



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



**PROGRAMACIÓN NUTRICIONAL Y SU UTILIDAD EN EL DESARROLLO
DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) COMO MODELO
BIOMÉDICO EN ESTUDIOS DE DIABETES**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

ANTONIO GÓMEZ CRUZ

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. ROCÍO GUERRERO ZÁRATE

EN CODIRECCIÓN DE:

M. EN C. RONALD DE JESÚS CONTRERAS

VILLAHERMOSA, TABASCO. AGOSTO 2024.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 20 de Junio de 2024

ASUNTO: Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza al **C. ANTONIO GÓMEZ CRUZ** egresado de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: **"PROGRAMACIÓN NUTRICIONAL Y SU UTILIDAD EN EL DESARROLLO DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) COMO MODELO BIOMÉDICO EN ESTUDIOS DE DIABETES"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

A T E N T A M E N T E


**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica
C.c.p.- Interesado



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024
Felipe Carrillo
PUERTO**

MÉXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

JUNIO 20 DE 2024

**C. ANTONIO GÓMEZ CRUZ
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"PROGRAMACIÓN NUTRICIONAL Y SU UTILIDAD EN EL DESARROLLO DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) COMO MODELO BIOMÉDICO EN ESTUDIOS DE DIABETES"**, asesorado por la Dra. Rocío Guerrero Zarate y MCA. Ronald Jesús Contreras sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la Dra. Judith Andrea Rangel Mendoza, Dr. Nicolás Álvarez Pliego, Dra. Rocío Guerrero Zarate, MCA. Romaira Ramos Domínguez y Dra. Susana Camarillo Coop.

**A T E N T A M E N T E
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR**

C.c.p.- Expediente del Alumno.
Archivo.

**U.J.A.T.
DIVISIÓN ACADÉMICA
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



DIRECCIÓN



**UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024
**Felipe Carrillo
PUERTO**
PRESIDENTE DEL GOBIERNO
ESTADUAL DE YUCATAN
1911-1913
SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN
MEXICO

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIRECCIÓN**

20 de junio de 2024

C. Antonio Gómez Cruz
Pasante de la Lic. en Biología.
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (**Tesis**), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su documento de tesis "**Programación nutricional y su utilidad en el desarrollo del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) como modelo biomédico en estudios de diabetes**".

OBSERVACIONES:

Se excluyó bibliografía y se limitó el tamaño de coincidencias a 12 palabras.

RESULTADO DE SIMILITUD	6 %
	8384 palabras, 21 coincidencias, 9 fuentes

Finalmente, se le solicita al **C. Antonio Gómez Cruz**, integrar en la versión final del trabajo recepcional (Tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"


DR. ARTURO GARRIDO MORA
DIRECTOR



C.c.p. Dra. Rocío Guerrero Zárate. Directora de tesis.
C.c.p. Archivo

CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **"PROGRAMACIÓN NUTRICIONAL Y SU UTILIDAD EN EL DESARROLLO DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*) COMO MODELO BIOMÉDICO EN ESTUDIOS DE DIABETES"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 20 de Junio de Dos Mil Veinticuatro.

AUTORIZO



ANTONIO GÓMEZ CRUZ

DEDICATORIA

A Dios, mi única fuente de sabiduría, conocimiento y quien me dio las fuerzas necesarias después de todo lo que tuve que enfrentar durante la realización de esta tesis.

A Rosalba Cruz Valencia (mi madre) y Víctor Gómez López (abuelo) que están en el cielo, les prometí terminar este proyecto y titularme.

A mi padre Josué Gomez Rivera, mi hermano Elionai Gómez y toda mi familia en general, por el apoyo, ánimos, consejos y oraciones.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque gracias a Él pude terminar este proyecto, con su ayuda y aliento no hubiera podido lograr el objetivo.

A mi mamita hermosa que está en el cielo: gracias por tu amor, por el cuidado y por ayudarme a ser el hombre que soy, te extraño y te recuerdo todos los días. Un beso hasta el cielo, ¡LO LOGRÉ!

A mi padre Josué Gómez Rivera por sus consejos, su ayuda en todos los sentidos, por guiarme junto a mi madre a poder alcanzar todos mis objetivos y metas. A mi hermano Nai, por animarme a salir adelante y no dejarme vencer durante todo el proceso.

A mis abuelos y familia en general por sus oraciones principalmente, por alentarme a terminar y ser un profesionalista más de esta gran familia.

A mis directores de tesis, la Dra. Rocío y el Dr. Ronald, por la confianza, sobre todo la paciencia, la disposición y el apoyo que me brindaron en absolutamente todo porque sin sus observaciones y aportaciones no se hubiera podido llevar a cabo este proyecto.

Al Laboratorio de Fisiología en Recursos Acuáticos (LAFIRA) por recibirme de la mejor manera, brindarme el apoyo y nunca olvidaré ese gesto de cariño cuando estuve de luto, lo llevaré siempre en la mente y mi corazón.

A mis amigos de generación y los que se fueron sumando, son muchísimos, pero gracias a todos por haber compartido esta hermosa etapa de mi vida. En especial a: Nao, Lili, Ángel, Esli, Blanca, Medina, Mario; y con reconocimiento distinguido a mis siempre fieles amigos: Juan, Neto, Jeizer y Lupillo.

A mi mejor amiga Roxana, por estar siempre para mí y alentarme a terminar la tesis, por su cariño, las porras y ayudarme a distraerme cuando más estresado estaba.

RESUMEN

La *diabetes mellitus* consiste en una serie de alteraciones metabólicas que interfieren de manera directa en la producción y utilización de la hormona insulina, generando un incremento drástico de los niveles de glucosa en la sangre. La programación nutricional ha sido propuesta como una de las causas de diabetes. Recientes estudios han utilizado al pez cebra (*Danio rerio*) como modelo animal para determinar los cambios metabólicos que persistan durante el periodo post-larval bajo el efecto de la utilización de carbohidratos en su dieta. También se ha evaluado el metabolismo de la glucosa utilizando diferentes concentraciones glicémicas en la dieta del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). En esta investigación, se evaluó por medio de análisis de bioquímica sanguínea y actividad de enzimas digestivas (proteasas ácidas y alcalinas, lipasas y amilasas) la inducción de programación nutricional en el pejelagarto por medio de inmersiones en sacarosa en dosis de 0, 2 y 5%, durante dos lapsos de tiempo (9 y 15 días) en el periodo larvario, con la finalidad de proponer al pejelagarto como un organismo biomédico para el estudio de la diabetes. Los resultados demostraron una evidencia de variación en la concentración de colesterol y triglicéridos. Los niveles más bajos de colesterol se encontraron en los peces expuestos a las dosis de 0 y 5%, mientras que para triglicéridos la menor concentración se dio en la dosis de 5% sugiriendo una alteración en las rutas metabólicas de carbohidratos y una posible programación metabólica debido al estímulo recibidos mediante carbohidratos en la etapa de larvicultivo. La actividad enzimática digestiva mostró diferencias significativas con respecto a las dosis y el tiempo en el que los organismos fueron expuestos a los tratamientos, teniendo así la primera investigación en proponer al pejelagarto como un organismo modelo para futuros estudios en *diabetes mellitus*.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS	6
4. METODOLOGÍA.....	7
4.1 OBTENCIÓN DE ORGANISMOS	7
4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	7
4.3 CRECIMIENTO Y RETO CON DIETA ALTA EN CARBOHIDRATOS	8
4.4 TOMA DE MUESTRAS.....	10
4.5 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS PARA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA	10
4.6 ACTIVIDAD DE PROTEASAS	11
4.7 ACTIVIDAD DE LIPASAS Y AMILASAS	11
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	12
5. RESULTADOS.....	13
5.1 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA.....	13
5.2 ACTIVIDAD DE ENZIMAS DIGESTIVAS.....	15
6.DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIÓN	24
8. LITERATURA CITADA.....	25
ANEXO 1.....	36

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de alimentación e inmersiones alternadas en sacarosa y dieta reto alta en carbohidratos (35% maltodextrina)	8
Figura 2. Niveles de glucosa en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo	13
Figura 3. Niveles de colesterol en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo.....	
Figura 4. Niveles de triglicéridos en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo	15
Figura 5. Actividad de proteasas ácidas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo.....	15
Figura 6. Actividad de proteasas alcalinas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo	16
Figura 7. Actividad de lipasas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo.....	17
Figura 8. Actividad de amilasas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo	18

LISTA DE TABLA

Tabla 1. Formulación y composición proximal de la dieta reto alta en carbohidratos suministrada a juveniles de *Atractosteus tropicus*..... 9

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

INTRODUCCIÓN

La *diabetes mellitus* consiste en una serie de alteraciones metabólicas que interfieren de manera directa en la producción y utilización de la hormona insulina, generando un incremento drástico de los niveles de glucosa en la sangre (Conget, 2002). Los modelos animales para estudios de diabetes o acerca de nuevos tratamientos para esta enfermedad suelen emplearse desde hace muchos años. Los primeros modelos biomédicos fueron perros pancreatectomizados para estudios del mecanismo de absorción de grasas en el intestino; a partir de allí se han utilizado diversos animales, entre ellos cerdos, gatos, primates, roedores y más recientemente peces (Rees y Alcolado, 2005).

Se ha demostrado que en mamíferos la aplicación de ciertos estímulos nutricionales en etapas tempranas del desarrollo puede dar como resultado cambios permanentes en el transcurso del crecimiento posnatal, influyendo en la salud y las regulaciones metabólicas durante la etapa adulta (Burdge y Lillycrop, 2010; Geurden et al., 2014,), este evento es denominado programación nutricional o programación metabólica (Hou y Fuiman, 2019; Panserat et al., 2019).

La programación nutricional ha sido propuesta como una de las causas de diabetes gestacional (Salehpour et al., 2021). Recientes estudios han utilizado como modelo al pez cebra (*Danio rerio*) para determinar los cambios metabólicos que persistan durante el periodo post-larval bajo el efecto de la utilización de carbohidratos en su dieta durante la etapa temprana de su vida (Fang et al., 2014; Rocha et al., 2014).

La diabetes en el pez cebra se ha inducido por diversos métodos, entre ellos inmersiones en glucosa, dietas ricas en carbohidratos, métodos químicos y genéticos (Salehpour et al., 2021). Sin embargo, los estudios de programación nutricional relacionados con la diabetes se han abordado en modelos animales mamíferos. Los registros de investigaciones con respecto al metabolismo de carbohidratos y programación nutricional en peces se han enfocado principalmente hacia su aprovechamiento en acuicultura, de tal forma que la mayoría de las especies investigadas son organismos teleósteos con importancia comercial, siendo

la especie más estudiada la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) (Polakof y Panserat, 2016).

Por otra parte, los lepisostéidos son peces ancestrales que han sido propuestos como organismos modelo debido a su mayor similitud genómica con humanos, tal como lo mencionan Braasch et al., 2016 en su estudio genómico basado en *Lepisosteos oculatus* lo cual derivó en proponer a esta especie como idónea para estudios biomédicos que impliquen condiciones fisiológicas y genéticas.

En México habitan dos especies de lepisostéidos, el catán (*Atractosteus spatula*) y el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Este último se extiende por todo el sureste mexicano y en zonas específicas de Centroamérica (Villa, 1982; Villalobos, 2010). Estudios recientes acerca de una evaluación sobre el metabolismo de la glucosa utilizando diferentes concentraciones de almidón de maíz en el pejelagarto, señalan una regulación en las rutas de la glucólisis y gluconeogénesis a partir de las actividades de las enzimas digestivas hexoquinasa (HK) glucoquinasa (GK), fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y fructosa-1,6-bifosfatasa (FBpasa) hasta una proporción carbohidratos (CHO)/lípidos (L) de 2.10. De igual manera se determinó que el pejelagarto es capaz de asimilar hasta un 22.5 % de carbohidratos en su dieta, incluso desde su etapa larval (Guerrero-Zárte, 2019).

Al ser *A. tropicus* una especie cercana a *L. oculatus*, que comparte características evolutivas propias de la familia Lepisosteidae, a partir de la información que se ha desarrollado en la especie respecto al metabolismo de carbohidratos, el pejelagarto puede ser usado como un organismo modelo para estudios de diabetes. Es por ello que el objetivo principal de este proyecto fue evaluar la inducción de programación nutricional en el pejelagarto por medio de inmersiones en sacarosa durante el periodo larvario.

ANTECEDENTES

La *diabetes mellitus* consiste en una serie de alteraciones metabólicas que interfieren de manera directa en la producción y utilización de la hormona insulina, generando un incremento drástico de los niveles de azúcar en la sangre (Conget, 2002)

Los primeros avances en el conocimiento del metabolismo y el aprovechamiento de los carbohidratos y glucosa en peces se inician a finales del siglo XIX con la primera descripción de los cuerpos de Brockmann y el descubrimiento de la insulina en peces teleósteos. Con la información obtenida, se utilizaron extractos de los cuerpos de Brockmann para tratar de manera clínica la diabetes en humanos, aunque todavía no se tenía conocimiento amplio de las funciones de la insulina y los carbohidratos en peces; sin embargo, un estudio realizado en 1950 confirmó que algunos peces presentan una severa intolerancia a la administración oral de la glucosa (Polakof et al., 2012).

Se han registrado estudios donde resaltan la capacidad metabólica de los peces para aprovechar la glucosa en su sistema, a diferencia de ciertas especies de vertebrados, debido a que poseen un menor porcentaje de glucosa en sangre y la no afectación al soportar periodos largos sin ingerir alimentos (Chavin y Young, 1970). En peces teleósteos, se han descrito ciertas especies clasificadas como intolerantes de glucosa, presentando niveles elevados de glicemia principalmente en organismos carnívoros (Polakof et al., 2012) teniendo como hipótesis los escasos receptores de insulina y un notable desbalance entre el aprovechamiento de la glucosa hepática (glucólisis) y la síntesis de glucosa (gluconeogénesis) (Enes et al., 2008; Panserat, Médale, Brèque et al., 2000; Polakof et al., 2011) aunque esta condición puede diferir entre organismos de la misma especie, por lo cual se sugirió a una posible programación respecto al aprovechamiento de los carbohidratos (Fang et al., 2014; Gong et al., 2015; Rocha et al., 2016).

La trucha arcoíris (*O. mykiss*) ha sido una de las especies de teleósteos que ha sobresalido en el estudio de los carbohidratos y su metabolismo en peces, debido

a que es un pez intolerante a la glucosa y carece de inhibidores de la gluconeogénesis cuando en la sangre se concentran niveles altos de glucosa (Panserat et al., 2001). De igual modo, estudios basados en programación metabólica realizados en el pez cebra señalan la importancia del suministro de hidratos de carbono en las dietas desde el larvicultivo para lograr una programación nutricional que se refleje en una etapa adulta (Fang et al., 2014; Rocha et al., 2014).

En un estudio desarrollado por Fang et al. (2014) se registró una disminución de los niveles de glucosa en el plasma en los grupos de tratamientos con respecto a los grupos control, en peces que durante la etapa larval fueron alimentados con altas concentraciones de carbohidratos. Esto señala una mejor captación de la glucosa en los tejidos y la aceptación de una dieta alta carbohidratos.

Por otra parte, los lepisostéidos son peces ancestrales que han sido propuestos como organismos modelo debido a su mayor similitud genómica con humanos, tal como lo menciona Braasch et al. (2016) en su estudio genómico basado en *Lepisosteos oculatus*. Sin embargo, son escasos los estudios acerca de la fisiología y metabolismo de carbohidratos en lepisostéidos (Guerrero-Zárte, 2019; Guerrero-Zárte et al., 2013, 2019, 2021).

En la actualidad se cuentan con siete especies de lepisostéidos en el continente americano. En el sureste mexicano habita el pejelagarto, una especie emblemática en la cultura tabasqueña que ha sido estudiado por más de 30 años. Los primeros estudios realizados fueron acerca de su biología reproductiva, comportamiento y sus principales hábitos alimenticios para determinar el potencial económico que esta especie; aunado a ello, se hizo una descripción sobre el manejo tecnológico para su cultivo en cautiverio y repoblación (Chávez et al., 1989; Márquez-Couturier, 1999; Reséndez & Salvadores, 1983).

Estudios con fines nutricionales evaluaron el requerimiento proteico y de energía en prejuveniles y juveniles de pejelagarto, Jesús-Contreras (2008) señala una disminución en el requerimiento de proteínas (46% y 400 Kcal/100 g) en organismos juveniles de 7.0 g de peso con respecto a los prejuveniles de 0.6 g, los cuales tienen un requerimiento proteico del 49% mientras que el de energía se mantiene. Estudios

recientes acerca de una evaluación sobre el metabolismo de la glucosa utilizando diferentes concentraciones glicémicas en el pejelagarto (*A. tropicus*), señalan una regulación en las rutas de la glucólisis y gluconeogénesis a partir de las actividades de las enzimas digestivas hexoquinasa (HK) glucoquinasa (GK), fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y fructosa-1,6-bifosfatasa (FBpasa) hasta una proporción CHO/L de 2.10 a pesar de ser un organismo carnívoro. De igual manera se determinó que el pejelagarto es capaz de asimilar hasta un 22.5 % de carbohidratos en su dieta, incluso desde su etapa larval (Guerrero-Zárate, 2019).

México

OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar la inducción de programación nutricional en el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) por medio de inmersiones en sacarosa durante la etapa larvaria

Objetivos Específicos:

- Determinar los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol en el plasma sanguíneo en pejelagartos juveniles previamente sometidos a inmersiones en sacarosa en diferentes concentraciones (0, 2 y 5%) y tiempos de exposición (9 y 15 días) durante el periodo larval
- Determinar la actividad de las enzimas digestivas (proteasas, lipasas y amilasas) en pejelagartos juveniles previamente expuestos a inmersiones en sacarosa (0, 2 y 5%) durante dos tiempos de exposición (9 y 15 días) en su periodo larvario

4. METODOLOGÍA

4.1 OBTENCIÓN DE ORGANISMOS

Los organismos experimentales se obtuvieron de un desove inducido en el Laboratorio de Acuicultura Tropical de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México. Después de la eclosión una vez que las larvas presentaron nado libre, se sembraron 120 individuos de *A. tropicus* por unidad experimental.

4.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se probaron tres dosis: 0% (control), 2% y 5% de sacarosa, estas dosis se aplicaron durante dos diferentes tiempos (9 y 15 días).

Las larvas de pejelagarto fueron sometidas a seis tratamientos experimentales, cada uno con tres repeticiones; en total se manejaron 18 tinas (unidades experimentales) con un volumen de 70 L y alimentado por un sistema de recirculación, cada una con 120 organismos. Los tratamientos consistían en inmersiones alternadas en sacarosa a diferentes dosis y tiempos de exposición. Durante esta fase del experimento, los organismos se alimentaron con una dieta comercial para trucha (Silver Cup, El Pedregal, proteína 52%, lípidos 16%) que se alternó con *Artemia ssp* (nauplios y biomasa congelada) (Figura 1).



Figura 1. Esquema de alimentación e inmersiones alternadas en sacarosa y dieta reto alta en carbohidratos (35% maltodextrina) en el desarrollo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)

Se tomaron aleatoriamente 16 individuos de cada tina los cuales se anestesiaron con aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*) y posteriormente fueron sacrificados y pesados utilizando una balanza digital, y fueron medidas las longitudes totales con un vernier. Las muestras de tejidos se conservaron a -80° C para su análisis posterior.

4.3 CRECIMIENTO Y RETO CON DIETA ALTA EN CARBOHIDRATOS

El crecimiento de los organismos se realizó en un sistema de recirculación tipo RAS (Recirculating Aquaculture Systems) estructurado por un biofiltro y un sistema de aireación en el reservorio principal (Anexo 1). La temperatura se mantuvo 27.92 ± 1.00 °C durante el fotoperiodo natural (12:12), los parámetros de la calidad del agua fueron monitoreados diariamente durante el crecimiento de los peces. El pH del agua fue de 8.09 ± 0.24 (pH pen meter ST10 Ohaus, Parsippany, NJ), oxígeno disuelto 4.55 ± 0.34 mg/L (instrumento DO, YSI 55-12FT, Yellow Springs, OH), los nitratos y amonio 0.11 ± 0.07 mg/L (Kit de prueba de amoníaco, Mars Fishcare, Chalfont, PA). Posterior a las inmersiones en sacarosa, los organismos experimentales se llevaron a crecimiento durante 5 meses.

Se formuló una dieta alta en carbohidratos para la prueba de tolerancia a la glucosa, la cual contenía 35% de maltodextrina (Tabla 1). La dieta experimental se elaboró moliendo los macronutrientes, después fueron cribados y mezclados en conjunto. Los micronutrientes se añadieron a la mezcla; los ingredientes líquidos (aceite de pescado y lectina de soya) se integraron al final junto con cantidades específicas de agua. Los ingredientes mezclados se peletizaron y después se secaron a 50° C por 10 h en un horno de convección (Anexo 1). La mezcla fue triturada y cribada para

cubrir el tamaño específico de las partículas que se requerían en esta etapa de crecimiento de los organismos (250-1000 μm).

La composición proximal de la dieta fue realizada por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C Unidad de Servicios Analíticos y Metrológicos (USAM). La humedad fue calculada mediante gravimetría después de secar las muestras a 95-105° C (NMX-F-083-1986). El contenido de cenizas se determinó por gravimetría después de la incineración de las muestras a 500-600° C (NMX-F-607-NORMEX-2013). El extracto etéreo fue determinado con base a lo descrito en el Apéndice Normativo C, Numeral 1 de la NOM-086-SSA1-1994. El contenido de proteína cruda fue determinado mediante el método de Kjeldahl usando sistemas de destilación y titulación (NMX-F-608-NORMEX-2011). La fibra cruda se estimó usando el método de prueba declarado en la NMX-F-613-NORMEX-2017. Los carbohidratos totales se calcularon por diferencia de análisis proximal (Tabla 1).

Esta dieta alta en carbohidratos se aplicó a los individuos por una semana completa con una frecuencia de alimentación de cuatro raciones durante el día (07:30; 10:30; 13:30; 16:30 h), posterior a la aplicación de la dieta, esta se conservó en refrigeración a -20° C. Se utilizaron tres organismos por tratamiento para este reto, los cuales fueron alimentados conforme a la cantidad de biomasa obtenida de animales por tina.

Tabla 1. Formulación y composición proximal de la dieta reto alta en carbohidratos suministrada a juveniles de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.

Ingredientes	Composición absoluta (CHO 35%)
Harina de pescado	495
Maltodextrina	349.6
Aceite de pescado	80
Lecitina de soya	40.4
Grenetina	20
Vit.min premix	10
Vitamina C	5

Composición proximal (g/kg)	
Humedad	8.51
Cenizas	7,29
Grasas (extracto etéreo)	6,51
Proteínas	33,55
Fibra cruda	4,94
Carbohidratos totales	44,14

4.4 TOMA DE MUESTRAS

Posterior a la prueba de tolerancia a la glucosa, se tomaron el total de organismos de cada unidad experimental (tres organismos) y fueron anestesiados con aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*). Se realizó una biometría corporal final y se tomaron muestras individuales de sangre extraída mediante punción de la vena caudal utilizando jeringas heparinizadas (Anexo 1).

Las muestras de sangre se centrifugaron para obtener el plasma y así se determinó la glucosa por el método de glucosa oxidasa (G7521), los triglicéridos por reacción enzimática usando glicerol fosfato oxidasa (T7532), y el colesterol usando las enzimas colesterol esterasa y colesterol oxidasa (C7510). Los análisis se realizaron usando kits comerciales de Pointe Scientific (Michigan, USA) adaptados a un lector de microplacas (xMark™ Microplate Absorbance Spectrophotometer, Bio-Rad, California, USA).

4.5 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS PARA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA

Se extrajeron estómago e intestino de los peces (3 individuos por tratamiento), estos tejidos se procesaron para obtener extractos multienzimáticos, los cuales se mantuvieron en hielo para evitar la desnaturalización de las proteínas. Se determinó

la cantidad de buffer según la relación 1:2 (1g de tejido × 2ml de buffer) para después homogeneizar las muestras utilizando un homogenizador Ultra Turrax (modelo IKA T18 Basic) (Anexo 1)

Para las muestras de estómago se utilizó el buffer de glicina-HCL al 0.1 M pH 2 y para las muestras de intestino se agregó buffer Tris-HCL 30 mM + CaCl₂ 12.5 mM pH 7.5. El homogeneizado se colocó en tubos Eppendorf y fue centrifugado a 14,000 rpm × 30 min a 4° C (Centrifuge 5810 R Eppendorf), se extrajo el sobrenadante libre de la capa de grasa y se colocaron en tubos para ser llevados a conservación. (Anexo 1)

4.6 ACTIVIDAD DE PROTEASAS

Se utilizó la técnica descrita por Anson (1938) para los análisis de proteasas ácidas utilizando 1 mL de hemoglobina al 1% en tampón glicina HCL 100 mM a pH 2 y 5 µL de ácido tricloroacético (TCA) al 20% y posteriormente se midió a 280 nm. Mientras que para la actividad de proteasas alcalinas se usó el método según Walter (1984) agregando caseína grado Hammarsten al 0.5% en tampón Tris-HCL 100 mM + CaCl₂ 10mM pH 9. (Anexo 1)

4.7 ACTIVIDAD DE LIPASAS Y AMILASAS

La actividad de lipasas se llevó a cabo utilizando lo descrito por Versaw et al. (1989) pero tomando como sustrato β-naftil caprilato a 100 mM disuelto en DMSO (Dimethyl sulfoxide, ACS reagent) midiendo el resultado a una absorbancia de 540 nm. Correspondiente a la actividad de α-amilasas (EC 3.2.1.1) fue determinado por el método de Robyt y Whelan (1968) usando almidón soluble al 2% en un tampón (100 mmol/L citrato-fosfato; 50 mmol/L NaCl, pH 7,5) con lectura de absorbancia a 600 nm. (Anexo 1)

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Los datos obtenidos de química sanguínea y actividad enzimática se analizaron utilizando un análisis de varianza de dos vías con nivel de significancia del 95%, previa comprobación de los supuestos de la estadística paramétrica. Se utilizó un análisis por medio de contrastes Tukey para las diferencias encontradas. Todos los análisis fueron realizados por medio del paquete estadístico StatGraphics Centurion XVII.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

5. RESULTADOS

5.1 BIOQUÍMICA SANGUÍNEA

La concentración de glucosa en plasma de pejelagartos juveniles no presentó diferencias significativas después de ser sometidos al reto de glucosa con respecto a la dosis de sacarosa ($F=1.07$ $n=3$ $p= 0.3514$) ni el tiempo de inmersión ($F=0.07$ $n=3$ $p=0.7915$) al que los organismos fueron expuestos durante el larvicultivo (Figura 2).

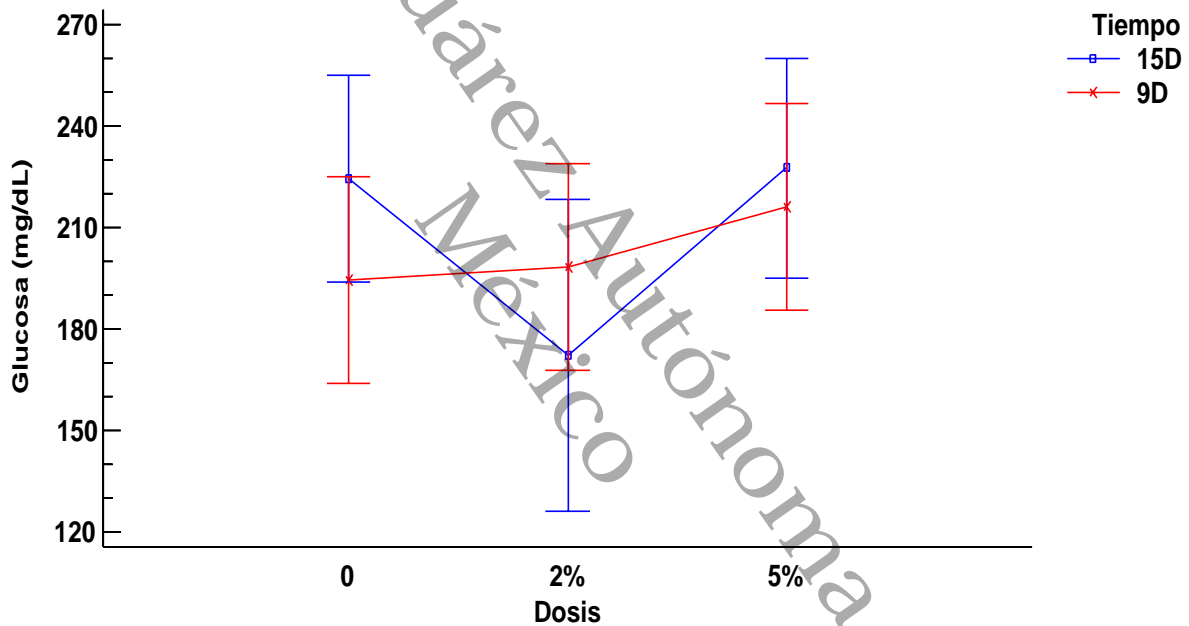


Figura 2. Niveles de glucosa en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, $n=3$

Las concentraciones de colesterol y triglicéridos en el plasma de los pejelagartos juveniles presentan diferencias significativas debido a la dosis de sacarosa a la que fueron expuestos durante su etapa larval ($P < 0.05$). Los niveles más bajos de colesterol se encuentran en los peces que fueron expuestos a las dosis de 0 y 5%

(Figura 3), mientras que para triglicéridos la menor concentración se dio en la dosis de 5%, las dosis control y 2% son estadísticamente semejantes (Figura 4). Tanto en triglicéridos como en colesterol no se observaron diferencias significativas debidas al tiempo de inmersión en sacarosa, o la interacción de los factores ($P>0.05$).

Figura 3. Niveles de colesterol en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, n=3

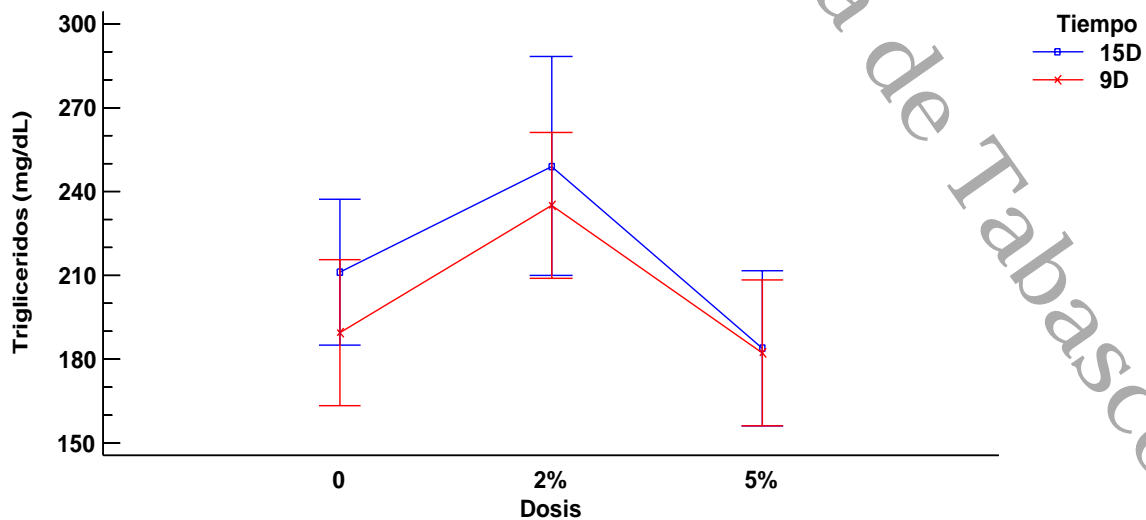


Figura 4. Niveles de triglicéridos en plasma después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, n=3

5.2 ACTIVIDAD DE ENZIMAS DIGESTIVAS

La actividad de proteasas ácidas presentó diferencias significativas con respecto al tiempo de exposición ($F=6.22$ $n=3$ $p=0.0164$). Los niveles más bajos se observaron a los 9 días de exposición (5800.9 ± 860.5 U/ml), mientras que el registro más alto se encontró en 15 días (9419.1 ± 6534.8 U/ml) (figura 5). No hubo diferencias significativas para dosis ($F=0$ $n=3$ $p=0.9987$) ni la interacción de factores ($F=0.22$ $n=3$ $p=0.8056$)

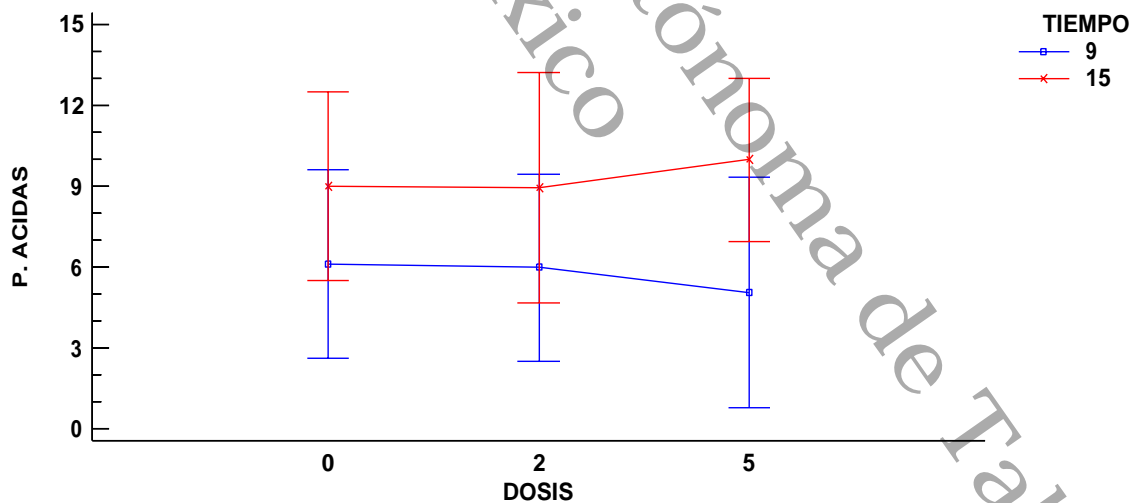


Figura 5. Actividad de proteasas ácidas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, n=3

Las proteasas alcalinas en pejelagartos juveniles mostraron diferencias significativas respecto a la dosis de sacarosa empleada en la etapa temprana

($F=5.06$ $n=3$ $p=0.0104$). Los niveles más bajos de proteasas alcalinas se observaron en los organismos sometidos a la dosis de 2% de sacarosa (691.6 ± 471.4 U/ml) a diferencia de los peces expuestos al 5% los cuales presentaron una mayor actividad (1150.4 ± 548.0 U/ml) (figura 6). No se registraron diferencias significativas para tiempo de exposición ($F=0.17$ $n=3$ $p= 0.6809$) ni en la interacción de factores ($F=2.75$ $n=3$ $p= 0.0748$).

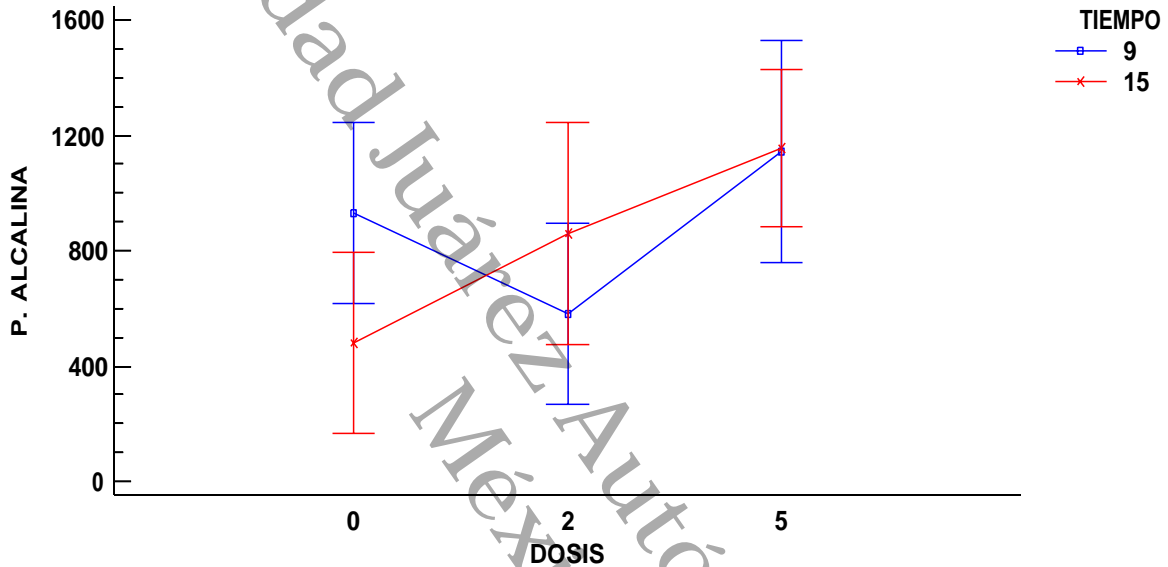


Figura 6. Actividad de proteasas alcalinas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, $n=3$

La actividad de lipasas mostró diferencias significativas con respecto a la dosis ($F=4.90$ $n=3$ $p= 0.0119$); la menor actividad se reflejó en la dosis de 2% (704.1 ± 376.1 U/ml) mientras que la mayor actividad se registró en la dosis control (907.4 ± 112.3 U/ml) (figura 7). No se registraron diferencias en tiempo ($F=2.89$ $n=3$ $p= 0.0962$) ni por la interacción de los factores ($F=0.86$ $n=3$ $p= 0.4314$).

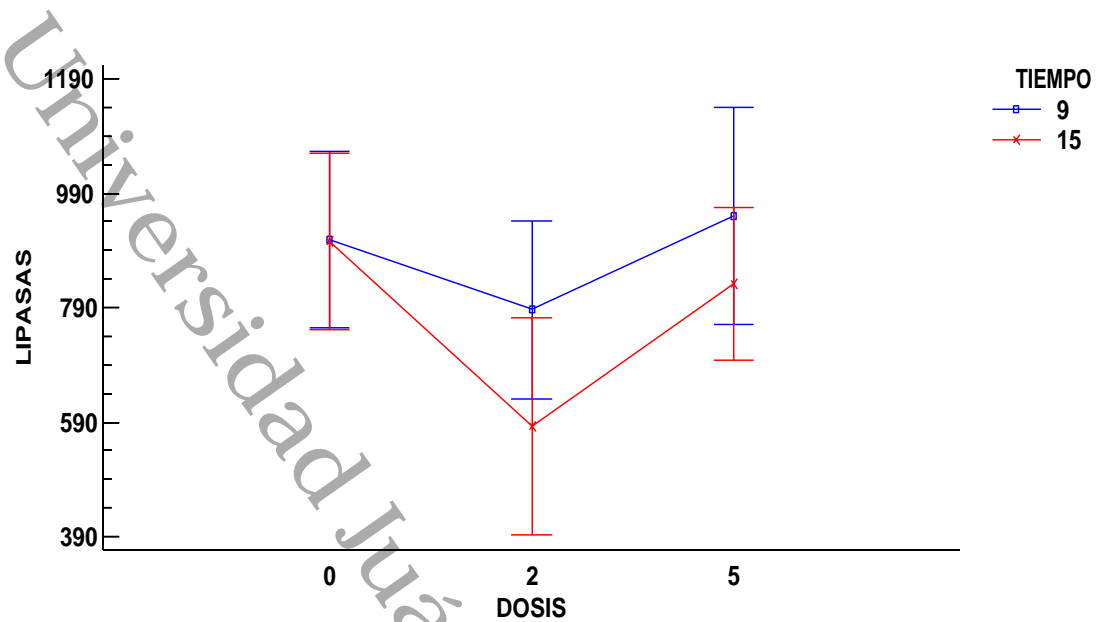


Figura 7. Actividad de lipasas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, n=3

De igual forma la actividad de amilasas presentó diferencias altamente significativas respecto a la dosis ($F=13.47$ $n=3$ $p=0.0001$), donde la dosis control tuvo una mayor actividad (1232.6 ± 310.0 U/ml) respecto de las dosis al 2 y 5% (figura 8). Así mismo, se registró una diferencia significativa en la interacción entre factores ($F=6.05$ $n=3$ $p=0.0047$), los organismos expuestos en la etapa temprana a la dosis de 2% tuvieron una disminución de actividad amilasa en la etapa juvenil al incrementarse el tiempo de exposición, mientras que los peces sometidos a la dosis de 5% aumentaron su actividad al incrementar los días de exposición (figura 8).

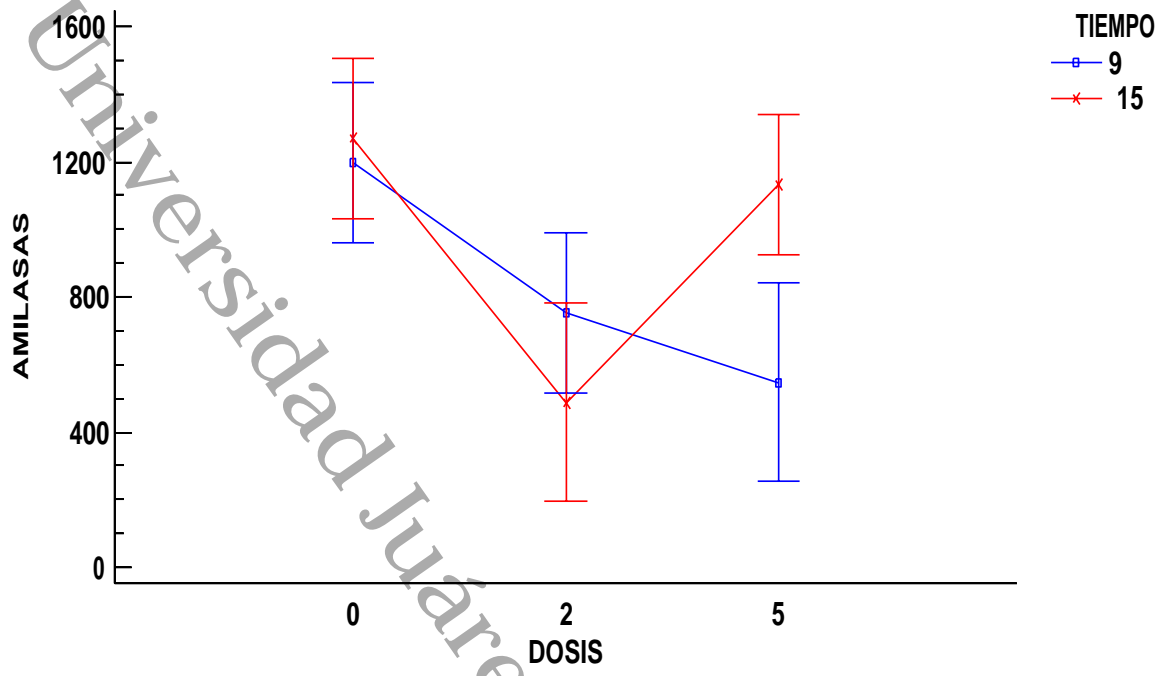


Figura 8. Actividad de amilasas después de someter a un reto con dieta alta en carbohidratos a pejelagartos previamente tratados con inmersiones alternadas en sacarosa con respecto al tiempo. Media \pm Intervalo de Tukey, n=3

6. DISCUSIÓN

Estudios realizados en peces juveniles de *Danio reiro* señala la regulación de las concentraciones de glucosa en el plasma al ser sometidos a inmersiones de glucosa al 2%, los cuales presentaron aumentos de glucosa en el plasma (en comparación con peces cebra de mayor edad) (Connaughton et al., 2016). De igual forma, se ha comprobado que una dieta con MD (maltodextrina) al 60% desde la primera etapa de alimentación después del agotamiento del saco vitelino disminuye la concentración de glucosa en plasma en organismos adultos y del mismo modo, controla la ruta de la gluconeogénesis mediante una programación nutricional en los peces cebra adultos al disminuir la expresión del gen que codifica la enzima fosfoenol piruvato carboxiquinasa (PECPK), clave en la conversión del piruvato en fosfoenol piruvato durante la gluconeogénesis (Fang et al., 2014).

En el presente estudio, no se observaron diferencias significativas con respecto a la concentración de la glucosa en la sangre en pejelagartos juveniles que previamente fueron expuestos a inmersiones en sacarosa, esto concuerda con estudios realizados en la trucha arcoíris (Geurden et al., 2007) donde un estímulo temprano no mostró alteraciones en rutas metabólicas de la glucosa como la gluconeogénesis y glucólisis. Los autores decidieron aumentar la duración de la exposición a carbohidratos en la dieta tomando en cuenta lo señalado por diversos estudios donde destacan la importancia de aplicar las dosis de carbohidratos durante la ventana crítica de alimentación de los organismos en etapas tempranas (Fan X et al., 2010; Hidalgo et al., 1999). Por lo que se sugiere que en investigaciones futuras en *A. tropicus* se incrementen los días de exposición al estímulo tratando de encontrar la ventana crítica de inducción.

Guerrero-Zárate et al. (2019) en su estudio, refieren diferencias significativas en las concentraciones de colesterol y triglicéridos en plasma de *A. tropicus* a medida que disminuyó la relación carbohidratos/lípidos en las dietas suministradas a los peces en la etapa de larvicultivo, los resultados fueron atribuidos al aumento de la concentración de grasas en las dietas teniendo repercusiones en el metabolismo y

en el hígado. Así mismo, estudios de programación nutricional con almidón de maíz concuerdan con el aumento de concentración de triglicéridos en plasma de pejelagartos al disminuir la proporción de carbohidratos/lípidos, lo que sugiere un efecto de programación nutricional (Guerrero-Zarate et al., 2021).

Los resultados de la presente investigación son la primera evidencia en *A. tropicus* de variación en la concentración de colesterol y triglicéridos debida únicamente a un estímulo mediante inmersión en carbohidratos, sugiriendo una alteración en las rutas metabólicas de carbohidratos y lípidos, y una posible programación metabólica por medio de inmersiones en sacarosa durante un periodo lábil en el desarrollo del pejelagarto.

En estudios anteriores han utilizado los carbohidratos como una alternativa de fuente de energía para los peces al incluir cantidades de carbohidratos en las dietas que varían entre 10 y 20%, demostrando la aceptación de los organismos y registrando un crecimiento favorable (Lazo, 2000). En otras especies como la carpa común, la trucha arco iris (Yammamoto et al., 2001) y el mero (Shiau y Linn, 2002) los resultados señalan que no causan efectos adversos en cuanto a la digestibilidad, desarrollo y crecimiento. Es importante destacar la función que desempeñan las enzimas (proteasas, lipasas y amilasas) secretadas en el sistema digestivo, que permite la digestión de diversos nutrientes para poder ser absorbidos y metabolizados por el organismo (Buddington y Krogdahl, 2004)

Los resultados muestran un aumento en la actividad de proteasas ácidas en el grupo de organismos expuestos a las inmersiones en sacarosa durante 15 días, concordando con lo reportado por Frías-Quintana et al (2016) donde muestran una actividad mayor de las proteasas ácidas (pepsina) del estómago por encima de las proteasas alcalinas intestinales en larvas de *A. tropicus* alimentadas con 15% de almidón de maíz en la dieta, asegurando que la digestibilidad ácida en el estómago tiende a producir una mejoría en la hidrólisis de proteínas y carbohidratos, al igual que en estudios realizados en el atún rojo (*Thunnus thynnus*) (Essed et al., 2002); por lo tanto, el resultado de tener una mayor actividad proteasa ácida indica la presencia de un estómago y glándulas funcionales bien desarrolladas lo cual es

característico de especies monogástricas (Frias-Quintana et al., 2010, 2016; Moyano, 1996; Wang et al., 2006). Esto demuestra que las proteasas acidas actúan mejor en inmersiones prolongadas debido a la maduración de los enterocitos en el intestino, los cuales terminan la absorción de los nutrientes ingeridos (Infante y Cahu, 2001)

Por otra parte, el aumento de la actividad de proteasas alcalinas en respuesta al incremento de la dosis de sacarosa (5%) en los organismos de *A. tropicus*, coincide con lo informado por Frias-Quintana et al. (2016) quienes señalan que al aumentar la cantidad de almidón de maíz en la dieta del pejelagarto existe un incremento de la actividad de endoproteasas alcalinas como tripsina y quimotripsina, así como las exopeptidasas como leucina aminopeptidasa y carboexopeptidasa las cuales tienen presencia desde periodos post-eclosion, al igual que en especies como *Anoplarchus purpureus* y *Sander lucioperca* (Chan et al., 2004; Hamza et al, 2007). De igual forma, el aumento o disminuciones en las actividades de estas enzimas se han usado para determinar la calidad nutricional mediante la maduración en los enterocitos en larvas de lubina europea (*Dicentrarchus labrax*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), mojarra castarrica (*Cichlasoma urophthalmus*) dependiendo la cantidad suministrada en la dieta (Hakim et al., 2007; López-Ramírez et al. 2010).

De igual forma, se evaluó la actividad de α -amilasa la cual ha mostrado un efecto positivo a la inclusión de carbohidratos en las dietas de los peces (Polakof et al., 2012). En mamíferos, esta enzima se produce en las células salivales y pancreáticas, hasta ahora en los peces la presencia de la α -amilasa ha sido descrita en el páncreas exocrino (Krogdahl et al., 2005) donde la capacidad de esta enzima para hidrolizar polisacáridos consumidos a través de la dieta ha tenido mayor eficiencia en especies herbívoras y omnívoras tales como la carpa común (*Cyprinus carpio*) y la dorada (*Carassius auratus*) (Fernandez et al., 2001). En contraste a ello, en las especies carnívoras esta enzima no ha tenido registros eficientes en la digestibilidad de niveles altos de carbohidratos en las dietas suministradas como lo reportado por Krogdahl et al. (2005) en la trucha arcoíris (*O. mykiss*).

En esta investigación se observaron diferencias altamente significativas con respecto a la dosis y la interacción entre factores (dosis/tiempo), los organismos de la dosis control mostraron mayor actividad de amilasa en comparación de las otras dosis (2 y 5%); es importante destacar que los resultados también mostraron que una dosis de sacarosa (2%) aplicada en la etapa temprana tiende a disminuir los niveles de amilasa en la etapa juvenil en los organismos de *A. tropicus* al incrementarse los días de exposición, mientras la dosis al 5% aplicada por 15 días tiende a incrementar la actividad amilasa, lo cual señala una posible programación metabólica. Esto concuerda con lo informado por Guerrero-Zarate et al. (2019) y por Frias-Quintana et al (2016, 2017) donde la actividad de amilasa se expresa de mayor manera a medida que aumenta la inclusión de carbohidratos en dietas suministradas. De igual forma, la presencia de esta enzima ha sido señalada como un indicativo de la posibilidad de usar a los carbohidratos como fuente de energía durante la alimentación en etapas tempranas de los peces carnívoros, aunque aún se requieren más estudios (Cahu et al., 2004)

También se observó un aumento significativo en la actividad de lipasas con respecto a la dosis, donde los organismos expuestos a inmersiones de 2% de sacarosa mostraron menor actividad con respecto a la dosis 5%, teniendo así a la dosis control con la mayor presencia de actividad de lipasas. Estudios anteriores también indicaron la modificación en la actividad de las lipasas al suministrar dietas con carbohidratos, lo cual favorecen en los diversos procesos metabólicos al impulsar una buena digestión de lípidos y la posible absorción de productos por medio de la hidrólisis (Frias-Quintana et al., 2015) como se ha reportado en otras especies (Comabella et al., 2006; Cuvier-Péres y Kestemont, 2002; Eusebio et al., 2004; Perez-Cassanova et al., 2006)

Si bien es cierto, se ha descrito la capacidad digestiva que tiene el pejelagarto desde los 15 días después de eclosión, así como a lo largo de todo su desarrollo ontogénico hasta llegar a etapas adultas, esto fue concluido mediante el estudio de las actividades de enzimas proteolíticas, amilasas y lipasas en larvas de *A. tropicus* (Frias-Quintana et al., 2010; Guerrero-Zárate et al., 2013). De acuerdo con esto, los

resultados de la presente investigación señalan que el pejelagarto puede tener una alteración en el metabolismo intermediario a largo plazo en sus etapas por lo menos hasta la etapa juvenil al ser sometidos en inmersiones de sacarosa a diferentes concentraciones durante un determinado periodo de tiempo.

Para ser considerado un organismo modelo en el estudio de enfermedades humanas, este tiene que poseer características fisiológicas similares en los tejidos u órganos a estudiarse, así como las diferentes afectaciones o cambios que presenten por dicha enfermedad tal como como en algunos organismos teleósteos como el pez cebra el cual se utilizó en un estudio de retinopatía diabética donde se indujo hiperglicemia mediante inmersiones en glucosa (Glesson et al., 2007)

Debido a la capacidad de supervivencia del pejelagarto a las inmersiones en sacarosa, la variación en sangre de la concentración de colesterol y triglicéridos en respuesta al estímulo recibido en su etapa larval y la modificación de actividades de enzimas digestivas (proteasas, lipasas y amilasas) mediante inmersiones alternadas en sacarosa, y de acuerdo con los requisitos que se necesitan para que una especie sea considerada organismo modelo, se propone al pejelagarto como un nuevo modelo biomédico para investigaciones en *diabetes mellitus* teniendo en cuenta que no se tiene ningún registro de la utilización de esta especie como modelo de enfermedades; siendo así la primera investigación con respecto a este tema.

7. CONCLUSIÓN

En el desarrollo del pejelagarto, las concentraciones de colesterol y triglicéridos en sangre varían en relación con las inmersiones en carbohidratos recibidos en la etapa de larvicultivo, sugiriendo una alteración en las rutas metabólicas de carbohidratos y lípidos, y una posible programación metabólica por medio de inmersiones en sacarosa durante un periodo lábil en el desarrollo de *A. tropicus*, teniendo así la primera evidencia de este tipo.

De igual forma, la inmersión en carbohidratos durante la etapa inicial de desarrollo modifica la actividad de las enzimas digestivas (proteasas ácidas y alcalinas, lipasas y amilasas) las cuales contribuyen en la digestibilidad de nutrientes por medio de hidrólisis y la absorción de los productos. El resultado de las actividades de estas enzimas muestra la posibilidad de usar los carbohidratos como fuente de energía durante las primeras etapas de crecimiento del pejelagarto y una modificación en el metabolismo intermediario.

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio, y considerando que el pejelagarto cumple con los diferentes requisitos para ser tomado como modelo animal, se propone a este organismo como un nuevo modelo biomédico para futuros estudios de los mecanismos, tratamientos y aplicaciones sobre *diabetes mellitus*.

8. LITERATURA CITADA

- Aizu, Y., Oyanagi, K., Hu, J., & Nakagawa, H. (2002). Degeneration of retinal neuronal processes and pigment epithelium in the early stage of the streptozotocin-diabetic rats. *Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology*, 22(3), 161–170. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1789.2002.00439.x>
- Anson, M. L. (1938). THE ESTIMATION OF PEPSIN, TRYPSIN, PAPAIN, AND CATHEPSIN WITH HEMOGLOBIN. *The Journal Of General Physiology/The Journal Of General Physiology*, 22(1), 79-89. <https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79>
- Barber, A. J. (2003). A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27(2), 283–290. [https://doi.org/10.1016/s0278-5846\(03\)00023-x](https://doi.org/10.1016/s0278-5846(03)00023-x)
- Barber, A. J., Antonetti, D. A., Kern, T. S., Reiter, C. E. N., Soans, R. S., Krady, J. K., Levison, S. W., Gardner, T. W., & Bronson, S. K. (2005). The Ins2Akitamouse as a model of early retinal complications in diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 46(6), 2210. <https://doi.org/10.1167/iovs.04-1340>
- Braasch, I., Gehrke, A. R., Smith, J. J., Kawasaki, K., Manousaki, T., Pasquier, J., Amores, A., Desvignes, T., Batzel, P., Catchen, J., Berlin, A. M., Campbell, M. S., Barrell, D., Martin, K. J., Mulley, J. F., Ravi, V., Lee, A. P., Nakamura, T., Chalopin, D., ... Postlethwait, J. H. (2016). *The spotted gar genome illuminates vertebrate evolution and facilitates human-teleost comparisons*. *Nature Genetics*, 48(4), 427–437. <https://doi.org/10.1038/ng.3526>
- Buddington, R. K., & Kroghdahl, Å. (2004). Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 139(3), 261–271. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.09.007>

- Burdge, G. C., & Lillycrop, K. A. (2010). Nutrition, Epigenetics, and Developmental Plasticity: Implications for Understanding Human Disease. *Annual Review Of Nutrition*, 30(1), 315-339. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104751>
- Cahu, C., Rønnestad, I., Grangier, V., & Zambonino Infante, J. L. (2004). Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein; involvement of cholecystokinin. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 238(1-4), 295-308. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.013>
- Chan, A. S., Horn, M. H., Dickson, K. A., & Gawlicka, A. (2004). Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: comparisons among four closely related prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat. *Journal Of Fish Biology*, 65(3), 848-858. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00495.x>
- Chávez- Lomelí, M. C., Mattheeuws, A. E., & Pérez-Vega, M. H. P. (1989). Biología de los peces del rio San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura (1st ed.). Xalapa, Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB).
- Chavin, W., & Young, J. E. (1970). Factors in the determination of normal serum glucose levels of goldfish, *Carassius auratus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 33(3), 629-653. [https://doi.org/10.1016/0010-406x\(70\)90376-2](https://doi.org/10.1016/0010-406x(70)90376-2)
- Comabella, Y., Mendoza, R., Aguilera, C., Carrillo, O., Hurtado, A., & García-Galano, T. (2006). Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(2), 147-157. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-0007-4>
- Conget, I. (2002). Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Revista española de cardiología*, 55(5), 528-538.

- <https://www.revespcardiol.org/es-diagnostico-clasificacion-patogenia-diabetes-mellitus-articulo-13031154>
- Connaughton, V. P., Baker, C., Fonde, L., Gerardi, E., & Slack, C. (2016). Alternate immersion in an external glucose solution differentially affects blood sugar values in older versus younger zebrafish adults. *Zebrafish*, 13(2), 87–94. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1155>
- Cuvier-Péres, A., & Kestemont, P. (2001). Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(4), 279–285. <https://doi.org/10.1023/a:1015033300526>
- Deng, D.-F., Refstie, S., & Hung, S. S. O. (2001). Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 199(1–2), 107–117. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(01\)00515-4](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00515-4)
- Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., & Oliva-Teles, A. (2008). Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 274(1), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.009>
- Essed, Z., Fernández, I., Alarcón, F. J., & Moyano, F. J. (2002). Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 18(1), 99-107. <http://www.repositorio.ieo.es/e-ieo/bitstream/handle/10508/1235/170-169-1-PB.pdf?sequence=3>
- Eusebio, P. S., Toledo, J. D., Mamauag, R. E. P., & Bernas, M. J. G. (2004). Digestive enzyme activity in developing grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Advances in grouper aquaculture*, CIAR Monograph.

- Fan, X., Klein, M., Flanagan-Steet, H. R., & Steet, R. (2010). Selective yolk deposition and mannose phosphorylation of lysosomal glycosidases in zebrafish. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(43), 32946–32953. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.158295>
- Fang, L., Liang, X.-F., Zhou, Y., Guo, X.-Z., He, Y., Yi, T.-L., Liu, L.-W., Yuan, X.-C., & Tao, Y.-X. (2014). Programming effects of high-carbohydrate feeding of larvae on adult glucose metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. *The British Journal of Nutrition*, 111(5), 808–818. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003243>
- Fernández, I., Moyano, F. J., Díaz, M., & Martínez, T. (2001). Characterization of amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 262(1), 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0022-0981\(01\)00228-3](https://doi.org/10.1016/s0022-0981(01)00228-3)
- Frías-Quintana, C. A., Álvarez-González, C. A., & Márquez-Couturier, G. (2010). Diseño de microdietas para el larvicultivo de pejelagarto *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad y ciencia*, 26(3), 265-282.
- Frías-Quintana, C., Álvarez-González, C., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Peña, E., & Galaviz, M. (2017). Use of potato starch in diets of tropical gar (*Atractosteus tropicus*, gill 1863) larvae. *Fishes*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.3390/fishes2010003>
- Frías-Quintana, C. A., Domínguez-Lorenzo, J., Álvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., & Martínez-García, R. (2016). Using cornstarch in microparticulate diets for larvicultured tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2), 517–528. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0156->
- Frías-Quintana, C. A., Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M. A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R., & Gisbert, E. (2015). Development of digestive tract and enzyme activities during the early

- ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(5), 1075–1091. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0070-9>
- Fynn-Aikins, K., Hung, S. S., & Hughes, S. G. (1993). Effects of feeding a high level of D-glucose on liver function in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(4), 317–325. <https://doi.org/10.1007/BF00004416>
- Geurden, I., Aramendi, M., Zambonino-Infante, J. L., & Panserat, S. (2007). Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with a hyperglucidic diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. *American Journal Of Physiology. Regulatory, Integrative And Comparative Physiology/American Journal Of Physiology. Regulatory, Integrative, And Comparative Physiology*, 292(6), R2275-R2283. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00444.2006>
- Geurden, I., Mennigen, J., Plagnes-Juan, E., Veron, V., Cerezo, T., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J., Gatesoupe, J., Skiba-Cassy, S., & Panserat, S. (2014). High or low dietary carbohydrate:protein ratios during first-feeding affect glucose metabolism and intestinal microbiota in juvenile rainbow trout. *Journal Of Experimental Biology*, 217(19), 3396-3406. <https://doi.org/10.1242/jeb.10606>
- Gleeson, M., Connaughton, V., & Arneson, L. S. (2007). Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. *Acta Diabetologica*, 44(3), 157–163. <https://doi.org/10.1007/s00592-007-0257-3>
- Gong, G., Xue, M., Wang, J., Wu, X.-F., Zheng, Y.-H., Han, F., Liang, X.-F., & Su, X.-O. (2015). The regulation of gluconeogenesis in the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) affected later in life by a short-term high-glucose programming during early life. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 436, 127–136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.044>

- Guerrero-Zárate, R., Jesús-Contreras, R., & Álvarez-González, C. A. (2021). Programación nutricional en el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*): efecto del almidón de maíz sobre la bioquímica sanguínea. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(6), 11853–11867. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i6.1203
- Guerrero Zárate, R. (2019). Estudio del metabolismo de la glucosa bajo diferentes condiciones glicémicas en el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*).
- Guerrero-Zárate, R., Alvarez-González, C. A., Olvera-Novoa, M. A., Perales-García, N., Frías-Quintana, C. A., Martínez-García, R., & Contreras-Sánchez, W. M. (2013). Partial characterization of digestive proteases in tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(4), 1021–1029. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9902-7>
- Guerrero-Zárate, Rocío, Álvarez-González, C. A., Jesus-Contreras, R., Peña-Marín, E. S., Martínez-García, R., Galaviz, M. A., López, L. M., & Llera-Herrera, R. (2019). Evaluation of carbohydrate/lipid ratios on growth and metabolic response in tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile. *Aquaculture Research*, 50(7), 1812–1823. <https://doi.org/10.1111/are.14060>
- Hamza, N., Mhetli, M., & Kestemont, P. (2007). Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(2), 121–133. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-9123-4>
- Hakim, Y., Rowland, S. J., Guy, J. A., Mifsud, C., Uni, Z., & Harpaz, S. (2007). Effects of genetic strain and holding facility on the characteristics of alkaline phosphatase and brush border enzymes in silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture Research*, 38(4), 361-372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01674.x>
- Hidalgo, M. C., Urea, E., & Sanz, A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities.

- Aquaculture (Amsterdam, Netherlands), 170(3–4), 267–283. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(98\)00413-x](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(98)00413-x)
- Hou, Z., & Fuiman, L. A. (2020). Nutritional programming in fishes: insights from mammalian studies. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 30(1), 67–92. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09590-y>
- Infante, J. Z., & Cahu, C. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry And Physiology. Part C, Toxicology & Pharmacology/Comparative Biochemistry And Physiology. Toxicology & Pharmacology*, 130(4), 477-487. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(01\)00274-5](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00274-5)
- Jesus-Contreras, R. (2008). *Relación proteína/energía en juveniles de pejelagarto (Atractosteus tropicus) empleando dietas semipurificadas*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco]
- Krogdahl, A., Hemre, G.-I., & Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*, 11(2), 103–122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x>
- Lazo, J. P. (2000). Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. *Avances en Nutrición Acuícola*.
- López-Ramírez, G., Cuenca-Soria, C. A., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Ortiz-Galindo, J. L., Perales-García, N., Márquez-Couturier, G., Arias-Rodríguez, L., Indy, J. R., Contreras-Sánchez, W. M., Gisbert, E., & Moyano, F. J. (2010). Development of digestive enzymes in larvae of Mayan cichlid *Cichlasoma urophthalmus*. *Fish Physiology And Biochemistry*, 37(1), 197-208. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9431-6>
- Márquez-Couturier, G. (1999). Biología y tecnología para el cultivo del pejelagarto *Atractosteus tropicus* en el sureste de México. In IV Reunión Nacional de ReEdes de Investigación en Acuicultura- Reproducción y genética (pp. 265– 268). Cuernavaca, Morelos, México: INAPESCA. Retrieved from

- <https://docplayer.es/86099645-Memorias-iv-reunion-nacional-de-redes-de-investigacion-en-acuicultura-secretaria-de-medio-ambiente-recursos-naturales-y-pesca.html>
- Moyano, F. J., Díaz, M., Alarcón, F. J., & Sarasquete, M. C. (1996). Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology And Biochemistry*, 15(2), 121-130. <https://doi.org/10.1007/bf01875591>
- Panserat, S., Capilla, E., Gutierrez, J., Frappart, P. O., Vachot, C., Plagnes-Juan, E., Aguirre, P., Brèque, J., & Kaushik, S. (2001). Glucokinase is highly induced and glucose-6-phosphatase poorly repressed in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by a single meal with glucose. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 128(2), 275–283. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(00\)00322-5](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(00)00322-5)
- Panserat, S., Skiba-Cassy, S., Seilliez, I., Lansard, M., Plagnes-Juan, E., Vachot, C., ... Moon, T. W. (2009). Metformin improves postprandial glucose homeostasis in rainbow trout fed dietary carbohydrates: a link with the induction of hepatic lipogenic capacities? *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297(3), R707–R715. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00120.2009>
- Panserat, S., Marandel, L., & Seilliez, I. (2019). New Insights on Intermediary Metabolism for a Better Understanding of Nutrition in Teleosts, (November 2018), 1–26.
- Panserat, S., Médale, F., Blin, C., Brèque, J., Vachot, C., Plagnes-Juan, E., Gomes, E., Krishnamoorthy, R., & Kaushik, S. (2000). Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278(5), R1164-70. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.278.5.R1164>

- Pérez, C., & Elizabeth, R. (2018). Efectos de la programación nutricional materna en la homeostasis energética y la dinámica mitocondrial en el hipotálamo de rata. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Perez-Casanova, J. C., Murray, H. M., Gallant, J. W., Ross, N. W., Douglas, S. E., & Johnson, S. C. (2006). Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 251(2–4), 377–401. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.06.007>
- Bobyt, J. F. & Whelan, W. J. 1968 Amylases. In *Starch and its Derivatives* 4th edn, ed. J. A. Radley pp. 423–429. London : Chapman and Hall.
- Polakof, S., & Panserat, S. (2016). How Tom Moon's research highlighted the question of glucose tolerance in carnivorous fish. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 199, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2015.11.001>
- Polakof, Sergio, Mommsen, T. P., & Soengas, J. L. (2011). Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 160(4), 123–149. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.07.006>
- Polakof, Sergio, Panserat, S., Soengas, J. L., & Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 182(8), 1015–1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>
- Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of *diabetes mellitus*. *Diabetic Medicine*, 22(4), 359–370. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>
- Reséndez, A., & Salvadores, M. (1983). Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca *Petenia splendida* (Günther) del estado de Tabasco. *Biotica*, 8(4), 413–426. •

- Rocha, F., Dias, J., Engrola, S., Gavaia, P., Geurden, I., Dinis, M. T., & Panserat, S. (2014). Glucose overload in yolk has little effect on the long-term modulation of carbohydrate metabolic genes in zebrafish (*Danio rerio*). *The Journal of Experimental Biology*, 217(Pt 7), 1139–1149. <https://doi.org/10.1242/jeb.095463>
- Salehpour, A., Rezaei, M., Khoradmehr, A., Tahamtani, Y., & Tamadon, A. (2021). Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suits My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. *In Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.652061>
- Shiau, S.-Y., & Lin, Y.-H. (2002). Utilization of glucose and starch by the grouper *Epinephelus malabaricus* at 23°C. *Fisheries Science: FS*, 68(5), 991–995. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00523.x>
- Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., & Williams, L. E. (1989). An Improved Colorimetric Assay for Bacterial Lipase in Nonfat Dry Milk. *Journal Of Food Science*, 54(6), 1557-1558. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05159.x>
- Villa, J. (1982). *Peces nicaragüenses de agua dulce* (pp. 253-pp). Managua: Fondo de Promoción Cultural del Banco de América.
- Villalobos, J. B. (2010). Historia Poblacional Contemporánea del pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill, pisces: Lepisosteidae) e Interrelaciones Evolutivas de La Familia. Instituto De Ecología A.C.
- Wang, H., Wang, Y., Wang, Q., Xue, C., & Sun, M. (2006). Purification and characterization of stomach protease from the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiology And Biochemistry*, 32(2), 179-188. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-0010-9>
- Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., & Shiraishi, M. (2001). Nutrient digestibility values of a test diet determined by manual feeding and self-

feeding in rainbow trout and common carp. Fisheries Science, 67(2), 355-357. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00251.x>

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México

ANEXO 1. FASE EXPERIMENTAL, MUESTREO Y ANÁLISIS EN LABORATORIO



Fig.1 Sistema de recirculación (RAS)



Fig.2 Último muestreo



Fig. 3 Análisis de enzimas digestivas



Fig.4 Medición de absorbancia



Fig.5 Dieta reto alta en carbohidratos



Fig.6 Organismos de *A. tropicus*

México Universidad Autónoma de Tabasco.

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de la Tesis:	PROGRAMACIÓN NUTRICIONAL Y SU UTILIDAD EN EL DESARROLLO DEL PEJELAGARTO (<i>Atractosteus tropicus</i>) COMO MODELO BIOMÉDICO EN ESTUDIOS DE DIABETES
Autor de la Tesis:	Antonio Gómez Cruz
ORCID:	https://orcid.org/0009-0001-5593-3719
Resumen de la Tesis:	<p>La <i>diabetes mellitus</i> consiste en una serie de alteraciones metabólicas que interfieren de manera directa en la producción y utilización de la hormona insulina, generando un incremento drástico de los niveles de glucosa en la sangre. La programación nutricional ha sido propuesta como una de las causas de diabetes. Recientes estudios han utilizado al pez cebra (<i>Danio rerio</i>) como modelo animal para determinar los cambios metabólicos que persistan durante el periodo post-larval bajo el efecto de la utilización de carbohidratos en su dieta. También se ha evaluado el metabolismo de la glucosa utilizando diferentes concentraciones glicémicas en la dieta del pejelagarto (<i>Atractosteus tropicus</i>). En esta investigación, se evaluó por medio de análisis de bioquímica sanguínea y actividad de enzimas digestivas (proteasas acidas y alcalinas, lipasas y amilasas) la inducción de programación nutricional en el pejelagarto por medio de inmersiones en sacarosa en dosis de 0, 2 y 5%, durante dos lapsos de tiempo (9 y 15 días) en el periodo larvario, con la finalidad de proponer al pejelagarto como un organismo biomédico para el estudio de la diabetes. Los resultados demostraron una evidencia de variación en la</p>

	<p>concentración de colesterol y triglicéridos. Los niveles más bajos de colesterol se encontraron en los peces expuestos a las dosis de 0 y 5%, mientras que para triglicéridos la menor concentración se dio en la dosis de 5% sugiriendo una alteración en las rutas metabólicas de carbohidratos y una posible programación metabólica debido al estímulo recibidos mediante carbohidratos en la etapa de larvicultivo. La actividad enzimática digestiva mostró diferencias significativas con respecto a las dosis y el tiempo en el que los organismos fueron expuestos a los tratamientos, teniendo así la primera investigación en proponer al pejelagarto como un organismo modelo para futuros estudios en diabetes mellitus.</p>
<p>Palabras clave de la Tesis:</p>	<p><i>Programación nutricional, pejelagarto, diabetes mellitus, enzimas digestivas</i></p>
<p>Referencias citadas:</p>	<p>Aizu, Y., Oyanagi, K., Hu, J., & Nakagawa, H. (2002). Degeneration of retinal neuronal processes and pigment epithelium in the early stage of the streptozotocin-diabetic rats. <i>Neuropathology: Official Journal of the Japanese Society of Neuropathology</i>, 22(3), 161-170. https://doi.org/10.1046/j.1440-1789.2002.00439.x</p> <p>Anson, M. L. (1938). THE ESTIMATION OF PEPSIN, TRYPSIN, PAPAINE, AND CATHEPSIN WITH HEMOGLOBIN. <i>The Journal Of General Physiology/The Journal Of General Physiology</i>, 22(1), 79-89. https://doi.org/10.1085/jgp.22.1.79</p> <p>Barber, A. J. (2003). A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. <i>Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry</i>, 27(2), 283-290. https://doi.org/10.1016/s0278-5846(03)00023-x</p> <p>Barber, A. J., Antonetti, D. A., Kern, T. S., Reiter, C. E. N., Soans, R. S., Krady, J. K., Levison, S. W., Gardner, T. W., & Bronson, S. K. (2005). The Ins2Akitamouse as a model of early retinal complications in diabetes. <i>Investigative Ophthalmology & Visual Science</i>, 46(6), 2210. https://doi.org/10.1167/iovs.04-1340</p> <p>Braasch, I., Gehrke, A. R., Smith, J. J., Kawasaki, K., Manousaki, T., Pasquier, J., Amores, A., Desvignes, T., Batzel, P., Catchen, J., Berlin, A. M., Campbell, M. S., Barrell, D., Martin, K. J., Mulley, J. F., Ravi, V., Lee, A. P., Nakamura, T., Chalopin, D., ... Postlethwait, J. H. (2016). <i>The spotted gar genome illuminates vertebrate</i></p>

evolution and facilitates human-teleost comparisons. *Nature Genetics*, 48(4), 427-437. <https://doi.org/10.1038/ng.3526>

Buddington, R. K., & Krogdahl, Å. (2004). Hormonal regulation of the fish gastrointestinal tract. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 139(3), 261-271. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.09.007>

Burdge, G. C., & Lillycrop, K. A. (2010). Nutrition, Epigenetics, and Developmental Plasticity: Implications for Understanding Human Disease. *Annual Review Of Nutrition*, 30(1), 315-339. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104751>

Cahu, C., Rønnestad, I., Grangier, V., & Zambonino Infante, J. L. (2004). Expression and activities of pancreatic enzymes in developing sea bass larvae (*Dicentrarchus labrax*) in relation to intact and hydrolyzed dietary protein; involvement of cholecystokinin. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 238(1-4), 295-308. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.013>

Chan, A. S., Horn, M. H., Dickson, K. A., & Gawlicka, A. (2004). Digestive enzyme activities in carnivores and herbivores: comparisons among four closely related prickleback fishes (Teleostei: Stichaeidae) from a California rocky intertidal habitat. *Journal Of Fish Biology*, 65(3), 848-858. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00495.x>

Chávez-Lomelí, M. C., Mattheeuws, A. E., & Pérez-Vega, M. H. P. (1989). *Biología de los peces del rio San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura* (1st ed.). Xalapa, Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB).

Chavin, W., & Young, J. E. (1970). Factors in the determination of normal serum glucose levels of goldfish, *Carassius auratus* L. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 33(3), 629-653. [https://doi.org/10.1016/0010-406x\(70\)90376-2](https://doi.org/10.1016/0010-406x(70)90376-2)

Comabella, Y., Mendoza, R., Aguilera, C., Carrillo, O., Hurtado, A., & García-Galano, T. (2006). Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 32(2), 147-157. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-0007-4>

Conget, I. (2002). Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Revista española de cardiología*, 55(5), 528-538. <https://www.revespcardiol.org/es-diagnostico-clasificacion-patogenia-diabetes-mellitus-articulo-13031154>

Connaughton, V. P., Baker, C., Fonde, L., Gerardi, E., & Slack, C. (2016). Alternate immersion in an external glucose solution

Universitat de València

differentially affects blood sugar values in older versus younger zebrafish adults. *Zebrafish*, 13(2), 87-94. <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1155>

Cuvier-Péres, A., & Kestemont, P. (2001). Development of some digestive enzymes in Eurasian perch larvae *Perca fluviatilis*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 24(4), 279-285. <https://doi.org/10.1023/a:1015033300526>

Deng, D.-F., Refstie, S., & Hung, S. S. O. (2001). Glycemic and glycosuric responses in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) after oral administration of simple and complex carbohydrates. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 199(1-2), 107-117. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(01\)00515-4](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00515-4)

Enes, P., Panserat, S., Kaushik, S., & Oliva-Teles, A. (2008). Growth performance and metabolic utilization of diets with native and waxy maize starch by gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 274(1), 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.009>

Essed, Z., Fernández, I., Alarcón, F. J., & Moyano, F. J. (2002). Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 18(1), 99-107. <http://www.repositorio.ieo.es/ieo/bitstream/handle/10508/1235/170-169-1-PB.pdf?sequence=3>

Eusebio, P. S., Toledo, J. D., Mamauag, R. E. P., & Bernas, M. J. G. (2004). Digestive enzyme activity in developing grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. *Advances in grouper aquaculture*, CIAR Monograph.

Fan, X., Klein, M., Flanagan-Steet, H. R., & Steet, R. (2010). Selective yolk deposition and mannose phosphorylation of lysosomal glycosidases in zebrafish. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(43), 32946-32953. <https://doi.org/10.1074/jbc.m110.158295>

Fang, L., Liang, X.-F., Zhou, Y., Guo, X.-Z., He, Y., Yi, T.-L., Liu, L.-W., Yuan, X.-C., & Tao, Y.-X. (2014). Programming effects of high-carbohydrate feeding of larvae on adult glucose metabolism in zebrafish, *Danio rerio*. *The British Journal of Nutrition*, 111(5), 808-818. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003243>

Fernández, I., Moyano, F. J., Díaz, M., & Martínez, T. (2001). Characterization of α -amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (Sparidae, Teleostei). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 262(1), 1-12. [https://doi.org/10.1016/s0022-0981\(01\)00228-3](https://doi.org/10.1016/s0022-0981(01)00228-3)

Frías-Quintana, C. A., Álvarez-González, C. A., & Márquez-Couturier, G. (2010). Diseño de microdietas para el larvicultivo de pejelagarto *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad y ciencia*, 26(3), 265-282.

Frías-Quintana, C., Álvarez-González, C., Tovar-Ramírez, D., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Peña, E., & Galaviz, M. (2017). Use of potato starch in diets of tropical gar (*Atractosteus tropicus*, gill 1863) larvae. *Fishes*, 2(1), 3. <https://doi.org/10.3390/fishes2010003>

Frías-Quintana, C. A., Domínguez-Lorenzo, J., Álvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., & Martínez-García, R. (2016). Using cornstarch in microparticulate diets for larvicultured tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(2), 517-528. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0156->

Frías-Quintana, C. A., Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Nolasco-Soria, H., Galaviz-Espinosa, M. A., Martínez-García, R., Camarillo-Coop, S., Martínez-Yañez, R., & Gisbert, E. (2015). Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(5), 1075-1091. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0070-9>

Fynn-Aikins, K., Hung, S. S., & Hughes, S. G. (1993). Effects of feeding a high level of D-glucose on liver function in juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 12(4), 317-325. <https://doi.org/10.1007/BF00004416>

Geurden, I., Aramendi, M., Zambonino-Infante, J. L., & Panserat, S. (2007). Early feeding of carnivorous rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with a hyperglucidic diet during a short period: effect on dietary glucose utilization in juveniles. *American Journal Of Physiology. Regulatory, Integrative And Comparative Physiology/American Journal Of Physiology. Regulatory, Integrative, And Comparative Physiology*, 292(6), R2275-R2283. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00444.2006>

Geurden, I., Mennigen, J., Plagnes-Juan, E., Veron, V., Cerezo, T., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J., Gatesoupe, J., Skiba-Cassy, S., & Panserat, S. (2014). High or low dietary carbohydrate:protein ratios during first-feeding affect glucose metabolism and intestinal microbiota in juvenile rainbow trout. *Journal Of Experimental Biology*, 217(19), 3396-3406. <https://doi.org/10.1242/jeb.10606>

Gleeson, M., Connaughton, V., & Arneson, L. S. (2007). Induction of hyperglycaemia in zebrafish (*Danio rerio*) leads to morphological changes in the retina. *Acta Diabetologica*, 44(3), 157-163. <https://doi.org/10.1007/s00592-007-0257-3>

Gong, G., Xue, M., Wang, J., Wu, X.-F., Zheng, Y.-H., Han, F., Liang, X.-F., & Su, X.-O. (2015). The regulation of gluconeogenesis in the Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) affected later in life by a short-term high-glucose programming during early life. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 436, 127-136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.044>

Guerrero-Zárate, R., Jesús-Contreras, R., & Álvarez-González, C. A. (2021). Programación nutricional en el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*): efecto del almidón de maíz sobre la bioquímica sanguínea. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(6), 11853-11867. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i6.1203

Guerrero Zárate, R. (2019). Estudio del metabolismo de la glucosa bajo diferentes condiciones glicémicas en el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*).

Guerrero-Zárate, R., Alvarez-González, C. A., Olvera-Novoa, M. A., Perales-García, N., Frías-Quintana, C. A., Martínez-García, R., & Contreras-Sánchez, W. M. (2013). Partial characterization of digestive proteases in tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(4), 1021-1029. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9902-7>

Guerrero-Zárate, Rocío, Álvarez-González, C. A., Jesús-Contreras, R., Peña-Marín, E. S., Martínez-García, R., Galaviz, M. A., López, L. M., & Llera-Herrera, R. (2019). Evaluation of carbohydrate/lipid ratios on growth and metabolic response in tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile. *Aquaculture Research*, 50(7), 1812-1823. <https://doi.org/10.1111/are.14060>

Hamza, N., Mhetli, M., & Kestemont, P. (2007). Effects of weaning age and diets on ontogeny of digestive activities and structures of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33(2), 121-133. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-9123-4>

Hakim, Y., Rowland, S. J., Guy, J. A., Mifsud, C., Uni, Z., & Harpaz, S. (2007). Effects of genetic strain and holding facility on the characteristics of alkaline phosphatase and brush border enzymes in silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture Research*, 38(4), 361-372. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01674.x>

Hidalgo, M. C., Urea, E., & Sanz, A. (1999). Comparative study of digestive enzymes in fish with different nutritional habits. Proteolytic and amylase activities. *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 170(3-4), 267-283. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(98\)00413-x](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(98)00413-x)

Hou, Z., & Fuiman, L. A. (2020). Nutritional programming in fishes: insights from mammalian studies. *Reviews in Fish Biology and*

Fisheries, 30(1), 67-92. <https://doi.org/10.1007/s11160-019-09590-y>

Infante, J. Z., & Cahu, C. (2001). Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comparative Biochemistry And Physiology. Part C, Toxicology & Pharmacology/Comparative Biochemistry And Physiology. Toxicology & Pharmacology*, 130(4), 477-487. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(01\)00274-5](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(01)00274-5)

Jesus-Contreras, R. (2008). *Relación proteína/energía en juveniles de pejelagarto (Atractosteus tropicus) empleando dietas semipurificadas*. [Tesis de Licenciatura, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco]

Krogdahl, A., Hemre, G.-I., & Mommsen, T. P. (2005). Carbohydrates in fish nutrition: digestion and absorption in postlarval stages. *Aquaculture Nutrition*, 11(2), 103-122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00327.x>

Lazo, J. P. (2000). Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. *Avances en Nutrición Acuicola*.

López-Ramírez, G., Cuenca-Soria, C. A., Alvarez-González, C. A., Tovar-Ramírez, D., Ortiz-Galindo, J. L., Perales-García, N., Márquez-Couturier, G., Arias-Rodríguez, L., Indy, J. R., Contreras-Sánchez, W. M., Gisbert, E., & Moyano, F. J. (2010).

Development of digestive enzymes in larvae of Mayan cichlid *Cichlasoma urophthalmus*. *Fish Physiology And Biochemistry*, 37(1), 197-208. <https://doi.org/10.1007/s10695-010-9431-6>

Márquez-Couturier, G. (1999). Biología y tecnología para el cultivo del pejelagarto *Atractosteus tropicus* en el sureste de México. In IV Reunión Nacional de ReEdes de Investigación en Acuicultura-Reproducción y genética (pp. 265- 268). Cuernavaca, Morelos, México: INAPESCA. Retrieved from <https://docplayer.es/86099645-Memorias-iv-reunion-nacional-de-redes-de-investigacion-en-acuicultura-secretaria-de-medio-ambiente-recursos-naturales-y-pesca.html>

Moyano, F. J., Díaz, M., Alarcón, F. J., & Sarasquete, M. C. (1996). Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology And Biochemistry*, 15(2), 121-130. <https://doi.org/10.1007/bf01875591>

Panserat, S., Capilla, E., Gutierrez, J., Frappart, P. O., Vachot, C., Plagnes-Juan, E., Aguirre, P., Brèque, J., & Kaushik, S. (2001). Glucokinase is highly induced and glucose-6-phosphatase poorly repressed in liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by a

single meal with glucose. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 128(2), 275-283. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(00\)00322-5](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(00)00322-5)

Panserat, S., Skiba-Cassy, S., Seiliez, I., Lansard, M., Plagnes-Juan, E., Vachot, C., ... Moon, T. W. (2009). Metformin improves postprandial glucose homeostasis in rainbow trout fed dietary carbohydrates: a link with the induction of hepatic lipogenic capacities? *American Journal of Physiology- Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 297(3), R707-R715. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00120.2009>

Panserat, S., Marandel, L., & Seiliez, I. (2019). New Insights on Intermediary Metabolism for a Better Understanding of Nutrition in Teleosts, (November 2018), 1-26.

Panserat, S., Médale, F., Blin, C., Brèque, J., Vachot, C., Plagnes-Juan, E., Gomes, E., Krishnamoorthy, R., & Kaushik, S. (2000). Hepatic glucokinase is induced by dietary carbohydrates in rainbow trout, gilthead seabream, and common carp. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278(5), R1164-70. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2000.278.5.R1164>

Pérez, C., & Elizabeth, R. (2018). Efectos de la programación nutricional materna en la homeostasis energética y la dinámica mitocondrial en el hipotálamo de rata. Universidad Autónoma de Nuevo León.

Perez-Casanova, J. C., Murray, H. M., Gallant, J. W., Ross, N. W., Douglas, S. E., & Johnson, S. C. (2006). Development of the digestive capacity in larvae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) and Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture (Amsterdam, Netherlands)*, 251(2-4), 377-401. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.06.007>

Bobyt, J. F. & Whelan, W. J. 1968 Amylases. In *Starch and its Derivatives 4th edn*, ed. J. A. Radley pp. 423-429. London : Chapman and Hall.

Polakof, S., & Panserat, S. (2016). How Tom Moon's research highlighted the question of glucose tolerance in carnivorous fish. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 199, 43-49. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2015.11.001>

Polakof, Sergio, Mommsen, T. P., & Soengas, J. L. (2011). Glucosensing and glucose homeostasis: from fish to mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 160(4), 123-149. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.07.006>

Polakof, Sergio, Panserat, S., Soengas, J. L., & Moon, T. W. (2012). Glucose metabolism in fish: a review. *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 182(8), 1015-1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-012-0658-7>

Rees, D. A., & Alcolado, J. C. (2005). Animal models of *diabetes mellitus*. *Diabetic Medicine*, 22(4), 359-370. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01499.x>

Reséndez, A., & Salvadores, M. (1983). Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca *Petenia splendida* (Günther) del estado de Tabasco. *Biotica*, 8(4), 413-426.

Rocha, F., Dias, J., Engrola, S., Gavaia, P., Geurden, I., Dinis, M. T., & Panserat, S. (2014). Glucose overload in yolk has little effect on the long-term modulation of carbohydrate metabolic genes in zebrafish (*Danio rerio*). *The Journal of Experimental Biology*, 217(Pt 7), 1139-1149. <https://doi.org/10.1242/jeb.095463>

Salehpour, A., Rezaei, M., Khoradmehr, A., Tahamtani, Y., & Tamadon, A. (2021). Which Hyperglycemic Model of Zebrafish (*Danio rerio*) Suits My Type 2 Diabetes Mellitus Research? A Scoring System for Available Methods. In *Frontiers in Cell and Developmental Biology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.652061>

Shiau, S.-Y., & Lin, Y.-H. (2002). Utilization of glucose and starch by the grouper *Epinephelus malabaricus* at 23°C. *Fisheries Science: FS*, 68(5), 991-995. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00523.x>

Versaw, W. K., Cuppett, S. L., Winters, D. D., & Williams, L. E. (1989). An Improved Colorimetric Assay for Bacterial Lipase in Nonfat Dry Milk. *Journal Of Food Science*, 54(6), 1557-1558. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1989.tb05159.x>

Villa, J. (1982). *Peces nicaragüenses de agua dulce* (pp. 253-pp). Managua: Fondo de Promoción Cultural del Banco de América.

Villalobos, J. B. (2010). Historia Poblacional Contemporánea del pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill, pisces: Lepisosteidae) e Interrelaciones Evolutivas de La Familia. Instituto De Ecología A.C.

Wang, H., Wang, Y., Wang, Q., Xue, C., & Sun, M. (2006). Purification and characterization of stomach protease from the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiology And Biochemistry*, 32(2), 179-188. <https://doi.org/10.1007/s10695-006-0010-9>

	<p>Yamamoto, T., Shima, T., Furuita, H., Suzuki, N., & Shiraishi, M. (2001). Nutrient digestibility values of a test diet determined by manual feeding and self-feeding in rainbow trout and common carp. <i>Fisheries Science</i>, 67(2), 355-357. https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2001.00251.x</p>
--	---

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
México