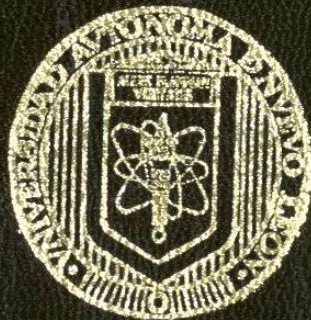


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**RESPUESTA FISIOLÓGICA EN JUVENILES DE PEZ
ESPATULA (*Polyodon spathula*) INDUCIDA POR
ESTRES DE MANEJO EN SU CULTIVO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ECOLOGIA ACUATICA Y PESCA**

PRESENTA

BIOL. FLORENTINO GARCIA TORRES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA, N. L. 1997

TM
Z5320
ECB
1997
G37

BION. FLORENTINO CARRERA TORRES

TESTIS





1020119181

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO**



**RESPUESTA FISIOLÓGICA EN JUVENILES DE PEZ
ESPATULA (*Polivodon spathula*); INDUCIDA POR
ESTRES DE MANEJO EN SU CULTIVO**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN
ECOLOGÍA ACUÁTICA Y PESCA**

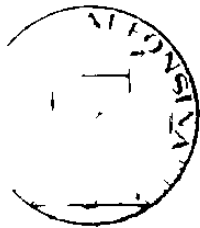
PRESENTA

BIOL FLORENTINO GARCIA TORRES

SAN NICOLAS DE LOS GARZA N. L. 1997

0116-30660

TM
ZE320
FCB
1997
G3+



FONDO TESIS

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO



RESPUESTA FISIOLÓGICA EN JUVENILES DE PEZ ESPATULA *Polyodon
spathula* INDUCIDA POR ESTRES DE MANEJO EN SU CULTIVO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN ECOLOGIA
ACUÁTICA Y PESCA

PRESENTA

BIOL. FLORENTINO GARCIA TORRES

COMISION DE TESIS

PRESIDENTE:

M.C. ARCADIO VALDES GONZALEZ

SECRETARIO:

M.C. ROBERTO MERCADO HERNANDEZ

VOCAL:

DRA. MA. JULIA VERDE STAR

Gracias a Dios por la suerte
que me acompaña

AGRADECIMIENTOS

Por el financiamiento brindado, que hizo posible la realización de este proyecto, gracias a U S Fish & Wildlife Service, por conducto del biólogo Manuel E Ulibarri, jefe de Uvalde National Fish Hatchery al facilitar las instalaciones, su cooperación y amistad, mi más sincero agradecimiento

Gracias a la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas (UANL), a mi comité de Tesis integrado por la Dra. Ma. Julia Verde Star, M. en C. Roberto Mercado Hernández y de manera muy especial, a mi director de tesis, M. en C. Arcadio Valdes González, por la confianza depositada en mi, así como por la conducción y asistencia en el desarrollo de esta investigación.

Mil gracias a The Texas Parks and Wildlife Department por conducto de Veronica M Pitman, al conceder su valiosa información para la protección del Pez Espátula. Por sus publicaciones facilitadas gracias al Ph. D. Bruce A. Barton (University of South Dakota), y por su ayuda y amistad, al biólogo David Oviedo (U S Fish & Wildlife Service)

Agradezco profundamente a la Ph. D. Patricia Mazik (U S. Fish & Wildlife Service Division of Fish Hatch), por sus contactos y recomendaciones para con esta investigación, al Ph. D. Kenneth B. Davis Profesor de la University of Memphis por sus sugerencias; a la Técnico Laboratorista de la misma Universidad, Mariana Davis, por su colaboración en este plano, así como también al Ph. D. John I. Galvez (U S Fish & Wildlife Service).

Al D V M John C. Barnes (South West Texas Veterinary Medical Center) por las facilidades del equipo de laboratorio. Al biólogo Gordon Garwood, muchas gracias por su colaboración y de manera muy especial a Olivia T. Castillo (U S Fish & Wildlife Service) por todas sus atenciones durante mi permanencia en Los Estados Unidos de Norteamérica

A mis compañeros y amigos Cirilo Alonzo, Rene Guerra, Jonhy Muñoz, Matt Campbell, Becky González, Tannika Engelhard y Mark González, muchísimas gracias por su ayuda y todos los buenos momentos.

A mis padres Florentino García Ruiz y Ma. del Carmen Torres de García, gracias de verdad por todo su apoyo y a la familia Nava Ortiz por su hospitalidad.

A la Ing. Aracely García T., gracias por tu curiosidad y gran ayuda, a Ma. Elena Angeles V., muchísimas gracias por tu participación y de manera muy especial a C. Veronica Zuazua Gzz., por todo tu apoyo.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'E. Ulibarri', written over a horizontal line.

INDICE

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS	6
HIPOTESIS	6
DIAGNOSIS DE LA ESPECIE	7
DESCRIPCION	7
HABITAT	7
EVOLUCION	8
ESTATUS	8
ALIMENTACION Y CRECIMIENTO	8
MADUREZ SEXUAL Y PROPORCION DE SEXOS	9
IMPACTO ECONOMICO	9
METODOLOGIA	10
MANTENIMIENTO	10
DETERMINACION DE LOTES	10
DISEÑO EXPERIMENTAL	10
REGISTRO DE LONGITUD	11
COLECTA DE SANGRE	11
ANALISIS ESTADISTICO	12
RESULTADOS	13
DISCUSION	17
CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS	21
LITERATURA CITADA	22

INDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURA 1	9
TABLA 1	10
TABLA 2	14
TABLA 3	14
GRAFICA 1	13
GRAFICA 2	15
GRAFICA 3	15
GRAFICA 4	15
GRAFICA 5	16
GRAFICA 6	16
GRAFICA 7	16
GRAFICA 8	19
GRAFICA 9	19

RESUMEN

El estrés en peces causado por disturbios físicos relacionados a los métodos de cultivo tales como el manejo, produce una variedad de cambios en las condiciones biológicas más allá del estado metabólico normal (homeostasis). Muchas de estas respuestas pueden ser utilizadas como indicadores cuantitativos de estrés, para dar respuesta a problemas en torno al fracaso reproductivo y crecimiento. Siendo el objetivo fundamental de este estudio, determinar las curvas de crecimiento entre peces Espátula sujetos a procedimientos de manejo para inducirles estrés y peces en condiciones de reposo metabólico, se formaron dos lotes de peces correspondientes al experimental y control respectivamente, en el que la totalidad de los organismos del primero fue sometida a un redeo, exponiéndolos posteriormente al aire de manera individual, por un tiempo aproximado de 30 segundos, transcurso durante el cual, se tomó el registro de longitud y peso; finalmente se reincorporaron a su contenedor original y se procedió a realizar el muestreo en este lote a 9 diferentes tiempos de recuperación o tratamientos (1, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 168 y 288 hrs), por su parte el lote control no fue perturbado. El muestreo consistió en la extracción de 2 ml de sangre a cada pez previamente anestesiado, utilizando una concentración letal de 200 mg/L de MS-222, para determinar posteriormente los niveles de cortisol, cloruros, glucosa, hematocrito, hemoglobina y proteína total del plasma, así como también, nuevas lecturas de longitud a 96, 168 y 288 hrs. Con respecto al grupo control, se registraron también mediciones de longitud en los tiempos de 0, 96, 168 y 288 hrs para comparar su incremento con el lote experimental; por otro lado, el monitoreo de los parámetros fisiológicos en este lote, se realizó al inicio y al final del ensayo (0 y 288 hrs), completando un total de 11 tratamientos, utilizando peces que fueron muestreados en una sola ocasión, obteniéndose con ello, el perfil fisiológico de los peces en estado normal. Estadísticamente, se aplicó una prueba de comparación de pendientes entre ambos lotes, resultando una diferencia significativa entre éstos con un 95% de confiabilidad. A continuación se utilizó el análisis de una muestra de Kolmogorov-Smirnov para verificar la normalidad de los datos correspondientes a cortisol, cloruros, glucosa, hematocrito, hemoglobina y proteína total del plasma, validándose un análisis de varianza sobre los datos de cortisol, en donde se encontró diferencia significativa en el grupo de 12 horas, ya que difirió en relación a los grupos control de acuerdo a la prueba de Tukey. En cuanto al resto de las variables, éstas se sometieron a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, resultando diferencias significativas excepto en los niveles de hemoglobina. Los resultados de cloruros fueron significativos a partir de la primera hora hasta la sexta y la glucosa se incrementó de manera importante desde la tercera hora de recuperación según la prueba de Mann-Whitney, logrando estabilizarse después de 96 horas, con respecto a los niveles de hematocrito, se expresaron significativamente diferentes a 1, 6, 12 y 24 horas en relación al control y finalmente los resultados de la proteína total del plasma, fueron altamente significativos a 12 y 24 horas.

INTRODUCCION

El cultivo de peces con el objetivo de dar soporte a las poblaciones que se encuentran en peligro, ha sido una practica de uso común en los Estados Unidos de Norteamérica; sin embargo este proceso involucra una serie de situaciones estresantes durante el manejo de los peces. Está establecido que el estrés agudo o crónico, aproximado o excedido de los límites de tolerancia fisiológica de los organismos, tendrá repercusión en el éxito reproductivo, crecimiento, resistencia a enfermedades y sobrevivencia (Wedemeyer, *et al* 1990), no olvidando que los procesos de respuesta y resistencia a un determinado estresor, implican un costo energético elevado (Schreck, 1982; Barton y Schreck, 1987), así que cuando se presenta un fenómeno de esta naturaleza, el pez debe tener menos energía disponible que podría haber utilizado originalmente para funciones como las mencionadas con anterioridad (Schreck, 1982). Aunado a ello, los efectos acumulativos de incluso factores subletales, pueden eventualmente conducir a la muerte, aun cuando los estresores no excedan los límites de tolerancia fisiológica de manera individual (Donaldson, 1981; Carmichael, 1984 y Barton, *et al*. 1986).

El estrés ha sido definido en términos generales por Selye (1950) como la suma de todas las respuestas fisiológicas por medio de las cuales un individuo, trata de mantener o establecer un metabolismo normal, haciendo frente a las consecuencias de un fenómeno físico o químico. Más específicamente, el estrés resulta de alteraciones bióticas o abióticas, o sucesos que prolongan los procesos homeostáticos o estabilizantes más allá de su capacidad para el control rutinario de los procesos fisiológicos (Esch y Hazen, 1978). La adaptación fisiológica en peces, análoga a la de los vertebrados superiores (Selye, 1973, Peters, 1979 y Schreck, 1981), es caracterizada a través de cambios en la química sanguínea y tisular cuando el estrés resulta de las prácticas de cultivo (manejo, transporte, tratamiento a enfermedades), alteraciones del hábitat (turbidez, contaminación, cambios en la temperatura del agua), o factores comportamentales (susto, jerarquías dominantes o interacciones interespecíficas).

Una de las poblaciones que actualmente se encuentra amenazada es la del pez Espátula *Polyodon spathula*, esto a consecuencia de las características en las corrientes debido a la construcción de presas, técnicas en el talado de árboles, contaminación, urbanización e industrialización, a tal grado que la especie es observada sólo esporádicamente (TPWD, 1977).

Actualmente esta especie es cultivada en granjas de producción para reforzar las poblaciones que se encuentran en peligro y de ahí el interés de este estudio para realizar una evaluación fisiológica, que ha determinado el nivel de estrés alcanzado por los peces durante su manejo (redeo, confinamiento y toma de lectura de longitud y peso). De manera simultánea, se realizó una comparación en la curva de crecimiento dibujada en los peces sujetos a manejo en relación a un grupo control, estos resultados han servido para sugerir ajustes y tratar de reducir el estrés acumulativo, generado en su producción y que en cierto grado, podría repercutir en la aclimatación exitosa a su nuevo ambiente al instante de liberarlos.

ANTECEDENTES

En las últimas décadas se ha generado gran cantidad de información con respecto a la ecología e historia de vida de el pez Espátula, sin embargo, son muy escasas las publicaciones enfocadas hacia la fisiología de este organismo. No obstante, se cuenta con referencias que de alguna forma contribuyen y fundamentan la realización de este ensayo.

Así, Cowan (1966) evalúa las proteínas del suero, tales como las gamaglobulinas del pez Espatula utilizando técnicas electroforéticas sin detectar la migración de estas; también en 1966, Fish, *et al.*, realizan la caracterización de inmunoglobulinas en el mismo organismo, notando además que el timo se encuentra altamente desarrollado y el bazo claramente seccionado en papilas; también se encontró una circulación alta, media y baja de linfocitos, así como un gran número de células linfoides en el bazo, tejido gonadal, región pericardial, riñón anterior y tracto gastrointestinal. Similarmente, Clawson, *et al.* (1966) mencionan la existencia de células plasmáticas y varios estados de desarrollo de eosinófilos, células linfoides y granulocitos, concluyendo igualmente, que la ultraestructura de los linfocitos neutrófilos y células reticulares, tienen similitud con las células de los mamíferos.

Por otra parte, Hesser (1960) publica uno de los primeros estudios enfocados hacia la hematología de peces, describiendo las técnicas de colecta de sangre, el uso de anticoagulantes y las principales determinaciones de los parámetros sanguíneos, que permiten emitir un diagnóstico acertado acerca de la salud de los peces. Años más tarde, Blaxhall y Daisley (1973), contribuyeron en la metodología para la examinación sanguínea de los peces, incluyendo los fundamentos en la estimación de hemoglobina, hematocrito, conteo diferencial de leucocitos y propiedades de tinción (citoquímica). Más recientemente, Joshi (1987), publica un estudio reportando varios tipos de corpúsculos sanguíneos encontrados en la circulación normal de 41 especies de teleosteos de agua dulce, describiendo sus características de tinción, citomorfología y variaciones en la estructura celular de eritrocitos y leucocitos.

Comparablemente, Wedemeyer y Yasutake (1977) dan explicación a una serie de métodos clínicos para el monitoreo biológico de poblaciones de peces silvestres y de cultivo, que permiten la evaluación de los efectos del estrés ambiental sobre la salud de los peces, enfatizando en la interpretación de resultados. Con esta misma perspectiva, los efectos causados por fluctuación de temperatura fueron analizados por Chen, *et al.* (1995) monitoreando los cambios en las concentraciones de hemoglobina, hematocrito, leucocrito, osmolalidad, lactato, glucosa y cortisol en la carpa común *Cyprinus carpio*, como respuesta a la exposición de temperatura disminuida de 24°C a 4°C en dos diferentes lapsos de tiempo, en el primero de ellos, el descenso en la temperatura del agua de 24°C hasta los 4°C tomó solo tres días, considerándose un estrés de tipo agudo, mientras que en el segundo, el descenso hasta la misma temperatura fue más gradual, tomando 33 días; los resultados obtenidos con estos procedimientos revelaron incrementos significativos en los niveles de cortisol y glucosa en el plasma en la exposición al estrés agudo, a diferencia de los niveles de cloruros y osmolalidad del plasma, que no mostraron diferencias significativas en ninguno de los dos tratamientos; por último, con respecto a los valores de hematocrito, leucocrito, hemoglobina y lactato, se registró un decremento en todos ellos en ambos experimentos.

Posteriormente, con una visión más dirigida hacia la estimación del estrés producido por diferentes factores en distintas especies, se cuenta con varios estudios como los publicados por Weirich y Tomasso (1991), en los que juveniles de "Red Drum" *Sciaenops ocellatus*, fueron sujetos a una inducción de estrés por procesos de confinamiento y transporte, realizándose también una aclimatación previa a diferentes salinidades (2, 4, 8, 16 y 35‰) a 25°C y posteriormente, los peces se enjaularon por 48 horas y los niveles de osmolalidad fueron tomados, incrementándose los valores de este parámetro en los peces que recibieron el tratamiento de 35‰ de salinidad, decreciendo en los peces confinados en la salinidad de 2‰ y manteniéndose estables los de salinidades intermedias

Otra de las prácticas dentro del cultivo de muchas especies que les produce múltiples disturbios, es el que corresponde a la cosecha, en el caso particular del "bagre de canal", *Ictalurus punctatus*, Davis, *et al.* (1994) miden el estrés por medio de las lecturas observadas en las determinaciones de cortisol, glucosa y electrolitos del plasma, en organismos previa y posteriormente cosechados, mostrando cambios en los dos primeros indicadores, al incrementarse notablemente sus niveles y disminuyendo en la concentración de electrolitos.

Por otro lado, Woodward y Strange (1987) desarrollan una investigación comparativa entre poblaciones silvestres de trucha arco iris *Salmo gairdneri* y poblaciones de peces criados en granjas, mismos que se sujetaron a un proceso de confinamiento y electroshock, utilizando para determinar el grado de estrés, indicadores tales como cortisol, glucosa y cloruros. En el primero de estos parámetros se registro un incremento de los niveles normales (10 ng/ml) hasta 480 ng/ml en peces silvestres y de 2 ng/ml hasta 155 ng/ml en peces de cultivo, con respecto a la glucosa, esta mostró un patron similar en ambas poblaciones, aumentando de 55 a 284 mg/DL en los silvestres, contra un incremento de 58 a 196 mg/DL. Finalmente los cloruros del plasma disminuyeron de niveles normales de 132-135 meq/L hasta 53 meq/L en la primer población, pero unicamente hasta 102 meq/L en peces cultivados. En este ensayo se observó también de manera general, que las concentraciones de cortisol, glucosa y cloruros en el plasma, fueron menos alteradas como respuesta al electroshock que al efecto del confinamiento.

Otro ensayo en el que se mide la concentración de cortisol, sólo que en este caso para evaluar el efecto de estrés general sobre el estado de maduración sexual en hembras de trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, es el que exponen Contreras, *et al.* (1995), el tratamiento de estrés se aplicó en la fase de vitelogénesis inicial, vitelogenesis tardía y maduración final, resultando huevos más pequeños en el primer tratamiento sin que la fecundidad y fertilidad fueran afectadas en cualquiera de los grupos tratados

Anteriormente, Pickering, *et al.* (1987) y Sumpter, *et al.* (1987) reportaron una disminución en la circulación de testosterona y 11 ketotestosterona en machos maduros de trucha café *Salmo trutta*, después de haber experimentado estrés agudo y crónico por confinamiento; en ambos estudios, la magnitud del cambio en relación a niveles control, fue menos para 11 ketotestosterona que para testosterona; además, junto con incrementos de cortisol y ACTH en el plasma, hubo una elevación trascendente (por un mínimo de 4 horas) en la circulación de GTH en los peces

Por otro lado, es también sabido que el estrés incrementa la susceptibilidad de los peces a enfermedades infecciosas, por ejemplo, el promedio de mortalidad de trucha arcoiris *Salmo gairdneri*, inoculada con *Aeromonas salmonicida*, se incrementó de aproximadamente 40% en peces no estresados a 60% en aquellos que fueron estresados agudamente (Angelidis, *et al* 1987) Otra investigación como la de Pickering, *et al.* (1982) reporta una linfocitopenia en trucha café después de 8 horas a causa de un manejo de 2 minutos, tomando 72 horas su recuperación. Literatura substancial indica que los corticoesteroides secretados en respuesta al estrés, son responsables, al menos en parte, de la inmunocompetencia observada en peces estresados.

Un estudio comparativo muy importante en el que se evalúa la respuesta de estrés mediante el nivel de cortisol en el plasma entre 14 distintas especies, es el realizado por Davis y Parker en 1986, ya que se midió la concentración de este corticoesteroide después de que los peces fueron electropescados en los reservorios del río Alabama, también después de un transporte de 2 horas. Entre las especies manejadas en esta investigación solo *Lepisosteus oculatus* no exhibió nivel de cortisol, mientras que *Amia calva*, *Lepisosteus osseus* y *Aplodinotus grunniens*, tuvieron un pequeño incremento en él (14-39 ng/ml) durante la transportación. Otras especies mostraron un incremento intermedio (59-184 ng/ml) durante el transporte, tales como *Ictalurus furcatus*, *Polyodon spathula*, *Micropterus salmoides*, *Ictalurus punctatus*, *Carpiodes carpio*, *Morone chrysops*, *Morone saxatilis* y *Pomoxis sp*. Finalmente el más grande incremento fue para *Dorosoma cepedianum* (223 ng/ml) y *Cyprinus carpio* (286 ng/ml).

Uno de los antecedentes de mayor relación es el presentado por Tuttle (1995) en donde reporta una serie de experimentos en los que combina variables de densidad de carga, adición de NaCl y MS-222 (anestésico) y periodos de estarvación con el propósito de observar cambios en la glucosa y cloruros del plasma como respuesta al estímulo de transporte en el pez Espátula, en este estudio destaca un incremento de glucosa en organismos previamente estresados con 2 días de estarvación, a una densidad de 25 g de pez/L de agua y posteriormente sujetos a un período de 6 horas de transporte sin recibir tratamiento de NaCl o MS-222; este aumento se registró durante la primera hora después de haber finalizado el transporte, significativamente más alto que los niveles muestreados (antes del transporte) retornando a la normalidad dos horas más tarde. Simultáneamente los cloruros decrecieron gradualmente desde la segunda hasta la sexta hora de muestreo posterior al estímulo, encontrándose diferencias significativas entre organismos a los que se les suministró tratamiento de NaCl y MS-222 y los que no contaron con ningún tratamiento, favoreciendo al grupo inicial.

Sin duda el trabajo más sobresaliente debido a la similitud en el estresor utilizado para la misma especie, es el desarrollado por Rahn, *et al.* (1996), en el cual se determinó la magnitud y el tiempo de respuesta fisiológica a un breve estrés por manejo, así como el monitoreo de los efectos ocasionados al adicionar sal para la recuperación de estos disturbios, finalmente, también se determinaron los límites de tolerancia fisiológica al forzar a los peces a una persecución mediante redes durante una hora, midiendo los cambios en hematocrito, al igual que en cortisol, glucosa y cloruros del plasma en ambos experimentos.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar fisiológicamente el efecto de estrés producido por manejo en el cultivo de *Polyodon spathula*

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Analizar comparativamente la curva de crecimiento de peces sujetos a manejo (Lote Experimental), contra la de peces no estresados (Lote Control).
- Evaluar los niveles de cortisol, cloruros, glucosa, hematocrito, hemoglobina y proteína total del plasma.

HIPOTESIS:

El proceso de estrés agudo por manejo de redeo y toma de registro de longitud y peso al que es sometido el pez Espátula (*Polyodon spathula*), impacta contundentemente a nivel del incremento en el crecimiento.

DIAGNOSIS DE LA ESPECIE

Taxonomía - *Polyodon spathula* (Walbaum) presenta la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo a Lagler *et al.* (1984).

Phyllum Chordata
Subphyllum Vertebrata
Serie. Pisces
Superclase Teleostomi
Clase Osteichthyes
Subclase Actinopterygii
Orden: Acipenseriformes
Familia Polyodontidae
Género: *Polyodon*
Especie: *spathula*

DESCRIPCION

En 1792, Walbaum describió a este organismo como una nueva especie de tiburón, mas tarde, Rafinesque en 1820, escribió una extensa descripción de éste, como un género completamente nuevo de tiburón; sin embargo, los tiburones son peces cartilagosos que pertenecen a la clase Condriichthyes, mientras que el pez Espátula pertenece al grupo de peces oseos es decir, a la clase Osteichthyes, incluyendo a la familia Polyodontidae, en donde solo otra especie viva de ésta es conocida (*Psephurus gladius*), habitando el rio Yangtze-Kiang en China (Becker, 1983).

Polyodon spathula posee un esqueleto principalmente cartilaginoso que da soporte a un cuerpo fusiforme, poco comprimido, con un hocico prolongado, delgado y expandido, su boca carente de lengua, es ancha y no protusible, pero sus quijadas y palatinos exhiben numerosos dientes finos en los juveniles a diferencia de los adultos, en donde son escasamente evidentes; por otra parte, sus grandes arcos branquiales están dispuestos en serie doble divididas por amplias membranas en cada arco; las membranas se encuentran conectadas pero libres del istmo; no hay pseudobranquia. La especie presenta espiráculo, opérculo rudimentario, flancos punteados y cola heterocerca; se distingue una línea lateral bien desarrollada, continua, sobre una piel suave y sin escamas excepto en el lóbulo caudal superior, mismo que está armado de placas rómbicas. La aleta dorsal está ubicada posteriormente, compuesta de radios suaves al igual que la anal aunque un poco más posterior y ventral, (Jordan y Evermann, 1904)

En la figura 1 se presenta una fotografía tomada a un juvenil de *Polyodon spathula*, con una longitud total aproximada de 300 mm y que exhibe detalladamente su apariencia externa

HABITAT

Los rios en donde es posible localizar a este pez presentan una anchura minima de 40 m con una profundidad promedio mayor a 1 m y una velocidad minima de la corriente de 0.4 m/seg, esta velocidad es suficiente para limpiar un sustrato de grava y guijarros cuyo tamaño oscila entre 15 y 100 mm; todo esto proporciona las condiciones de desove, aunadas a una concentración óptima de oxígeno disuelto de 6 mg/L, aunque se ha observado que con una concentración de 5 mg/L, se pueden tambien lograr un desove y desarrollo larval satisfactorios (Hubert, *et al* 1984).

EVOLUCION

El pez espátula es un organismo considerado prehistorico y además excepcional puesto que no ha cambiado mucho en 300 o 400 millones de años, de hecho podría ser el mas antiguo de los grandes animales sobrevivientes en Norte América, ya que ha estado aquí 50 millones de años antes que los primeros dinosaurios. En comparación con muchos otros peces, *Polyodon spathula* es primitivo en apariencia y comportamiento, pero dada su longevidad y éxito esto no parece ser importante con las adaptaciones que han hecho, en donde la mas visible de estas ha sido el hocico proyectado, el cual da el nombre común al animal (Gilbert, 1980).

ESTATUS

Históricamente este pez fue abundante en las grandes corrientes del valle del Mississippi y en la cuenca adyacente al Golfo de México y unos pocos fueron encontrados en algunos de Los Grandes Lagos (Gengerke, 1986), actualmente la poblacion relicto en estos lagos se ha perdido (Eddy y Underhill, 1974), y en el Estado de Texas su abundancia ha declinado durante los últimos 50 años, esta conclusión se respalda en los registros de la pesca comercial (Coker, 1929; U. S. Department of Commerce, 1974; 1975, 1976, 1977, 1978 y 1979), hasta que su pesca fue prohibida en este Estado en 1977 cuando The Texas Parks and Wildlife Department (TPWD) listó las especies en peligro (Pitman, 1991); detrás de todo ello existe un programa de restauración ecológica enfocado en el manejo y recuperación de este recurso, conducido por el mismo departamento.

El programa en cuestión, consiste en la captura anual de reproductores en poblaciones silvestres, transportarlos hasta las granjas de producción en donde se induce la ovulación mediante el uso de hormonas, posteriormente los huevos son obtenidos, fertilizados, mezclados y transferidos a incubadoras especiales que los mantienen en constante circulación, una vez que la eclosión ha concluido, los alevines se transfieren a canaletas o tanques circulares y después a canales rápidos; finalmente son transportados a los sitios de liberación previo marcaje, cuando los peces alcanzan una longitud de 254 a 305 mm en aguas que poseen abundante alimento y preferentemente ausente en predadores (Graham, 1986)

ALIMENTACION Y CRECIMIENTO

El pez Espátula se alimenta principalmente de zooplancton y larvas de insectos acuáticos. (Carlson y Bonislawsky, 1981), Ruelle y Hudson (1977) reportan que Espátulas jóvenes comen fundamentalmente grandes cladóceros. Este pez utiliza el "rostrum" como un órgano sensorial (Larimore, 1949, Pflieger, 1975) para auxiliarse en la búsqueda de alimento (Thompson, 1933). El crecimiento de estos organismos es muy acelerado, durante el primer año esto puede ser bastante variable y promediar 300 mm en Tennessee (Pasch, *et al* 1980) y 732 mm en Oklahoma (Houser, 1965). Después de 2 años, algunos peces en Oklahoma alcanzan 111 cm (Carlson y Bonislawsky, 1981), mientras que Espátulas de 7 años de edad promedian 140 cm de longitud total en Kansas (Bonislawsky, 1977), 133 cm en Oklahoma (Linton, 1961), 113 cm en Iowa (Helms, 1976), 111 cm en Montana (Robinson, 1966) y 97 cm en South Dakota (Sprage, 1959). Crías de estos peces en cultivos intensivos en Blind Pony Hatchery, Sweetwater, Missouri crecieron 711 mm de longitud total en aproximadamente 110 días.

MADUREZ SEXUAL Y PROPORCION DE SEXOS

Las hembras usualmente alcanzan la madurez sexual cuando cumplen de 8 a 12 años de edad (Adams, 1942; Bonislawsky, 1977; Gengerke, 1978), pero se ha reportado que han madurado incluso a los 6 años de edad (Gengerke, 1978). La mayoría de las hembras pesan un mínimo de 13.6 Kg cuando alcanzan la madurez (Russell, 1986), sin embargo en White Lake Louisiana, algunas hembras pesan únicamente 3.6 Kg cuando desovan (Alexander, 1915). Por su parte, el típico Espátula macho en Missouri madura a los 8 o 10 años de edad con un peso de 6.8 a 9.1 Kg (Russell, 1986). Gengerke (1978) encontró machos maduros de 4 años. En cuanto a la proporción de sexos de acuerdo con el muestreo realizado por Alexander (1985) durante 2 primaveras, este reporta una abundancia inclinada en favor de los machos con un 76% en el primer año y un 60% en el segundo, atribuyendo estos resultados a que los machos maduran anticipadamente y por lo tanto inician las migraciones de desove antes que las hembras. Por su parte Hoyt (1984) conduce un estudio de un año en el cual 503 organismos fueron sexados, los machos constituyeron el 77% de la población muestreada en invierno, el 60% en primavera, 36% en verano y 53% en otoño.

IMPACTO ECONOMICO

Este organismo fue pescado comercialmente durante la transición del siglo pasado con el actual después de que la población de esturión de lago disminuyó (Carlson y Bonislawsky, 1981). La carne de este pez es firme, similar a la del esturión, la cual se asemeja también en sabor. Además en algunos lugares la carne es ahumada y vendida como la de esturión, pero el valor principal del Espátula es debido a sus huevos, los cuales son procesados para hacer caviar (Jordan y Everman, 1904).

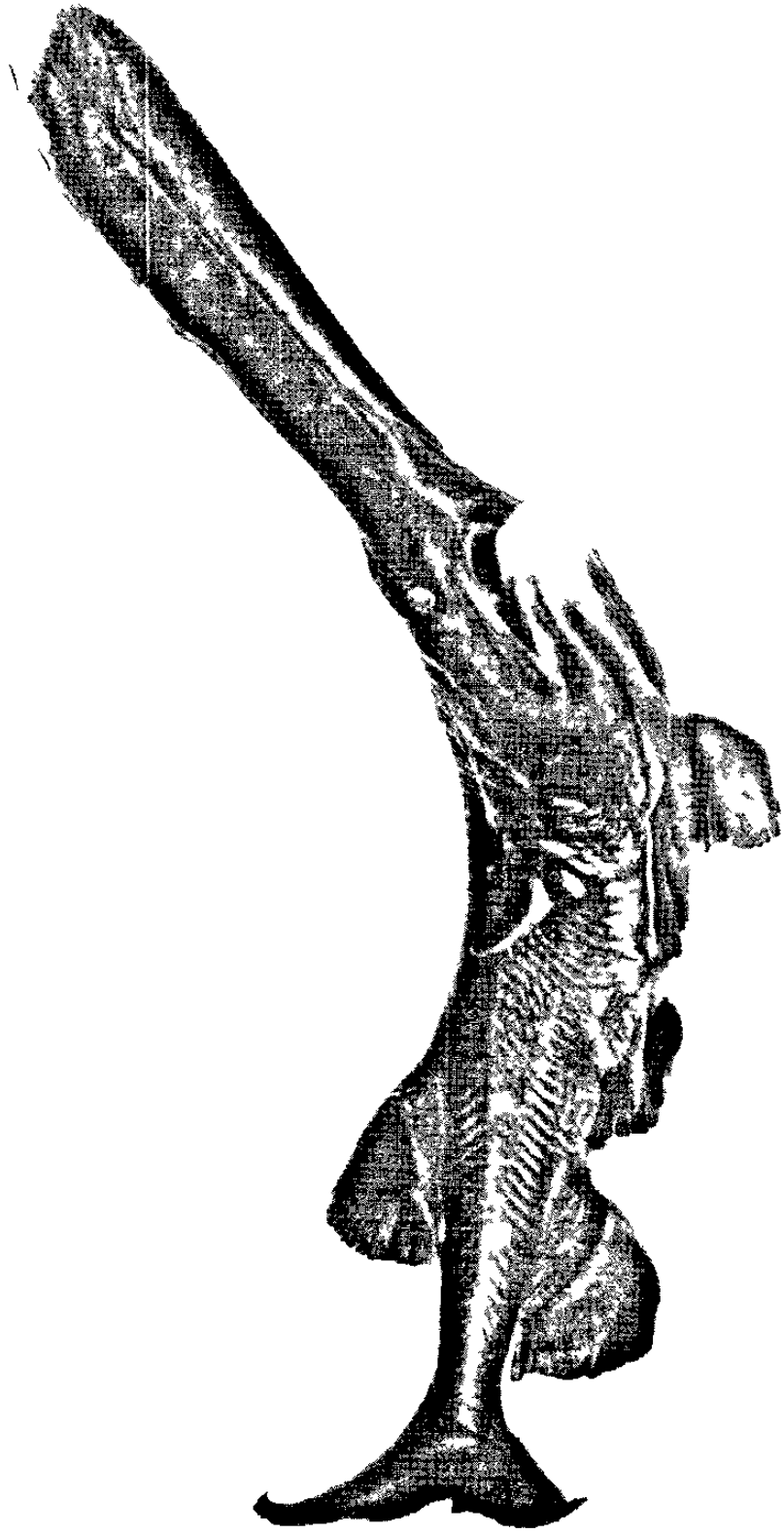


Fig. 1. Fotografia tomada a un ejemplar juvenil de *Polyodon spathula*.

METODOLOGIA

Juveniles de peces Epatula con una talla aproximada de 90 mm, arribaron a Uvalde National Fish Hatchery en la primavera de 1996 procedentes de San Marcos State Fish Hatchery "A. E. Wood"; recibieron un tratamiento profiláctico a base de sal y posteriormente, se mantuvieron en canales rápidos con aereación constante hasta alcanzar la talla deseada

MANTENIMIENTO

Para la alimentación de los organismos se utilizó alimento balanceado artificial marca Silver Cup fabricado por Nelson & Sons cuya formulación se incluye en la tabla numero 1, mezclando granulaciones 1 y 2 a una proporción de 1:1; el mismo se suministró *ad libitum* durante 7 ocasiones diarias a intervalos de 2 horas a partir de las 7:00 a.m. hasta las 7:00 p.m. La remoción del alimento excedente y excremento sedimentado en los contenedores se realizó también diariamente, utilizando para ello una manguera flexible anillada (sifón) de 1 pulgada de diametro, conectada a un tubo y boquilla de PVC cubierta con poliuretano, con el objeto de amortiguar golpes dentro del contenedor evitando disturbios a los peces. Por ultimo la temperatura del agua registró $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante toda la experimentación y con referencia al flujo de la misma, éste se ajustó a 1 L/seg permanentemente.

ANALISIS BROMATOLOGICO	
Proteina cruda, no menos de	48.00 %
Grasa cruda, no menos de	14.00 %
Fibra cruda, no mas de	3.00 %
Cenizas, no más de	12.00 %
Sodio, no más de	2.00 %
Vitamina A, no menos de	10,000 UI/Kg
Vitamina D, no menos de	500 UI/Kg
Vitamina E, no menos de	380 UI/Kg

Tabla 1 Componente nutricional del alimento "Silver Cup" utilizado en ambas granulaciones

DISEÑO EXPERIMENTAL

Se consideró conveniente asegurar que los diferentes tratamientos utilizados en la presente experimentación, no resultaran favorecidos o perjudicados de manera consistente por alguna fuente de variación conocida o desconocida, evitándose así, el sesgo en las comparaciones entre medias de tratamientos. Para tal efecto, un diseño experimental completamente aleatorizado fue empleado en este bioensayo con el propósito de obtener un estimativo válido del error experimental de las medias de los tratamientos y de las diferencias entre las mismas, puesto que todas las unidades experimentales tuvieron la misma probabilidad de formar parte de cualquiera de los tratamientos programados en el mismo (Steel y Torrie, 1985).

Tomando en cuenta lo anterior, se establecieron dos grupos correspondientes al experimental y control, ubicados respectivamente en la parte anterior de 2 canales rápidos de fibra de vidrio con dimensiones de 15 x 2.4 x 1.2 m, conteniendo peces a una densidad de 0.5 g/L y que fueron seleccionados de acuerdo a sus longitudes, con el propósito de estandarizar el procedimiento y al mismo tiempo, obtener las mediciones iniciales 28 días previos a iniciar el ensayo y dar tiempo suficiente a la recuperación fisiológica de los organismos. Así, los que formaron el lote experimental, con un rango en sus longitudes totales de 250 a 269 mm, se sometieron a un efecto de estrés, después del periodo de 28 días de recuperación al haber sido manipulados para obtener las longitudes a 0 horas. El estresor aplicado fue producto de un proceso de manejo intencional, consistente en el confinamiento y redeo total del lote, para obtener el registro de longitud y peso en cada pez, tomando esto último, un periodo de tiempo aproximado de 30 segundos fuera del agua en cada organismo. Finalmente, todos los peces se reincorporaron a su contenedor original, para iniciar 1 hora más tarde, la toma de muestras sanguíneas programadas a 1, 3, 6, 12, 24, 48, 96, 168 y 288 horas, obteniéndose de esta forma, los niveles de respuesta fisiológica a diferentes tiempos de recuperación, conformando de esta manera 9 distintos tratamientos, con un tamaño de muestra de 10 peces por cada tratamiento. Así mismo, nuevas longitudes fueron registradas a 96, 168 y 288 horas en 10 nuevos peces en cada uno de estos tiempos, logrando de esta forma la curva de crecimiento.

Al igual que en el lote anterior, al lote control también se les dio un periodo de 28 días de recuperación después de obtener sus longitudes iniciales registrando un rango de 274 a 294 mm. Por el contrario, a diferencia del lote experimental, éste no experimentó ninguna clase de disturbio con el propósito de obtener los niveles fisiológicos normales, tanto al inicio del bioensayo (0 horas) como al final del mismo (288 horas), con un tamaño de muestra de 10 peces en ambos. También se tomaron nuevas mediciones de longitud a 96, 168 y 288 horas permitiendo de esta manera, la comparación del crecimiento entre ambos lotes.

REGISTRO DE LONGITUD

Los primeros estudios presentados sobre Espátulas han reportado sus mediciones utilizando la longitud total tradicional, pero Russell (1986) considera inadecuado este procedimiento argumentando que puede haber daño en el "rostrum" y aleta caudal; de ahí que Ruelle y Hudson (1977) propongan la longitud del cuerpo como una medición "standard" para este organismo, la cual se mide desde el borde del ojo hasta la furca de la cola. Sin embargo, tomando en consideración que se tuvo la oportunidad de seleccionar adecuadamente todos los peces de esta experimentación, se ha optado por utilizar la longitud total (LT) tradicional.

COLECTA DE SANGRE

Debido a que toma algunos instantes para que la hipercortisolemia se presente derivada del estrés por muestreo, los peces se capturaron individualmente utilizando una red de cuchara e inmediatamente se ubicaron inmersos en un contenedor plástico al nivel de la superficie con solución anestésica de MS 222 a una concentración letal de 200 mg/L (Wedemeyer, 1990).

Cuando los peces no reaccionaron, se procedió a tomar una muestra de 2 ml de sangre, utilizando una jeringa de 3 ml con aguja heparinizada número 20 para cada pez, la que se inserto en la parte ventral del pedúnculo caudal, en la vena caudal, justo detrás de la aleta anal

Todas las muestras sanguíneas tomadas a los ejemplares, se depositaron en tubos plásticos para centrifugación de 1.5 ml y en capilares también para centrifugación a 11 mil revoluciones por minuto durante 3 minutos; de los capilares, una vez transcurrido este tiempo, se procedió a tomar lectura del paquete celular centrifugado (hematocrito) y posteriormente, tras la ruptura del mismo capilar, se extrajo una gota de plasma separado en la parte superior y colocada en la plataforma de un refractómetro para determinar la concentración de la proteína total del plasma. Por otra parte, para estimar la concentración de glucosa, se requirió de la utilización de un medidor electrónico (Acu Check III), el cual es utilizado normalmente para el monitoreo de glucosa sanguínea en pacientes diabéticos, sin embargo, de acuerdo con Wedemeyer *et al*, (1990) las lecturas obtenidas con este tipo de equipos son confiablemente reproducibles; se requiere únicamente de una gota de sangre, ubicada en una banda, reactiva al contacto con la glucosa, el cambio de color es posteriormente leído electrónico y automáticamente directamente en el medidor. Para la evaluación de hemoglobina, se recurrió al empleo de un hemocitómetro; se realiza una comparación colorimétrica al introducir una gota de sangre hemolizada al instrumento, mediante el uso de un aplicador impregnado con una concentración de saponina (200 µg), al lograrse el igualado de color se procede a registrar el nivel de hemoglobina correspondiente para ese color, tomando la lectura de la escala lateral externa. Por último, de los tubos plásticos para centrifugación de 1.5 ml, se extrajo el plasma centrifugado y se almacenó a temperatura de congelación para su posterior análisis, por cortesía del Laboratorio de Ecología y Biología Organismal de la Universidad de Memphis Tn., determinando las concentraciones de cloruros y cortisol, este último parámetro mediante la técnica de Radioinmuno Ensayo (RIA)

ANALISIS ESTADISTICO

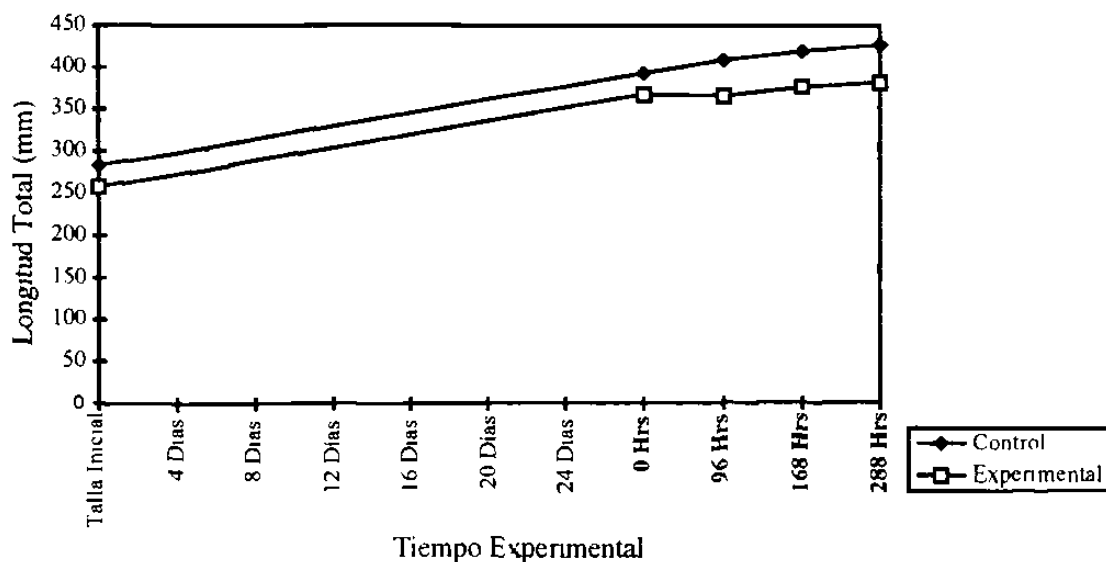
Para determinar diferencia significativa en la continuidad de crecimiento entre ambos lotes se realizó una comparación de pendientes, la cual involucra el uso de la t de "student" de una manera análoga a la comparación de medias poblacionales, enfocada en este caso hacia la prueba de la igualdad del coeficiente de regresión de dos poblaciones (Zar, 1974). Por otra parte, la prueba de una muestra de Kolmogorov-Smirnov es un análisis que ha sido utilizado en este estudio para corroborar que los datos correspondientes a los niveles de cortisol, cloruros, glucosa, hematocrito, hemoglobina, y proteína total del plasma siguieran una distribución normal (Steel y Torrie, 1985). Posteriormente se procedió a aplicar un análisis de varianza a las variables resultantes con distribución normal y para detectar diferencias significativas en los diferentes tratamientos respecto a los controles inicial y final, se utilizo la prueba de rango múltiple de Tukey. Por el contrario, en el caso de las variables cuya distribución resultó no ser normal, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para posteriormente continuar con las comparaciones de Mann-Whitney siempre que el análisis anterior revelara diferencias significativas. Finalmente el paquete estadístico designado para esta investigación correspondió al Statistical Package for the Social Science (SPSS)

RESULTADOS

Como se puede apreciar en la grafica 1, el crecimiento observado en los organismos del lote control así como del experimental, se mantuvo paralelamente constante durante los 28 días previos a la aplicación del estresor; tiempo que fue destinado como periodo de recuperación posterior a la obtención de las tallas iniciales en ambos grupos, iniciando el grupo control, con una longitud total media \pm error standard, de 283.3 ± 0.65 mm. misma que se incrementó hasta 392.6 ± 3.8 mm al término de este periodo. Similarmente, el grupo experimental inició con una longitud media en sus organismos, de 257.9 ± 0.5 mm, logrando desarrollar una longitud media de 367.5 ± 1.8 mm, en el mismo lapso de tiempo

En la misma gráfica se puede apreciar una caída en el crecimiento del lote experimental a partir del tiempo de 0 horas en relación al grupo control, mediante la utilización de una comparación de pendientes ($p < 0.05$), siendo este uno de los resultados mas contundentes en el desarrollo de este estudio, ya que el lote experimental sufrió un estancamiento en su crecimiento al transcurrir 96 horas posteriores al proceso de manejo con sólo 366.1 ± 3.6 mm, observándose un ligero repunte a 168 y 288 horas con 377.2 ± 6.4 mm y 382.3 ± 4.2 mm respectivamente. Por su parte, el grupo control alcanzo a 96 horas, un incremento medio progresivo de 409.3 ± 4.6 mm, mismo que se proyectó de igual forma en los siguientes tiempos de muestreo programados, es decir, 168 y 288 horas, con longitudes de 419.1 ± 3.9 mm y 426.8 ± 5.8 mm correspondientemente.

Con respecto a la mortalidad de los organismos, no se registró baja alguna desde el momento de establecer las tallas iniciales, hasta la finalización de este proyecto tanto en los peces que conformaron el lote control, así como los del experimental, aun con la aplicación del estresor



Gráfica 1. Curva de crecimiento comparativa entre los lotes control y experimental

Por otra parte, el análisis de una muestra de Kolmogorov-Smirnov aplicado a cada una de las variables, determinó, como se puede observar en la tabla 2, que sólo los datos de los distintos tratamientos con respecto al cortisol, se distribuyeron normalmente ($p=0.000$), validándose de esta forma la aplicación de un análisis de varianza de una vía ($p=0.003$), como aparece en la tabla 3; posteriormente, por medio de la prueba de rango múltiple de Tukey, se estableció una diferencia significativa en el tratamiento de 12 horas de recuperación, alcanzándose un nivel de 0.689 ± 0.347 ng/ml (gráfica 2), contra 0.049 ± 0.046 ng/ml y 0.008 ± 0.004 ng/ml en los controles inicial y final respectivamente.

VARIABLE	PRUEBA DE KOLMOGOROV-SMIRNOV
Cortisol	0.0000 **
Cloruros	0.5636
Glucosa	0.7111
Hematocrito	0.0963
Hemoglobina	0.4939
P.T. del Plasma	0.1412

Tabla 2 Resultados derivados de la prueba de Kolmogorov-Smirnov aplicada de manera individual, a cada una de las variables para validar la distribución normal.

De acuerdo a la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias significativas y altamente significativas en el resto de las variables (tabla 3), exceptuando entre los niveles de hemoglobina ($p=.3096$). Las comparaciones de Mann-Whitney revelaron en los resultados de cloruros, diferencias significativas en los tratamientos de 1 y 3 horas de recuperación, es decir, 107.9 ± 1.4 meq/L y 108.4 ± 1.2 meq/L, así como diferencia altamente significativa en el de 6 horas, con 105.7 ± 1.3 meq/L para ambos controles, (gráfica 3) En cuanto a los niveles alcanzados por la glucosa en el plasma sanguíneo, se detectó diferencia significativa incluso entre los controles, observándose un incremento altamente significativo (66.2 ± 3.8 mg/DL) a las 3 horas después del estímulo estresante y posteriormente, una caída abrupta (37.1 ± 7.7 mg/DL) al término de 6 horas, sin embargo, a 12 y 24 horas se registraron nuevamente incrementos altamente significativos, llegando a 57.2 ± 2.6 mg/DL y 60.2 ± 2.4 mg/DL respectivamente, finalmente se determinó significativo el nivel de 47.8 ± 2 mg/DL alcanzado al plazo de 48 horas respecto al control inicial, (gráfica 4)

Por otra parte, el hematocrito experimentó un incremento altamente significativo transcurrida la primera hora de muestreo, llegando a un porcentaje de 30.3 ± 0.6 respecto al control inicial (25.3 ± 0.5 %), de manera similar, estos valores se mantuvieron altamente significativos a 6, 12 y 24 horas (29.7 ± 0.8 , 29.1 ± 1 y 30.9 ± 1.4 % respectivamente) con sólo ligeras fluctuaciones respecto al control final, (gráfica 5). Por el contrario, como se mencionó anteriormente, los niveles de hemoglobina no exhibieron variaciones importantes, obteniéndose un valor medio de 6.2 ± 0.06 g/DL a lo largo del experimento, (gráfica 6) Por último, en los niveles de proteína total del plasma, se expresaron diferencias altamente significativas a 12 y 24 horas de recuperación con 4.1 y 4.2 g/DL respectivamente, en base a ambos controles es decir 3.4 y 3.2 g/DL, (gráfica 7).

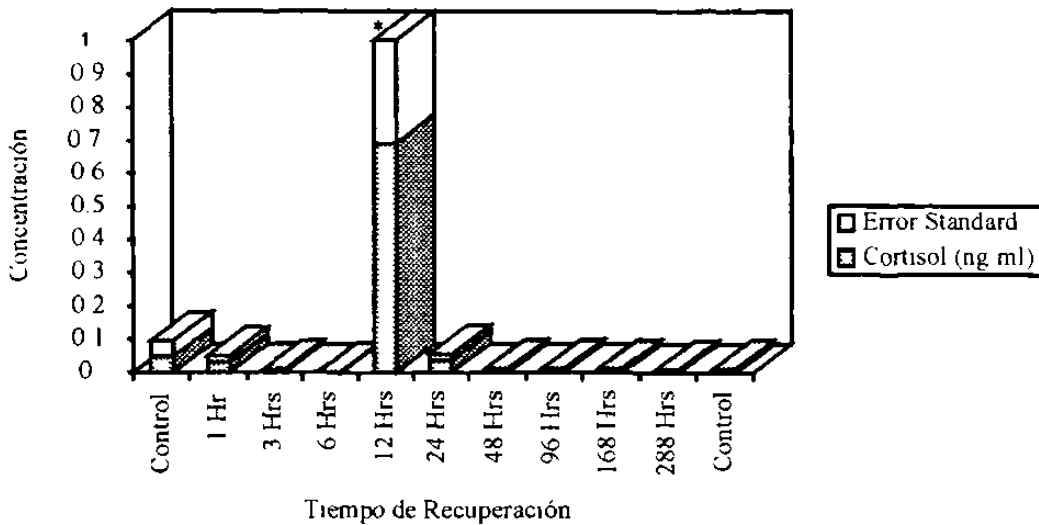
1020119181

* Diferencia Significativa

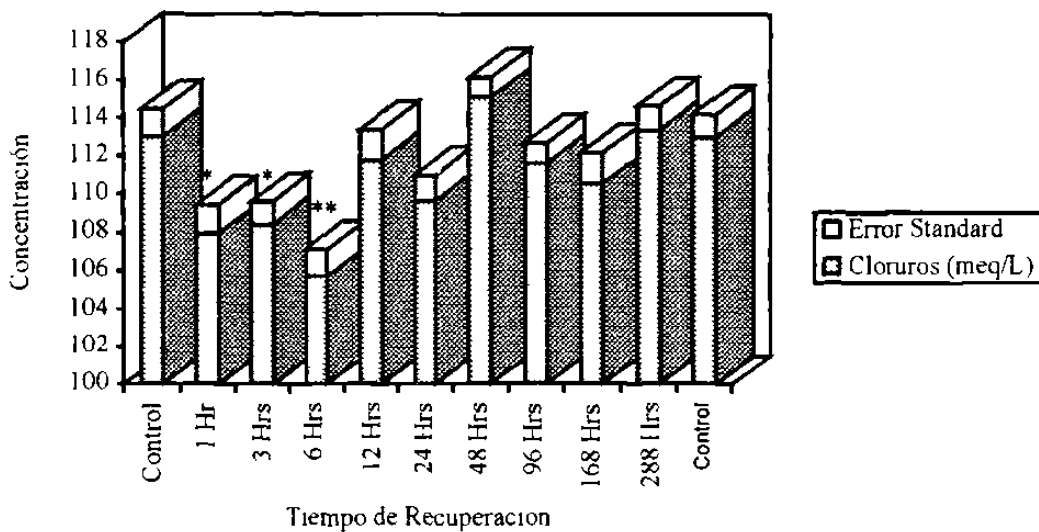
** Diferencia Altamente Significativa

VARIABLE	PRUEBA ESTADISTICA	SIGNIFICANCIA
Cortisol	ANOVA	0.0003 *
Cloruros	Kruskal-Wallis	0.0003 *
Glucosa	Kruskal-Wallis	0.0000 **
Hematocrito	Kruskal-Wallis	0.0000 **
Hemoglobina	Kruskal-Wallis	0.3096
P.T. del Plasma	Kruskal-Wallis	0.0000 **

Tabla 3 Resultados obtenidos del análisis estadístico aplicado a las diferentes variables para determinar la existencia de diferencia significativa a nivel de tratamiento



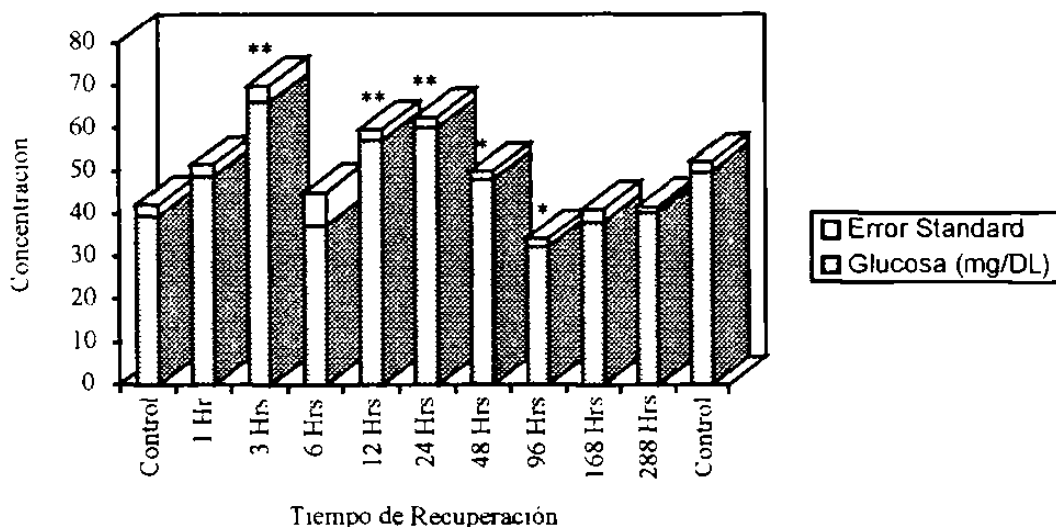
Gráfica 2 Muestra los niveles de cortisol y error standard.



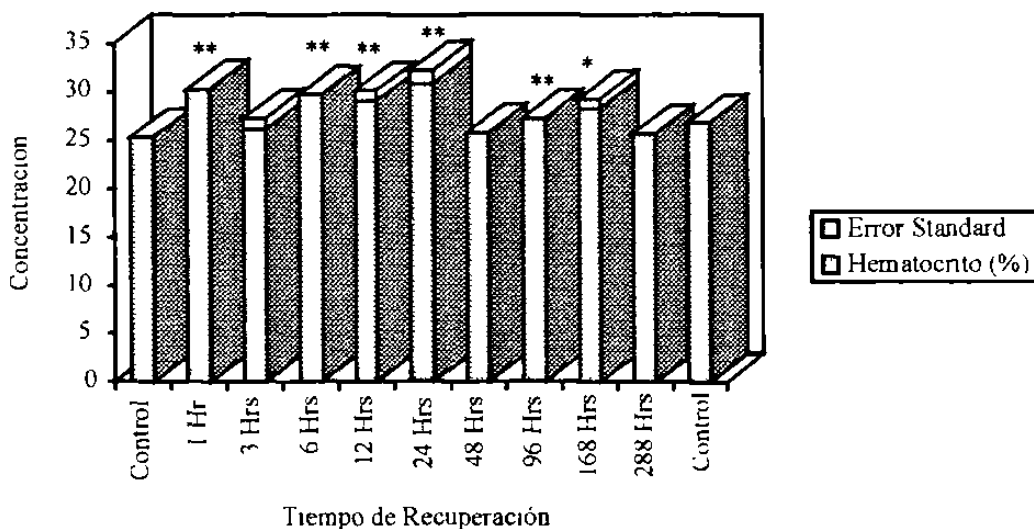
Gráfica 3 Muestra los niveles de cloruros y error standard.

* Diferencia Significativa
 ** Diferencia Altamente Significativa

Por último, en un contexto aparte, es muy importante advertir sobre un hecho interesante observado después de la examinación interna de los organismos, al término del muestreo realizado a cada tratamiento en ambos lotes, es decir, los controles inicial y final, así como los 9 distintos tiempos de recuperación en el experimental, ya que la proporción de sexos de la totalidad de los peces de todos los tratamientos, resultó inclinada en un 100% hacia los machos

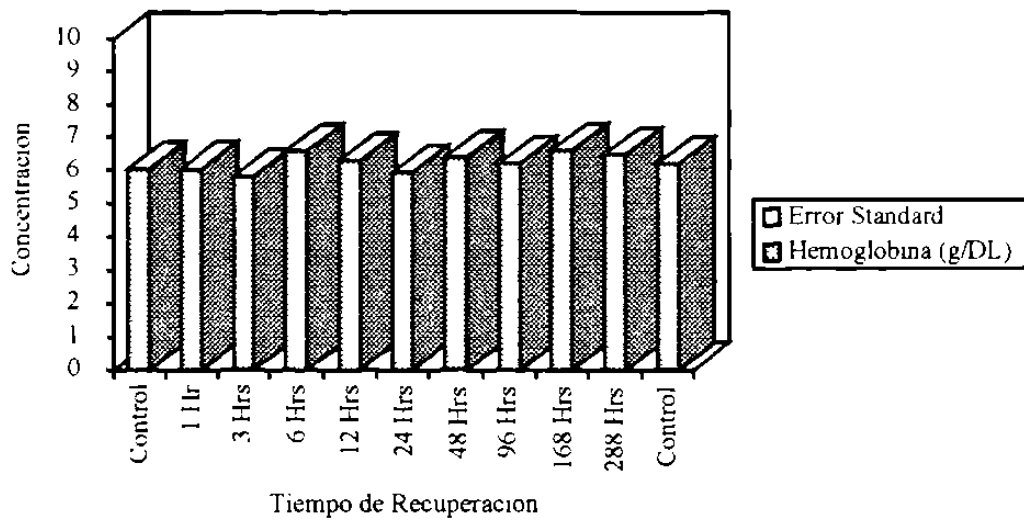


Gráfica 4. Muestra los niveles de glucosa y error standard.

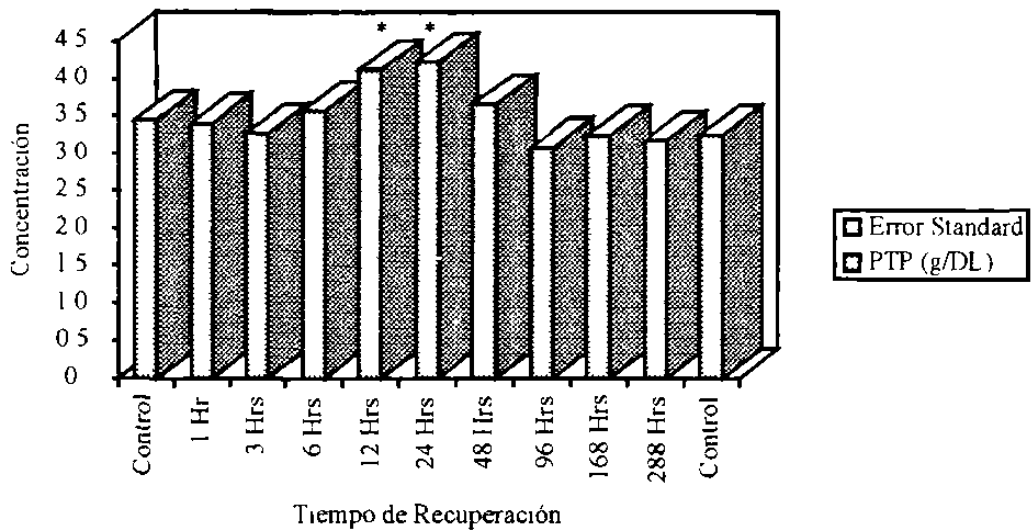


Gráfica 5. Muestra los niveles del hematocrito y error standard.

* Diferencia Significativa
 ** Diferencia Altamente Significativa



Gráfica 6 Muestra los niveles de hemoglobina sin diferencias significativas y el error standard correspondiente



Grafica 7 Muestra los niveles de la proteina total del plasma y error standard

* Diferencia Significativa
 ** Diferencia Altamente Significativa

DISCUSION

Existen dos componentes muy importantes involucrados en la respuesta de estrés, los cuales operan a dos diferentes tiempos. En primera instancia, las catecolaminas, tales como la adrenalina y noradrenalina, producidas en las células cromafín del riñón anterior, inician cambios metabólicos en menos de un segundo, presumiblemente bajo control del sistema nervioso simpático. En segundo término, el cortisol, que inicia cambios fisiológicos en menos de una hora, es producido en peces por los cuerpos interrenales también del riñón anterior, bajo la influencia de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) de la hipófisis, se ha visto además que su producción inicia desde los 15 minutos, pero se requiere de un tiempo de aproximadamente 24 horas para lograr su máxima producción. Los efectos de las catecolaminas se caracterizan por conducir al organismo a la condición de alerta y máxima movilización de reservas energéticas, preparándolo para enfrentar situaciones de emergencia, por otro lado, los principales efectos del cortisol parecen manifestarse en los sitios de regulación iónica, tales como las membranas branquiales, túbulos renales y vejiga urinaria, incrementando la permeabilidad iónica de las membranas con pérdida de sales (Smith, 1982).

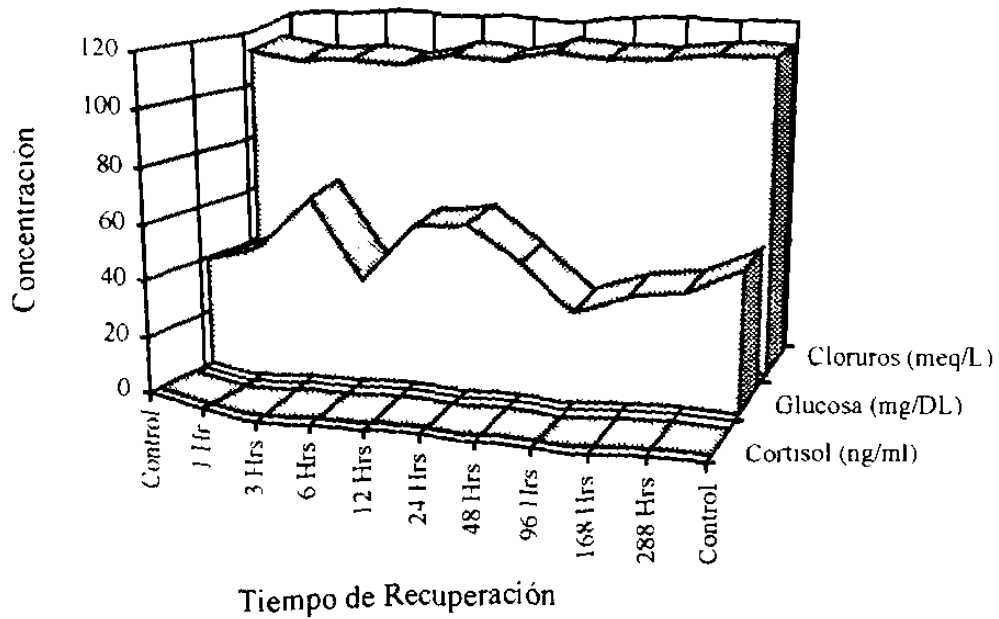
Los teleosteos de agua dulce beben generalmente poca cantidad de agua, tomando en cuenta que gran parte de su volumen, se difunde hacia su interior a través de sus membranas branquiales y por consiguiente, la producción de orina es elevada para disminuir este exceso, no olvidando el gradiente de concentración existente entre el medio y los fluidos corporales del organismo; al mismo tiempo, por medio de una inversión energética metabólica, se reabsorben tantas sales como es posible, ya sea de su orina o del mismo ambiente (Smith, 1982). Las células de cloro implicadas en la función osmoreguladora están presentes en las branquias a nivel del epitelio lamelar, particularmente en la base de esta. Este tipo de células presentan en su interior, un gran número de mitocondrias, muy importantes en la actividad energética de la osmoregulación; sin embargo, estas células pueden ser modificadas en su actividad por la presencia de catecolaminas (Ferguson, 1992); las alteraciones en la capacidad de realización del transporte activo de iones, puede resultar en problemas osmoregulatorios, que podrían explicar la disminución gradual en la concentración de cloruros en el plasma ocurrida en los peces Espátula, durante las primeras 6 horas de recuperación después de experimentar el estímulo de estrés en esta investigación. Estos resultados coinciden con el patrón de respuesta exhibido en diferentes especies como lo reportan Davis, *et al* (1994), Woodward y Strange, (1987) y Rahn, *et al*. (1996), sin embargo, los resultados presentados por Chen *et al* (1995) no son similares a los obtenidos en esta investigación, ya que aparentemente, el efecto de la disminución de la temperatura no incide de manera significativa para producir algún disturbio de esta naturaleza, al menos en la carpa común *Cyprinus carpio*.

Los resultados que aquí se presentan con respecto a las concentraciones de glucosa en el plasma del pez Espátula, han coincidido con otros ensayos enfocados hacia el estudio de este tipo de respuesta, tal es el caso del reportado por Chen, *et al*. (1995), quienes registran un nivel pico de glucosa por arriba de 80 mg/DL en la carpa común, alcanzado cuando la temperatura del agua llegó a 4°C después de una baja desde los 24°C iniciales en un lapso de únicamente 3 días.

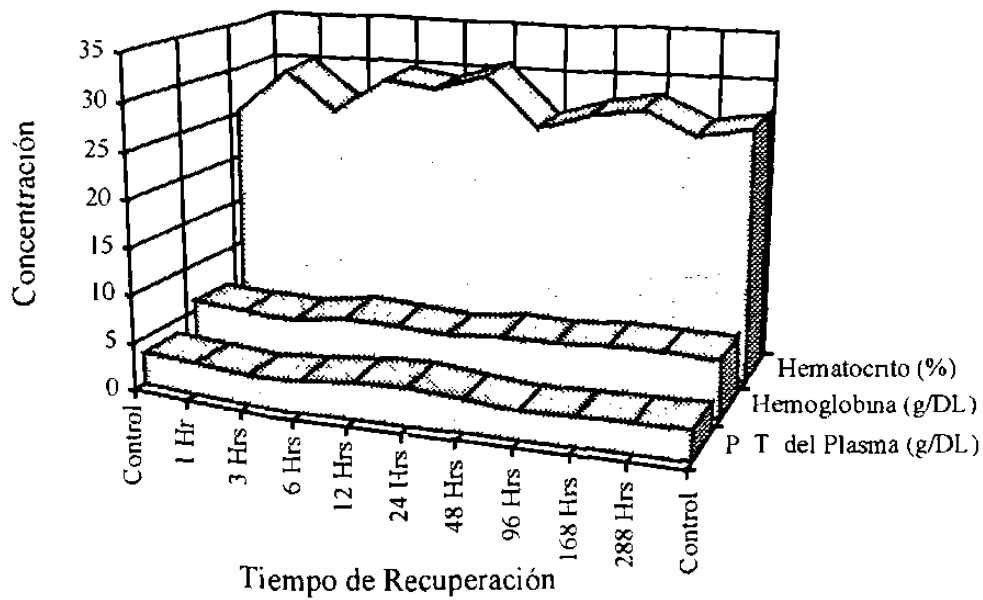
Por otra parte, las investigaciones realizadas en bagre de canal *Ictalurus punctatus*, por Davis, *et al* (1994), corroboran estos resultados, así como los obtenidos por Woodward y Strange (1987), al aplicar estrés por confinamiento y electroshock a poblaciones silvestres y de granja de trucha arco iris *Salmo gairdneri*, en donde los incrementos de glucosa en esta especie fueron espectaculares, alcanzando 284 mg/DL cuando los niveles normales eran de 55 mg/DL y 196 mg/DL, partiendo de 58 mg/DL en cada población respectivamente. Como en los casos anteriores, los datos citados por Tuttle, (1995), aplicando un tratamiento de transporte a *Polyodon spathula*, igual coinciden con los obtenidos en el presente bioensayo, ya que se observaron incrementos que sobrepasaron los 70 mg/DL cuando los peces fueron transportados durante 6 horas a una densidad de 100 g de pez/L de agua. Por otro lado, aunque los experimentos llevados a cabo por Rahn, *et al*. (1996) se realizaron utilizando la misma especie, no se apreciaron cambios significativos en la concentración de glucosa al ser sometidos tanto a situaciones de manejo, como a ejercicio por persecución mediante redes.

De manera general, las diferencias significativas reflejadas como incrementos en las concentraciones de este indicador, en *Polyodon spathula* y muchas otras especies, principalmente durante los primeros momentos después de haber aplicado algún tipo de estresor, muy posiblemente sean debidas a la acción de las catecolaminas, estimulando la conversión de glucógeno en el hígado para producir glucosa libre y de manera simultánea, promoviendo la liberación de insulina en las células β del páncreas (Smith, 1982), la cual desempeña una función de intensificación del transporte de glucosa, desde la sangre, a través de la membrana plasmática de las células musculares y adiposas hasta su espacio intracelular, la cesión de insulina por parte del páncreas depende de la concentración sanguínea de glucosa, misma que cuando decrece por debajo del valor normal, tal como ocurrió en este bioensayo, al llegar a una concentración de 37.1 mg/DL transcurridas 6 horas de recuperación, otra hormona es producida por el páncreas, el glucagón, sólo que por las células α , teniendo como peculiaridad, compensar la acción insulínica, provocando en el hígado otra degradación de glucosa (Lehninger, 1983), tal como ocurrió en el período de tiempo de 12 horas, probablemente debido a la acción sinérgica del cortisol, cuyo único valor significativo y relativamente alto (0 6894 ng/ml) se observó precisamente en este mismo período, tomando en cuenta que esta hormona también desencadena una elevación en la glucosa derivada de tejido proteico y de igual manera, se coincidió a la vez con la recuperación en la concentración de cloruros en el mismo período, posiblemente debido al incremento de retención iónica que también caracteriza a ésta hormona (Smith, 1982); la gráfica 8 presenta dichas incidencias.

Generalmente, los niveles normales de corticoesteroides en peces son menores de 30-40 ng/ml Wedemeyer, *et al*. (1990) pero idealmente debería de ser menos de 5 ng/ml, Pickering y Pottinger (1989), los niveles de reposo metabólico de cortisol en esta especie, son los más bajos comparados con los de otras especies; aunque se observó un incremento significativo en la concentración de éste como una respuesta al manejo experimentado, este incremento no es comparable a los niveles tan altos alcanzados por otras especies expuestas a diferentes tipos de estresores, tal es el caso de la investigación desarrollada por Davis y Parker, (1986) quienes determinan la concentración de cortisol en 14 diferentes especies posterior a un estímulo de transporte por dos horas, reportando incrementos notables en este parámetro, incluyendo *Polyodon spathula* que resulta con un nivel de 72 ng/ml.



Gráfica 8. Muestra comparativamente los niveles alcanzados de cortisol, glucosa y cloruros a través de 288 horas experimentales incluyendo los grupos control inicial y final respectivamente



Gráfica 9 Muestra comparativamente los niveles alcanzados de hematocrito, hemoglobina y proteína total del plasma a través de 288 horas experimentales, incluyendo los grupos control inicial y final respectivamente.

Otras investigaciones como las de Woodward y Strange, (1987), Chen, *et al* (1995), Davis, *et al* (1994) y Rahn, *et al* (1996) coinciden con el modelo de respuesta al observarse un incremento en la concentración de cortisol en el plasma, sin embargo, este incremento se presentó muy por debajo del nivel esperado, después de la aplicación del factor de estrés por manejo. En cuanto al aumento tanto en el porcentaje de hematocrito como en la concentración de la proteína total del plasma, podrían relacionarse con una pérdida excesiva de agua, resultando de esta forma una hemoconcentración posterior a los disturbios osmoregulatorios, ya que en el primero de estos indicadores, se observaron cambios significativos dentro de las primeras 24 horas de recuperación, al igual que en la proteína total del plasma, aunque solo a 12 y 24 horas. Por último, las concentraciones de hemoglobina registradas en este ensayo, no reflejaron la respuesta de estrés, inclinándose probablemente hacia otro tipo de disturbios tales como los nutricionales, los niveles anteriormente mencionados, se encuentran en la gráfica 9.

Una de las primeras causas por las cuales un organismo interrumpe su crecimiento, es el hecho de suprimir su alimentación durante y después de experimentar un determinado factor de estrés; sin embargo el pez Espátula particularmente en este ensayo, no mostró este comportamiento, manteniendo un consumo de alimento aparentemente normal, aunque es importante mencionar que una deuda de oxígeno podría ser un factor limitante durante los fenómenos de oxidación para la producción de energía. Experimentos llevados a cabo por Barton y Schreck (1987) manejando juveniles de "Steelhead" (*Oncorhynchus mykiss*), demostraron que peces estresados tuvieron el doble de la proporción de consumo de oxígeno que peces sin estrés bajo el mismo protocolo experimental, por lo tanto, es concebible que si una porción de la energía presupuestal, es requerida para hacer frente a un estrés agudo tal como el manejo, el alcance metabólico disponible para otras posibles necesidades fisiológicas puede por consiguiente, ser reducido. Así, la caída en la continuidad del crecimiento en los peces del grupo experimental sujetos a estrés por manejo, refleja una íntima relación con los resultados obtenidos durante las 288 horas de tiempo experimental en este bioensayo, principalmente en el incremento de glucosa y en el decremento de cloruros del plasma, ya que las concentraciones de cortisol fueron muy reducidas para relacionarlas con la pérdida de peso, como lo sugieren Davis *et al* (1985) al observar una reducción de dos terceras partes en el peso final de "Bagre de Canal" *Ictalurus punctatus* tras someter a esta especie a una dieta a base de alimento impregnado con cortisol, elevando sus niveles en la sangre, sin embargo, otros corticoesteroides pueden estar involucrados en la regulación de los efectos del estrés sobre el crecimiento de los peces, de acuerdo con Barton e Iwama, (1991).

Finalmente, es importante mencionar que la proporción sexual observada en esta experimentación, podría tener un impacto a corto plazo en la proporción de sexos de las poblaciones en peligro que actualmente se protegen en Los Estados Unidos de Norteamérica. Existen publicaciones como las de Alexander (1985) y Hoyt (1984) en donde la proporción sexual inclinada hacia los machos, es atribuida a las migraciones que éstos realizan de manera anticipada con respecto a las hembras; sin embargo, este fenómeno podría estar estrechamente relacionado con el proceso de determinación sexual a nivel embrionario, inducido por las temperaturas de incubación a que son sometidos los huevos fertilizados, previos a eclosionar durante el cultivo de esta especie, situación similar a como lo experimentan ciertas especies de reptiles con las temperaturas de anidación de acuerdo con Bull y Vogt (1979).

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

De acuerdo a los resultados obtenidos, los indicadores más efectivos en reflejar el efecto de estrés para esta especie en esta investigación, fueron el nivel de cloruros y glucosa en el plasma, contrariamente a lo que podría esperarse con respecto al cortisol, ya que en la mayoría de las especies que han sido sujetas a este tipo de estrés, este parametro ha resultado ser extremadamente sensible

Es evidente un estancamiento en la curva de crecimiento obtenida de los peces que conformaron el lote experimental, mismo que fue sometido al efecto de estres producto del manejo y en el que a su vez se observo una recuperacion gradual posterior, a diferencia de la curva exhibida por el grupo control, cuyo crecimiento se mantuvo constante a traves de todo el tiempo experimental. En base al análisis estadístico realizado, la hipótesis nula es rechazada en vista de que establece que el proceso de estres agudo ocasionado por manejo de redeo y toma de lecturas de longitud y peso a *Polyodon spathula* no refleja un impacto a nivel de crecimiento.

Es posible que un indicador alterno como por ejemplo, algún otro corticoesteroide, el recuento diferencial de glóbulos blancos o el nivel de ácido láctico en la sangre, muestre una respuesta con mayor precisión, o incluso exista otra clase de mecanismo que se encargue de mediar los desequilibrios producidos por algún tipo de estresor, tomando en cuenta que se ha trabajado con una especie bastante primitiva y que el estrés experimentado fue moderadamente severo.

Como se ha mencionado con anterioridad, los procedimientos de manejo ocasionan multiples disturbios a los peces involucrados en estas maniobras, el caso del pez Espatula no ha sido la excepción ya que se demostró un estancamiento en el crecimiento del grupo expuesto a estrés de manejo por redeo

Una recomendación importante derivada del presente trabajo como parte de la tecnica de cultivo de este organismo, es la utilización de canales rápidos desde el inicio con pantalla de confinamiento y lograr con ello, reducir el estrés de manejo al desdoblar para proporcionar mayor espacio, quizás desplazando la pantalla transversal de confinamiento cada vez que la densidad de carga llegue al tope máximo, evitando de este modo, movilizar los peces de un tanque a otro para no tener que desdoblar las densidades de carga, como tradicionalmente se realiza.

Por otra parte, es importante dar continuidad a los resultados obtenidos en esta investigación, con respecto a la proporción de sexos observada en los organismos que conformaron los diferentes tratamientos del bioensayo, inclinada 100% hacia los machos, esto podria tener cierto impacto a largo plazo en el éxito del programa de restauración ecologica que protege a estos peces por cuestiones de reproducción, por lo que sería conveniente experimentar con distintas temperaturas en la incubación de huevos fertilizados de *Polyodon spathula* en las granjas encargadas de este proyecto, así como determinar la posible aplicación de tratamiento hormonal para inducir la inversión sexual.

LITERATURA CITADA

- Adams, L. A. 1942 Age Determination and Rate of Growth in *Polyodon spathula*, by Means of the Growth Rings of the Otoliths and Dentary Bone. American Midland Naturalist 28: 617-630 *In*: Pitman, V. M. 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 23 pp
- Alexander, M. L. 1915 More About the Paddlefish (*Polyodon spathula*) Transactions of the American Fisheries Society 45: 34-39
- Alexander, C. M. 1985 An Assessment of the Harvest Potential of Paddlefish Stocks in Watts Bar Reservoir, Tennessee. Master's Thesis. University of Tennessee, Knoxville *In*: Pitman, V. M. 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 23 pp
- Angelidis, P., F. Baudin-Laurencin and P. Youinou. 1987 Stress in Rainbow Trout, *Salmo gairdneri* Effects Upon Phagocyte Chemiluminescence, Circulating Leucocytes and Susceptibility to *Aeromonas salmonicida* J. Fish Biol. 31 (Suppl. A) 113-122 *In*: Barton, B. A. and Iwama, G. K. 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases 3-26 pp.
- Barton, B. A. and Iwama, G. K. 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids. Annual Review of Fish Diseases. 3-26 pp
- Barton, B. A. and Schreck, C. B. 1987. Metabolic Cost of Acute Physical Stress in Juvenile Steelhead. Transactions of the American Fisheries Society 116: 257-263.
- Barton, B. A., C. B. Schreck, and L. A. Sigismondi. 1986 Multiple Acute Disturbances Evoke Cumulative Physiological Stress Responses in Juvenile Chinook Salmon. Transactions of the American Fisheries Society 115: 245-251.
- Becker, G. C. 1983 Fishes of Wisconsin. The University of Wisconsin Press, LTD 231 pp
- Blaxhall, P. C. and Daisley, K.W. 1973. Routine Haematological Methods for use with Fish Blood. J. Fish Biol. 5: 771-781.
- Bonislawsky, P. S. 1977 Paddlefish Investigation. Kansas Fish and Game Comm. D-J Proj. F-15-R. Study 030. Completion Rep. p.18. *In*: Carlson, D. M. and Bonislawsky, P. S. 1981 The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States. Fisheries (Bethesda) 6(2): 17-27
- Bull, J. J. and Vog, R. C. 1979 Temperature-Dependent Sex Determination in Turtles. Science 206: 1186-1188

- Carlson, D M and Bonislawsky, P. S 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States Fisheries (Bethesda) 6(2): 17-27
- Carmichael, G J. 1984 Long Distance Truck Transport of Intensively Reared Largemouth Bass. Progressive Fish-Culturist 46: 111-115. *In*. Schreck, C. B and Moyle, P B , editors Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Chen, G R , L T Sun , Y H Lee and C. F Chang. 1995 Characteristics of Blood in Common Carp, *Cyprinus carpio*, Exposed to Low Temperatures. Journal of Applied Aquaculture 5(3) 21-31
- Clawson, C C , J Finstad and R A. Good 1966. Evolution of the Immune Response V Electron Microscopy of Plasma Cells and Lymphoid tissue of the Paddlefish. Lab Invest. 15: 1830-1847 *In* Holloway, H. L. Jr and C. A. Ottinger. Bibliography on Immunology, Hematology and Parasites of Paddlefish. Biology Department, University of North Dakota.
- Coker, R E 1929. Harvest and Utilization Studies of Common Fishes of The Mississippi River at Keokuk Bulletin of the U. S Bureau of Fisheries 45: 141-223. *In*. Pitman, V. M 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department. 2 pp
- Contreras-Sánchez, W M., C. B Schreck and M S Fitzpatrick. 1995 Effect of Stress on The Reproductive Physiology of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* *In* Fifth International Symposium on The Reproductive Physiology of Fish. The University of Texas at Austin. 183 pp
- Cowan, C M. 1966 Protein Profiles in Lower Fishes. Proc. Nebr. Acad Sci 26 5-6 *In* Holloway, H L. Jr. and Ottinger, C. A. Bibliography on Immunology, Hematology and Parasites of Paddlefish. Biology Department, University of North Dakota.
- Davis, K. B., J. Newsom and B. A. Simco 1994. Physiological Stress in Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Harvested by Lift Net, Vacuum Pump, or Turbine Pump Journal of Applied Aquaculture. 3 (3/4) 297-309.
- Davis, K. B and Parker, N C. 1986 Plasma Corticosteroid Stress Response of Fourteen Species of Warmwater Fish to Transportation. Transactions of the American Fisheries Society. 115: 495-499.
- Davis, K B., P. Torrance , N C Parker and M A Suttle. 1985. Growth, Body Composition, and Hepatic Tyrosine Aminotrasferase Activity in Cortisol-Fed Channel Catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque Journal Fish Biology 27: 177-184 *In* Barton, B A and Iwama, G K. 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture

- with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids Annual Review of Fish Diseases 3-26 pp
- Donaldson, E M 1981 The Pituitary-Interrenal Axis as an Indicator of Stress in Fish. 11-48 pp *In* Schreck, C B and P B Moyle, editors. Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland. 451-489 pp
- Eddy, S and Underhill, J C 1974 Northern Fishes 3rd ed Univ Minn Press Minneapolis 414 pp *In* Carlson, D M and Bonislawsky, P S 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States. Fisheries (Bethesda) 6(2) 17-27
- Esch, G W and Hazen, T C 1978 Thermal Ecology and Stress A Case History for Red-Sore Disease in Largemouth Bass 331-363 pp *In* Schreck, C B and Moyle, P B , editors Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Ferguson, H W 1992 Systemic Pathology of Fish A Text and Atlas of Comparative Tissue Responses in Diseases of Teleosts Iowa State University Press/Ames 263 pp
- Fish, L A., B. Pollara and R. A. Good. 1966. Characterization of Immunoglobulin From the Paddlefish (*Polyodon spathula*), 99-104 pp. *In* Holloway, H L Jr and Ottinger, C A Bibliography on Immunology, Hematology and Parasites of Paddlefish Biology Department, University of North Dakota.
- Gengerke, T W 1978 Paddlefish Investigations Iowa Conservation Commission United States National Marine Fisheries Service Project 2-255-R, Segment 1-3, Final Report, Des Moines. *In* Pitman, V M. 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 23 pp
- Gengerke, T W 1986. Distribution and Abundance of Paddlefish in the United States. 22-35 pp *In* Pitman, V M 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department. 1 pp.
- Gilbert, B. 1980 End of a Long Journey for Spoonbill Cat. Audubon Magazine March 1. 67-71 pp.
- Graham, L. K 1986 Establishing and Maintaining Paddlefish Populations by Stocking. 96-104 pp *In* Pitman, V M. 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 33 pp
- Helms, D 1976 Paddlefish Investigations. Iowa Conserv Comm., Nat Mar Fish Serv Proj 2-225-R. Seg. 1 Progress Rep. 18 pp. *In* Carlson, D M. and Bonislawsky, P S 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States Fisheries (Bethesda) 6(2) 17-27

- Hesser, E. F. 1960. Methods for Routine Fish Hematology. The Progressive Fish-Culturist 164-171 pp
- Houser, A. 1965. Growth of Paddlefish in Fort Gibson Reservoir, Oklahoma. Transaction of the American Fisheries Society 94 (1): 91-93
- Hoyt, R. D. 1984. Population Dynamics and Biology of the Paddlefish, *Polyodon spathula*, in Lake Cumberland, Kentucky. Kentucky Department of Fish and Wildlife Resources. Federal Aid Report in Commercial Fisheries Research and Development, Project 2-388-R, Completion Report, Bowling Green. *In* Pitman, V. M. 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 24 pp
- Hubert, W. A., S. H. Anderson, P. D. Southall and J. Crance. 1984. Habitat Suitability Index Models and Instream Flow Suitability Curves: Paddlefish. U. S. Fish and Wildlife Service. *In* Pitman, V. M. 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department. 21 pp
- Jordan, D. S. and Evermann, B. W. 1904. American Food and Game Fishes. A Popular Account of all the Species Found in America North of the Equator, With Keys for Ready Identification, Life Histories and Methods of Capture. New York, Doubleday, Page & Co. 1 pp
- Joshi, B. D. 1987. Cyto-morphological Classification and Key to the Identification of Normal Circulating Blood Corpuscles of Freshwater Teleosts. *Him. J. Env. Zool.* 1: 98-113
- Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller y D. R. M. Passino. 1984. Ictiología. AGT Ed. México. 506 pp
- Larimore, R. W. 1949. Changes in the Cranial Nerves of the Paddlefish, *Polyodon spathula*, Accompanying Development of the Rostrum. *Copeia* 3: 204-212.
- Lehninger, A. L. 1983. Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y Función Celular. Ediciones Omega. Segunda Edición. Barcelona. 1117 pp
- Linton, T. L. 1961. A Study of the Fishes of the Arkansas and Cimmaron Rivers in the Area of the Proposed Keystone Reservoir. Oklahoma Fish Res. Lab. Rep. 81. 30 pp. *In* Carlson, D. M. and Bonislavsky, P. S. 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States. *Fisheries* (Bethesda) 6(2): 17-27.
- Pasch, R. W., P. A. Hackney and J. A. Holbrook. 1980. Ecology of Paddlefish in Old Hickory Reservoir, Tennessee, With Emphasis on First Year Life History. *Transactions of the American Fisheries Society* 109 (2): 156-167

- Peters, G 1979 Zur Interpretation des Begriffs "Stress" Beim Fisch. Fisch und Tierschutz, Fisch und Umwelt, Heft 7 Fischer-Verlag, New York *In*: Schreck, C. B and Moyle, P. B., editors Methods for Fish Biology. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Pfleger, W L 1975 The Fishes of Missouri Missouri Department of Conservation, Jefferson City *In*: Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 18 pp
- Pickering, A D y Pottinger T G 1989 Stress Responses and Disease Resistance in Salmonid Fish Effects of Chronic Elevation of Plasma Cortisol Fish Physiol Biochem 7 253-258 *In* Barton, B. A and Iwama, G K 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids Annual Review of Fish Diseases 3-26 pp
- Pickering, A D , T. G Pottinger, J Carragher and J. P Sumpter. 1987 The Effects of Acute and Chronic Stress on the Levels of Reproductive Hormones in The Plasma of Mature Male Brown Trout, *Salmo trutta* L. Gen. Comp Endocrinol. 68 249-259. *In* Barton, B A and Iwama, G. K. 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids Annual Review of Fish Diseases 3-26 pp.
- Pickering, A. D., T G Pottinger, P. Christie. 1982. Recovery of The Brown Trout, *Salmo trutta* L., From Acute Handling Stress: A Time-Course Study J. Fish Biol 20 229-244 *In* Barton, B. A. and Iwama, G. K 1991. Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids Annual Review of Fish Diseases. 3-26 pp.
- Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 70 pp
- Rahn, A. B , B. A. Barton and H. Bollig. 1996. Physiological Stress Responses to Handling in Paddlefish (*Polyodon spathula*) with Freshwater and Saline-Water Recovery *In*: Culture and Management of Sturgeon and Paddlefish Symposium Proceedings, International Congress on the Biology of Fishes. San Francisco California. 157-162 pp.
- Robinson, J W. 1966. Observations of the Life History, Movement and Harvest of the Paddlefish, *Polyodon spathula*, in Montana Proc Montana Acad Sci. 26: 33-44 *In* Carlson, D M and Bonislowsky, P. S. 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States. Fisheries (Bethesda) 6(2). 17-27
- Ruelle, R and Hudson, P L. 1977 Paddlefish (*Polyodon spathula*) Growth and Food of Young of the Year and a Suggested Technique for Measuring Length Transactions of the American Fisheries Society 106 (6) 609-613.

- Russell, T R 1986 Biology and Life History of the Paddlefish-a Review 2-20 pp *In* Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 23-24 pp.
- Schreck, C B. 1981. Stress and Compensation in Teleostean Fishes Response to Social and Physical Factors. p 295-321 *In* Schreck, C B and Moyle, P B , editors Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Schreck, C B 1982. Stress and Rearing of Salmonids Aquaculture 28: 241-249 *In* Schreck, C B and Moyle, P B , editors Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Selye, H 1950 Stress and The General Adaptation Syndrome. British Medical Journal 1 1383-1392 *In* Schreck, C B and Moyle, P B , editors. Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp
- Selye H 1973. The Evolution of the Stress Concept American Scientist 61 692-699 *In* Schreck, C. B and Moyle, P B., editors. Methods for Fish Biology American Fisheries Society. Bethesda, Maryland. 451-489 pp.
- Smith, L. S. 1982 Introduction to Fish Physiology T F H Publications, Inc 352 pp
- Sprague, J. W 1959 Report of Fisheries Investigations During the Sixth Year of Impoundment of Fort Randall Reservoir, South Dakota, 1958. South Dakota Dep Game Fish and Parks. D-J Proj F-1-R-8. Job Nos 1-5 Progress Rep 29 pp *In* Carlson, D. M and Bonislawsky, P S 1981. The Paddlefish (*Polyodon spathula*) Fisheries of the Midwestern United States. Fisheries (Bethesda) 6(2) 17-27
- Steel, R G D y J. H Torrie. 1985. Bioestadística Principios y Procedimientos Primera Edicion Ed. McGraw-Hill Colombia p 129-130, 522.
- Sumpter, J. P., J. Carragher, T. G Pottinger and A. D. Pickering. 1987. The Interaction of Stress and Reproduction in Trout *In*: Barton, B. A. and Iwama, G K 1991 Physiological Changes in Fish From Stress in Aquaculture with Emphasis on the Response and Effects of Corticosteroids Annual Review of Fish Diseases 3-26 pp
- Thompson, D H. 1933 The Finding of Very Young *Polyodon*. Copeia 1933 31-33 *In* Pitman, V. M. 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department. 18 pp
- TPWD (Texas Parks and Wildlife Department). 1977. Exhibit B-supporting Information, Endangered Species Regulation Amendment. Commission Agenda Item, Public Hearing, Amendment to Endangered Fish and Wildlife Regulation *In* Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department Austin Texas.

- Tuttle, W R 1995. Changes in Plasma Glucose and Chloride Titers in Response to Stimulated Transport of Juvenile Paddlefish *Polyodon spathula* Master' Thesis Southwest Texas State University San Marcos Texas 30 pp.
- U S Department of Commerce 1974 Fishery Statistics of the United States. NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 65 *In* Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 2 pp
- U S Department of Commerce 1975 Fishery Statistics of the United States NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 66 *In* Pitman, V. M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 2 pp
- U S Department of Commerce. 1976 Fishery Statistics of the United States NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 67 *In* Pitman, V. M. 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 2 pp
- U S Department of Commerce 1977 Fishery Statistics of the United States NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 68 *In* Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas Texas Parks and Wildlife Department 2 pp
- U S Department of Commerce 1978. Fishery Statistics of the United States NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 69 *In*. Pitman, V M 1991. Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 2 pp.
- U S Department of Commerce. 1979. Fishery Statistics of the United States NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration) NMFS (National Marine Fisheries Service) Statistical Digest 70 *In* Pitman, V M 1991 Synopsis of Paddlefish Biology and Their Utilization and Management in Texas. Texas Parks and Wildlife Department 2 pp.
- Wedemeyer, G A , B A Barton and D. J McLeay 1990. Stress and Acclimation *In* Schreck, C B and Moyle, P B, editors. Methods for Fish Biology American Fisheries Society, Bethesda, Maryland 451-489 pp.

- Wedemeyer, G. A. and Yasutake, W. T. 1977. Clinical Methods for the Assessment of the Effects of Environmental Stress on Fish Health. United States Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, D. C. 1-18 pp.
- Weirich, C. R. and Tomasso, J. R. 1991. Confinement and Transport Induced Stress on Red Drum Juveniles. Effect of Salinity. *The Progressive Fish-Culturist* 53: 146-149.
- Woodward, C. C. and Strange, R. J. 1987. Physiological Stress Responses in Wild and Hatchery-Reared Rainbow Trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 116: 574-579.
- Zar, H. J. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall Inc. USA. 228-229 pp.

