

# Evaluación de inmunoestimulantes en el crecimiento y sobrevivencia de la de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), cultivada en jaulas flotantes, en el Lago Guamuez

J. N. López Macias 1; M. Imuez Figueroa 2; A. Burgos Arcos 3; J. Rodríguez Sánchez 4; P. Mena 5; C. Torres Burbano 6

1 MVZ., Esp., M.Sc., Ph.D (C)., Profesor titular. 2 Zoot., Esp., Profesor asistente. 3 Zoot., M.Sc. (C)., Profesor asistente. 4 Ing. Producción acuícola. 5 Ing. Producción acuícola. 6 Zootecnista

## RESUMEN

La presente investigación, se desarrolló durante dos años en la Estación de Jaulas Flotantes, Intiyaco, de la Universidad de Nariño. Se propuso evaluar el efecto comparativo de distintos niveles de fosfato de ácido ascórbico y B - Glucán sobre la sobrevivencia, ganancias de peso por individuo y período, consumo de alimento, conversión alimenticia, producción total calculada, monitoreo de la calidad de agua y análisis económico durante las etapas de levante y ceba de trucha arcoiris (*O. mykiss*). Para este efecto se utilizaron 16 jaulas flotantes, distribuidas en cuatro módulos de cuatro jaulas flotantes de malla multifilamento de 10m<sup>3</sup> de volumen cada una y un ojo de 3/4 a 1/2 pulgada según la fase de desarrollo.

Se utilizó un Diseño Irrestringido al Azar (DIA), conformado por cinco tratamientos y tres réplicas por tratamiento para un total de 15 unidades experimentales. Los peces se sembraron de manera totalmente aleatoria, en las diferentes jaulas experimentales, con un peso aproximado de 40gr en una proporción de 530 animales por jaula para un total de 8480 ejemplares, Los tratamientos evaluados fueron:

T1: Balanceado comercial  
T2: Balanceado comercial + 300 mg de fosfato de ácido ascórbico por kg de alimento comercial.  
T3: Balanceado comercial + 600 mg de fosfato de ácido ascórbico por kg de alimento.  
T4: Balanceado comercial + 1,0 g de B - Glucán por kg de alimento.  
T5: Balanceado comercial + 2,0 g de B - Glucán por kg de alimento.

Así mismo, se estableció a manera de observación estadística, un tratamiento sin réplica con el propósito de aprovechar una jaula disponible en el modulo 4 que fue denominado: T6: conformado por balanceado comercial + 600 mg de fosfato de ácido ascórbico + 2,0 g de B - Glucán por kg de alimento.

Se efectuaron, durante el periodo de cultivo, 24 muestreos semanales, incluyendo la siembra y la cosecha que comprendían los regímenes climáticos de lluvia y verano.

El estudio demostró que la fortificación del alimento artificial con fosfato de ácido ascórbico y Betaglucán, reduce la incidencia de enfermedades bacterianas y fúngicas, aumenta la sobrevivencia, incrementa la ganancia de peso semanal y total, mejora la conversión alimenticia y la relación beneficio–costo. Sin embargo desde el punto de vista comparativo, el fosfato de ácido ascórbico registró ventajas sobre los índices productivos y económicos con relación al Betaglucán.

El mejor tratamiento fue el T3 (600 mg de fosfato de ácido ascórbico) debido a la mayor sobrevivencia, menor porcentaje de enfermedades bacterianas y fúngicas, mejores ganancias de peso, conversión alimenticia y relación beneficio–costo. El T3 fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos en las variables señaladas. El tratamiento 6 (600 mg de fosfato de ácido ascórbico y 2 gr de Betaglucán/kg de alimento) fue estadísticamente similar al T3 en las variables sobrevivencia, conversión alimenticia, ganancias de peso y relación beneficio–costo.

## ABSTRACT

This research was developed during two years in the research unit of floating cages, located in the lake of Guamuez (Province of Nariño, Colombia, Southamerica), known as Aquaculture Research Center of Intiyaco; witch belonged to University of Nariño. The purpose of this study, was to evaluate the comparative effect of Phosphate of Ascorbic Acid and B – Glucán in relation to incidence of diseases, according to treatments, climatic seasons, rate of survival, weight gain per fish, per day and per period, feed consumption, feed conversion, water quality and economic analysis, during the phase of raising and fattening of rainbow trout (*O. mykiss*). The fish were grown in 16 floating cages of polyester multifilament mesh of 10m<sup>3</sup> of volume each. The eye of the mesh changes from ¼ to ½ inches depending on the phase of the culture. An unrestricted Random Design was used, made up by five treatments and three replications by treatment for a total of 15 experimental units. The fish were stocked at random in the different experimental cages, with an average weight of 40g and 530 animals were stocked in each cage for a total population of 8480 trouts. The treatments were distributed in the following way:

T1: Commercial feed  
T2: Commercial feed + 300 mg of Phosphate of Ascorbic Acid / kg of feed.  
T3: Commercial feed + 600 mg of Phosphate of Ascorbic Acid / kg of feed.  
T4: Commercial feed + 10 g B – Glucán per Kg of feed.  
T5: Commercial feed + 20 g B – Glucán per kg of feed.

Furthermore, there was a treatment without replication known as T6 made up by commercial feed + 600mg of Phosphate

of Ascorbic Acid and 2 g of B – Glucán per kg of feed, in order to take advantage of one available cage. There were performed 24 weekly random samplings, during the whole experimental period, including the initial stocking and the final harvesting.

The study find out that the commercial feed fortified by Phosphate of Ascorbic Acid and B – Glucán, reduces the incidence of bacterial and fungal diseases, increases the weight gain per fish, per day, per week and during the whole experimental period, improve the feed conversion and the cost – benefit relationship; however from the comparative point of view, the Phosphate of Ascorbic Acid is better than B – Glucán according to the productive and economic goals reached, during the culture.

The best treatment was T3 (600 mg of the Phosphate of Ascorbic Acid) due to the greatest survival rate, lowest percentage of bacterial and fungal diseases and the best feed conversion, weight gain and cost - benefit relationship. The T3 was statistic different compared to the other treatments, except to the treatment 6 (600mg of Phosphate of Ascorbic Acid and 2g of B – Glucán per kg of commercial feed), which was similar to T3 in relation to the variables feed conversion, weight gain and cost - benefit relationship.

## Introducción

La enfermedad acuícola requiere un agente patógeno, un huésped apropiado y condiciones ambientales de estrés, tales como superpoblación, desnutrición, contenido bajo de oxígeno, solubilización y/o precipitación de materia orgánica, cambios en pH, temperatura y deficiencias vitamínicas. El piscicultor utiliza gran cantidad de medicamentos y químicos, para diversidad de enfermedades y parásitos generando, no sólo problemas de resistencia de los microorganismos, sino también la destrucción del fitoplancton y por ende, la alteración total de la productividad primaria del medio acuático. Además, los fármacos usados en acuicultura representan hasta el 10% de los costos directos en la truchicultura del suroccidente colombiano. (López, 1997). Por esta razón, deben evaluarse sustancias naturales que mejoren el sistema inmunológico de los peces y crustáceos como es el Acido ascórbico y el B - Glucán y no enfrentar los riesgos que conlleva para el medio ambiente la utilización indiscriminada de químicos y antibióticos.

Por lo anteriormente expuesto, el presente proyecto pretende evaluar el ácido ascórbico y el B - Glucán, como una alternativa para mejorar la sobrevivencia de la población íctica cultivada en jaulas flotantes, mediante la prevención de patologías que ocurren en la trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*), en las etapas de alevinaje y levante, en el Lago Guamuez, tendiente a disminuir la utilización de antibióticos y químicos que pueden causar gran daño en la cadena alimenticia natural y problemas de resistencia a los medicamentos, no solamente en los peces levantados, sino también en el hombre como consumidor final.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto comparativo de distintos niveles de fosfato de ácido ascórbico y B-Glucán sobre la sobrevivencia, crecimiento y conversión alimenticia, durante la etapa de levante y finalización de trucha arcoiris (*O. mykiss*), cultivada en jaulas flotantes, en el Lago Guamuez.

### 2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1. Establecer el efecto comparativo del fosfato de ácido ascórbico y B - Glucán en la sobrevivencia de la trucha arcoiris (*O. mykiss*) cultivada en jaulas flotantes, durante la etapa de levante.
- 2.2.2. Calcular los incrementos de peso, conversión alimenticia y producción total, de los distintos tratamientos.
- 2.2.3. Realizar un estudio de costos parciales y determinar la relación costo beneficio, en los diferentes tratamientos.

## 3. Marco teórico

### 3.1 Generalidades

La trucha arcoiris (*O. mykiss*) es la especie íctica mas importantes de la acuicultura continental semiintensiva e intensiva del suroccidente Colombiano con una producción calculada de 2000 toneladas por año (Rosado, 2003) participando el altiplano Nariñense en el mismo período con 900 ton/año. Sin embargo, los principales obstáculos para la expansión de esta actividad acuícola en la región son la ausencia de semillas certificadas, los altos costos de producción, la deficiente calidad de los balanceados comerciales y la alta mortalidad que se presenta durante el ciclo productivo específicamente en los cultivos establecidos en jaulas flotantes localizadas en el lago Guamuez (López, 1997).

De acuerdo con López (1997) diferentes estudios han evaluado el efecto de varias sustancias naturales como estimulantes del sistema inmunológico en mamíferos pero existe poca información sobre su utilización en dietas para peces. Sin embargo, el mismo autor sostiene que el B - Caroteno (Vitamina A), A - Tocoferol (Vitamina E), Acido ascórbico

(Vitamina C) y minerales como Selenio, Fe y Zinc han demostrado participar en muchos mecanismos fisiológicos de los peces y uno de los más importantes se deriva de su actividad antioxidante y protectora de membranas celulares. Se ha comprobado que la actividad patológica de muchos microorganismos se debe a la acción destructora de los radicales libres sobre las membranas lipoproteicas de las células. Igualmente, los peces continentales son incapaces de sintetizar ácidos grasos indispensables de la serie Omega-3 (Serie del Linolénico). Estos ácidos grasos intervienen en muchas actividades fisiológicas y su ausencia en la alimentación artificial, se traduce en incremento bajo de peso inadecuada conversión alimenticia y mayor susceptibilidad de los peces a adquirir enfermedades. Desafortunadamente, la incorporación de las sustancias antioxidantes mencionadas y de los ácidos grasos representa para las multinacionales de balanceado para peces, mayores costos de producción debido a la adición de harinas y aceites de pescado. Además, las vitaminas A y C son altamente termolábiles lo que significa que se destruyen durante los procesos térmicos normales que ocurren durante la elaboración de los concentrados por métodos de compresión o extrusión que son los más comunes en Colombia. Igualmente, la vitamina E, teniendo en cuenta su acción antioxidante y el nivel de lípidos existentes en los balanceados para peces, se reduce su concentración a medida que el período de almacenamiento es mayor.

Según López (1997) las formas derivadas de ácido ascórbico como el fosfato o sulfato, son más termoestables y pueden mantener sus niveles durante los procesos industriales de fabricación de concentrados. Desafortunadamente, estas formas son más costosas que la presentación genérica del ácido ascórbico lo cual incrementa los costos de producción. Por esta razón, las empresas multinacionales de balanceados, suministran la vitamina C en forma de ácido ascórbico y aumentan la dosis de incorporación en la dieta, con la perspectiva de mantener algo de este ácido ascórbico al final del proceso de elaboración pero en realidad la cantidad biodisponible para los peces es inferior a los requerimientos nutricionales lo cual aún es más grave si se considera que los peces son incapaces de sintetizar la vitamina C como lo hacen muchos mamíferos a partir del ciclo de la glucosa y esta vitamina regula e interviene en más de sesenta procesos fisiológicos (Halver, 1985). Por ello es fundamental incorporar, en las dietas artificiales para peces, ácido ascórbico en una forma estable, como es el fosfato de ácido ascórbico, en dosis elevadas, con el propósito, no sólo de cubrir las necesidades fisiológicas de las especies ícticas, sino también estimular el sistema inmunológico y así hacer a los ejemplares menos vulnerables al ataque de diferentes agentes etiológicos (López, 1997). En consecuencia, la adición insuficiente en los concentrados de los nutrientes antioxidantes, repercute negativamente en el estado de salud de las especies ícticas cultivadas, debilita el sistema inmunológico, disminuye el aprovechamiento de los nutrientes y, por ende, la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia (López, 1997).

Uno de los métodos más eficientes en la prevención de enfermedades acuícolas, es el aporte adecuado de nutrientes, para cubrir las necesidades de restitución, remodelación y acumulación de nuevos tejidos, lo mismo que la formación de anticuerpos, los cuales son de naturaleza fundamentalmente proteica; además, el suministro de todas las vitaminas liposolubles e hidrosolubles y el aporte de los macro y microminerales, según la especie íctica de cultivo y la etapa fisiológica, fase de desarrollo y características fisicoquímicas del agua (López, 1997). Por esta razón, Klesius, (1992) recomienda para mantener activas y estimuladas las defensas de los peces, la incorporación en alta dosis, al alimento artificial de inmunostimulantes como son las vitaminas antioxidantes (A, E, C), los minerales Zn, Fe y Se; o la inclusión de sustancias naturales extraídas de las levaduras como el Glucán. Las citadas sustancias han sido evaluadas como inmunopotenciadores en distintas especies de peces, como salmónidos, ciprínidos y silúridos mediante inyecciones, baños de inmersión o en el alimento. Los principales trabajos que se encuentran reportados en la literatura al respecto son los realizados por Siwicki et al. 1987, Nickl et al. 1991, Chen y Ainsworth 1992, Anderson y Siwicki 1994, Siwicki et al. 1994. Igualmente, Siwicki et al (1990) analizó el levamisole como inmunopotenciador. Sin embargo, Klesius, (1992) sostiene que por costos y facilidad de adicionar al alimento para peces, en condiciones de confinamiento, es factible utilizar megadosis de vitamina C, en su forma derivada de fosfato de ácido ascórbico, lo mismo que el B - Glucán. Las mencionadas sustancias inmunostimulantes serán descritas en detalle a continuación.

### 3.2 Acido ascórbico

La vitamina C tiene importancia para reducir impactos negativos causados por el estrés y factores medio ambientales, relacionados con la resistencia a las enfermedades. El estrés incrementa la susceptibilidad a enfermedades vírales bacterianas y parasitarias de los peces. En cultivos intensivos, se aumenta la susceptibilidad a los agentes etiológicos debido a las prácticas de siembra, muestreo, alimentación, aplicación de químicos, fertilizantes, cambio en las tasas de recambio de agua, altas densidades de siembra, deterioro de las condiciones fisicoquímicas del agua, malas prácticas de manejo y actividades de homogeneización de los ejemplares (López, 1997).

La respuesta a una gran variedad de estresores es controlada por la hormona. Adenocorticotropa (ACTH) producida por la hipófisis. Esta hormona regula la liberación de catecolaminas (Adrenalina y Noradrenalina) y corticoesteroides producidos en la porción craneal del riñón, constituyendo la respuesta primaria. Entre los cambios fisiológicos que forman la respuesta secundaria, causados por la liberación de estas hormonas, se encuentra la dilatación de las arterias de los filamentos branquiales, un incremento en el volumen cardíaco, aumento del metabolismo del glucógeno, depresión de la respuesta inmune (Wiek et al, 1989). En los peces el AA interactúa con el metabolismo de catecolaminas y corticoesteroides, debido a que se requiere para la biosíntesis de Noradrenalina y Dopamina; reacciones en las que el AA actúa como un sustrato para la enzima B-monooxigenasa (Levine et al, 1985).

Agrawal et al, (1978), demostró que el AA protegía contra el pesticida órgano clorado, Aldrin, en la especie *Channa punctatus*, expuesta a niveles de 0,25 % de Aldrin, con una dieta suplementaria con 1250 mg de AA/kg. Esta especie reportó una mortalidad de 25% en treinta días la cual disminuyó a 10% con una cantidad adicional de 5000 mg de AA por kg. Un aumento del requerimiento de AA ha sido demostrado, en bagre de canal expuesto al insecticida toxaphene, lo cual se traduce en una disminución de las reservas de AA. (Mayer et al, 1978). Los nitritos son un producto intermediario de la

nitrificación y pueden alcanzar niveles tóxicos en cultivos intensivos de bagre de canal manejados inadecuadamente; la toxicidad de los nitritos, está relacionada por la capacidad de oxidar la hemoglobina a metahemoglobina, la cual no puede transportar oxígeno. Wise et al, (1988) comprobó que niveles altos en la dieta de AA. (800 a 8000 mg. / kg) significativamente reducen la metahemoglobinemia inducida por nitrito, cuando los peces se alimentan durante 24 a 48 horas, antes de la exposición a los nitritos.

Sin embargo, se ha desarrollado poca investigación para establecer, la relación entre estado nutricional, inmunocompetencia y resistencia a la enfermedad. Los efectos de la vitamina C, han sido reconocidos en las funciones inmunológicas de mamíferos y aves (Sandnes et al, 1991). No obstante, en peces se encuentra la dificultad que las funciones inmunológicas básicas no se han caracterizado bien. Durve y Lovell (1982) demostraron que una suplementación de 30 mg de vitamina C por kg estimula el crecimiento normal y previene síntomas de deficiencia en bagre de canal a la vez que aumenta la resistencia contra la bacteria *Edwardsiella tarda*, cuando se suplementan a dosis de 150 mg/kg y la temperatura del agua de 23°C, pero a 33°C el efecto protector de la vitamina C fue menor lo que indica que su beneficio es inversamente proporcional con la temperatura.

Lim y Lovell (1985) demostraron que la tasa de mortalidad de peces infectados experimentalmente con *Edwardsiella ictaluri* disminuían con el incremento en los niveles dietéticos de AA fluctuando de 100% para el tratamiento que no recibió Vitamina C y 15% para peces con 300 mg de AA de dieta. Blazer (1982) en trucha arcoiris (*O. mykiss*) demostró que la deficiencia de AA disminuía la capacidad ligante del Fe y la fagocitosis de la bacteria *Yersenia ruckeri*. Navarre y Halver (1989) analizaron los efectos de niveles altos de AA dietético, en resistencia a las enfermedades e inmunidad humoral contra la bacteria *Vibrio anguillarum* en trucha arcoiris (*O. mykiss*).

### 3.3 B - Glucan

El 1.3 Betaglucán es un polímero de polisacárido extraído de la pared celular de varios organismos, especialmente de la levadura *Sacharomyces Cervisiae* y del hongo *Schizophylum commune*. La acción inmunológica de esta sustancia se explica por la ligazón de un receptor de Glucán específico presente en la superficie de las células de diferentes animales. Este receptor, activa la fagocitosis por la vía alternativa del complemento, incrementa la capacidad neutrofílica y macrofágica de los leucocitos polimorfonucleados, estimula el metabolismo del ácido araquidónico endógeno e incrementa la producción de ciertas citocinas como el interferón (Plumb, 1994).

Distintas investigaciones realizadas en peces y camarones por Yano et al. 1989, Robertsen et al. 1990, Chen y Ainsworth 1992, Ainsworth et al. 1994, Siwicki et al. 1994; han demostrado que esta sustancia actúa como estimulante del sistema inmunológico; mejora las condiciones generales de peces y crustáceos, captura y absorbe toxinas, fortalece las larvas, lo que permite tolerar en mejores condiciones, el estrés, causado por el transporte, siembra y transferencia. Incrementa la supervivencia desde el comienzo del ciclo, hasta la cosecha del camarón; favorece un crecimiento homogéneo y por ende, el mercadeo de los lotes y además, disminuye el periodo de cultivo. Las investigaciones de Molina et al. (2000) comprobaron que los oligosacáridos de la levadura, mejoran la actividad fagocítica de heterófilos y monocitos de peces; activan el sistema inmunológico humoral y el mediado por células como los linfocitos T. Otero et al. (2000) demostraron que los betaglucanos estimulan el sistema inmunológico de los camarones mediante la activación del sistema de la profeniloxidasas que es el responsable de encapsular los agentes patógenos.

Triviño (2001), evaluó el efecto del B-Glucán en camarones (*Litopenaeus vannamei*), levantados en cautiverio en la ensenada de Tumaco (Departamento de Nariño), afectados con el síndrome viral de la mancha blanca (WSSV). Los ejemplares fueron alimentados con dietas isonitrogenadas e isoenergéticas que contenían niveles del inmunestimulante que fluctuaban entre 1.2 a 1.8/kg. de balanceado. El mencionado autor, demostró que el B-Glucán registró efectos positivos con relación a la sobrevivencia, incremento de peso, longitud y conversión alimenticia.

Ainsworth, et al (1996) evaluaron, B - Glucán procedente de *Schizophylum commune* para activar la respuesta inmune de bagre de canal (*I. punctatus*) y encontraron que los peces alimentados con dietas suplementadas con 0,1% de B - Glucán, tenían títulos de anticuerpos significativamente superiores para *E. ictaluri* que los peces alimentados con raciones tipo control o suplementadas con 1,0% de B - Glucán.

Yano, et al (1989), citado por López (1996) analizaron extractos de glucán procedentes de la levadura y plantas y los inyectaron en carpa, previamente infectada por *Edwardsiella tarda*. Los autores mencionados observaron que todos los peces testigo, murieron dentro de tres días siguientes, sin embargo, los peces que recibieron la inyección con los extractos fúngicos presentaron tasas de supervivencia de 60 a 90%. Los ejemplares, inyectados con glucán extraído de champiñones, obtuvieron supervivencias entre el 55 y el 90%. Estos autores también encontraron que los peces inyectados con glucán tenían actividades séricas de complemento superiores, que podrían ser correlacionadas con el grado de protección; concluyendo, que el B - Glucán puede ser útil cuando se usa conjuntamente con vacunas.

Chen y Dinsworth (1992), citado por López (1996), reportaron reducciones de mortalidad en bagre de canal infectado con *E. ictaluri*, con inyección intraperitoneal de B-1,3-glucán. Robertson, et al (1990) inyectó salmón del Atlántico (*Salmo salar*) con glucán y los peces mostraron disminución de la mortalidad cuando éstos se infectaron con *Vibrio anguillarum*, *V. salmonicida* o *Yersinia ruckerii*. Así mismo, Jeney y Anderson (1993) demostraron, elevaciones en los mecanismos de defensa no específicos después que las truchas fueron inyectadas o bañadas en una solución de glucán o en diluciones que contenían este compuesto, combinado con un antígeno de la bacteria *Y. ruckerii*.

## 4. Diseño metodológico



## 4.1 Localización

La presente investigación, se desarrolló durante dos años y se realizaron 24 evaluaciones muestrales en el periodo comprendido entre el 1 de Julio y 17 de Diciembre de 2003 en la Estación de Jaulas Flotantes, Intiyaco, de la Universidad de Nariño. La estación esta ubicada en la vereda El Puerto, sobre el Lago Guamez (Fotografía 1), corregimiento de El Encano, municipio de Pasto, Colombia, a una altura de 2840 msnm. 13°C de temperatura, con una extensión de 4240 Has. El citado corregimiento se encuentra localizado a 30 Km. al sureste de la ciudad de San Juan de Pasto, sobre la carretera que comunica a esta ciudad con el departamento del Putumayo. Las coordenadas geográficas del lago son: 01° 06' 3.80" N y 77° 07' 2.26" W.\*

## 4.2 Instalaciones

Se utilizaron 16 jaulas flotantes de 10m<sup>3</sup> cada una que consistían en una bolsa de malla multifilamento con un ojo de 1/4 a 1/2 pulgada, según la fase de desarrollo de los ejemplares cultivados, con dimensiones de 2m de largo; 2 m de ancho; 2.5 m de profundidad, recubierta con una malla polisombra (Fotografía 2). Las jaulas se construyeron en marcos de varilla de acero inoxidable, muelles de madera, flotadores conformados por 40 canecas plásticas de 55 galones. Las jaulas se fijaron al lago, mediante cuatro lastres de concreto de 30 kg, amarrados en cuatro sitios distintos de los muelles.

## 4.3 Insumos

4.3.1. Betaglucán BAB. Producto que se presenta en empaques de 10Kg, de la empresa Ecuatoriana Interconsorcio S.A. – División Acuicultura.

4.3.2. Fosfato de ácido ascórbico. Presentación comercial de 5Kg (Empresa Ecuatoriana Interconsorcio S.A. – División Acuicultura.)

4.3.3. Balanceado artificial para trucha. Se utilizaron dos fórmulas comerciales para las fases de iniciación y levante de la trucha arcoiris (*O. mykiss*). En la fase de iniciación, se suministró alimento comercial peletizado en gránulos de 3,5 mm. de diámetro, con el 48% de proteína y en el levante un balanceado con peletes de 6mm de diámetro y 45% de proteína.

Fotografía 1. Lago Guamez (Municipio de Pasto, Departamento de Nariño).



Fotografía 2. Centro de Investigaciones Piscícolas "Intiyaco". Jaulas flotantes experimentales.



4.3.4. Alevinos de trucha arcoiris (*O. mykiss*). Se importaron, 10000 alevinos variedad Kamloop desde Estados Unidos, mediante una empresa comercial radicada en Bogotá. Los ejemplares tenían un peso promedio de 1gr y 3 cm. de longitud total, los cuales fueron levantados en jaulas de alevinaje en la Estación de Intiyaco de la Universidad de Nariño durante un período de cuatro meses; previos a la iniciación del ensayo con el propósito de adaptar los ejemplares a las prácticas de manejo, alimentación y muestreo y al mismo tiempo uniformizar tallas y pesos, hasta alcanzar un peso promedio en la población objeto del experimento de 40 g. En este momento, se sembraron los peces de manera totalmente aleatoria, en un Diseño Irrestrictamente al Azar en las diferentes jaulas experimentales, en una proporción de 530 animales por jaula para un total de 8480 ejemplares, según los diferentes tratamientos evaluados.

#### 4.4 Alimentación

La alimentación fue suministrada, teniendo en cuenta la biomasa total, el porcentaje de la ración y la temperatura promedio diaria del agua, según la tabla propuesta por NRC (1993), adaptada por López (1997) para el lago Guamuez de acuerdo a la talla y edad de los peces. Para ello, se utilizaron los pesos promedios reportados por cada uno de los 24 muestreos, con el fin de calcular el peso total de la población y ajustar la cantidad de cada ración, la que se distribuyó diariamente de tres a siete comidas.

Al balanceado comercial, se le adicionó el Betaglucán BAB y Fosfato de ácido ascórbico, mediante el método de impregnación definido por López (1997). Para esto, se utilizó como adherente una solución de almidón al 5% que contenía los inmunoestimulantes y se incorporó al concentrado, mediante el sistema de micromezclas en una proporción de 200 ml de solución de almidón por cada kg de concentrado. Con este propósito se pesaron previamente 10 g de almidón y se mezclaron con 200 ml de agua destilada. Se calentó hasta ebullición, agitando constantemente, se enfrió, se aforó y rotuló en beakers de 500 ml y se almacenó en refrigeración a 5°C hasta su uso, según los diferentes tratamientos evaluados.

#### 4.5 Plan de manejo

Los ejemplares llegaron a la Estación Intiyaco el 10 de Marzo de 2003 con un peso promedio aproximado de 1 gr. y se mantuvieron hasta el 30 de Junio del mismo año, en las jaulas de alevinaje, hasta alcanzar un peso promedio de 40 gr. El 1 de Julio se inicio la evaluación de campo en las jaulas flotantes experimentales anteriormente descritas, teniendo en cuenta todas las normas técnicas de manejo, alimentación, muestreo, sanidad, aclimatación y adaptación a las condiciones investigación (López, 1997).

Las actividades realizadas en las jaulas consistieron en el suministro del alimento al 7% del peso vivo diariamente (p.v.d) al inicio del ensayo. Este porcentaje se reducía gradualmente, según la fase de desarrollo, el crecimiento de los ejemplares y las condiciones fisicoquímicas del agua, de tal manera que cuando se incrementaba la turbidez, aumentaba la temperatura o disminuía el oxígeno disuelto, se suministraba menor porcentaje de alimentación y el ajuste se realizó en tal forma que en el momento de finalizar el experimento, los ejemplares recibían 4% p.v.d, según lo establecido por López (1997). Los porcentajes se modificaban, teniendo en cuenta la temperatura del agua y la condición poikilotérmica de los peces, en tal forma, los ejemplares recibían mayor cantidad de alimento cuando manifestaban actividad metabólica intensa que coincidía con los periodos de mayor nivel de oxígeno y temperatura óptima efectiva cercana a 16°C. El alimento se fraccionó en siete comidas diarias cuando los ejemplares tenían un peso promedio entre 30 a 100g; cinco comidas para peces entre 100 a 200 g y tres comidas para truchas superiores a 200g. La ración se distribuyó de manera homogénea, sobre el espejo de agua y en cada una de las áreas de la jaula para darle oportunidad a todos los ejemplares

de tener acceso al alimento. Cada tercer día se cepillaban y lavaban las mallas con un jabón comercial líquido yodado como medida profiláctica con el fin de evitar la proliferación de bacterias y algas. Igualmente, cada 7 días, se efectuaban muestreos, colectando al azar, mediante una nasa los ejemplares de cada jaula, hasta completar el 20% de la población existente en ese momento. Los animales se transferían a canecas de 55 galones, provistas de aireadores de batería, y se pesaban lotes de 106 a 120 truchas, en baldes de 10 galones, previamente tarados, consignando esta información en los respectivos registros. Es importante aclarar que en el momento de la cosecha (Diciembre 17 de 2003) se pesaron la totalidad de los ejemplares de cada jaula, como sucedió en la siembra.

Durante el experimento se efectuaron un total de 24 muestreos, con base en los datos obtenidos en los mismos, se calculaba el peso promedio individual, teniendo en cuenta el número de ejemplares muertos en la semana anterior al muestreo, se determinaba el peso total de la población y las demás variables estudiadas (ganancia de peso individual, ganancia de biomasa total por jaula, consumo de alimento por día, comida y semana y se establecía la conversión alimenticia). Igualmente, se efectuaba revisión del estado sanitario de los animales existentes en cada jaula.

El conteo de peces muertos por jaula y tratamiento, se efectuaba diariamente y en el momento de suministrar el alimento, se retiraban con una nasa los animales moribundos y se trasladaban, previamente rotulados e identificados, en estado fresco en cajas térmicas con hielo al laboratorio de Fisiopatología Acuática de la Universidad de Nariño, donde se pesaban, medían y se examinaban exhaustivamente, tanto externa como internamente cada uno de los órganos, aparatos y sistemas del animal mediante la metodología establecida por Plumb (1994).

#### 4.6. Monitoreo fisicoquímico del agua

Con respecto al estudio de la calidad fisicoquímica del agua, se efectuaron monitoreos semanales del agua (pH, temperatura y oxígeno disuelto), mediante un Kit para análisis de agua marca HACH referencia FF – 1A en el sitio donde esta ubicada la Estación de Jaulas Flotantes Intiyaco. Las muestras se recolectaron en la superficie de las jaulas y a uno y dos metros de profundidad de la columna de agua. La turbidez y color del agua se determinaron, evaluando la visibilidad del disco Sechii. (Boyd, 1979).

#### 4.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un Diseño Irrestrictamente al Azar (DIA), conformado por cinco tratamientos y tres réplicas por tratamiento para un total de 15 unidades experimentales, distribuidas en cuatro módulos de cuatro jaulas flotantes de malla multifilamento de 10m<sup>3</sup> de volumen cada una y un ojo de ¼ a ½ pulgada según la fase de desarrollo. Los alevinos se sembraron a una densidad de 53 animales/m<sup>3</sup> para un total de 530 animales por jaula con un peso promedio de 38.87g que es la densidad recomendada en el lago Guamuez para cultivos comerciales de trucha arcoiris (*O. mykiss*) (López, 1997). Los tratamientos evaluados fueron:

T1: Balanceado comercial  
 T2: Balanceado comercial + 300 mg de fosfato de ácido ascórbico por kg de Balanceado.  
 T3: Balanceado comercial + 600 mg de fosfato de ácido ascórbico por kg de Balanceado.  
 T4: Balanceado comercial + 1,0 g de B - Glucán por kg de Balanceado.  
 T5: Balanceado comercial + 2,0 g de B - Glucán por kg de Balanceado.

Así mismo, se estableció a manera de observación estadística, un tratamiento sin réplica con el propósito de aprovechar una jaula disponible en el modulo 4 que fue denominado:

T6: Balanceado comercial + 600 mg de fosfato de ácido ascórbico + 2,0 g de B - Glucán por kg de Balanceado.

Se efectuaron, 24 muestreos semanales, incluyendo la siembra y la cosecha, comprendidos entre julio 1 y Diciembre 17 de 2003. Teniendo en cuenta que el Coeficiente de Variación de los distintos muestreos, fue inferior al 25%, reflejando la homogeneidad de los ejemplares sembrados y el crecimiento uniforme de los mismos. Por esta razón, se capturaba al azar, el 20% de los peces de cada jaula, como se explicó anteriormente.

Los datos recolectados para cada variable se les aplicaron medidas estadísticas descriptivas de tendencia central y de dispersión. Se elaboraron tablas de frecuencia y la información se registró en gráficas de barras, curvas y círculos de comportamiento y de producción, utilizando el programa Microsoft Excel XP. Para cada una de las variables estudiadas, se aplicó Análisis de Varianza (ANDEVA), con el propósito de determinar si existían diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y en aquellas variables, en las cuales se comprobó diferencias, se aplicó una Prueba de Contrastes de Tukey con el fin de comparar los distintos tratamientos y establecer el mejor, utilizando el paquete estadístico Stat Graphics Plus versión 3.1.

#### 4.8 Variables a evaluar

- Supervivencia: Animales que se mantienen vivos durante todo el período de estudio en los diferentes tratamientos y réplicas.
- Número de patologías. Se diferenciaron las enfermedades de origen bacteriano, parasitario, fúngico o nutricional, según semana, período climático, tratamiento y réplica.
- Ganancia de peso: Se obtuvo calculando la diferencia entre el peso final y el peso inicial. Esta variable se calculó en

- cada muestreo y así graficar su comportamiento durante el período experimental.
- Consumo de alimento: Se estableció cada semana, de acuerdo con la biomasa total de la jaula, la edad, la talla promedio de los ejemplares y la temperatura del agua. La sumatoria de todos estos datos determinaba la cantidad total de alimento distribuido por jaula.
  - Conversión alimenticia: Es un índice que relaciona el alimento consumido, con respecto a la ganancia de peso. Esta variable se calculó cada semana y se graficó la curva para analizar su comportamiento.
  - Producción total calculada: Se refiere a la diferencia obtenida entre el peso total de los peces al final del ensayo y el peso total de los peces sembrados por jaula.
  - Calidad del agua: Se realizó el monitoreo semanal de las variables: temperatura, oxígeno disuelto, pH y turbidez.
  - Análisis económico: Se calculó, mediante la metodología de los presupuestos parciales y los costos variables y así obtener la relación costo - beneficio.

## 5. Presentación y discusión de resultados

### 5.1. Incrementos de peso

#### Incremento de peso total

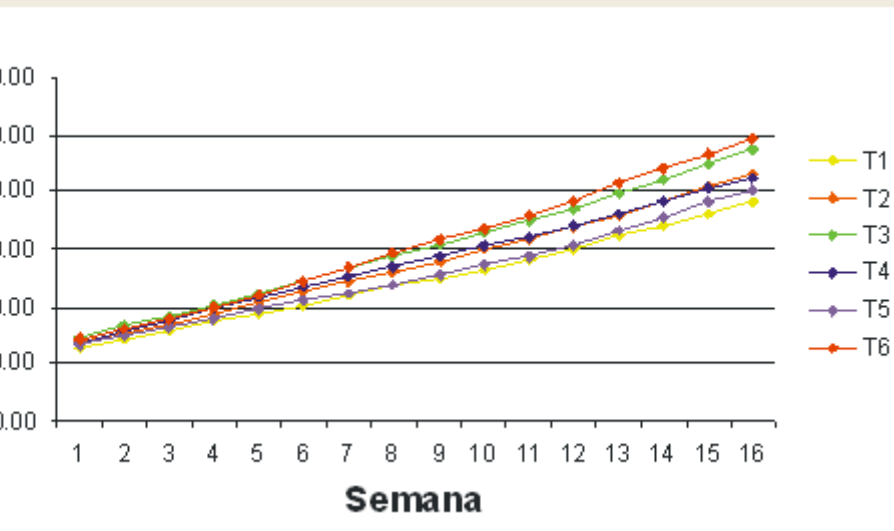
El peso promedio de siembra para los diferentes tratamientos fue de 38.87g. El Análisis de Varianza para este parámetro, determinó que no existían diferencias significativas entre los tratamientos. En consecuencia, el peso inicial de siembra no generaba fuente de variación. El mejor peso total promedio (Tabla 1), lo reportó T3 con 266.1g, seguido por T2 (254.7g); T4 (251.6g); T5 (243.2g); T1 (225.2g). Se determinó, el mayor incremento de peso total para el T3 (249.1g); el cual fue superior al T1; 15.5 con relación al T2; 19% comparado con el T4 y 21.1% con respecto al T5 (Figuras 1 y 2). Los tratamientos de crecimiento intermedio fueron T4, T5 y el tratamiento con el incremento total de peso mas bajo fue el T1 (187g).

#### Peso promedio semanal por réplica y tratamiento de Fosfato de ácido ascórbico y Betaglucán

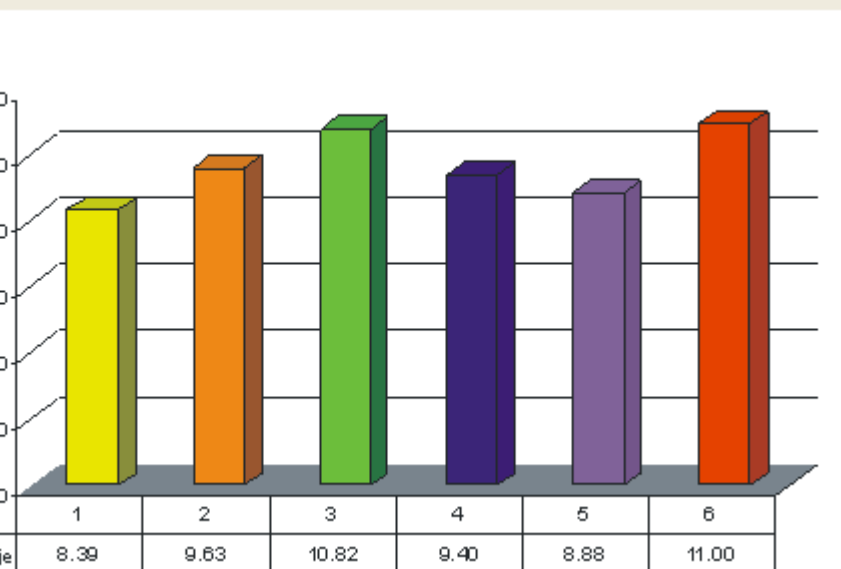
Fecha	T1R1	T1R2	T1R3	PROM	T2R1	T2R2	T2R3	Prom	T3R1	T3R2	T3R3	Prom	T4R1	T4R2	T4R3	PROM	T5R1	T5R2	T5R3	Prom
Jul-01	38,50	35,30	40,60	38,13	41,80	36,00	37,00	38,27	37,50	35,40	40,20	37,70	48,30	40,10	38,90	42,43	35,90	40,60	36,20	38,87
Jul-08	45,00	42,10	45,80	44,30	48,80	43,10	46,30	46,07	47,00	43,00	47,20	45,73	54,80	45,60	44,50	48,30	43,50	46,10	44,80	46,10
Jul-15	52,00	48,70	50,60	50,43	55,00	51,00	55,40	53,80	56,80	51,70	55,50	54,67	60,70	53,40	51,50	55,20	49,80	51,50	53,80	53,80
Jul-22	58,10	55,80	56,30	56,73	61,70	59,30	65,00	62,00	66,90	60,20	64,50	63,87	66,40	60,30	58,10	61,60	57,30	58,40	62,20	59,80
Jul-29	64,90	62,70	65,80	64,47	69,40	67,80	74,40	70,53	77,70	69,10	73,10	73,30	73,60	67,00	66,20	68,93	65,40	64,80	69,60	68,20
Ago-06	71,40	69,40	74,30	71,70	76,90	75,40	80,50	77,60	87,50	78,20	82,20	82,63	81,20	79,60	73,60	86,93	78,13	73,70	72,70	75,60
Ago-13	78,30	78,90	80,50	79,23	84,80	83,00	87,30	85,03	93,70	89,20	90,30	91,07	89,50	90,70	80,60	86,93	83,40	81,10	81,50	81,50
Ago-21	87,70	88,10	89,10	88,30	95,20	90,70	96,80	94,23	103,60	101,20	99,80	101,53	100,33	102,30	90,20	97,61	91,60	89,10	88,20	88,20
Ago-28	92,90	93,20	96,80	94,30	105,63	100,90	104,30	103,61	112,30	110,00	110,10	110,80	110,90	115,30	98,40	108,20	104,30	96,70	94,70	94,70
Sep-03	99,20	99,80	102,10	100,37	115,80	112,03	110,70	112,84	122,30	123,10	121,30	122,23	118,80	126,90	107,60	117,77	110,80	104,30	100,30	100,30
Sep-10	107,70	109,30	110,50	109,17	124,00	122,40	119,20	121,87	133,70	133,30	133,70	133,57	126,40	137,60	116,80	126,93	116,90	111,80	106,60	111,80
Sep-17	116,6	120,1	118,9	118,53	133,3	130,2	128,5	130,67	142,8	142,8	144,5	143,37	134,90	146,80	125,60	135,77	125,80	118,30	113,70	113,70
Sep-25	123,50	124,90	126,10	124,83	143,10	139,90	137,47	140,16	152,70	152,90	155,80	153,80	143,30	154,00	134,90	144,07	134,90	126,00	121,60	121,60
Oct-02	131,20	133,80	131,30	132,10	153,20	148,60	147,10	149,63	164,60	163,30	166,80	164,90	152,10	161,60	144,20	152,63	144,80	133,80	129,80	133,80
Oct-09	139,10	143,50	139,40	140,67	162,20	157,90	155,50	158,53	173,80	172,40	178,40	174,87	159,90	169,90	152,70	160,83	155,60	140,80	135,50	140,80
Oct-16	148,8	152,7	149,9	150,47	173,9	168,7	165,4	169,33	183,7	183,1	191,2	186,00	170,30	177,60	165,60	171,17	164,80	151,60	144,60	151,60
Oct-23	160,4	163,6	160,1	161,37	184,9	179,1	175,6	179,87	192,9	198,2	204,6	198,57	180,60	185,20	177,50	181,10	177,60	163,40	155,80	163,40
Oct-30	169,9	173,3	169,9	171,03	195,2	190,6	189,1	191,63	205,3	208,1	220,1	211,17	191,50	196,30	186,90	191,57	190,20	175,80	168,20	175,80
Nov-08	180,5	182,9	179,1	180,83	210,0	203,1	201,9	205,00	219,6	220,0	233,5	224,37	205,50	203,70	199,20	202,80	203,50	186,20	184,10	186,20
Nov-19	190,9	191,8	190,2	190,97	222,1	213,6	212,3	216,00	233,5	232,3	245,2	237,00	214,60	212,90	208,70	212,07	211,60	197,50	195,20	197,50
Nov-26	200,5	200,9	200,9	200,77	234,1	224,3	223,8	227,40	247,3	245,7	256,7	249,90	223,60	222,70	217,60	221,30	221,80	207,90	205,80	207,90
Dic-03	209,5	209,2	212	210,23	245,7	232,7	234,1	237,50	261,3	258,4	269,6	263,10	234,80	233,30	227,30	231,80	231,40	219,00	217,20	219,00
Dic-10	216,5	217,1	220,6	218,07	255,7	240,8	243,2	246,57	273,5	271,2	280,0	274,90	246,50	242,40	236,50	241,80	240,20	230,50	229,50	230,50
Dic-17	223,3	223,9	228,4	225,20	263,9	248,7	251,7	254,77	286,1	282,8	291,5	286,80	257,40	251,90	245,50	251,60	248,30	240,20	241,10	240,20

#### Peso promedio semanal acumulado en gramos





promedio de incremento de peso semanal en gramos

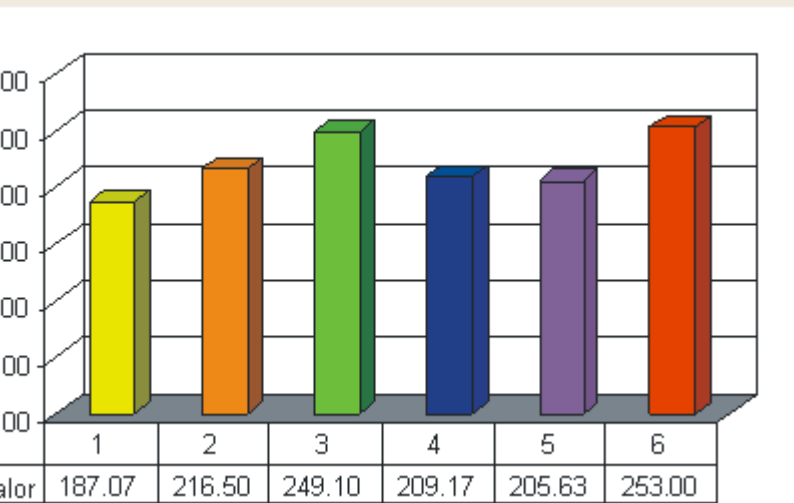


o de peso total, fue altamente significativo según ANDEVA (P

**ancia de peso semanal**

ento reportó la misma tendencia observada en la ganancia de peso total. El estudio demostró que el mejor aumento de peso semanal lo registró el T del T3 fue superior en 28.9% con respecto al T1; 12.3% con relación al T2; 15.1% comparado con el T4 y 21.8% con respecto al T5 (Figura 3). E mostró que el aumento de peso semanal fue altamente significativo (P

remento de peso total en gramos



## 5.2 Consumo de alimento

El estudio demostró que el mayor consumo diario de alimento por individuo, lo registró el T4 (2.98g); el cual fue superior en 7.5% con respecto al T1; 5.3% con relación al T2; 4.1% comparado con el T3 y 3.4% con respecto al T5 (Figuras 4 y 5). La misma tendencia se observa en el consumo semanal acumulado de alimento. No obstante, la ingestión de alimento por día y por semana fue similar estadísticamente en todos los tratamientos; lo cual demuestra que la distribución e ingestión de alimento no constituyó una fuente de variación y los aditivos (Acido ascórbico y B - Glucán) no influyeron sobre el consumo. Lo anterior se explica por el control riguroso que se tuvo en la distribución del alimento de acuerdo a la talla, edad, características fisicoquímicas del agua y el número de comidas por día como se indicó en detalle en el capítulo de Materiales y Métodos.

Figura 4. Consumo individual de alimento por día en gramos

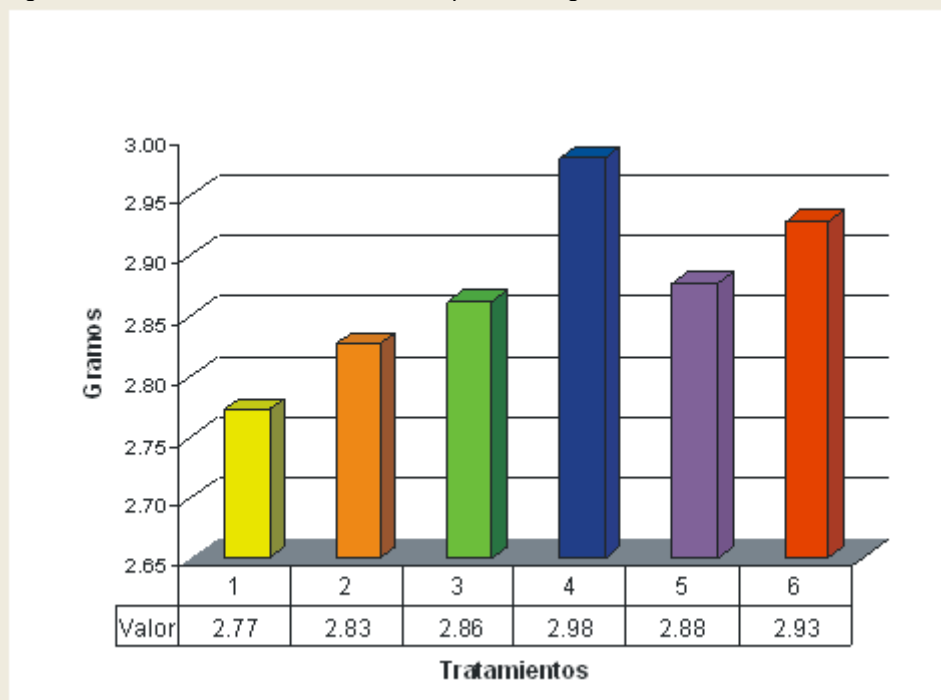
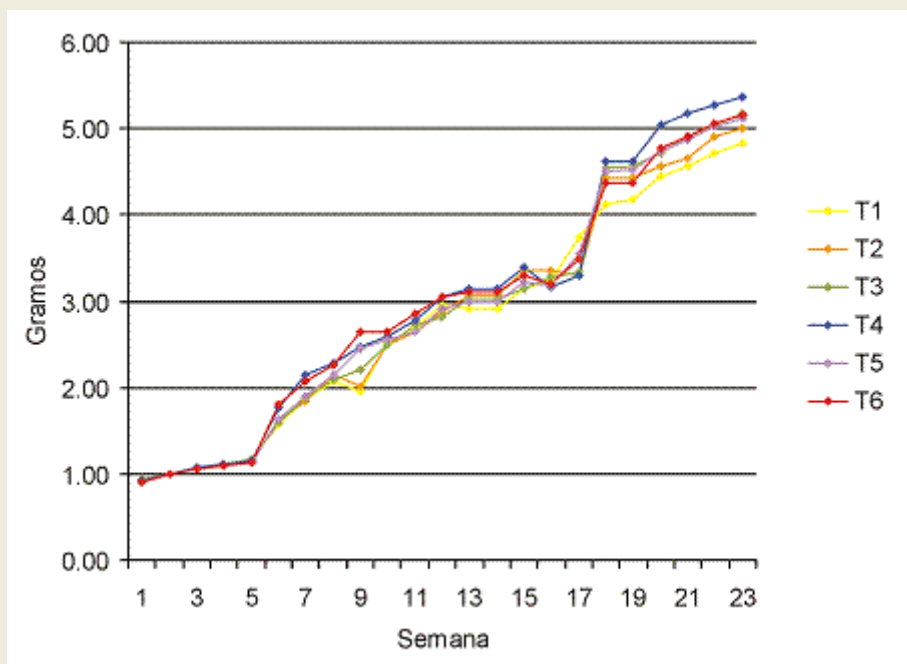


Figura 5. Tendencia de consumo individual de alimento por día, en gramos



### 5.3. Conversión alimenticia

El ensayo demostró que la mejor conversión alimenticia por semanal se presentó en el T3 (1.7:1) que es el tratamiento que registró el mayor incremento de peso semanal y total, lo cual se explica por el efecto benéfico del Ácido ascórbico en la asimilación y aprovechamiento del alimento con el fin de cubrir los requerimientos nutricionales que demandan los procesos de remodelación y construcción de tejidos (López, 1997). Esta conversión fue superior en 32.9% con respecto al T1; 15.6% con relación al T2; 96.8% comparado con el T4 y 24% con respecto al T5 (Figura 6). La tendencia de la conversión alimenticia, (Figuras 7) demuestra que estas son mejores en todos los tratamientos, al inicio del ensayo y en la medida en que los peces tienen más edad las conversiones son más ineficientes. Lo anterior se explica debido a que los procesos anabólicos de proteínas son mayores en los animales jóvenes pero en los animales adultos, los procesos catabólicos, son más intensos que los anabólicos (López, 1997).

La conversión fue altamente significativa según Análisis de Varianza (P

Figura 6. Conversión alimenticia promedio, durante el periodo experimental en los diferentes tratamientos.

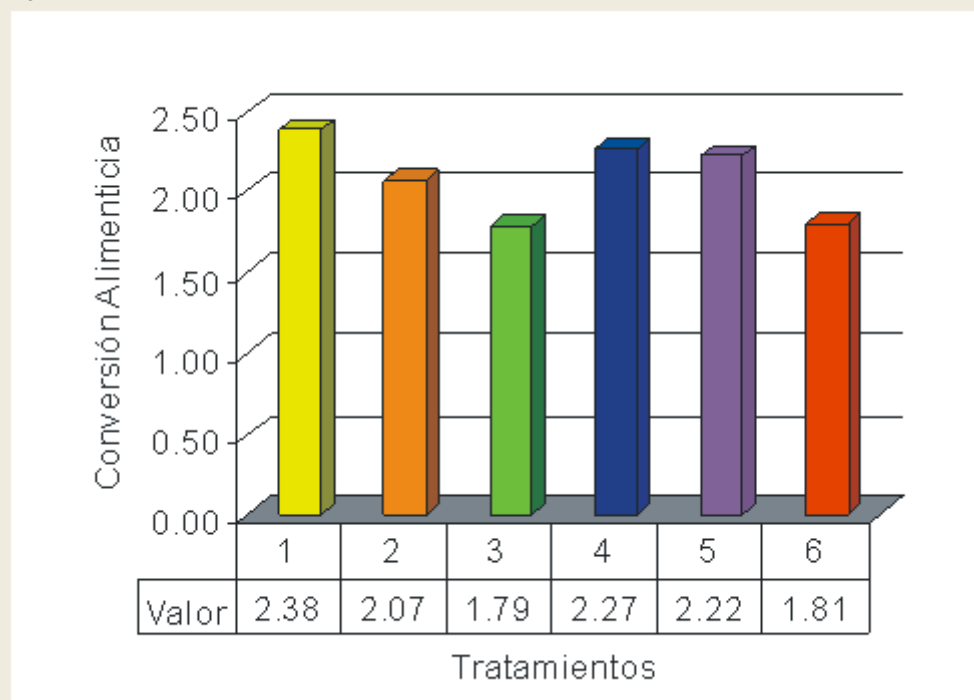
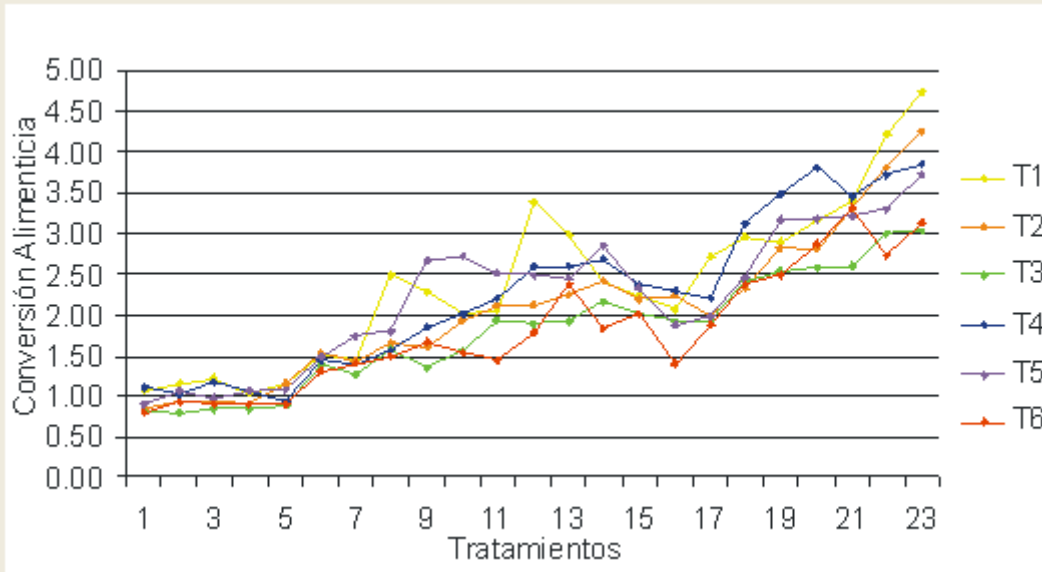


Figura 7. Tendencia de la conversión alimenticia semanal



#### 5.4 Mortalidad

La mortalidad semanal durante el período experimental (Figura 8), el número total de muertos por tratamiento (Figura 9); el promedio semanal de peces muertos por tratamiento, expresado en porcentaje (Figura 10) y la mortalidad total por tratamiento en porcentaje (Figura 11); demuestran que el tratamiento con mayor sobrevivencia fue el T3 (61%) que es consistente con los resultados anteriores, si se considera que este tratamiento presentó los mayores incrementos de peso y la mejor conversión alimenticia. La mortalidad del T3 fue inferior en 74.3% con respecto al T1; 105.1% con relación al T2; 56.4% comparado con el T4 y 84.6% con respecto al T5. Lo anterior se explica, por el efecto positivo de los inmunoestimulantes como potenciadores de las defensas del organismo, en la prevención de enfermedades, lo cual fue discutido ampliamente en el Marco Teórico y específicamente el mejor efecto benéfico del Acido ascórbico comparado con el Betaglucán y el tratamiento testigo (T1, sin inmunoestimulantes); debido a las múltiples funciones fisiológicas del ácido ascórbico. Los resultados del presente ensayo, están de acuerdo a las investigaciones reportadas en distintas especies ícticas como salmónidos, ciprínidos y bagres por Nickl et al. 1991, Chen y Ainsworth 1992, Anderson y Siwicky 1994, Siwicky et al. 1994, Klesius (1994). Igualmente la acción positiva del Betaglucán en la sobrevivencia de los peces con relación al tratamiento testigo (Figuras 8, 9, 10 y 11) lo cual esta de acuerdo con las evaluaciones referentes a Betaglucán en la disminución de mortalidad de organismos hidrobiológicos cultivados en confinamiento, realizadas por Yano et al. 1989, Robertsen et al. 1990, Chen y Ainsworth 1992, Ainsworth et al. 1994; Siwicky et al. 1994 y Molina et al. (2001).

Figura 8. Mortalidad semanal durante el periodo experimental



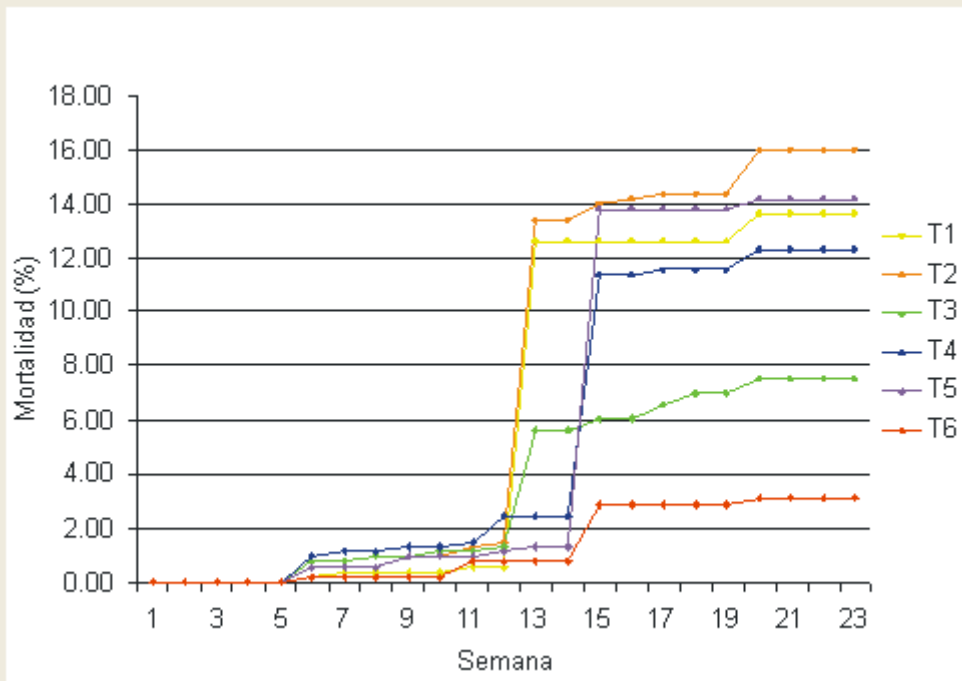


Figura 9. Número total de peces muertos por tratamiento

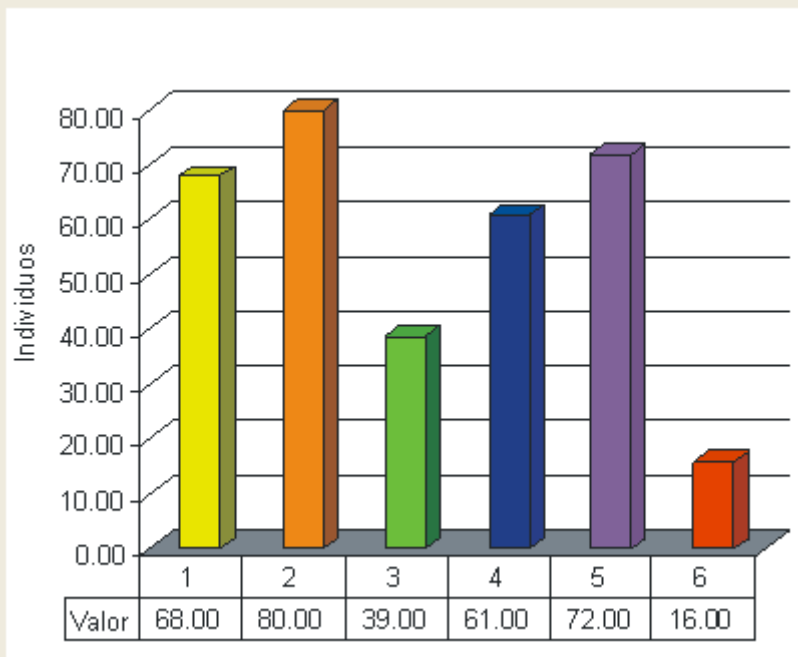


Figura 10. Mortalidad promedio semanal por tratamiento expresada en porcentaje

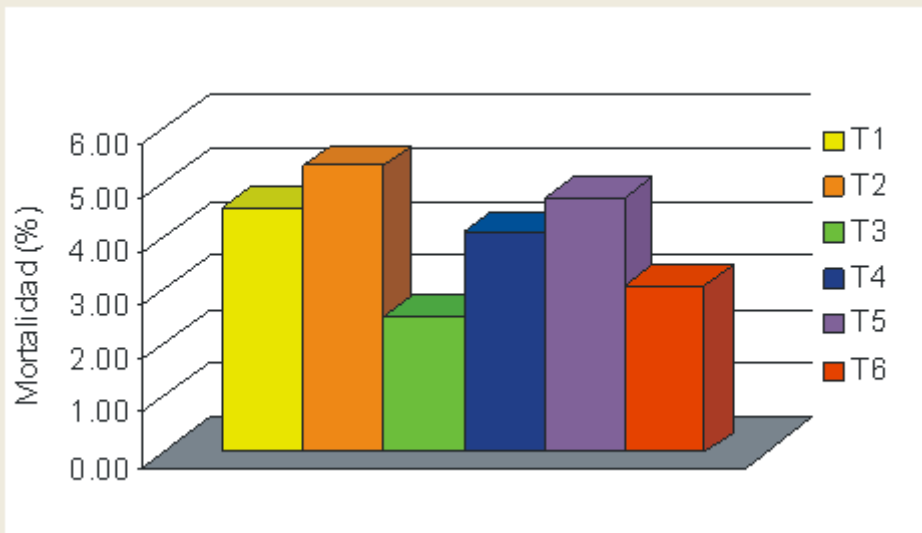
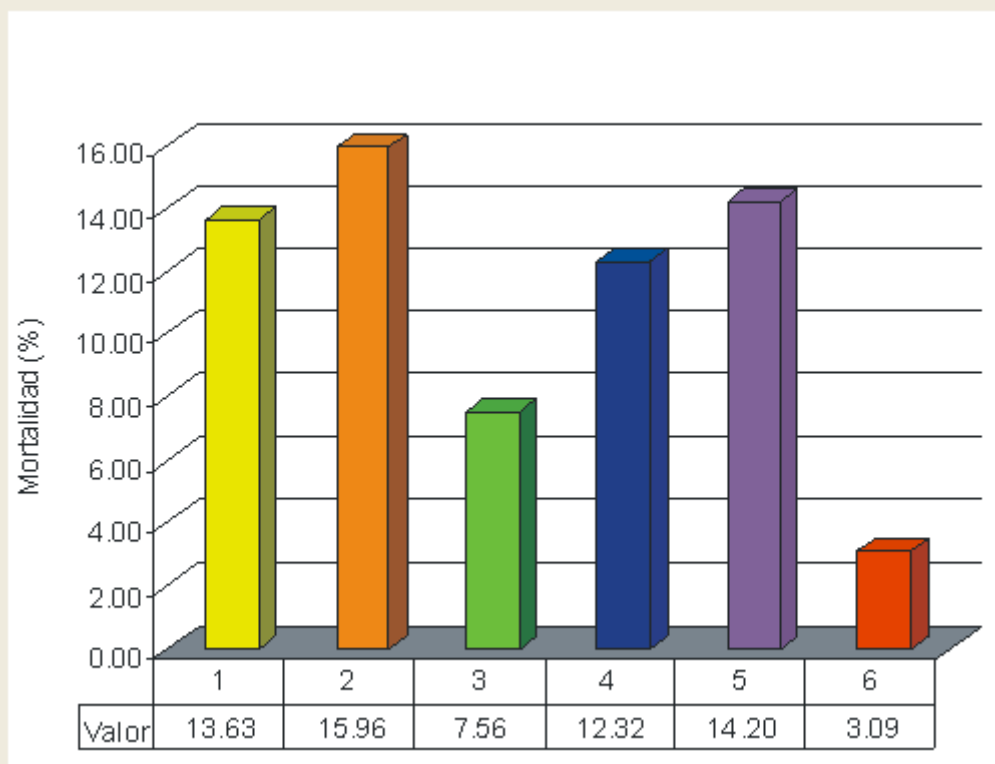


Figura 11. Mortalidad total por tratamiento expresada en porcentaje



### 5.5. Monitoreo fisicoquímico del agua

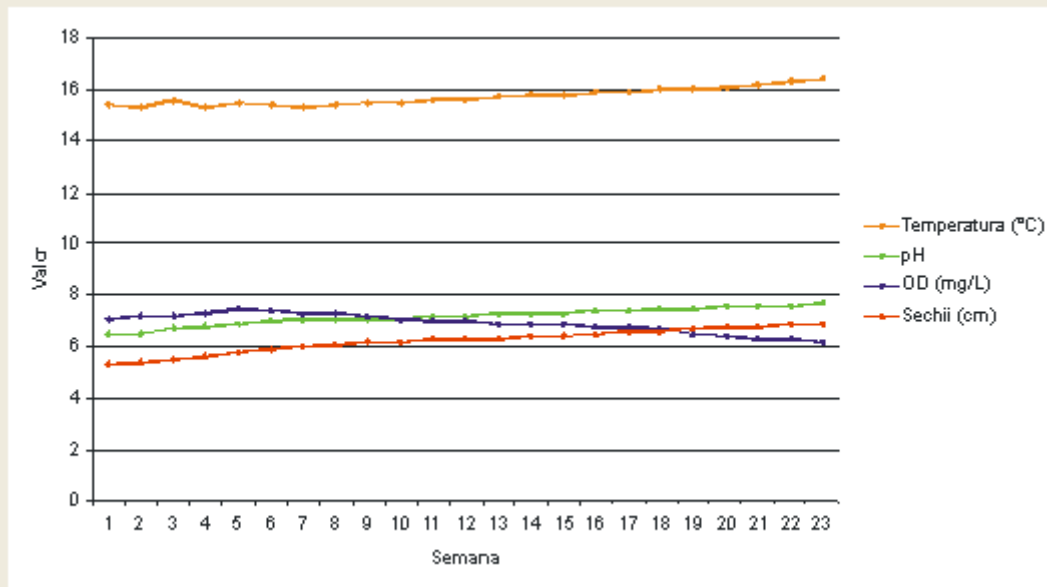
El análisis de pH, temperatura, oxígeno disuelto y visibilidad del disco Secchi, (Tabla 2, Figura 12) estableció que todos los parámetros se encontraron dentro de un rango aceptable para la producción de trucha arcoiris (*O. mykiss*), tanto en los periodos secos (Enero a mayo y octubre a diciembre) y lluviosos (Junio a septiembre) para el lago Guamuez, teniendo en cuenta que este es un lago con un régimen climático amazónico. El mes mas seco durante el período de estudio fue diciembre y el mes mas lluvioso y con vientos fue agosto. Las mejores condiciones fisicoquímicas, se registraron en el mes de agosto, semana experimental 5 y las condiciones menos favorables en el mes de noviembre, en la semana 20, debido a las altas temperaturas del lago que disminuía la concentración de oxígeno del agua, afectaba el metabolismo de los peces y exacerbaba la virulencia de las bacterias principalmente *Aeromonas spp*, que incrementaba la mortalidad de los tratamientos principalmente el T1 que no tenia inmunoestimulantes. Igualmente, al inicio del período lluvioso, específicamente los meses de junio y julio que corresponden a la transición del período seco a lluvioso, se produce intenso lavado y arrastre de la microcuenca del lago, aumentando las partículas en suspensión, mayor contaminación procedente de agroquímicos y carga bacteriana por excretas humanas y animales. La turbidez incide negativamente, como se explicó anteriormente, debido a que lesiona mecánicamente las branquias predisponiendo a los animales a

infecciones por microorganismos oportunistas y también disminuye el consumo de alimento, reduciendo la capacidad de los animales de producir anticuerpos y por tanto son mas susceptibles al ataque de virus, bacterias y parásitos (Plumb, 1994). Al correlacionar los datos de los parámetros limnológicos, (Tabla 2; Figura 12) con el consumo de alimento, mortalidad semanal y conversión alimenticia, se observa que el deterioro de la calidad fisicoquímica del agua, durante los meses críticos del estudio (junio, julio y noviembre) afectó desfavorablemente las variables productivas y por ende el incremento diario y acumulado de peso, lo cual fue mucho mas evidente en los tratamientos que no recibieron inmunopotenciadores como la vitamina C y el B – Glucan. Lo anterior está de acuerdo a lo demostrado por Triviño (2001) quien evaluó el efecto del B-Glucán en camarones (*Litopenaeus vannamei*), levantados en cautiverio en la ensenada de Tumaco (Departamento de Nariño), infectados experimentalmente con el virus de la mancha blanca (WSSV), demostrando que el B-Glucán mejoraba la sobrevivencia, incremento de peso, longitud y conversión alimenticia de los ejemplares cultivados.

Tabla 2. Variaciones semanales de los parámetros fisicoquímicos

Semana	Temp	pH	OD	Transp
Jul 1-7	15,40	7,20	7,60	6,10
Jul 8-14	15,30	7,50	7,10	6,20
Jul 15-21	15,60	7,40	7,60	6,30
Jul 22-28	15,30	7,80	7,70	5,90
Jul 29 - Ago 5	15,50	7,60	7,90	6,50
Ago 6-12	15,80	7,15	7,40	6,40
Ago 13-20	15,90	7,25	7,00	5,90
Ago 21-27	16,00	6,70	7,10	5,70
Ago 28 - Sep 2	16,00	7,00	7,00	6,20
Sep 3-9	15,80	6,40	6,70	6,60
Sep 10-16	16,20	6,50	6,90	6,40
Sep 17-24	16,50	6,20	6,50	6,30
Sep 25 - Oct 1	16,90	5,80	5,70	6,80
Oct 2-8	16,60	6,10	6,20	6,70
Oct 9-15	16,10	6,50	6,90	5,90
Oct 16-22	15,80	7,00	6,50	5,40
Oct 23-29	16,00	6,80	6,90	6,30
Oct 30 - Nov 7	15,80	7,10	7,30	6,10
Nov 8-18	15,50	7,20	7,00	5,80
Nov 19-25	15,50	7,40	7,20	5,90
Nov 26 - Dic 2	15,20	7,60	6,90	6,20
Dic 3-9	15,40	7,70	7,40	6,60
Dic 10-16	15,30	7,60	7,30	6,30
<b>Promedio</b>	<b>15,80</b>	<b>7,02</b>	<b>7,03</b>	<b>6,20</b>

Figura 12. Variaciones semanales de los parámetros fisicoquímicos



## 5.6. Análisis parcial de costos

En este análisis, se consideró el costo de los alevinos evaluados, el consumo del alimento artificial y la cantidad de Fosfato de ácido ascórbico y Vitamina C incorporado en los diferentes tratamientos. Igualmente se calcularon los ingresos brutos, ingresos netos, ingreso neto/jaula e ingreso neto/m<sup>3</sup> (Tabla 3). El análisis demostró que los mejores tratamientos desde el punto de vista de la Relación Beneficio-Costo fueron en su orden el T3, T1, T2, T4 y T5. El menor beneficio, se detectó en el T5. Lo anterior, se explica por la menor mortalidad, los mayores incrementos de peso y la mejor conversión alimenticia que registró el T3. Lo cual concuerda con lo reportado por Treviño (2001). En consecuencia, la adición de inmunoestimulantes y específicamente el Fosfato de ácido ascórbico a una dosis de 60mg/kg de alimento en cultivos intensivos de trucha arcoiris (*O. mykiss*) en jaulas flotantes, mejora la sobrevivencia, el crecimiento, la conversión alimenticia, la rentabilidad y disminuye la incidencia de las enfermedades.

Tabla 3. Análisis parcial de costos.

Costos	Vr. Unit.	T1		T2		T3		T4		T5		T6	
		Cant.	Vr. Total	Cant.	Vr. Total	Cant.	Vr. Total	Cant.	Vr. Total	Cant.	Vr. Total	Cant.	Vr. Total
Alevinos	200,0	1.590,0	318.000,0	1.590,0	318.000,0	1.590,0	318.000,0	1.590,0	318.000,0	1.590,0	318.000,0	530,0	106.000,0
Alimento levante (bultos-\$)	65.000,0	5,2	338.000,0	5,5	357.500,0	5,4	351.000,0	5,6	364.000,0	5,4	351.000,0	2,0	130.000,0
Alimento engorde (bultos-\$)	62.000,0	12,0	744.000,0	12,0	744.000,0	12,6	781.200,0	13,0	806.000,0	12,5	775.000,0	4,2	260.400,0
Fosfato de ácido asc. (lb-\$)	280.000,0	0,0	0,0	0,6	168.000,0	1,2	344.736,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	59.712,0
Taglucan (kg-\$)	460.000,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,7	334.800,0	1,4	644.400,0	0,2	111.600,0
<b>Total</b>			<b>1.400.000,0</b>		<b>1.588.060,0</b>		<b>1.794.936,0</b>		<b>1.822.800,0</b>		<b>2.088.400,0</b>		<b>667.712,0</b>
<b>Ingresos</b>													
Ingresos brutos (kg de PV-\$)	6.500,0	342,8	2.227.903,6	394,7	2.500.634,8	444,8	2.891.374,2	394,7	2.500.626,6	369,2	2.399.654,4	150,1	975.906,6
Ingresos netos (\$)			827.903,6		912.474,8		1.096.438,2		677.726,6		311.254,4		308.187,0
Ingresos neto/jaula (kg-\$)		114,3	275.967,9	128,2	304.158,3	148,3	365.479,4	128,2	225.908,9	123,1	103.751,5	150,1	308.187,0
Ingresos neto/m <sup>3</sup> (kg-\$)		14,3	34.496,0	16,0	38.019,8	18,5	46.694,9	16,0	28.238,6	15,4	12.968,9	18,8	38.523,0
Relación beneficio/costo			1,59		1,57		1,61		1,37		1,15		1,15

## 6. Conclusiones y recomendaciones

### 6.1 Conclusiones



6.1.1 El estudio demostró que la suplementación del alimento con fosfato de ácido ascórbico, reduce la incidencia de enfermedades bacterianas y fúngicas, la tasa de mortalidad, incrementa la ganancia de peso semanal y total, mejora la conversión alimenticia y la relación beneficio–costo.

6.1.2 El Betaglucán presentó también efectos favorables sobre el cultivo debido a que disminuye la presencia de enfermedades, mejora la sobrevivencia e incrementa las ganancias de peso. Sin embargo desde el punto de vista comparativo, el fosfato de ácido ascórbico registró ventajas sobre los índices productivos y económicos en relación al Betaglucán.

6.1.3 La incorporación al balanceado de los inmunoestimulantes, fosfato de ácido ascórbico y Betaglucán es efectiva mediante el método de impregnación.

6.1.4 El mejor tratamiento fue el T3 (600 mg de fosfato de ácido ascórbico) desde el punto de vista de sobrevivencia, menor porcentaje de enfermedades bacterianas y fúngicas, mayores ganancias de peso, mejor conversión alimenticia y relación beneficio-costo. El T3 fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos en las variables señaladas.

6.1.5 El tratamiento 6 (600 mg de fosfato de ácido ascórbico y 2g de Betaglucán/kg de alimento) fue estadísticamente similar al T3 en las variables sobrevivencia, conversión alimenticia, ganancias de peso y relación beneficio-costo.

6.1.6 La adición al balanceado comercial con fosfato de ácido ascórbico y/o Betaglucán principalmente en las dosis; 600 mg de fosfato de ácido ascórbico y 2gr de Betaglucán/kg de alimento, se justifica con el propósito de mejorar la rentabilidad de las explotaciones intensivas, de trucha arcoiris (*O. mykiss*).

6.1.7 La mayor incidencia de enfermedades, ocurrieron en su orden, en los tratamientos T2, T5, T4. Igualmente, el tratamiento que registró el menor número de muertes acumuladas fue el T3 con 33 peces debido principalmente a deficiencias nutricionales por competencia alimenticia; similar tendencia etiológica, se presentó en los tratamientos T4 y T5.

6.1.8 Los estados de desnutrición, debidos a déficit de proteína y energía, fueron frecuentes en los animales pequeños y débiles de cada tratamiento por la jerarquía y dominancia que ejercían los ejemplares de mayor tamaño, sobre el consumo de alimento. En consecuencia, la poca posibilidad de consumir alimento, por parte de estos peces, los predisponía a ser atacados y mordidos por otras truchas, produciendo lesiones en la piel que eran invadidas por microorganismos oportunistas bacterianos o fúngicos.

## 6.2. Recomendaciones

6.2.1. Incluir en el balanceado comercial de trucha arcoiris (*O. mykiss*), la adición de 600mg de fosfato de ácido ascórbico con el fin de mejorar los parámetros productivos de sobrevivencia, ganancia de peso, conversión alimenticia y rentabilidad, en la explotación intensiva y superintensiva de esta especie íctica.

6.2.2. Evaluar el efecto de otros inmunoestimulantes como la adición al alimento de megadosis de los minerales Fe, Zn o de la sustancia levamisole con el fin de optimizar el manejo industrial de trucha arcoiris (*O. mykiss*).

6.2.3. Continuar la línea de investigación multidisciplinaria e interinstitucional sobre biotecnología aplicada al cultivo intensivo de la trucha arcoiris (*O. mykiss*) en el suroccidente colombiano, liderada por la Universidad de Nariño.

## 7. Bibliografía

Abbas, A., Lichtman, A and Poben, J. Inmunología celular y molecular. Interamericana McGraw Hill. 517pp. 1995.

Aeschbacher, B and Brown G. Automated vit C analysis, Cbn chem. (Winston, Salem, NC) 18, 965–967p. 1972.

Ainsworth, A. B - Glucán inhibitable zymosan receptor on Channel catfish neutrophils. Veterinary Immunology and Immunopathology 41: 141-152p. 1994.

Ainsworth, A., Mao, P and Boyle, R. Immune response enhancement in channel catfish, *Ictalurus punctatus*, using B - Glucan from *Schizophyllum commune*. Modulators of Fish Immune Responses. SOS Publications. Fair Haven, NJ, Vol 1: 67-82p. 1994.

Albrektsen, S., Lie, B and Sandnes, K. Ascorbyl, palmitate as a dietary vitamin C source for rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture, 71: 359–368p. 1988.

Alexis M., Kalogeropoulos, N and Argyropoulou, V. Ascorbic acid. Distribution in tissues of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in relation to dietary levels and feeding period. Proc third int Symp on feeding and Nutrition in fish. Japan. 401-409p. 1989.

Amlacher, E. Textbook of fish Diseases. THF publications. 302pp. 1970.

Anderson, D., Immunostimulants, and vaccine carriers in fish: Applications to aquaculture. Annual Review of Fish Diseases: 281–307p. 1992.

Anderson, D., Siwicki, A., Dixon, O and Lizio, E. Immostimulation by levamisole in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in vivo 469-478p in Ahne, W and Kurstak, E. (Eds). Viruses of lower vertebrates. Springer-Verlag, New York. 1989.

Anderson, D and Siwicki A. Duration of protection against *Aeromonas* spp salmonicida in brook trout immunostimulated with Glucan or Chitosan by injection or immersion. Progressive Fish – Culturist 56: 258–261p. 1944.

Antila, E. Steroid conversion by oocytes and early embryos of *Salmo gairdneri*. Anm Zool 21: 465-471. 1984.

Aoe I., Masuda, L., Snito, T and Kemo A. Water soluble vitamin requirement of carp and requirement for thiamine. Bull

Jpm. Soc., Sci Fish, 33: 970-974p. 1987.

Aquaculture Situation and Outlook. Commodity Economics Division. Economic Research Service, U. S. Department of Agriculture. AQS 13. October 1994.

Arais, S., Nose, T and Hashimoto, Y. Qualitative requirements of young eels (*Anguilla japonica*) for water soluble vitamins and their deficiency symptoms. Bull. Freshw. Res. Lab. 22: 69-83p. 1972.

Barnes, M and Kodicek, E. Biological hydroxylations and ascorbic acid with special regard to collagen metabolism. Vit. and Horm., 30: 1-43p. 1972.

Benitez, L. and Halver. Ascorbic acid sulphate sulfohydrolase (C2 sulfatase). The modulator of cellular levels of L - ascorbic acid in rainbow trout. Proceedings of the National Academy of Sciences. USA, 79: 5445-5449p. 1982.

Bentsen, H., Reavik, K and Laisen, H. Effects of varying contents of iron and n-3 fatty acids in the feed related to antibody production in farmed salmon. Workshop. National program in fish health. Norway. Boyden, S. The chemotactic effect of mixtures of antibody and antigen on polymorphonuclear leucocytes. Journal of Experimental Medicine 115: 453-466p. 1962.

Boyd, C. Water quality in warm water fish pond. Craftmaster printers Inc., Opelika, Alabama, 316pp. 1979.

Brady, Y., Seminario Internacional de Producción Acuícola. Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola. Año 1 No 1. 2004.

Brandt, T., Deyol, C and Serb, P. Alternate sources of vitamin C for Channel Catfish. Prog, Fish Cuet., 47: 55-59p. 1985.

Chavez, M. Vitamin C requirements of the mexican native ciclia (*Cichlasoma urophthalmus*). Aquaculture Amsterdam. 86: 409-416.

Coustans, M., Guillaume, J., Metailler, R., Dugornay, O and Mesagger, J. Effect of an ascorbic acid deficiency on tirosinemia and granulomatous disease in turbot (*Scophthalmus maximus*), interaction with A slight polyhypovitaminosis. Comp biochem physiol. 97 A (2): 145-152. 1990.

Czop, J. and Austen K. Generation of leukotrienes by human monocytes upon stimulation of their B - Glucán receptor during phagocytosis. Proceedings of the National Academy of Science 82: 2751-2755p. 1985.

Dabrowski, K., Heinterleither, S and Sturmbauer, C. Do carp larvae. Require vitamin C. aquaculture, 72: 295-306p. 1988.

Dahinden, C., Clancy, R and Hugli, T. Specificity of leukotriene B4 and structure – function relationships for chemotaxis of human neutrophils. Journal of Immunology 133: 1477-2755p.

Duncan, P and Klesius, P. Enhancement of immune response in channel catfish by feeding immunoestimulants. In press. 1994.

Durve, V and Lovell, T. Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39: 948-951. 1982.

El Naggar, G and Lovell, T. L - ascorbie 2 - monophosphate has equal antiscorbutic activity as L - ascorbic acid but L - ascorbyl - 2 - sulphate is inferior to L - ascorbic acid for Channel Catfish. The World. Aquaculture Society Journal. 22 (4): 201-206. 1991.

Grant F., Seib, P., Liao, M and Corpron, K. Polyphosphorylated. L-ascorbic acid: A stable forms vit C for aquaculture feeds. J World Aquacult Soc 20: 143-155.

Halver J., Smith R., Tolbert, B and Baker, E. Utilization of Ascorbic acid in fish. Ann. N.Y. Acad. Sci., 258: 81-102p. 1975.

Halver J., Tucker, B and Smith, R. Technical grade, vitamin C supports Trout growth. Fed Proc., 42: 668p. 1983.

Hilton, J., Cho, C and Slinger, S. Factors affecting the stability of supplemental ascorbic acid in practical trout diets. J. Fish. Res. Board Can., 34: 683-667p. 1977a .

Hilton, J., Cho C and Slinger, S. Evaluation of the ascorbic acid status of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., 34: 2207-2210. 1977b.

Hoar, W., Randall, D and Donaldson, E. Fish Physiology. Reproduction. Vol 1X. AP. 1983.

Horning, D., Glathaan, B and Mosen, U. General aspects of ascorbic acid function and metabolism in ascorbic acid in domestic animals The Royal Danish Agricultural Society. Copenhagen. 196-205p. 1984.

Jeney G and Anderson D. Glucan injection or bath exposure given alone or in combination with a bacterin enhance the non – specific defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 116: 315-329p. 1993.

John, T., George, J., Hilton, J and Slinger, S. Influence of dietary ascorbic acid on plasma lipid levels in the rainbow trout. Int. J. Vit. Nutr. Res., 49: 400-405. 1979.

Johnston, W., MacDonald, E and Hilton, J. Relationships between dietary ascorbic acid status and deficiency, weight gain and brain neurotransmitter levels in juvenile rainbow trout, (*Salmo Gairdneri*). Fish physiol. Biochem., 6 (6): 353-365p. 1989.

Kikl, L., Albrigt, L and Evelyn., T. Influence of seven immunistimulants on the immune response of Coho salmon to *Aeromonas salmonicida*. Diseases of aquatic organism 12: 7-12. 1991.

Klesius, P. Rapid enzyme – linked immunoabsorbent test for detecting antibodies to *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* using exoantigen. Veterinary Immunology and Immunopathology 36: 359-368p. 1993.

Levine, M., Morita, K., Heldamn, E and Pollaroid, H. Ascorbic acid regulation of norepinephrine miosynthesis in isolated. Chromaffin granules from bovine adrenal medulla. J Biol chem. 260 (29). 1985.

- Lim, C and Lovell, R. Pathology of the vitamin C deficiency syndrome in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Nutrition*, 108: 1137-1146p. 1978.
- López, J. *Producción Piscícola*. Editorial Universitaria. Universidad de Nariño. Pasto. 40p. 1989.
- López, J. *Nutrición Acuicola*. Editorial Universitaria. Universidad de Nariño. Pasto. 211p. 1997.
- Lovell, T. Essentiality of vitamin C in feeds for intensively fed caged channel catfish. *Journal of Nutrition*, 103: 134-138. 1973.
- Magge, A., Waagbe, R., Olsson, P., Julsham, K and Sandnes, K. Ascorbate - 2 -sulphate as a dietary levels and immunization on the metabolism of trace elements. *Fish Physiol. Biochem*, 8(6): 429-436p. 1990.
- Molina, C y Rodríguez J. Efectos combinados de las vitaminas C y E dietéticas, en la inmunorespuesta del juvenil *Litopenaeus vannamei* antes y después de la suplementación con glucanos. *Boletín informativo, Cenaim*. 2001.
- Murai, T., Adrews, J and Bauernfeind, J. Use of ascorbic acid and ascorbate - 2 sulphate in diets for channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Nutrition*, 198: 1761-1766. 1978.
- Mustin G and Lovell, T. Na - L - ascorbyl -2 monophosphate as a source of vitamin C for Channel catfish *Aquaculture* 105: 95-100p. 1992.
- Navarre, O and Halver, J. Disease resistance and humoral antibody production in rainbow trout fed high levels of vitamin C. *Aquaculture*, 79: 207-221. 1989.
- NRC. *Nutrient requirements of coldwater fishes*, 16. National Academy press, Washington, D. C. 1981.
- Padh, H. Vitamin C: Newer insights into its biochemical functions., *Nutr. Rev.*, 49: 65-70. 1991.
- Plumb, J and Vinitnantharat S. Vaccination of channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque) by immersion and oral booster against *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Fish Diseases*. 16. 65-67p. 1993.
- Reichenbach - Klinke. H. *Enfermedades de los peces*. Editorial Acribia. 507p. 1982.
- Robertsen, B., Roerstad, G., Engstad, R and Raa, J. Enhancement of nonspecific disease resistance in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. by a Glucan from *Saccharomyces cerevisiae* cell Walls. *Journal of Fish Diseases* 13: 391-400p. 1990.
- Roerstad G, Engstad, R and Robertsen, B. The use of immunostimulants to increase resistance of aquatic organisms to microbial infections. In *Diseases in Asia Aquaculture*. Shariff, R and Subasinghe, A (Eds). Fish Health Section. Asian Fisheries Society. Manila. 39-50p. 1992.
- Rubio, E. Évolution de la composition en acides gras de L'ovocyte à la larve du turbot (*Psetta maxima* L) en fonction du régime alimentaire des reproducteurs et des larves, ainsi que de la température d'incubation. Annexe 3. Détermination de la vitamine C dans Les femelles reproductrices du turbot. Thèse. A L'Université de Bretagne Occidentale. 128-130p. 1986.
- Sandnes, K and Brackan O. Ascorbic acid and the reproductive cycle of ovaries in cod (*Godus morhua*). *Comp Biochem Physiol*. 70A: 545-546. 1981.
- Sandnes, K., Ulgenes, Y., Braekkan, O and Utne, F. The effect of ascorbic acid supplementation in broodstock feed on reproduction of Rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 43: 167-177p. 1984.
- Sandnes, K., Hansen , T., Killie, J and Waagbe, R. Ascorbate - 2 - sulphate as a dietary vitamin C source for Atlantic Salmon (*Salmo salar*): Growth, bioactivity, haematology and humoral immune response. *Fish Physiol. Biochem.*, 8(6): 419-427p. 1990.
- Sato, M., Kondo, T., Yoshinaka, R and Ikada, S. Effect of dietary ascorbic acid levels on collagen formation in rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries*. 48(10): 553-556p. 1982.
- Scott, A and Klesius, P. Chemiluminescence's: A novel analysis of phagocytes in fish. *Developments in biological Standards* 49: 231-246. 1981.
- Shigueno, K and Itch, S. Use of Mg - ascorbyl-2 - phosphate as a vitamin C source in shrimp diets. *Journ of the World Aqua. Soc.*, 19 (4): 168-174p. 1988.
- Siwicki, A. Immunomodulating activity of levamisole in carp spawners, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Biology* 31: 245-246p. 1987.
- Siwicki, A., Anderson, D and Dixon, O. In vitro immunostimulation of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spleen cells with levamisole. *Developmental and Comparative Immunology* 14: 231-237p. 1990.
- Siwicki, A., Anderson, D and G- L. Rumsey. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects nonspecific immunity and protection against furunculosis. *Veterinary immunology and Immunopathology* 41: 125-139p. 1994.
- Slinger, S., Razzaque, A and Cho, C. Effect of feed processing and leaching on the losses of certain vitamins in fish diets. *Proc. World Symp. On Finfish Nutrition and Fishfeed technology*, vol. II: 425-434p. 1979.
- Sniezko, S., Microhematocrit as a tool in fishery research and management. *U. S. Fish Wildl. Serv. Fish. Bull.* 341: 1-15. 1960.
- Soliman, A., Jauncey, K and Roberts, R. The effects of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture*, 59: 197-208p. 1986.
- Spring, P. Effect of mannanoligosaccharide on different cecal parameters and on cecal contamination of enteric pathogens in poultry. Dissertation. Federal institute of technology. Zurich. Switzerland. 1997.
- Stickney R., Mc Grachin R., Lewis, D., Marks, J., Riggs A and Robinson E. Response of tilapia aurea to dietary vitamin C *Journal World Maricult Socs*, 15: 179-185. 1984.

- Thomas, P and Neff, J. Effects of a pollutant and other environmental variables on the ascorbic acid content of fish tissues. *Marine Environ. Res.* 14: 489-491p. 1984.
- Triviño, A. Evaluación del efecto del B- Glucán de *Saccharomyces cerevisiae* en camarones *Litopenaeus vannamei* afectados por el síndrome viral de la mancha blanca (WSSV) bajo condiciones de laboratorio en la ensenada de Tumaco. Universidad de Nariño. Ingeniería en Producción Acuícola. Tesis de grado. 136p. 2001.
- Tucker B and Halver, 5. Ascorbate 2 sulphate metabolism in fish. *Nutrition Reviews* 42: 173-179. 1984
- Waagbe, R., Thorsen, T and Sandnes, K. Role of dietary ascorbic acid in vitellogenesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, 80: 301-314p. 1989.
- Wang X. Liquid chromatographic determination of a combined form of L- ascorbic acid and L - ascorbate - 2 - sulphate in fish feeds ascorbic enzymatic release of L – Ascorbate. *J assoc of Anal Chem.* 71 (6): 1158 –116p. 1988.
- Wedemeyer, G. Stress - induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two Salmonid fishes. *Comp. Biochem. Physiol* 29: 1247-1251p. 1969.
- Wiek, R., Anderson, K and Uglens, I. Cortisol induces increase in susceptibility of Atlantic Salmon (*Salmo solar*) together with effects on the blood cell pattern. *Aquaculture* 83: 201-215p. 1989.
- Wilson, R and Poe, W. Impaired collagen formation in the scorbutic channel catfish. *J. Nutr*; 103: 1359-1364p. 1973.
- Wise, D., Tomasso, J and Brand T. Ascorbic acid inhibition of nitrite induced methemoglobinemia in channel catfish. *Prog fish.* 50: 77-80. 1988.
- Yano, T., Mangidaar, R and Matsuyama, H. Enhancement of the resistance of carp *Cyprinus carpio*, to experimental *Edwardsiella tarda* infection, by some B –1, 3 – glucans. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1815-1819p. 1989.
- Yano T., Matsuyama, H and Mangindaan, R.. Polysaccharide – induced protection of carp, *Cyprinus carpio* L., against bacterial infection. *Journal of Fish Diseases*: 577–582p. 1991.
- Yamamoto, Y., Sato, S and Ikeda, S. Existence of L gunololactonae oxidasa, in some Teleosts. *Bulletim of the Japanese Society, of Scientific Fisheries.* 44 (7): 775-779p. 1978.
- Yoshinaka, R., Sato, M and Ikeda, S. In vitro formation of collagen in skin of ascorbic acid deficient rainbow trout. *Bull Jap Soc Sci Fish*; 44 (10): 1147-1150p. 1978.
- Zigmond, S and Hirsch, J. Leukocyte locomotion and chemotaxis. New methods for evolution and demonstration of a cell – derived chemotactic factor. *Journal of Experimental Medicine* 137: 387–410. 1973.
-