematocrito, factor de condiciones en las tres estaciones, se verificó la homogeneidad de la variancia, con las pruebas de Hartley, Cochran y Barlett(Daniels,2002). Se aplicó una ANOVA con un valor de significancia de  $P < 0.05$ . Cuando no se encontró homogeneidad de varianza se aplicó una prueba no-paramétrica de Kruska-Wallis.

## II.2.-RESULTADOS

### II.2.1.-Sitios de captura

En enero y febrero del 2010 se realizaron muestreos con el propósito de obtener organismos que serian representativos de la época de nortes. Durante estos meses se trató de localizar los puntos geográficos para la captura de los juveniles de *E. morio*. En estos meses no se encontraron individuos juveniles. En Abril se capturaron los primeros silvestres juveniles, en las zonas adyacentes a la costa de Sisal (*Figura 5*).



*Figura 5.-* Sitios de captura de los juveniles de *E. morio*, en las costas adyacentes de Sisal durante los nortes, secas y lluvias de 2010.

**Tabla 3 .- Ubicación geográfica de las estaciones de captura de los juveniles silvestres de *E. morio* en las costas adyacentes a Sisal, Yucatán.**

Estación	Latitud	Longitud
1	21° 17' 980"	90° 01' 595"
2	21° 16' 999"	90° 01' 624"
3	21° 16' 36"	90° 01' 686"
4	21° 15' 667	90° 02' 412"
5	21° 15' 093"	90° 02' 466"
6	21° 15' 059	90° 02' 526"

## II.2.2.-Variación mensual en la temperatura

Durante el año de estudio se observaron importantes variaciones en la temperatura. La época de nortes se prolongo mas que en otros años, los nortes fueron intensos y muy frecuentes. En abril la temperatura del agua fue de 25 °C, y fue entonces posible la captura de los primeros individuos silvestres. En este mes los nortes fueron mas débiles y menos frecuentes.

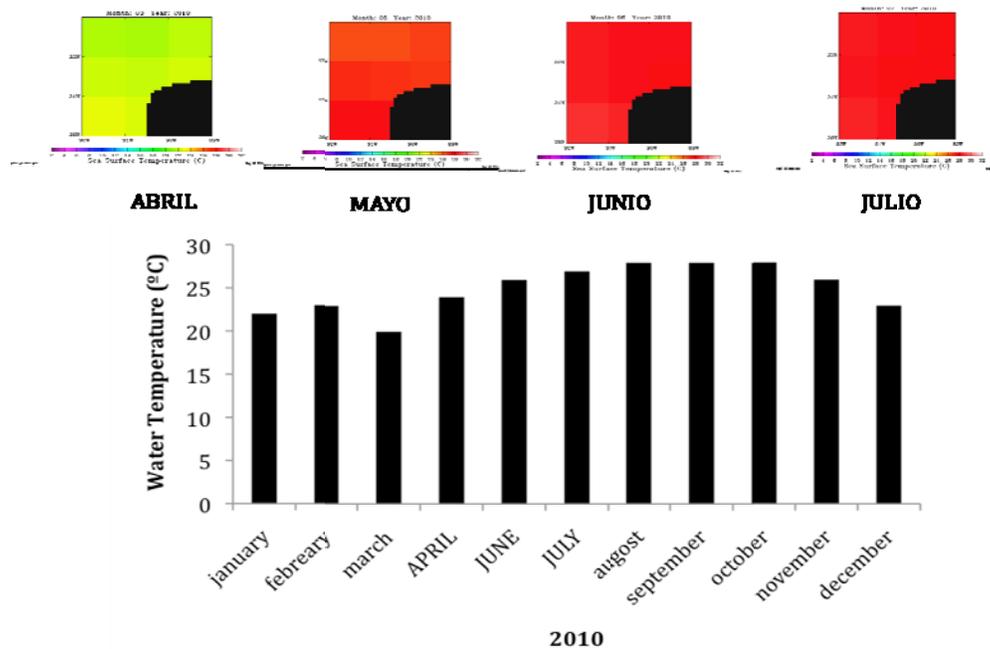


Figura 6.- Variación mensual de la temperatura en el año 2010 en las costas adyacentes de Sisal, Yucatán dentro de la zona de captura de los juveniles silvestres de *E. morio*. Datos proporcionados de la campaña dirigida por el Dr. Gilberto Jerónimo en la zona de estudio en 2010.

En el mes de mayo la temperatura subio hasta 27°C y se incrementó a 28°C durante junio y julio. El registró de la base de datos mostró en los meses siguientes un incremento en la temperatura del agua llegando hasta 29°C en el mes de septiembre y octubre, disminuyendo a 24°C en noviembre y diciembre (Figura 6).

### II.2.3.-Talla y Peso de los juveniles silvestres estacionales.

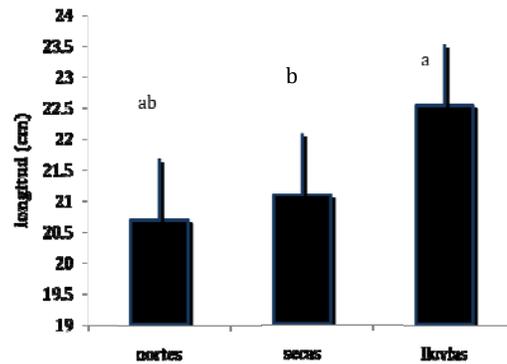


Figura 7.- Longitud total de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010).

Los resultados mostraron que los juveniles de la época de lluvias fueron los de mayor talla, con valores de  $22.6 \pm 1.2$  cm de longitud total. Los individuos nortes mostraron los valores más bajos ( $20.7 \pm 4.6$  cm ) (Kruskal-Wallis  $P < 0.05$ ). Las tallas de nortes y secas no mostraron diferencias significativas entre ellas, de manera que los valores se presentaron en dos grupos (Figura 7).

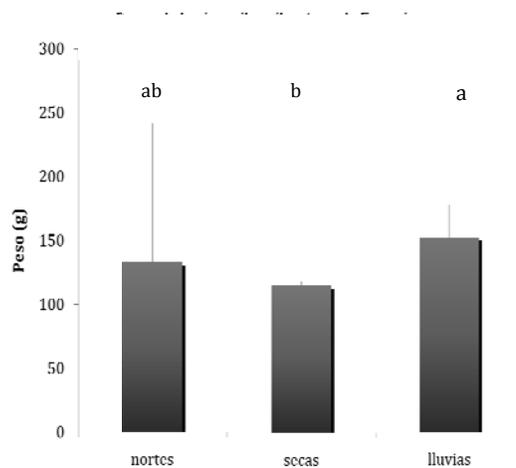


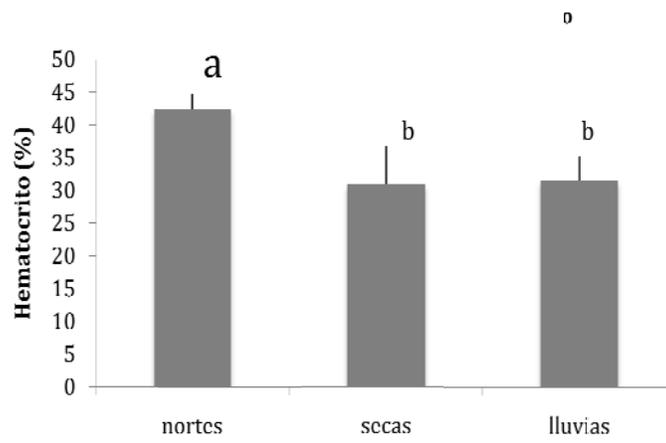
Figura 8.- Pesos de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010).

El peso también presentó diferencias significativas (ANOVA  $P < 0.05$ ). El mayor peso fue encontrado en los individuos de la época de lluvias, con un peso

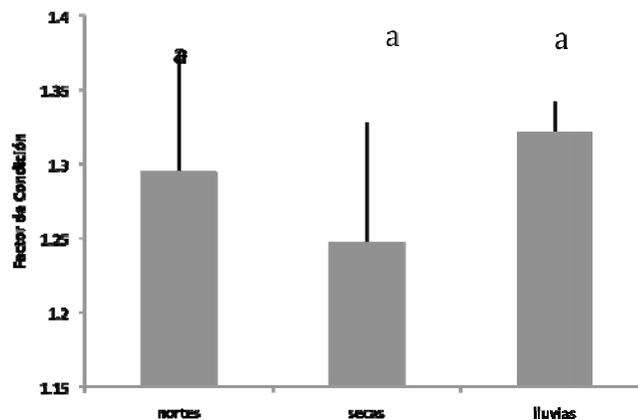
promedio de  $153.3 \pm 25.5g$ , sin embargo cabe mencionar que dos individuos obtenidos en nortes presentaron valores de peso altos (*Figura 8*).

#### II.2.4.- Hematocrito y Factor de Condición.

El hematocrito presentó diferencias significativas en las tres épocas del año, siendo la época de nortes donde se encontró el mayor porcentaje de células con respecto al plasma ( $42.4 \pm 2.3$ ) y en menor proporción se encontraron los individuos de secas ( $31.0 \pm 5.8$ ) ( $P < 0.05$ ). Se encontró que el factor de condición no presentó diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), pero los peces capturados en nortes mostraron el factor de condición más alto, asociado al mayor valor de hematocrito de las tres épocas (*Figura 9 y 10*).



*Figura 9.*-Hematocrito de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010). Kruskal-Wallis  $P < 0.05$ .



*Figura 10.*-Factor de condición de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010). Kruskal-Wallis  $P < 0.05$ .

## II.2.5.- Glucosa y Glucógeno

La glucosa fue significativamente mayor en los individuos capturados en lluvias ( $1.74 \pm 0.59$  mg/ml) ( $P < 0.05$ ), sin embargo entre la época de nortes y lluvias no se encontraron diferencias significativas (ANOVA,  $P > 0.05$ ), (Figura 11).

Los valores de glucógeno también fueron significativamente mayores en la época de lluvias ( $209 \pm 75$  mg/g,  $P < 0.05$ ), secas y nortes no presentaron diferencias (ANOVA,  $P > 0.05$ ).

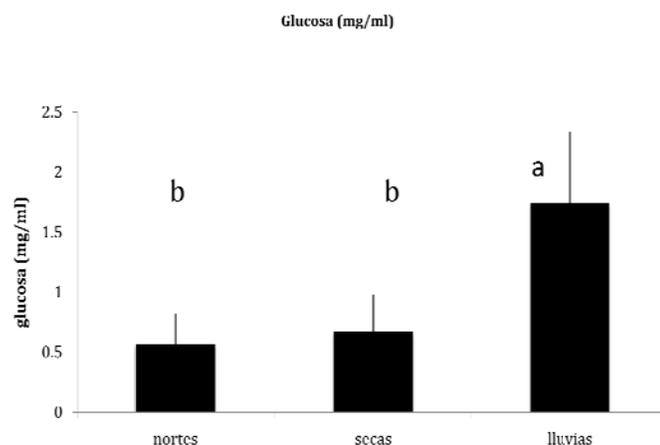


Figura 11.-Glucosa (mg/ml) de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010). ANOVA  $P < 0.05$ .

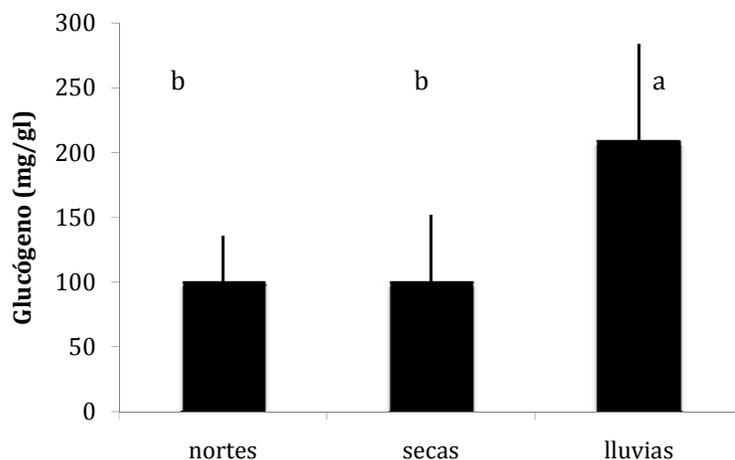


Figura 12.-Glucógeno (mg/g) de los juveniles silvestres de *E. morio* en las épocas del año (nortes, lluvias, secas del 2010). ANOVA  $P < 0.05$ .

## II.2.6.-Actividad de la Amilasa y Glucosidasa

La amilasa presentó la mayor actividad en los ciegos pilóricos de todos los individuos estacionales, los ciegos pilórico de lluvias tuvieron mayor actividad, seguidos de los nortes y la menor se presentó en secas ( $2.75 \times 10^3$ ,  $1.79 \times 10^3$ ,  $0.87 \times 10^3$  U mg proteína; Lluvias, nortes y secas, respectivamente) ( $P > 0.05$ ).

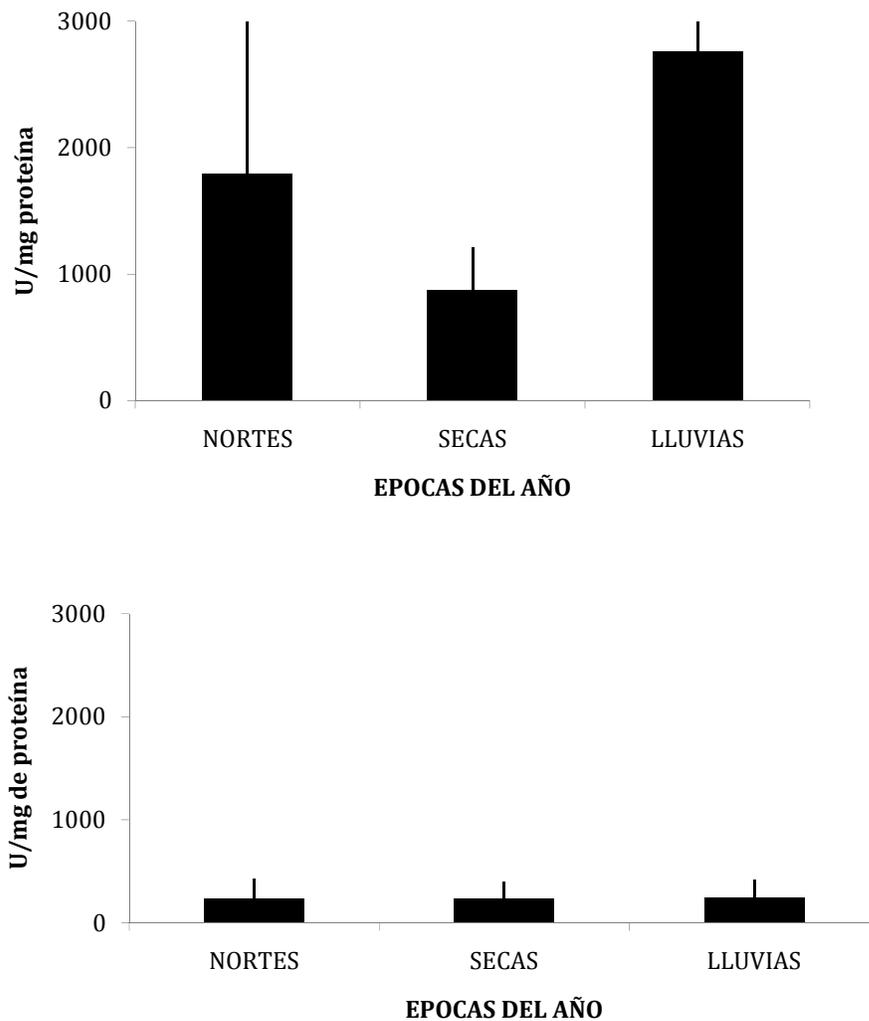


Figura 13.-Actividad específica (U/mg proteína) de la amilasa en los ciegos pilóricos (A) e intestinos (B) de los juveniles silvestres de *E. morio* en nortes, lluvias, secas del 2010. ANOVA  $P < 0.05$ .

Las diferencias fueron significativas cuando la comparación se hizo entre órganos (ANOVA,  $P < 0.05$ ).

La glucosidasa al igual que la amilasa, presentó su mayor actividad en los ciegos pilóricos siendo estas diferencias significativas (ANOVA,  $P < 0.05$ ) cuando la comparación se hizo entre órganos. A diferencia de la amilasa, la glucosidasa presentó la mayor actividad en los nortes (3.98 mU/ mg de proteína) (ANOVA

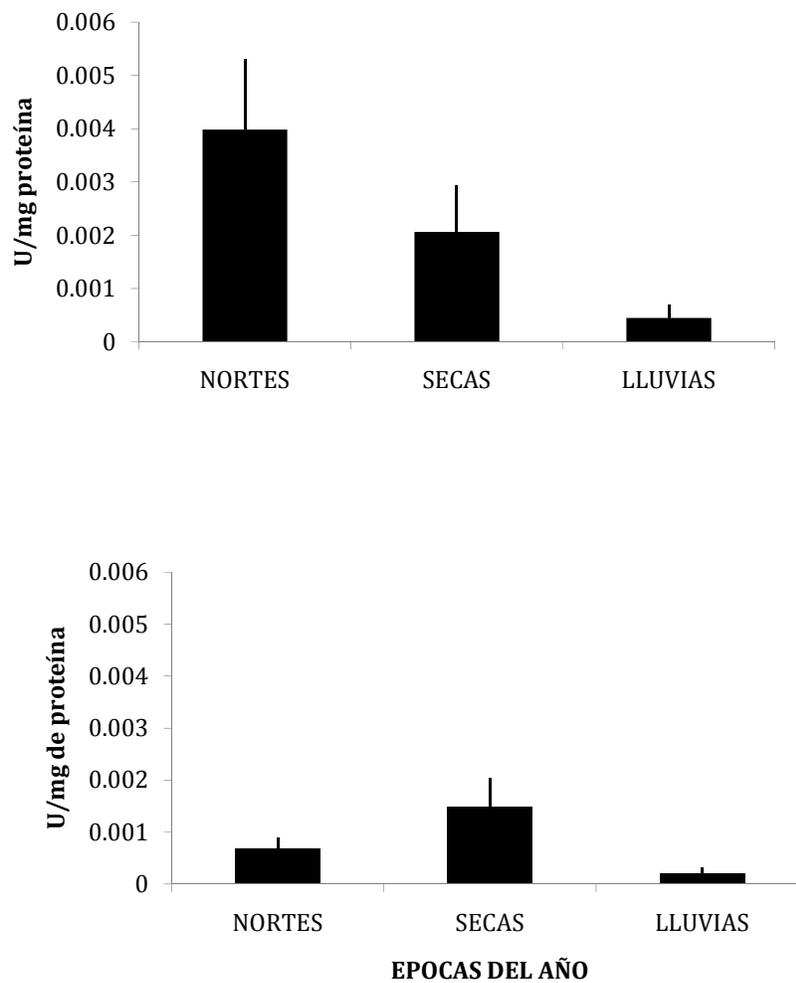


Figura 13.-Actividad específica (mU/mg proteína) de la glucosidasa en los ciegos pilóricos (A) e intestinos (B) de los juveniles silvestres de *E. morio* en nortes, lluvias, secas del 2010. ANOVA  $P < 0.05$ .

## II.3.- DISCUSIÓN

### II.3.1.-Variación estacional de la temperatura.

La presencia de los meros en la zona de estudio esta determinada por patrones ambientales que caracterizan al Banco de Campeche, diversos estudios han demostrado que el factor más influyente en la distribución de la especie en esta zona es la temperatura. El Banco de Campeche comprende la plataforma continental que se extiende alrededor de la península de Yucatán, entre los 18° y 24° de latitud Norte y los 87° y 93° de longitud oeste. La región presenta fluctuaciones marcadas de la distribución de la temperatura, destacando principalmente la entrada de agua fría en primavera-verano en la región oriental asociada con el afloramiento de las aguas provenientes del talud continental (Bulanienkov y García, 1998).

En el 2010 las fluctuaciones de temperatura en la zona de estudio estuvieron agrupadas en dos temporadas; las de bajas temperaturas (22, 23 y 24°C) en los meses noviembre a abril y de temperaturas cálidas en los meses de abril, mayo, junio julio, agosto, septiembre y octubre donde alcanzaron valores de 27 a 29°C. (*Figura, 5*). El patrón de temperatura presente en este año corresponde al descrito por Rivas (1968) y Piñeiro et al., (2001). Pérez et al., (2007), también reporta para el Banco de Campeche dos épocas climáticas: un periodo de clima cálido (mayo-octubre) y un periodo frío (noviembre-abril).

Se ha reportado que las poblaciones de meros se disgregan y se alejan de regiones con variaciones bruscas de temperatura buscando regiones de aguas mas cálidas (García, 1974). Durante los meses de temperaturas bajas no se capturaron meros además los nortes en este año fueron muy fuertes y constantes, impidiendo también las salidas a campo en los primeros meses del año.

En abril cuando la temperatura se elevó hasta 26°C, fue posible capturar meros juveniles que llegaron a la zona de captura buscando regiones más cálidas y enriquecidas por los altos niveles de productividad que se originaron por el gran aporte de nutrientes en la zona después de los nortes. Esta productividad se reflejo en los valores altos de oxígeno disuelto reportados para la zona en el

mes de abril ( $8.2 \pm 0.28$  mg/l, (dato obtenido del Grupo de Investigación dirigido por el Dr. Gilberto Jerónimo).

### II.3.2.- Variación estacional del peso y talla.

Los valores encontrados muestran dos agrupaciones de peso y la talla; los individuos de nortes y secas ( $P > 0.05$ ), y los individuos de lluvias los cuales fueron significativamente más grandes en cuanto a la longitud total (*Figura 7 y 8*  $P < 0.05$ ).

Los individuos de menor talla fueron encontrados en nortes (*Figura 7*). Se ha reportado que los juveniles presentan movimientos estacionales hacia la zonas costeras en primavera-verano, este patrón migratorio podría explicar la llegada de los juveniles a mediados de abril y su posterior reclutamiento en los meses cálidos (López, 2008).

En los meses de junio y julio la zona de captura presentaba temperaturas elevadas, generando las condiciones climáticas óptimas para el establecimiento del cardumen de meros en esta región. Probablemente en los meses de junio y julio (secas y lluvias), los juveniles permanecieron en la zona alimentándose y creciendo, lo que podría justificar el incremento de la talla y peso en el mes de lluvias (*Figura 8*). Los individuos que viven en ambientes con una marcada estacionalidad deben resolver varios problemas energéticos para sobrevivir y prepararse para los estados reproductivos. Además de sobrevivir a las fluctuaciones ambientales, los juveniles deben hacer frente a las variaciones en el alimento, generando estrategias para adquirir y almacenar energía para su crecimiento, depredación y para los desplazamientos estacionales (Post y Parkinson, 2001).

Brulé (1999) analizó las variaciones estacionales del contenido estomacal de los juveniles de *E. morio* en las costas de Progreso, considerando dos patrones de estacionalidad: uno correspondiente a los meses cálidos y de lluvias (mayo a octubre) y otro a los meses fríos y de secas (noviembre a abril). El autor reporta que independientemente a la época los decápodos Reptantia y Natantia representan más del 82% de las presas. Sin embargo encontró que la frecuencia de presas fue mayor en el periodo cálido y lluvioso (mayo a

octubre). El autor concluye que los crustáceos son las presas preferenciales de *E. morio* para todas las épocas del año, y que las variaciones en cuanto al contenido depende a la abundancia y disponibilidad de los recursos.

*E. morio* tiene un régimen alimenticio poco especializado esto representa una estrategia para obtener el alimento necesario en época de abundancia y almacenarlo como energía, los crustáceos son la presa principal sin embargo se ha encontrado en el contenido estomacal gran variedad de moluscos, peces y ocasionalmente fragmentos de algas (Giménez et al 2001). Parrish (1987) menciona que los serranidos tienen la plasticidad de reducir la competencia gracias a la poca especialización de sus presas, logrando obtener ventaja cuando las condiciones ambientales son fluctuantes. Moe (1969), sugiere que dentro de las adaptaciones de la especie *E. morio* se encuentra la reducción de los dientes característica que le permite aceptar presas de formas variadas.

Gutiérrez (2008) en su tesis evaluó la tasas metabólicas del mero en condiciones experimentales que simulaban las dos épocas climáticas. Como resultado de su investigación determinó que durante los meses cálidos, la tasa metabólica fue mayor que durante los meses fríos ( 32.16 y 25.88 kJg/día, respectivamente). De acuerdo a los observaciones experimentales de Gutiérrez se podría pensar que los juveniles silvestres estacionales de *E. morio* se reclutaron en la zona atraídos por la gran cantidad de nutrientes generados después de los nortes y por el aumento de temperatura, donde permanecieron alimentándose, creciendo y acumulando energía, para después buscar zonas mas profundas o migrar hacia el oeste en invierno cuando la temperatura desciende.

### II.3 .3.-Variación estacional del hematocrito.

El hematocrito es un parámetro hematológico que presenta gran variación debido a diferentes factores. En teleósteos el valor del hematocrito se presenta como una adaptación al hábitat y estilo de vida, los peces bentónicos y sedentarios presentan valores bajos de hematocrito, en tanto que los valores altos se presentan en peces pelágicos y activos (Engel y Davis 1964; Larsson y Finge, 1969 ; Romestand et al., 1983). Otros factores que pueden determinar el valor del hematocrito es la dieta, el estado nutricional, la temperatura, los

cambios estacionales, los ciclos diarios (Puentes et al., 1976), el peso y la edad (Larsson y Finsge, 1969).

Como se ha mencionado anteriormente la temperatura es el factor que más influye en la distribución de las poblaciones de *E. morio*. Camero (1969) realizó un estudio experimental en dos especies: *L. Romboides* y *M. cephalus* en el cual determinó la influencia de la temperatura en parámetros hematológicos como la hemoglobina y el hematocrito, encontrando que los valores de hemoglobina y hematocrito aumentaron al incrementarse la temperatura en el medio natural. Los valores reportados para estas especies fueron; *L. romboides* 35.6, 37.5 y 27°C respectivamente, y *M. cephalus* 25.9 °C, 30 °C y 27°C. El autor realizó observaciones del hematocrito en el campo y determinó que los cambios en el hematocrito y en la hemoglobina no fueron significativos.

Los juveniles silvestres de *E. morio* presentaron valores significativamente más altos en la época de nortes ( $42.4 \pm 2.3\%$ ) y los valores más bajos en la época de secas ( $30.9 \pm 5.8\%$ ,  $P < 0.05$ ) (Figura 9).

Sin embargo existen trabajos que demuestran el estrés fisiológico que pueden tener los organismos al enfrentarse a cambios ambientales drásticos, siendo la temperatura uno de los más significativos (Wedemeyer et al., 1990). En los peces la respuesta al estrés es causada por la activación del sistema neuroendocrino y una subsecuente cascada de cambios fisiológicos y metabólicos que le permite a los organismos ser tolerantes ante estos cambios ambientales (Mazeaud et al 1977; Pickering 1992).

Las respuestas hematológicas de *Pagothenia borchgrevinki* y *Trematomus bernacchii* fueron estudiadas al someter a los peces a bajas temperaturas (10°C) obteniendo un aumento considerable en el hematocrito, cortisol y hemoglobina (Franklin et al 1991; Davison et al 1994; Foster et al, 1998). Lowey Davison (2005), estudiaron la respuesta de estas mismas especies al someterlas durante 6 semanas a estrés térmico al bajar las temperaturas y determinar los cambios hematológicos.

Los autores encontraron un incremento significativo del hematocrito y la hemoglobina en las dos especies cuando los organismos fueron aclimatados a bajas temperaturas.

En abril la temperatura del agua comenzó a elevarse, fue un mes de transición entre la estación fría y las dos estaciones cálidas, (*Figura 5*). Quizás los peces capturados en esta época se encontraban en un periodo de aclimatación a la transición de las dos temperaturas, los peces habían llegado o permanecían ocultos en sus refugios durante esta época fría, los valores altos de hematocrito podrían sugerir un estrés fisiológico a las bajas temperaturas. Al pasar los nortes y al incrementarse la temperatura los peces de secas y lluvias alcanzaron una estabilidad fisiológica y como respuesta los valores de hematocrito para esas dos época fueron muy similares (*Figura 9*) ( $P > 0.05$ ).

Los peces de la época cálida, al encontrarse en un ambiente con condiciones ecológicas favorables, pudieron destinar la energía para el crecimiento al reducir el estrés. Durante la época de nortes existió un gran aporte de materia orgánica y nutrientes importantes para aumentar la productividad del sistema como el hierro. El hierro disuelto es aportado al océano por el transporte eólico del polvo desde los continentes y en gran parte por el aporte fluvial, casi todo el hierro que llega al océano se presenta en forma de partículas que se depositan en la plataforma continental y en otros entornos costeros.

La gran productividad generada en la zona se debió en parte al aporte de este elemento traza desde el continente, ya que ese año se caracterizó por fuertes vientos y lluvias que acompañaron a los nortes. Los afloramientos también pueden volver a resuspender partículas finas de los sedimentos, volviendo a proporcionar parte del hierro necesario para sostener el crecimiento del fitoplancton en aguas costeras (Jonhson et al., 1999).

El hierro juega un papel muy importante en el transporte de oxígeno y la respiración celular. Un bajo déficit de hierro en la dieta de los peces puede provocar deficiencias alimentarias como anemia microcítica hipocrómica (Tacon, 1992). La presencia de hierro en el medio natural es baja, de manera que resulta indispensable que los peces lo tomen a través de sus presas. Se ha estimado el requerimiento de este elemento traza en diferentes grupos de

peces; en la anguila y es de  $170 \text{ mg.kg}^{-1}$ , para el pez gato  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Gatlin y Wilson, 1986), para el salmón es de 60 a  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$  (Anderson et al 1996).

Yin et al., (2007), realizaron un estudio con el objetivo de determinar los efectos de diferentes niveles de concentración hierro en la dieta en el crecimiento del mero *Epinephelus coioides*, encontraron que la mayor ganancia en peso se obtuvo cuando se incluyeron  $100 \text{ mg/kg}$  de hierro en la dieta. Los autores midieron el hematocrito y la hemoglobina en los individuos encontrando valores de 22.5 % cuando no se les suministró hierro y valores de 21.7% en la dieta que contenía  $150 \text{ mg/kg}$  de hierro. Los autores reportan que no existieron diferencias significativas en los valores de hemoglobina y hematocrito en los diferentes niveles de inclusión. Sin embargo mencionan que los juveniles que no fueron alimentados con hierro presentaron una disminución significativa del hierro en hígado, los autores argumentan que el mero para cumplir la demanda de hierro en el hígado necesita concentraciones altas ( $145 \text{ mg/kg}$ ), los autores concluyen que el hierro es un nutriente esencial para *E. coioides*.

Diversos trabajos han demostrado que concentraciones bajas de hierro pueden originar anemia en especies como el salmón del atlántico, la trucha y la carpa. Anderson (1996), demostró que una concentración  $30 \text{ mg.kg}^{-1}$  de hierro, fue insuficiente para mantener los niveles de eritropoyesis en el salmón del Atlántico.

Los juveniles de *E. morio* capturados en nortes presentaron los valores más altos de hematocrito, se podría relacionar el valor alto de hematocrito en nortes con niveles altos de hierro, suponiendo que los peces toman este componente directamente del agua sin embargo por lo reportado para el mismo género en trabajos previos, el hematocrito no varió cuando se suministraron diferentes concentraciones de hierro en la dieta, quizás en el futuro se podría evaluar la cantidad de hierro hepático en las tres estaciones. Este componente traza también podría estar participando con otros factores para generar los altos niveles de hematocrito.

#### II.3.4.-Relación de la glucosa y glucógeno con la disponibilidad del alimento *in situ*

Existen numerosos trabajos en los cuales se ha estudiado el efecto de las dietas en el crecimiento y utilización de la energía de los nutrimentos, pero la investigación acerca de los patrones estacionales de las fuentes metabólicas es aún muy limitada para el grupo de teleósteos.

Las poblaciones que viven en ambientes con variaciones estacionales, deben resolver varios problemas para sobrevivir a la primera reproducción para asegurar el éxito de sobrevivencia. Además de enfrentar fluctuaciones en los alimentos, los juveniles deben destinar energía para el crecimiento y acumular la mayor cantidad para periodos de escasez en los recursos (Rogers y Smith, 1993).

Se han realizado investigaciones que describen ampliamente los hábitos alimenticios del *E. morio* como un depredador tope poco especializado. Las presas encontradas con mas frecuencia en los contenidos estomacales son crustáceos como *Palunirus argus*, *Scyllarus sp*, algunos braquiuros como majidos, portunidos, xantidos, calapidos, también se han reportado restos de anomuros, estomatópodos, moluscos como cefalópodos, octópodos (Brulé,1991).

Brulé (1991), determinó la variación temporal del régimen alimenticio en juveniles de *E. morio* en las costas de Progreso, Yucatán. Encontró que los equinodermos y los estomatópodos fueron individuos presentes únicamente en la época de nortes. El autor reporta los índices de frecuencia de ocurrencia más altos en la época de lluvias y secas.

Los valores obtenidos para la glucosa y glucógeno fueron más altos en la época de lluvias ( $P < 0.05$ ), los individuos que llegaron a reclutarse al término de los nortes permanecieron en esta zona alimentándose. El glucógeno se acumula a corto plazo. La presencia de mayor cantidad de glucógeno indico tal vez que los meros se alimentaban con mas frecuencia (*Figura 11 y 12*)-

Guijarro et al., (2003), realizaron un estudio en el cual evaluaron los cambios estacionales en el glucógeno y glucosa de la especie *Tinca tinca*. Los autores

encontraron niveles bajos de glucosa y glucógeno en invierno y valores más altos durante el verano y otoño. Las reservas energéticas del hígado de *Tinca tinca* fueron acumuladas durante otoño e invierno. *E. morio* también presentó los valores mas altos de glucosa y glucógeno al pasar los nortes (*Figura 11 y 12*).

Los resultados indican que los juveniles de *E. morio* después de pasar por una época de intensos nortes y bajas temperaturas, en secas y lluvias lograron crecer y acumular energía en forma de glucógeno gracias a la disponibilidad de alimento y condiciones ambientales mas estables en la zona.

Se realizó un estudio en el pargo *L. campechanus* para determinar las variaciones en los hábitos alimenticios durante las época cálida y fría dentro del Banco de Campeche, se reporto que independientemente de la estación los peces fueron las presas preferenciales, siendo los crustáceos las presas secundarias, sin embargo los autores mencionan que el pargo presentó una mayor tendencia a consumir decápodos Reptantia durante el período cálido.

Probablemente este mayor índice de consumo se deba a que en los meses cálidos exista una mayor disponibilidad de los crustáceos Reptantia en el medio. A diferencia de *L. campechanus*, los juveniles de *E. morio* presentan como principal presa los crustáceos Reptantia, es posible que la abundancia de las presas preferenciales de *E. morio* en el periodo cálido (secas y lluvias), sea la razón por la cual los juveniles crecieron y almacenaron energía durante ese periodo (*Figura 7 y 8*).

#### II.3.5.-. Relación entre la carga de glucosa en la dieta y la glucosa sanguínea

La concentración de glucosa en sangre fue significativamente mayor en la época de lluvias ( $1.74 \pm 0.59$  mg /ml), asociada al valor mas alto de glucógeno ( $208.77 \pm 75.11$  mg/g) (*Figura 11 y 12*).

La disponibilidad de las presas preferenciales en esta época pudo traducirse en el mayor consumo de decápodos Reptantia. Una proporción importante en la composición de estas presas es la quitina. La quitina es el polímero más abundante en el océano y el componente mas importante del exoesqueleto de los crustáceos por esto es considerado el carbohidrato dominante y un

importante componente nutricional en la dieta de peces carnívoros (Anderson et al.,1995). La quitina esta compuesta por unidades de  $\beta$  1-4 N-acetilglucosamina (NAG).

Es posible que los juveniles de *E. morio* utilicen a la quitina como sustrato energético. Al respecto se ha realizado diversos estudios para determinar la digestión de la quitina a partir de la actividad quitinolítica en diferentes especies carnívoras. En los serranidos *S. cabrilla* y *S. escriba* se determinó la actividad de la quitinasa de estas especies con una dieta alta en crustáceos (Benmouna 1986). Otra especie que es capaz de digerir la quitina es el pez blanco de Pátzcuaro, los autores que realizaron esta investigación argumentan que este pez es capaz de degradar la quitina hasta monómeros para dejarla disponible como sustrato energético. Alliot (1967) demostró que los monómeros de N-acetilglucosamine fueron mejor absorbidos que la glucosa por el *Scylliorhinus canícula*.

Las evidencias encontradas en peces marinos con hábitos alimenticios similares a *E. morio*, permiten suponer que los juveniles del mero al tener como principal alimento a los crustáceos pueden ser capaces de degradar la quitina para obtener glucosa disponible como sustrato energético y que la mayor concentración de glucosa en los peces de lluvias es el resultado de la gran disponibilidad de presas que existió en esa época.

#### II.3.6.- Digestión de carbohidratos: amilasa y glucosidasa.

La actividad de la amilasa esta en función de los hábitos alimenticios de los peces. Los herbívoros presentan la mayor actividad, seguidos por los omnívoros y por último los carnívoros. *E. morio* al ser un pez carnívoro se esperaba que la actividad de la amilasa fuera poca.

Moyano (2002), determinó la actividad específica de tres especies con diferentes hábitos alimenticios *B.boops*,  $40.9 \pm 1.9 \times 10^3$  U/mg proteína soluble se alimenta de crustáceos y zooplancton, *P.erithrynus*, (omnívoros peces e invertebrados),  $11.0 \pm 0.4 \times 10^3$  U/mg proteína para *P. Bogaraveo* omnívoros (peces y crustáceos),  $9.5 \pm 0.2 \times 10^3$  U/mg proteína para *P. Pagrus* (crustáceos) y  $6.2 \pm 0.5 \times 10^3$  U/mg proteína para *D. annularis* (crustáceos, moluscos, algas,

equinodermos). Comparando los resultados de este trabajo con los valores obtenidos por Moyano (2002), los niveles de la amilasa en el mero fueron bajos, ( $1.79 \times 10^3 \text{U/mg}$ ,  $0.87 \times 10^3 \text{U/mg}$  y  $2.75 \times 10^3 \text{U/mg}$ , en nortes, secas y lluvias).

Hidalgo et al (1999), realizaron un estudio en el que evaluó la actividad de la amilasa en el hígado y en el tracto digestivo, encontrando solo la especie *Cyprinus carpio* con mayor actividad en el hígado. Las especies *A. Anguilla*, *O. Mykiss*, *S. aurata*, *T. Tinca*, *C. Auratus* presentaron mayor actividad en el tracto digestivo. Dependiendo de la cantidad de amilasa y proteasas que presentaron estas especies, el autor las clasifica en dos grupos; los herbívoros y los omnívoros.

Los peces con mayor actividad de amilasa y baja actividad de las proteasas son herbívoros y los peces con menor actividad de amilasa y alta actividad de las proteasas son omnívoros. De acuerdo a las observaciones de este trabajo se podría considerar que *E. morio* podría tener la capacidad de digerir los carbohidratos dietéticos ya que su actividad enzimática es parecida a la de un pez omnívoro, debido a la considerable presencia de actividad de la amilasa en el tracto digestivo, siendo significativamente mayor en los ciegos pilóricos (*Figura 13*).

Se ha encontrado actividad de la amilasa en diferentes partes del tracto digestivo, incluso en el esófago. Sin embargo la mayor actividad se encuentra en el páncreas exocrino (Overnell, 1973; Yardely y Wild, 1991).

El tejido pancreático en específico los acinos celulares que producen las enzimas digestivas como amilasa y la glucosidasa se encuentra alrededor de los ciegos pilóricos, lo que explica que la mayor actividad de las enzimas fue encontrada en este órgano. Los ciegos pilóricos reciben los productos de las células pancreáticas a través de conductos pancreáticos que vierten las enzimas hacia el lumen del ciego (*Figura 3 y 4*).

La amilasa, es la única enzima que es liberada en su forma natural. Esta enzima rompe los enlace alfa 1-4 de la amilasa o fragmentos lineales de la amilopectina, y el glucógeno.

Los mecanismos por los cuales la amilasa es sintetizada aun son poco claros, pero en general la biosíntesis de esta enzima es igual que en los mamíferos. La secreción y la transcripción está regulada por un péptido intestinal vaso activo (VIP), que activa al péptido de la adenilato ciclasa hipofisiaria (PACAP), la colecistoquina y (CCK) y posiblemente a otros péptidos de la proteína quinasa A del páncreas de la proteína quinasa C. En teleósteos existen numerosos trabajos sobre inmunoreactivos de VIP y el PACAP, en los tractos intestinales (Olsson y Karila 1995). Thwaites et. al, (1989) utilizó VIP del bacalao y del cerdo para estimular la liberación de amilasa en el conejillo de indias, obteniendo resultados similares al utilizar los dos diferentes VIP.

Los valores obtenidos para la glucosidasa fueron considerablemente menores que los valores de la amilasa en *E. morio*, (Figura 14). La actividad de la alfa glucosidasa se ha encontrado principalmente en el intestino, de los peces en las células con borde de cepillo, donde hidrolizan los disacáridos hasta monosacáridos. Es en esta región se realiza finalmente el transporte y absorción de la glucosa. En los silvestres de *E. morio* se encontró la mayor actividad de la alfa glucosidasa en los ciegos pilóricos, quizás esta actividad sea exógena producida por la flora y fauna almacenada en los ciegos pilóricos. Los bajos niveles de esta enzima en los juveniles silvestres podría ser consecuencia de que existan otras fuentes de obtención de glucosa, a partir de rutas gluconeogénicas y proteolíticas que mantienen los niveles de glucosa circundante encontrados en las tres épocas. Los resultados obtenidos en nortes mostraron los valores significativamente mayores en la actividad de la glucosidasa, (3.98 mU/mg de proteína), quizás en esta época no existía aún la disponibilidad de presas preferenciales de *E. morio*, por lo que utilizaron todos los recursos necesarios, sumado a lo anterior su baja especificidad al alimento, los juveniles quizás tuvieron una mayor necesidad de obtener la glucosa de rutas no gluconeogénicas ni proteolíticas, logrado una mayor actividad de la glucosidasa en nortes. En lluvias cuando la disponibilidad del alimento fue suficiente la actividad de la glucosidasa disminuyó ( 0.44 mU/mg de proteína) (Figura 14).

## CONCLUSIONES

- 1.- En el páncreas se encuentra adyacente a la región de los ciegos pilóricos. En el páncreas se identificaron las células acinares, correspondientes a la región exócrina así como los islotes de Langerhans.
- 2.- De acuerdo a las temperaturas registradas en el año 2010, el patrón de estacionalidad presenta el reportado para la región un periodo cálido (mayo-octubre) y un periodo frío (noviembre- abril).
- 3.-La temperatura fue el factor que mayor influenció en el reclutamiento y crecimiento de los juveniles silvestres de la zona de captura. En época de nortes en la zona de captura se registró la temperatura más baja la cual se incrementó en secas y alcanzó su valor más alto en la época de lluvias, generando una mayor disponibilidad del alimento y favoreciendo la presencia de individuos de tallas y pesos mayores en lluvias además de los valores de glucógeno y glucosa más altos.
- 4.- Las variaciones metabólicas y hematológicas (glucosa, glucógeno y hematocrito), se presentaron en función de la variación de la disponibilidad del alimento en la zona de captura y de la temperatura. El aumento del hematocrito en nortes parece encontrarse más relacionado con el aumento en los niveles de hierro en el medio pero también se puede asociar como respuesta al estrés generado por las bajas temperaturas presentes en el mes de abril.
- 5.- Durante las tres épocas del año se encontró la mayor actividad específica de la amilasa en los ciegos pilóricos y menor en los intestinos, sin embargo cuando la comparación se hizo entre estaciones no se encontraron diferencias significativas.
- 6.-La actividad de la glucosidasa fue significativamente mayor en los juveniles de la época de nortes, y menor en la de lluvias debido a que en la época de lluvias aumentaron las presas preferenciales de *E. morio*, obteniendo energía de la proteína de las presas. En nortes la disponibilidad de las presas preferenciales del *E. morio* fue menor por lo que los juveniles tuvieron que

utilizar vías alternas de obtención de energía obteniendo como resultado la mayor actividad de glucosidasa en nortes.

#### 4.-REFERENCIAS

Alliot, E., 1967. Absorption intestinale de IVN-acetyl-glucosamine chez la petite rousette (*Scylliorhinus canicula*). C. R. Seanes Soc. Biol. 161, 2544–2546.

Benmounda , M.f. Jaspas- Versali M.F., Toussant and Ch. Jeaniux (1986). A Comparative Study of Chitinase Activity in Digestive Tract of *Serranus cabrilla* and *Serranus scriba*. *Biochemical Systemadc and Ecology*, Vol. 14, No. 4, pp. 435-437, 1986.

Boonyaratpalin, M., 1997. Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia. *Aquaculture* 151, 283.313.

Brulé T., y Dénel C. (1996). Biological Research on the red Grouper (*Epinephelus morio*) from the Southern Gulf of Mexico. CINVESTAV , México, Yucatán.

Bullock, L. H. and Smith G.B. (1991) Seabasses (Pisces: Serranidae). *Hem. Hourglass Cruises* 7:1-243.

Burgós , R. Moreno V., Cintreras M; Monroy C. y Pérez M. (1996). Análisis estacional de captura , esfuerzo y captura por unidad de esfuerzo del mero *E. morio* desembarcado en Progreso Yucatán durante 1994.

- Chakrabarti, I., Gani, M.A., Chaki, K.K., Sur, R. & Misra, K.K. (1995) Digestive enzymes in 11 freshwater teleost fish species in relation to food habit and niche segregation. *Comp. Biochem. Physiol. A*, 112, 167–177.
- Chen, C. R. 2000. Historical development of aquaculture in Taiwan. *China Fisheries Monthly* 569:13-30.
- Chen, H. Y. and Tsai, J. C. 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. *Aquaculture* 119: 265-271.
- Chen, T. F. and Chen, L. L. 1986. The experiment for the development of artificial diet for the grouper *Epinephelus salmonides*. In: J. L. Chuang and S. Y. Shiau (Editors) *Research and Development of Aquatic Animal Feed in Taiwan, Vol. 1*. Fisheries Society of Taiwan, Keelung, Taiwan, pp. 95-100.
- Bernfeld, P., 1955. Sur une method de dosages des amylases. In *Methods in Enzymolog.*
- Chiu, Y.N. & Benitez, L.V. (1981) Studies on the carbohydrases in the digestive tract of the milkfish *Chanos chanos*. *Mar. Biol.*, 61, 247–254.
- Colowick Kaplan, O.C. (eds) Vol. 1. Academic Press. N.Y. pp. 149-154.
- Company, R., Calduch-Giner, J.A., Pérez-Sánchez, J., Kaushik, S.J., 1999. Protein sparing effect of dietary lipids in common dentex (*Dentex dentex*): a comparative study with sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat. Living Resour.* 12, 23–30.
- C.-X. Ye, Y.-J. Liu, K.-S. Mai, L.-X. Tian, H.-J. Yang, J. Niu & J.-W. Huang (2007). Effect of dietary iron supplement on growth, haematology and microelements of juvenile grouper, *Epinephelus coloides*. Nutrition Laboratory, Institute of Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou, China; 2 Laboratory of

Aquaculture Nutrition, College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao, China. Aquaculture Nutrition 13; 471–477

Daniels W. (2002). Bioestadística, aplicada a la ciencias de la salud y biología Edit Limusa 3ª edición.

Doi et al., 1981; Arreguín- Sánchez, 1996; Zetina-Moguel et al., 1996; Arreguín-Sánchez, 1997; Burgos y Defeo, 2000; INP 2000, 2004; Giménez-Hurtado, 2005; Burgos – Rosas y Pérez-Pérez, 2006).

Douglas, S.E., Mandla, S., Gallant, J.W., 2000. Molecular analysis of the amylase gene and its expression during development in the winter founder, *Pleuronectes americanus*. Aquaculture 190, 247–260.

Eckert E. (1998). Fisiología Animal: Mecanismos y Adaptaciones. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA DE ESPAÑA, S.A.U. 546 p.

Espinós, F.J., Tomas, A., Pérez, L.M., Balasch, S., Jover, M., 2003. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. Aquaculture 218, 479–490

Fontaine (1981). Nutrition des Poissons. Editions du Centre National De la Recherche Scientifique .Anatole , Francia. Paris.

García M.P., Echevería G., (1992). Influence of blood sample Collection on the hematocrit value of two teleosts: rainbow trout (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) and European sea bass (*DICENTRARCHUS LABRAX L.*). Camp. B&hem. Physiol. V ol. IOIA, No. 4, pp. 733-736, 1992

- Gimenez E., Anderes B., Moreno V. Y Burgos R ( 2001) Aspectos de la conducta alimentaria del mero (*Epinephelus morio*) del Banco de Campeche. INP: SAGARPA. México. Ciencia Pesquera No. 15.
- Guillaume J. et al., (2004) . Nutrición y alimentación de peces y crustáceos. IFREMER. Grupo Mundi Pesa.
- González, P.D., et al (1974) Biología pesquera de la cherna americana del Banco de Campeche . Res. Invest., Cuba 1:107-111. Chen, H. Y. and Tsai, J. C. 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. *Aquaculture* 119: 265-271.
- Guijarro et al , (2003). Seasonal changes in haematology and metabolic resources in the tench. *Journal of Fish Biology* (2003) 62, 803–815.
- Kawai, S.-I. & Ikeda, S. (1972) Studies on digestive enzymes of fishes II. Effects of dietary change on the activities of digestive enzymes in carp intestine. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 38, 265–270.
- Kato K et al (2004). Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory. *FISHERIES SCIENCE* ; 70: 1061–1069
- Krogdahl A., Rogdahl G.-I. Hemre & T.P. Mommsen (2005) Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition* 2005 11; 103–122.
- Kumar S., N. P. Sahu A. K. Pal D. Choudhury S. C. Mukherjee (2006) Studies on digestibility and digestive enzyme activities in *Labeo rohita* (Hamilton) juveniles: effect of microbial  $\alpha$ -amylase supplementation in non-gelatinized or gelatinized corn-based diet at two protein levels. *Fish Physiol Biochem* 32:209–220.

Hidalgo M.C, E. Urea y A. Sanz (1999).Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits.Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture* 170 \_1999. 267–283.

Leningher (2005) Principios de Bioquímica 4a edición Plaza Barcelona.

Lindsay, G. j. H. (1984).Adsorption of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) gastric lysozymes and chitinase by cellulose and chitin.*Aquaculture*, 42: 241-246.

López-Rocha y Francisco Arreguín Patrón Temporal de Movimientos del Mero *Epinephelus morio* en la Plataforma Continental Norte de la Península de Yucatán, México. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR.A.P. 128, La Paz, Baja California Sur 23000, México Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas del IPN. A.P. 592, La Paz, Baja California Sur 23000, México

Lowe yW. Davison (2005).Plasma osmolarity, glucose concentration and erythrocyte responses of two Antarctic nototheniid fishes to acute and chronic thermal change. *Journal of Fish Biology* (2005) 67, 752–766

Masahiro M. Yasuyuki A., Atsunobu H., Subaratnam M. y Kramer J. (2006). Substrate Specificity of Chitinases from Two Species of Fish, Greenling,.

Hexagrammos otakii, and Common Mackerel, *Scomber japonicus*, and the Insect, Tobacco Hornworm, *Manduca sexta*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70 (4), 971–979

Micha, J.C., Dandrifosse, G. and Jeuniaux, C., 1973. Distribution et localisation tissulaire de la synthese des chitinase chez les vertebres inferieurs. *Arch. Int. Physiol. Biochim.*,81: 439-451.

- Moe, M.A. 1969). Biology of the red grouper *Epinephelus morio* (Valenciennes) from the eastern Gulf of Mexico . Fla. Dep. Nat. Resour.Mar. Res. Lab.Prof. Pap. Ser. 10. 95 pp.
- Moyano FJ, Díaz M, Alarcón F, Sarasquete M (1996) Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish Physiology Biochemtry 15: 121-130.
- Overnell, J. (1973) Digestive enzymes of the pyloric caeca and of their associated mesentry in the cod (*Gadus morhua*). Comp. Biochem. Physiol. B, 46, 519–531.
- Papoutsoglou E.S., y A. R. Lyndond (2006). Digestive enzymes along the alimentary tract of the parrotfish *Sparisoma cretense*. Journal of Fish Biology (2006) 69, 130–140.
- Peisong M. Konda P. R. Woon, K. Chana y T.J. Lama, (2004).Hormonal influence on amylase gene expression during Seabass (*Lates calcarifer*) larval development General and Comparative Endocrinology 138 (2004) 14–19.
- Peisong M. Konda P. Reddy, Woon K. y T.J. Lam.(2004). Hormonal influence on amylase gene expression during Seabass (*Lates calcarifer*) larval development.General and Comparative Endocrinology 138 (2004) 14–19.
- Pérez-Díaz et al (1999). Aspectos sobre los Hábitos Alimenticios del Pargo del Golfo *Lutjanus campechanus* (P 1860) del Banco de Campeche, Yucatán, México. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN Unidad Mérida Km 6 antigua carretera a Progreso. C.P. 97310. Mérida, Yucatán, México

- Pérez-Jiménez A., Cardenete G., Moralea A., García-Alcázar, Abellán E., Hidalgo C. (2009) Digestive enzymatic profile of *Dentex dentex* and response to different dietary formulations. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 154 (2009) 157–164.
- Piñeiro R., Giménez V. Moreno R., y A. Betanzos. (2001) Características Térmicas del Banco de Campeche. Centro de Investigaciones Pesqueras. La Habana, Cuba.
- Polakof S, y J . Soengas (2008). Differential effects of in vivo and in vitro lactate treatments on liver carbohydrate metabolism of rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 151 (2008) 205–210.
- Post J., and Parkinson (2001). Energy Allocation Strategy in Young Fish: Allometry and Survival. *Ecology*. Vol 82 No. 4 pp 1040-1051.
- Shiau, S. Y. and Lan C. W. 1996. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145: 259-266.
- Skalli, A., Hidalgo, M.H., Abellán, E., Arizcun, M., Cardenete, G., 2004. Effects of the dietary protein/lipid ratio on growth and nutrient utilization in common dentex (*Dentex dentex* .) at different growth stages. *Aquaculture* 235, 1–11. : Teleostei). *Mar. Biol.* 144, 863–869.
- Sugita, H., Kawasaki, J. & Deguchi, Y. (1997) Production of amylase by the intestinal microflora in cultured freshwater fish. *Lett. Appl. Microbiol.*, 24, 105–108.
- Universidad de Murcia. Departamento de Anatomía Comparada <http://www.um.es/anatvet/Documentos/Curso-Peces>. Rev. 16 de Octubre 2009.

- Tovar D. Zambonino B., Cahu B, y Gatesoupe F.J.(2002)Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae .Aquaculture 204 2002 . 113–123.
- Yardley, D.G. & Wild, S.E. (1991) Effects of diet on amylase expression in the mosquitofish. Fish Physiol. Biochem., 9, 31
- Youson J. y Al-Mahourki (1999).Ontogenetic and Phylogenetic Development of the Endocrine Pancreas (Islet Organ) in Fishes. General and Comparative Endocrinology **116**, 303–335.
- Wilson R.P. (1994) Utilization of dietary carbohydrate by fish. Aquaculture. 124, 67-80.
- Yasutake, W.T., J. Wales. 1983. Microscopic Anatomy of Salmonids: An Atlas. <sup>1st</sup> ed., Resource Publication 150.Washington D.C., U.S.A.
- Hibiya, T. 1982.An Atlas of Fish Histology. Normal and Pathological Features. Kondansa Ltd. Tokyo, Japan