

## Avances en la Alimentación y Nutrición del Pejelagarto *Atractosteus Tropicus*

Márquez-Couturier, G.<sup>1\*</sup>, Alvarez-González, C.A.<sup>1\*\*</sup>, Contreras-Sánchez, W.M.<sup>1</sup>, Hernández-Vidal, U.<sup>1</sup>, Hernández-Franyutti, A.A.<sup>1</sup>, Mendoza-Alfaro, R.E.<sup>2</sup>, Aguilera-González, C.<sup>2</sup>, García-Galano, T.<sup>3</sup>, Civera-Cerecedo, R.<sup>4</sup> y Goytortua-Bores, E.<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Acuicultura, UJAT-DACBIOL. Carretera Vhsa-Cárdenas s/n, Km. 0.5, Entronque Bosques de Saloya, 86039, Villahermosa, Tabasco, México. Autores de correspondencia E-mail: \*[gmctabasco@hotmail.com](mailto:gmctabasco@hotmail.com), \*\*[alvarez\\_alfonso@hotmail.com](mailto:alvarez_alfonso@hotmail.com).

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Apdo. Post. F-56, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66450, México.

<sup>3</sup> Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de la Habana, Calle 16, No. 114, Playa Ciudad de la Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo 145, Col. Playa Palo de Santa Rita, 23090, La Paz, B.C.S., México.

---

### Resumen

A lo largo de 20 años de investigación y en colaboración con otras instituciones se ha logrado avanzar en el cultivo del pejelagarto *Atractosteus tropicus*, para lo cual se han realizado una serie de estudios científicos en torno a la biología, alimentación y nutrición de esta especie en sus diferentes etapas de desarrollo, por lo que a la fecha, se ha logrado cerrar el ciclo de cultivo y transferir la tecnología tanto al sector social como privado en el Sureste de México. Algunas de las investigaciones más importantes son: La descripción histológica del tracto digestivo de larvas y juveniles, la determinación de las enzimas digestivas del tracto digestivo en larvas y juveniles, la frecuencia y el horario de alimentación para evaluar el tiempo en que se debe realizar la adaptación al consumo de alimento balanceado de las larvas, la determinación de los requerimientos de proteína/energía y lípidos para prejuveniles y juveniles de la especie y el uso de alimentos prácticos utilizando diferentes fuentes de proteína. Lo anterior nos ha permitido desarrollar formulaciones para alimentos comerciales que actualmente se están evaluando en el cultivo comercial de esta especie.

Título corto: Nutrición del pejelagarto

## Introducción

Una necesidad de vital importancia para la humanidad ha sido garantizar el abasto de alimento para satisfacer sus demandas a corto, mediano y largo plazo. La recolección de alimento fue una de las primeras actividades que surgieron para conseguir el sustento cotidiano, sin embargo esto no ha logrado cubrir todos los requerimientos en cantidad y variedad, por lo que han surgido nuevas alternativas, originándose así las primeras formas de cultivo, inicialmente representados por la agricultura y ganadería, que son las principales formas de producción de alimento a escala mundial (Juárez-Palomo, 1985). En la actualidad han cobrado relevancia otras técnicas de cultivo como la acuicultura, aunque se practicaba desde épocas antiguas, en las últimas décadas ha tenido un desarrollo importante, al ser considerada como una alternativa de producción de alimentos, para satisfacer la demanda de proteína animal a costos relativamente bajos y evitando la sobreexplotación de los ecosistemas acuáticos.

La acuicultura es una actividad muy importante por su capacidad de generar alimentos básicos para el consumo humano, empleos, y divisas, por medio del cultivo organismos acuáticos (peces, crustáceos, moluscos, etc.) en condiciones controladas y en diversos ambientes (agua dulce, salobre o marina), aplicando tecnología con distintos niveles de complejidad (Fira, 1991). En México la acuicultura se ha realizado con un reducido número de especies, comparado con la riqueza biológica que se posee, según Espinosa-Pérez (1993) son aproximadamente 2122 especies de peces en la región sureste de México de los cuales Miller (1986) señala que más de 500 especies son dulceacuícolas. Desafortunadamente en las últimas dos décadas, esta actividad se ha basado en la importación de tecnologías diseñadas para especies exóticas, originando como consecuencia la introducción de numerosas especies (Rojas *et al.*, 2000) las cuales han sido causa de graves daños ecológicos, al competir con las especies nativas.

De todas éstas, los representantes más importantes son los pertenecientes a la familia Lepisosteidae, compuesta por dos géneros y siete especies. De estas especies el sureste de México tiene al pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Velasco, 1976), el cual se encuentra distribuido en la cuenca del río Coatzacoalcos, hasta la cuenca del río Usumacinta en los límites con Guatemala; más al sur en el lago Nicaragua y en el río San Juan en Costa Rica, encontrando poblaciones en la vertiente del Pacífico desde el sur de Chiapas, México hasta el río Negro, Nicaragua (Busing, 1998, Espinosa-Pérez, 1993; Carta Nacional Pesquera, 2004). Esta especie desempeña una importante función ecológica, ya que actúa como regulador de poblaciones de peces y anfibios (Contreras, 1990), y su importancia económica radica en su uso como alimento para consumo humano, pesca deportiva y elaboración de artesanías (Carta Nacional Pesquera, 2004), actualmente está cobrando importancia como especie de ornato en la acuarofilia. Sin embargo, esta especie se enfrenta a la drástica disminución de sus poblaciones silvestres debido a la reducción del hábitat y a su sobreexplotación pesquera (Contreras, 1990). En Tabasco se reporta una disminución de 531 a menos de 180 toneladas en el periodo de 1996 al 2002 (SAGARPA, 2002), mientras que en Chiapas existe una veda permanente en su pesca.

Los conocimientos científicos que se han venido generando en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) permiten visualizar al pejelagarto como una especie resistente a las variaciones ambientales, de fácil adaptación al manejo, con posibilidades de domesticarlo para la producción planificada de crías. Estas y otras características hacen suponer que la investigación y adecuación de tecnologías permitirán establecer su cultivo, sin causar ningún peligro al entorno, debido a que la especie pertenece al área de trabajo (McDonal, 2002).

Algunos de los estudios más importantes sobre los aspectos reproductivos son los de Alemán y Contreras (1987) quienes señalan que la temporada de reproducción se lleva a cabo preferentemente durante los meses con precipitaciones pluviales muy altas, época del año en que ocurren inundaciones de las zonas pantanosas, lagunas y ríos, las hembras encabezan los grupos de reproductores agitando la cola de manera brusca en cortos lapsos contra la vegetación sumergida (chapaleo), y prefieren para el desove, áreas someras con profundidades entre 30 y 60 cm, con abundante vegetación constituida de lirio acuático (*Eichornia crassipes*), pasto (*Paspalum sp*), espadaño (*Typha latifolia*), popal (*Thalia geniculata*), lechugilla (*Pistia stratiotes*) y abundante pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*). La primera madurez gonádica se presenta en las hembras cuando han alcanzado una talla de 48.5 cm. en promedio, mientras que en los machos se alcanza a los 42.5 cm. (Chávez *et al.*, 1989) presentando un tipo de madurez sincrónica (Pérez y Páramo, 1998). La diferencia hembra-macho en edad reproductiva es evidente a simple vista durante la temporada de reproducción, por presentarse un notorio abultamiento y plasticidad del abdomen de las hembras (Márquez, 1999).

Una vez ocurrida la reproducción se reporta una fecundidad promedio de 12,958 para una talla promedio de 64.5 cm (Chávez-Lomelí *et al.*, 1989). En contraste, con estas observaciones. Según Márquez (1999) el número promedio de huevos por kilogramo de hembra es de 12,930 pero este dato pueden variar si se trata de ejemplares de primera maduración. Los huevos maduros miden 3 mm de diámetro en promedio y presentan una coloración verde olivo, cubiertos por una sustancia toxica para otras especies, la cual les permite adherirse a cualquier tipo de sustrato. Una vez que eclosionan las larvas la alimentación exógena inicia 72 horas después de su eclosión, capturando el alimento vivo disponible como cladóceros, larvas de mosquitos, pequeños insectos, y crías de peces (Contreras y Márquez, 1988). En etapa juvenil según Reséndez y Salvadores (1983) reportan que la especie presenta hábitos alimenticios generalmente nocturnos con un régimen alimenticio constituido de peces e insectos, mientras que los adultos son básicamente ictiófagos.

Los primeros bioensayos sobre reproducción corresponden a Contreras *et al.* (1989), quienes obtuvieron desoves de *A. tropicus* en un área pantanosa, con una muy baja supervivencia de larvas. Este primer intento se realizó en la Ranchería El Espino, en un encierro rústico de 30 x 20 x 0.9 metros construido en un humedal. La relación hembra-macho desde entonces utilizada es de 1:3 o 1:4 y el área ocupada para la reproducción fueron 4 encierros interiores de 4 x 4 x 0.6 metros, se utilizaron 46 ejemplares para la selección de progenitores. La estimulación para el desove natural consistió de la manipulación ambiental (Márquez, 1999).

Márquez-Couturier, G., Alvarez-González, C.A., Contreras-Sánchez, W.M., Hernández-Vidal, U., Hernández-Franyutti, A.A., Mendoza-Alfaro, R.E., Aguilera-González, C., García-Galano, T., Civera-Cerecedo, R. y Goyortua-Bores, E. 2006. Avances en la Alimentación y Nutrición del Pejelagarto *Atractosteus Tropicus*. En: Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Ana C. Puello Cruz y Armando García Ortega. Avances en Nutrición Acuicola VIII .VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15 - 17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

Por otra parte, uno de los primeros intentos donde se realizaron los estudios para la inducción en condiciones controladas fue el realizado por Pérez (1995) quien evaluó el uso de la gonadotropina coriónica humana, obteniendo solo un ligero avance en la madurez gonádica. Por otra parte, Márquez (1999) menciona que para planificar los desoves y la producción de crías se ha experimentado con hormonas comerciales como el OVAPRIM-C a una dosis única de 0.2 mg/Kg. de hembra, donde se ha observado un tiempo de respuesta de 10 a 12 horas presentándose desoves totales con un porcentaje de fertilización del 92%, y un 98% de eclosión. Sin embargo, al usar una dosis de 0.5 mg/Kg. o más, puede causar hipertrofia de los ovarios e incluso la muerte de los ejemplares. Recientemente, Hernández (2002) menciona que es posible realizar la identificación de sexo de ejemplares adultos de *A. tropicus* mediante la detección y cuantificación de la vitelogenina (VTG) plasmática, empleando suero anti-VTG producido a partir de la proteína purificada. El empleo conjunto de los niveles de VTG y de sus análogos superactivos de los factores liberadores de gonadotropinas (des-Gly10- (D- Ala6) LHRH ethylamide y D-Ala6 –LHRHa) y Ovaprim como agentes inductores, permiten programar los desoves durante la temporada de acuerdo a la fase de maduración de las gónadas en las hembras, lo cual hace posible un uso más óptimo de los reproductores.

El desarrollo embrionario de *A. tropicus* fue estudiado por Márquez (1998) a diferentes temperaturas (20, 25, 30 y 35°C) bajo condiciones de laboratorio, se identificaron 17 estadios de desarrollo, donde se observó que los embriones sometidos a una temperatura de 35 °C presentaron un estadio de desarrollo adelantado y su eclosión inició a las 35 horas, 12 horas antes del grupo testigo (30 °C). Asimismo, se observó una supervivencia del 75% hasta la absorción del vitelo y primera alimentación. Uno de los primeros estudios sobre el larvicultivo fue realizado por Rivera y Márquez (2001), quienes evaluaron el efecto de la densidad (1, 5, 10, 15, 20, 30, y 40 larvas por litro) en el crecimiento y supervivencia de larvas de *A. tropicus* bajo condiciones de laboratorio, el experimento se llevó a cabo en recipientes con 5 litros de capacidad, iniciando a partir del primer día de alimentación exógena de las larvas y finalizando diez días después. Los datos obtenidos demostraron que no existen diferencias significativas en el crecimiento en peso y talla entre las diferentes densidades y la supervivencia fue mayor al 93% en todos los tratamientos.

Si bien se han realizado una buena cantidad de estudios para *A. tropicus* que han permitido hasta la fecha cerrar el ciclo de vida, es hasta ahora que las investigaciones relacionadas con la alimentación y nutrición se han realizado con el objetivo de mejorar el cultivo de esta especie en todas sus etapas de vida.

La presente investigación en torno a la determinación de la alimentación y morfología digestiva de larvas y juveniles, determinación de los requerimientos en proteína, energía y lípidos fueron realizados en las instalaciones del Laboratorio de Acuicultura de la División Académica de Ciencias Biológicas. Por otra parte, el estudio sobre la ontogenia enzimática fue realizado en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Este trabajo fue dividido en tres secciones: 1) Estudios sobre la morfología del sistema digestivo, ontogenia enzimática y alimentación de larvas y prejuveniles, 2) Determinación de los requerimientos nutricionales y 3) utilización de alimentos prácticos para la engorda del pejelagarto.

## **1) Estudios Morfología del Sistema Digestivo, Ontogenia Enzimática y Alimentación De Larvas y Prejuveniles.**

### **1.1. Morfología del sistema digestivo.**

#### **Materiales y Métodos**

Un total de 500 larvas de 4 días posteclosión fueron cosechadas y sembradas en un tanque circular con capacidad de 100 L de agua y que se encuentra conectado a un sistema de recirculación con temperatura controlada. Las larvas fueron mantenidas a temperatura ambiente y alimentadas a saciedad cuatro veces al día empleando al inicio nauplios recién eclosionados y juveniles de artemia, posteriormente se suministro biomasa de artemia congelada y alimento artificial (Márquez et al 2004). Para el estudio morfológico del desarrollo del tracto digestivo se realizaron 14 muestreos, en cada uno se cosecharon 15 ejemplares y se inició el día previo a la primera alimentación, considerándose como el día 0. Las larvas de cada muestreo fueron medidas, pesadas, una parte de la muestra fue fijada en una solución de bouin y el resto de los ejemplares en formol neutro al 10 %. Las larvas fueron procesadas completas y la edad se expresó en días post eclosión (dpe). El tiempo de fijación fue de 12 a 48 horas y después las muestras fueron procesadas por la técnica histológica convencional que consiste deshidratar mediante la sumersión de las muestras en alcoholes de menor a mayor concentración (70 %, 80 %, 96 %, 100 %) durante una hora en cada una de las diferentes concentraciones. Las muestras fueron aclaradas por sumersión en una solución de alcohol/xilol y finalmente solo en xilol. Las muestras aclaradas se pasaron por dos baños de parafina previos a la inclusión definitiva para obtener los bloques. De cada bloque se realizaron cortes seriados, transversales y sagitales de 6 y 7 micras de espesor empleando un micrótopo de deslizamiento, las laminillas obtenidas fueron teñidas con Hematoxilina y Eosina para la morfología general y en PAS para la identificación de polisacáridos y mucopolisacáridos neutros, Masson para tejido conjuntivo y muscular, Azul Alcian pH 0.4 para mucopolisacáridos ácidos, de acuerdo a las técnicas descritas por Humason (1979; AFIP, 1995). Se seleccionaron las laminillas para el análisis microscópico y la descripción histológica.

#### **Resultados**

En las larvas recién eclosionadas que denominamos como el día 1 posteclosión, se observo un tubo digestivo indiferenciado localizado por encima del saco de vitelino. El hígado se encuentra en proceso de diferenciación y se nota como una masa pequeña de células hepáticas (yema hepática).

En los días 2 y 3 continua el proceso de diferenciación celular y formación del hocico. En la región cefálica se observo que la comunicación entre la boca y esófago estaba cerrada aún, el hígado presento un crecimiento mayor ocupando mas espacio de porción anterior por debajo del estomago anterior, se observaron hepatocitos claramente diferenciados. En la porción anterior del tracto continua el proceso de organización celular en la formación de la región de la región cardiaca y Pilórica del estomago. En el intestino se observaron algunos pliegues con células organizándose.

Durante los días 4 y 5 posteclosión la boca esta formada y se comunica a un esófago corto. El esófago muestra una comunicación directa con la vejiga de los gases y con el estomago. El estomago se encuentra aún en proceso de diferenciación y en el intestino son mas evidentes los pliegues y la formación del epitelio intestinal.

En el día 7 posteclosión se observaron claramente diferenciados la boca, esófago, hígado, páncreas, estómago, intestino, válvula espiral, ciegos pilóricos, recto y ano.

El esófago es un tubo recto corto constituido por una capa mucosa y muscular claramente definido, no se observa la submucosa. El esófago muestra en la región anterior un epitelio plano estratificado con algunas células secretoras, la región posterior presenta un epitelio columnar ciliado, la mucosa forma pliegues altos en la zona de transición entre el esófago y el estómago.

En el estómago se observo la diferenciación de dos regiones, la región cardiaca con numerosas glándulas gástricas y la región pilórica en donde el número de glándulas gástricas disminuye notablemente. Además, el epitelio estuvo formado por células columnares ciliadas y secretoras. El intestino se observo como un tubo con numerosos pliegues mucosos altos (vellosidades) revestidos por un epitelio columnar alto en donde se notan claramente la microvellosidades, las células secretoras epiteliales fueron mas abundantes en esta región del tubo digestivo.

Se observaron numerosos ciegos pilóricos con características similares a las del intestino. El hígado es grande y alargado, formado por cordones de hepatocitos, entre el tejido hepático se observaron cordones pancreáticos formados por acinos de células cúbicas

Al día 7 posteclosión se observo que el tracto digestivo esta completamente formado, la boca y el ano se encuentran abiertos y la descripción histológica es similar a la de ejemplares de mayor edad (20 días posteclosión).

A los 20 días posteclosión el tracto digestivo del pejelagarto está integrado por la región bucofaríngea, el esófago, estómago e intestino formados por cuatro capas de tejido; mucosa, submucosa muscular y serosa (Fig. 1 a).

### *Región bucofaríngea.*

Limitada por un epitelio plano estratificado, dispersas entre el epitelio se observan células secretoras y corpúsculos gustativos (Fig. 1 a, b, c).

### *Esófago.*

Región corta del tubo digestivo, la región cefálica muestra epitelio plano estratificado con algunos corpúsculos gustativos y el cual que cambia a columnar simple ciliado en la región caudal, ambos tipos de epitelio muestran células secretoras. La mucosa esofágica en la región que comunica con el estómago forma pliegues largos, la lámina propia de la mucosa formada por tejido conjuntivo laxo con algunos vasos sanguíneos. La muscular externa claramente definida y constituida por una capa interna muscular de músculo estriado (Fig. 2 a).

### *Estómago.*

Porción más ensanchada del tubo digestivo con luz amplia. Se definen claramente dos regiones; la región cardiaca y la región pilórica. La región cardiaca o cuerpo es prominente. La mucosa constituida por epitelio columnar formado por dos tipos de células; las células ciliadas y las células secretoras las cuales muestran reacción PAS positiva, la lámina propia formada por tejido conjuntivo laxo, la mucosa forma numerosos pliegues, no se observó la muscular de la mucosa por lo que no hay un límite claramente definido entre la mucosa y la submucosa. La submucosa formada por tejido conjuntivo laxo el cual contiene numerosas glándulas gástricas de tipo alveolar, constituidas por células cúbicas: La capa muscular circular formada por músculo liso. La serosa es delgada formada por tejido conjuntivo y cubierta por epitelio plano. La región pilórica caracterizada por que no se encuentran glándulas gástricas en la submucosa, la muscular externa es más gruesa que en la región cardiaca (Fig. 2 b, c, d).

### *Intestino.*

Formado por un tubo largo con una luz menos amplia que el estómago. La mucosa intestinal forma pliegues largos y numerosos, el epitelio formado por células columnares altas con borde en cepillo claramente definido, los enterocitos, dispersas entre estas células se observan numerosas células caliciformes que muestran reacción PAS positiva. En la región anterior y media se forman largos pliegues que dividen a estas regiones en una serie de compartimientos denominados como Válvula Espiral. La región posterior es corta y forma el recto que se abre en el ano. La muscular externa en el intestino es más delgada que la del estómago (Fig. 3 a, b, c, d, e).

### *Ciegos Pilóricos.*

En el intestino anterior en la región en comunicación con el estómago, la pared del intestino forma numerosas evaginaciones largas y digitiformes y las cuales forman los ciegos pilóricos, estas estructuras muestran las mismas características morfológicas que el intestino (Fig. 3 a).

Los juveniles tempranos del pejelagarto de 20 días posteriores a la eclosión muestran un tracto digestivo semejante al de los adultos. Las características histológicas del tracto digestivo ponen en evidencia la función digestiva. Las características observadas en el epitelio intestinal indican la función absorbora y secretora de este órgano.

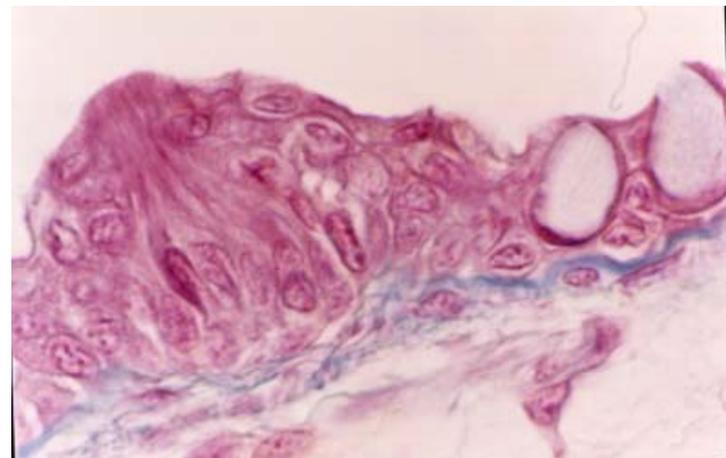
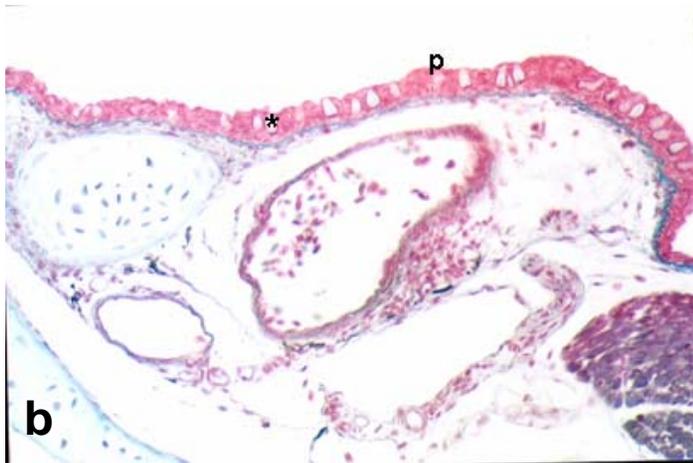
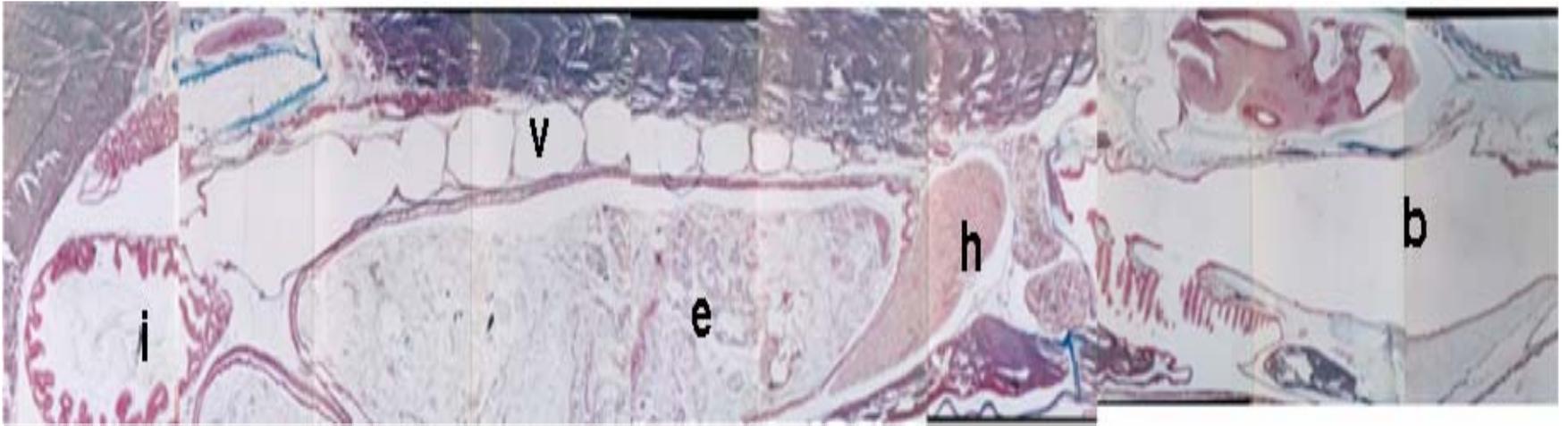


Figura 1.- a) Tubo digestivo, región bucofaríngea (b), estómago (e), intestino (i), hígado (h), vejiga natatoria (v). b) Detalle del epitelio plano estratificado de la región bucofaríngea (p), células caliciformes (\*). c) Corpúsculo gustativo.

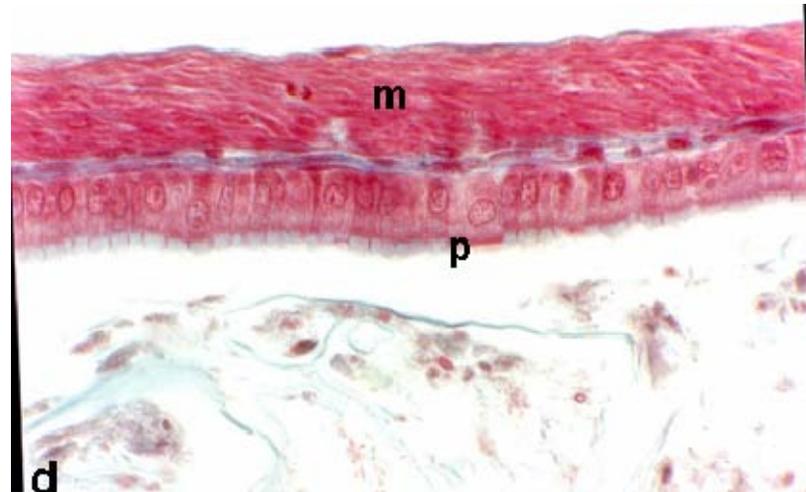
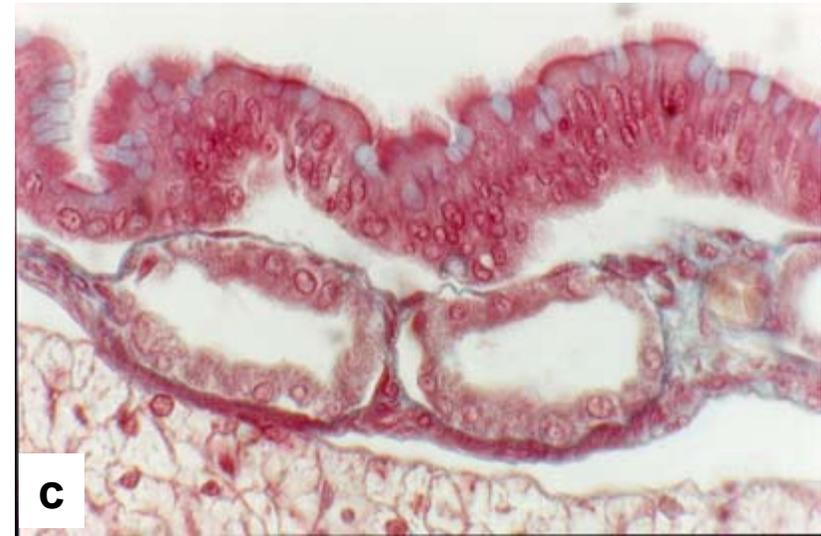
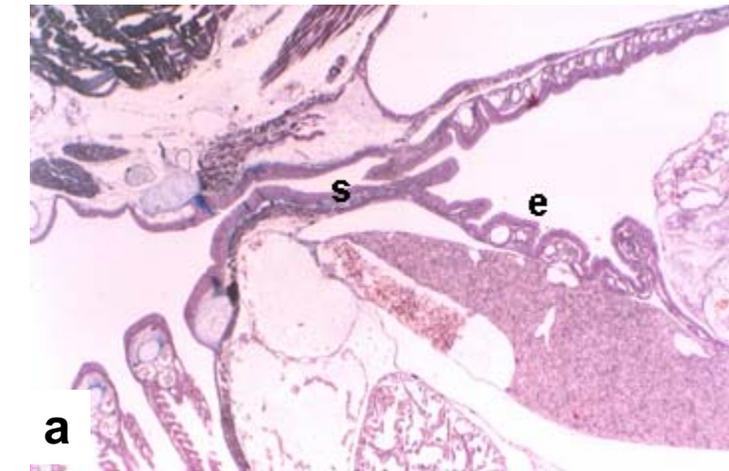


Figura 2. a) Esófago (s), estómago región cardiaca (e); b) estómago región cardiaca (e), glándulas gástricas (g), epitelio (p); c) detalle de la mucosa de la región cardiaca, epitelio columnar ciliado (p), células caliciformes (c); d) detalle de la región pilórica, epitelio (p), muscular externa (m).

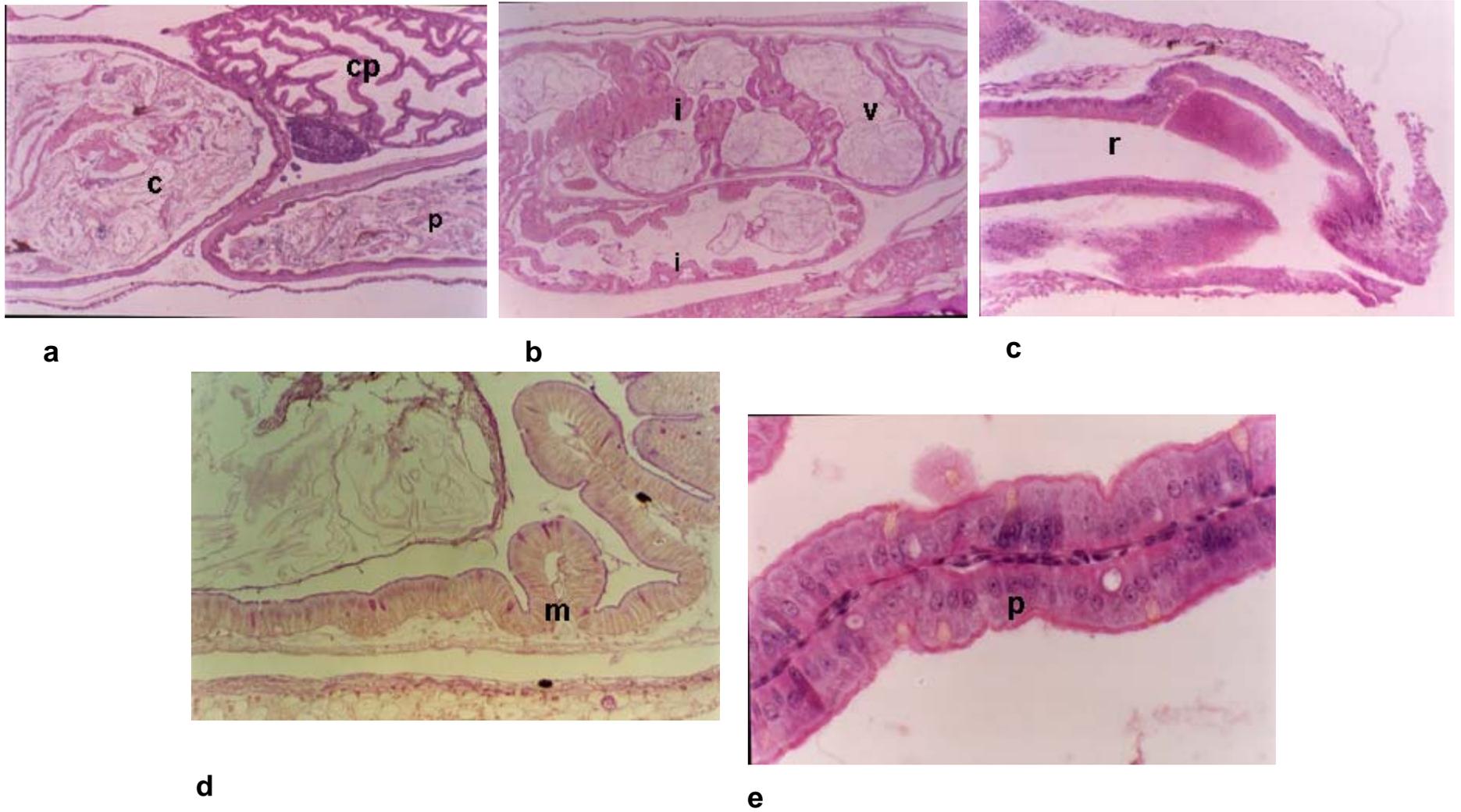


Figura 3. a) Estómago región cardiaca (c), región pilórica (p), ciegos pilóricos (cp); b) intestino (i), válvula espiral (v), c) recto (r); d) detalle de la mucosa del intestino (m); e) pliegue intestinal, epitelio columnar con c

## 1.2. Ontogenia enzimática

### ***Materiales y Métodos.***

Se utilizó un sistema de circulación de agua con cuatro tanques de plástico circulares de 100 L de capacidad, con suministro de agua constante. En cada tanque se colocaron 3000 larvas de pejelagarto en un volumen de cultivo inicial de 40 litros, a los 16 días se realizó un aumento del volumen a 80 L de agua. La calidad del agua se mantuvo realizando 3 cambios diarios del 100% del volumen de cultivo. Los muestreos se realizaron a partir del 3er día después de la eclosión (dde) y finalizaron a los 34 dde. A partir del 5° dde se comenzó a proporcionar el alimento. El diseño experimental consistió de tratamientos, cada uno con diferente régimen de alimentación:

Tratamiento 1 (AV): Alimento Vivo (nauplios de *Artemia salina* Salt Creek recién descapsulados).

Tratamiento 2 (BC): Biomasa Congelada (adultos de *Artemia salina* congelados).

Tratamiento 3 (AF): Alimento balanceado para trucha (migajas de extrusión de 1.5 mm. con 45% de proteína).

Tratamiento 4 (I): Inanición (sin alimento exógeno)

El suministro de alimento exógeno inició en el 5° dde y la frecuencia fue de cuatro veces al día, con un intervalo de 4 horas entre cada alimentación. Todos los alimentos se administraron al 100% de la biomasa de las larvas. Los muestreos se realizaron desde el primer día del experimento (3 dde) antes de suministrar el alimento. Las larvas muestreadas se mantuvieron en agua limpia durante dos horas para la eliminación de las heces fecales. Los primeros doce muestreos se realizaron diariamente, con un total de 100 larvas por tratamiento en cada muestreo. Los siguientes 4 muestreos se hicieron a un intervalo de 5 días entre muestreo con una total de 50 larvas por tratamiento en cada muestreo. Todos los ejemplares fueron medidos y pesados utilizando un vernier de 0.1 mm de exactitud y una balanza analítica marca OHAUS. Las larvas fueron disectadas a una temperatura de 4° C. para evitar la degradación de material proteínico. Se extrajo el tracto digestivo y se formó un lote para cada tratamiento y muestreo cada uno de los cuales fue posteriormente liofilizado y almacenado a -20° C para su procesamiento. Los tractos digestivos fueron homogenizados con un Homogenizador GLAS-COL (4000 rpm de máxima velocidad) usando agua destilada en una proporción de 10 mg/ml (p/v). El homogenizado se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos, se recuperó el sobrenadante y se almacenó en alícuotas de 100 µl a -20°C. En ambos casos se realizó a 4° C para evitar la pérdida de enzimas durante su procesamiento.

Se determinó la concentración de proteína soluble para cada extracto mediante el método de Bradford (1976), utilizando albúmina de suero bovino (BSA) en concentraciones de 5 a 50 µg en 100 µl de solución para la elaboración de una curva estándar. Para determinar la actividad proteolítica se utilizó azocaseína al 1% en un buffer Tris-HCl 50 mM, CaCl<sub>2</sub> 20 mM, pH 8.5 como sustrato (Galfgani y Nagayama, 1986). Para la reacción se utilizaron 0.5 ml de azocaseína con 0.5 ml de buffer Tris-HCl 50 mM, CaCl<sub>2</sub> 20 mM pH 8.5 y 0.1 ml de extracto enzimático. La mezcla se incubó a 37 °C durante 30 minutos, al terminó de la incubación se le añadieron 0.5 ml de TCA (ácido tricloroacético) frío al 10% para detener la reacción. Posteriormente, se mantuvo a 4° C durante 15 minutos y se centrifugó a 10,000 rpm a 4°C durante 5 minutos, separando el sobrenadante obtenido para registrar su absorbancia a 366 nm.

En el caso de la actividad proteolítica ácida se utilizó un sustrato de hemoglobina al 1% en un buffer de Acetato de Sodio-HCl, pH 3.0 (Anson, 1938). Se utilizaron 0.5 ml de hemoglobina con 0.5 ml de buffer Acetato de Sodio-HCl, pH 3.0 y 0.1 ml de extracto enzimático para la reacción. El procedimiento para medir esta actividad fue exactamente igual al descrito para la actividad

proteolítica alcalina, excepto que la absorbancia del sobrenadante obtenido del centrifugado se determino a 280 nm. Se realizaron tres repeticiones para cada extracto digestivo, Los datos obtenidos fueron expresados como cambio de absorbancia de 0.001 por minuto por número de larvas en la cantidad de muestra.

Para determinar la actividad de las proteasas alcalinas en los extractos enzimáticos, se realizaron electroforesis en condiciones desnaturizantes en presencia de SDS (Dodecil Sulfato de sodio), utilizando un gel discontinuo de acuerdo a la técnica descrita por Laemmli (1970) y modificada por Garcia-Carreño *et al.*, (1993). Las electroforesis se realizaron en una cámara vertical, Dual Mini Gel Unit (Scientific Co.) con placas de 10 x 11.3 x 0.75 cm con capacidad para 10 muestras por gel. El gel concentrador se preparó a una concentración de poliacrilamida (PAA) de 4% y el gel separador a 15%. Se corrieron dos geles con los mismos extractos, uno de los cuales fue procesado para visualizar las proteínas presentes en los extractos y el otro para observar las bandas de actividad proteolítica. Se utilizó Tris-Glicina (0.025 M-0.0192 M, SDS 0.1%) pH 8.3, como buffer de cámara. Las muestras se prepararon mezclando los extractos con el buffer de muestra (Tris-HCl 0.5 M pH 6.8, SDS 2%, Glicerol 20% y Azul de Bromofenol 0.05 %) en proporción 1:1, procurando aplicar de 35-40 mg. de proteína por pozo con una micro-jeringa Hamilton Microliter. La cámara se conectó a una fuente de poder Pharmacia EPS 600 con un voltaje de 100 V y una intensidad de 60 mA por gel, durante 90 minutos, utilizando un baño de recirculación para mantener la temperatura a 4°C. Al finalizar el proceso de electroforesis, los geles utilizados para visualizar la proteína de los extractos fueron fijados con TCA 10%. Mientras que los geles para detectar la actividad proteolítica fueron sumergidos en una solución de caseína al 3% en un buffer Tris-HCl 50 mM, pH 8.5, durante 30 minutos a 4°C. Posteriormente, se cambió a otra solución similar para ser incubado durante 90 minutos a 37°C. Al término de la incubación el gel fue lavado con agua destilada, para remover el exceso de sustrato y se fijó con TCA al 10% para eliminar los productos de la degradación proteolítica y precipitar la caseína no degradada en el gel. Para la tinción de los geles se llevó a cabo la metodología de Weber y Osborn (1969), los geles fueron sumergidos, durante toda la noche y a temperatura ambiente, en una solución colorante compuesta de 0.1% de azul de comassie R-250 en metanol, ácido acético y agua destilada en una proporción 40:10:50 respectivamente. Para revelar las bandas, tanto de proteínas como de actividad enzimática, se utilizó una solución decolorante compuesta de metanol, ácido acético y agua destilada (40:10:50). Posteriormente, los geles fueron sumergidos en una solución deshidratante (ácido acético 10% y Glicerol 2% en agua destilada) con el fin de disminuir el riesgo de daño y finalmente, con el propósito de ser conservados, se prensaron entre dos laminas de papel celofán previamente hidratadas. Los geles para proteína se revelaron como bandas azules sobre un fondo transparente. Mientras que las enzimas con actividad proteolítica se revelaron como bandas blancas o transparentes sobre un fondo azul.

El peso molecular de las proteasas alcalinas encontradas fue determinado con un kit comercial (SIGMA MW-SDS-70) que contiene albúmina de huevo, pepsina, tripsinogeno,  $\beta$ -lactoglobulina y lizosima (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de marcador de peso molecular.

<b>PROTEÍNA</b>	<b>P. M. (KDa)</b>
Albúmina de huevo	45
Pepsina	34.7
Tripsinógeno	24
$\beta$ -lactoglobulina	18.4
Lizosima	14.3

Para determinar la movilidad relativa ( $R_f$ ) de una proteína, se consideró su distancia en migración desde el inicio del gel separador hasta el centro de la banda proteica, dividiéndola entre la distancia de la migración del frente; la cual se define como la distancia en milímetros desde el inicio del gel separador hasta el frente (indicado por la línea de azul de bromofenol)

$R_f = \text{distancia de migración de la proteína} / \text{distancia de la migración del frente}$

Los valores de  $R_f$  fueron graficado contra los pesos moleculares de las proteínas de referencia. Así, los pesos moleculares desconocidos fueron estimados mediante una curva de calibración relacionándolos con los  $R_f$  de los marcadores moleculares.

La caracterización de las proteasas se realizó mediante la técnica propuesta por García-Carreño (1993), consistente en mezclar 40  $\mu$ l del extracto con 10  $\mu$ l de la solución concentrada del inhibidor correspondiente siendo posteriormente incubada durante 1 hora a 25° C. A continuación, la mezcla se disolvió en con el buffer de muestra en proporción 1:1 y se depositaron 25  $\mu$ l en de cada muestra en geles de acrilamida para realizar la técnica de electroforesis antes descrita (Tabla 2).

Tabla 2. Inhibidores utilizados, su especificidad y solventes correspondientes.

<b>INHIBIDOR</b>	<b>ESPECIFICIDAD</b>	<b>SOLUCIÓN CONCENTRADA</b>	<b>SOLVENTE</b>
<b>PMSF</b>	serina proteasas	100 mM	Etanol
<b>TLCK</b>	tripsina	5mM	HCl 1mM pH3
<b>TPCK</b>	quimotripsina	10mM	Metanol
<b>EDTA</b>	metaloproteasas	0.5M	Agua destilada

Para la determinación de las proteasas ácidas se utilizó la metodología propuesta por Alarcón (1997). Las electroforesis se desarrollaron bajo condiciones nativas, en ausencia de SDS. La preparación de los geles y las condiciones en las que se llevaron a cabo las electroforesis fueron similares a las descritas para las proteasas alcalinas, utilizando solo un buffer de muestra Tris-Fosfato 0.1 M, pH 5.5, con glicerol 20% y azul de bromofenol 0.02 % y buffer de cámara Tris-Glicina 0.62 M, pH 7.0. Después de las electroforesis los geles se sumergieron en HCl 0.1 M para disminuir el pH a 3.0 Posteriormente, se colocaron en una solución de hemoglobina al 0.25 % en un buffer de Acetato de Sodio pH 3.0 a 4°C durante 30 minutos. En seguida se pasaron a una solución similar para ser incubados a 37°C durante 90 minutos. A continuación los geles se lavaron con agua destilada para remover el exceso de sustrato y ser fijados con TCA al 10%. La coloración, revelado y conservación serán los mismos descritos para las proteasas alcalinas.

La actividad proteolítica específica se realizó mediante la mezcla de 0.2 ml de sustrato con 0.02 ml de buffer para adecuar el pH y poder adicionar 0.02 ml del extracto enzimático. Las cinéticas se llevaron a cabo en Microplacas TRP inmunomaxi y las lecturas de absorbancia en un lector de Microplacas TECAN, modelo SUNRISE, a una temperatura de 25°C. La actividad enzimática fué registrada mediante el cambio en absorbancia por minuto a partir de un valor establecido de longitud de onda para cada sustrato. La actividad fue expresada como unidades enzimáticas (UE)

por minuto por número de larvas en 20 µl del extracto, siendo equivalente 1 UE a un cambio de 0.001 en absorbancia. Los sustratos utilizados, así como el tipo de actividad que permiten detectar y el método de referencia se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Sustratos, tipo de enzima que detectan, condiciones del ensayo y método de referencia utilizado.

ENZIMA	SUSTRATO	BUFFER	Ao nm	MÉTODO
<b>Tripsina</b>	N-benzoil-arginina pNitroanilina (BAPNA) 2 mM	Tris 50 mM (pH 8.4) con CaCl <sub>2</sub> 20 mM	405	Erlanger (1961)
<b>Quimotripsina</b>	N-gutaril-fenilalanina pNitroanilina (GPNA) 2 mM	Tris 50 mM (pH 8.4) con CaCl <sub>2</sub> 20 mM	405	Lauff y Hofer (1984)
<b>Aminopeptidasa</b>	L-leucina pNitroanilina(LNA) 2 mM	Tris 0.1 mM (pH 8.4) con CaCl <sub>2</sub> 20µM	405	Lauff y Hofer (1984)

Para determinar las fosfatasa ácidas y alcalinas se utilizó 4-nitrofenil fosfato al 2% como sustrato de acuerdo al método descrito por Moyano *et al.*, (1996). El procedimiento para determinar este tipo de actividad consistió en incubar a 25°C, 0.02 ml del extracto con 0.2 ml de sustrato diluido en un buffer acetato de sodio-HCl 0.1 M (pH 4.8) para la detección de fosfatasa ácidas o en un buffer dietanolamina 1.0 M (pH 9.8) con MgCl<sub>2</sub> 50 mM para el caso de las fosfatasa alcalinas. Posteriormente, se agregaron 10 ml de NaOH 80.05 N para detener la reacción y se registró la absorbancia a 405 nm. La actividad se expresó de la misma forma que para las proteasas específicas.

Para la determinación de la actividad amilásica se utilizó como sustrato almidón al 1 % de acuerdo a la técnica de Bernfeld (1955). Se formó una mezcla con 0.1 ml del extracto enzimático y 0.4 ml de Buffer Tris-HCl 50 mM (pH 7.5) con 6 mM de NaCl. A la mezcla se le agregaron 0.5 ml del sustrato y se dejó incubando durante 30 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se le adicionaron 1.5 ml de reactivo DNS para detener la reacción, después se colocó la mezcla a baño maría durante 15 minutos para después tomar una lectura de la absorbancia a 540 nm.

La actividad de tipo Lipasas se determinó utilizando p-nitrofenil acetato 2 mM como sustrato (Munilla y Starck, 1990). La mezcla consistió en 0.2 ml de sustrato en buffer Tris-HCl 50 mM (pH 7.1) con 0.02 ml de extracto enzimático incubado. La actividad se registró por el incremento en la absorbancia a 405 nm. La actividad fue expresada de la misma forma que para proteasas específicas.

### **Resultados.**

En los extractos enzimáticos, se observaron variaciones en la cantidad de proteína durante el desarrollo de las larvas y entre los tratamientos utilizados. Los extractos enzimáticos se obtuvieron principalmente del tracto digestivo de las larvas. Excepto en los extractos de 4 y 6 días después de la eclosión (DDE) del grupo de larvas alimentadas y del grupo de larvas en inanición. También en los extractos de 13 y 14 DDE del grupo de larvas que fue mantenida en inanición. Obteniéndose el extracto en este caso de larvas completas debido a la dificultad para realizar la disección (Tabla 4).

Tabla 4. Concentración promedio de proteína en extractos enzimáticos de larvas alimentadas (AV) y de larvas en inanición (I) durante su desarrollo.

Tratamiento AV		Tratamiento I	
DDE	Proteína mg/ml	DDE	Proteína mg/ml
4	0.361 ± 0.013	4	0.361 ± 0.013
I-6	0.628 ± 0.005	IV-6	0.548 ± 0.044
I-8	0.684 ± 0.034	IV-8	0.704 ± 0.044
I-10	0.346 ± 0.033	IV-10	0.228 ± 0.041
I-12	0.000 ± 0.000	IV-12	0.337 ± 0.01
I-13	0.656 ± 0.056	IV-13	0.022 ± 0.003
I-14	0.364 ± 0.027	IV-14	0.574 ± 0.018
I-19	0.287 ± 0.018		
I-29	0.079 ± 0.012		
I-34	0.206 ± 0.017		

*Proteasas alcalinas.*

Mediante la técnica SDS-Sustrato-PAGE, se comprobó la presencia de proteasas alcalinas durante el desarrollo de las larvas de pejelagarto. Se observó al inicio la presencia de una primera banda de aproximadamente 25,000 Dalton a los 6 DDE, iniciada la alimentación exógena.

Posteriormente, a los 13 DDE, momento en que concluye la alimentación mixta, se observó la presencia de dos bandas adicionales de aproximadamente 37,000 y 44,000 Dalton respectivamente. Durante la etapa de alimentación exógena (19 DDE), se observaron dos nuevas bandas de aproximadamente 28000 y 53000 Dalton cada una y finalmente a los 34 DDE se observó una banda adicional de actividad de aproximadamente 55000 dalton de peso molecular (Figura 4). Considerando que las larvas en inanición fueron retiradas del experimento a los 15 DDE, únicamente se consideró el patrón de bandas obtenido de los extractos enzimáticos de las larvas alimentadas para realizar la descripción anterior.

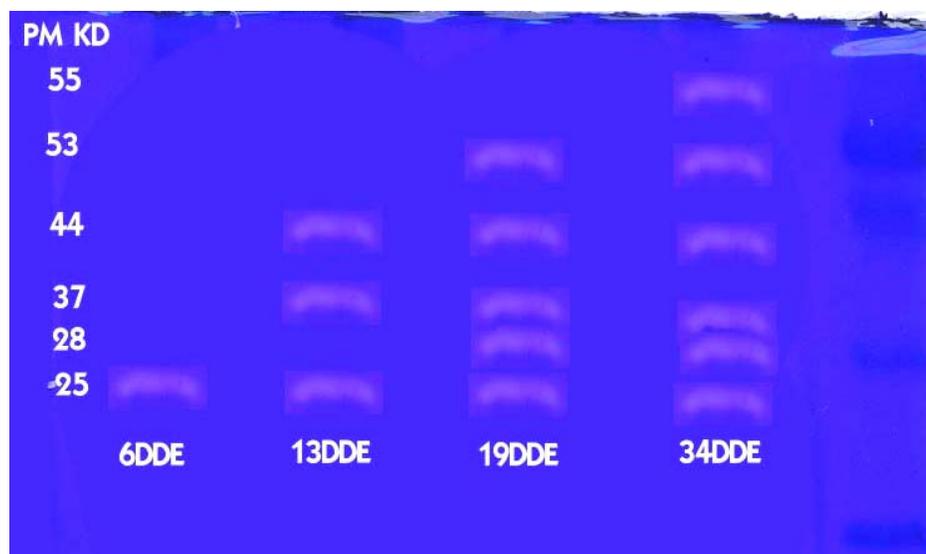


Figura 4.- Proteínas con actividad proteolítica alcalina en larvas de pejelagarto

### *Proteasas ácidas.*

Mediante la técnica Sustrato-PAGE se observó una banda de actividad proteolítica ácida, la cual se presentó en los 4 y 6 DDE, es decir coincidiendo con el inicio de la alimentación exógena. Esta actividad se observó en las larvas alimentadas y en las larvas mantenidas en inanición.

### *Caracterización de las proteasas.*

Para las pruebas de inhibición se utilizó el extracto de 34 DDE por presentar un patrón de bandas claramente definido para todas las enzimas encontradas. Las seis bandas de actividad proteolítica alcalina fueron inhibidas con al menos uno de los reactivos utilizados. Así, se determinó que el PMSF que inhibe enzimas de tipo serina proteasa, produjo una inhibición total de las 4 bandas de mayor peso molecular. El TLCK, un inhibidor de enzimas de tipo tripsina, produjo una inhibición de las bandas de 28, 44 y 53 KDa, mientras que la banda de 54 KDa fue parcialmente inhibida por este compuesto. El TPCK, un compuesto que inhibe enzimas de tipo quimotripsina, logró inhibir completamente la banda de 25 KDa y parcialmente la de 54 KDa. Por su parte el EDTA, compuesto quelante que inhibe principalmente metaloproteasas, actuó principalmente sobre las bandas de 53 y 54 KDa (Fig. 5).

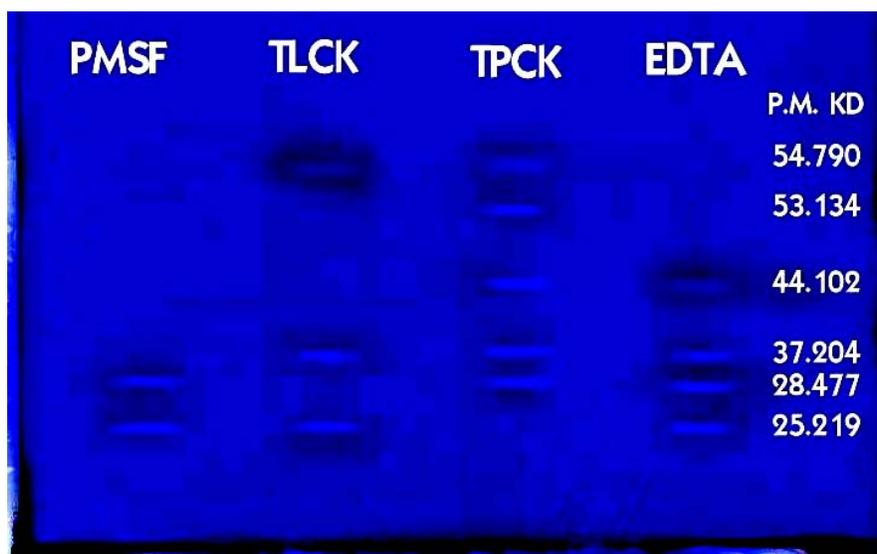


Figura 5. Pruebas de inhibición enzimática realizadas sobre extractos de larvas de pejelagarto alimentadas durante 34 días después de la eclosión.

Para caracterizar la actividad proteolítica ácida se utilizó pepstantina, compuesto inhibidor de proteasas aspárticas, se observó una inhibición total de la banda que se encontró en los geles para proteasas ácidas.

### *Actividad enzimática en la ontogénesis.*

Comparando los extractos enzimáticos de las larvas alimentadas con nauplios de Artemia (AV) con las larvas mantenidas en inanición (I) se obtuvo un perfil de los cambios en la actividad de las principales enzimas digestivas durante el desarrollo larvario del pejelagarto.

Se observó que las principales enzimas digestivas estuvieron presentes desde temprana edad de la larva, expresadas a niveles bajos de actividad. Al inicio del nado activo y durante la fase de alimentación mixta la actividad enzimática aumentó considerablemente, para después disminuir

drástica en los primeros días de la fase de alimentación exógena. Se determinó un pico de actividad a los 8 DDE.

A partir de los 14 DDE las larvas alimentadas presentaron fluctuaciones en la actividad enzimática de las proteasas ácidas, las proteasas alcalinas totales y en las enzimas de tipo aminopeptidasa, observándose un incremento después del día 29 DDE. La actividad enzimática de tipo tripsina, quimotripsina, fosfatasa ácida y alcalina y lipasa se mantuvieron constantes a niveles basales durante el resto del experimento.

#### *Actividad proteolítica total.*

La actividad de proteasas ácidas y alcalinas se presentó desde el inicio de la alimentación exógena en las larvas que fueron alimentadas y en las larvas mantenidas en inanición. Lo anterior indica que las larvas de pejelagarto de 5 DDE cuentan con un tracto digestivo funcional. Se observaron importantes diferencias en el nivel de los dos tipos de actividad, las proteasas ácidas presentaron valores casi 10 veces mayores que las proteasas alcalinas (Fig. 6).

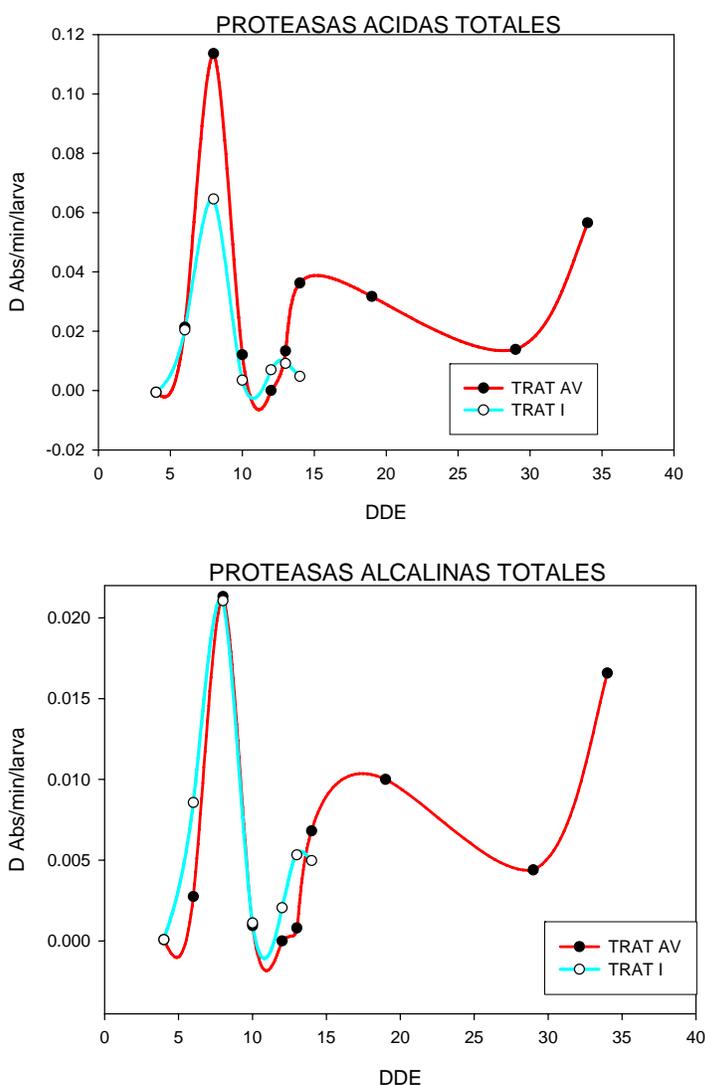


Figura 6. Actividad proteolítica en larvas de pejelagarto.

#### *Actividad Proteolítica Específica*

La actividad de las proteasas alcalinas estuvo presente mediante las actividades de tipo tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa. Los tres tipos de actividad se expresaron desde la fase de alimentación endógena de las larvas. La actividad de tipo aminopeptidasas presentó fluctuaciones de los 14 a los 34 DDE. Las actividades de tipo tripsina y quimotripsina permanecieron estables durante esta etapa. Pero, todas presentaron un nivel sostenido de actividad a los 34 DDE similar al observado al inicio de la alimentación exógena.

Se observaron variaciones en el nivel de actividad tipo tripsina en las larvas mantenidas en inanición a los 8 DDE. También se determinó esta variación en la actividad de tipo aminopeptidasa a los 6 y 8 DDE. La actividad de tipo tripsina presentó niveles de actividad del doble que la actividad de tipo quimotripsina y aminopeptidasa (Fig. 7).

#### *Fosfatasa ácida y alcalinas.*

La actividad de fosfatasa ácida y alcalina se registró desde los 4 DDE, mostrando un comportamiento similar al descrito anteriormente para los otros tipos de actividad enzimática. Solo al final del experimento las fosfatasa ácida presentaron un ligero aumento. El nivel de actividad registrado para las fosfatasa alcalina fue 5 veces mayor que el alcanzado por las enzimas de tipo fosfatasa ácida (Fig. 8).

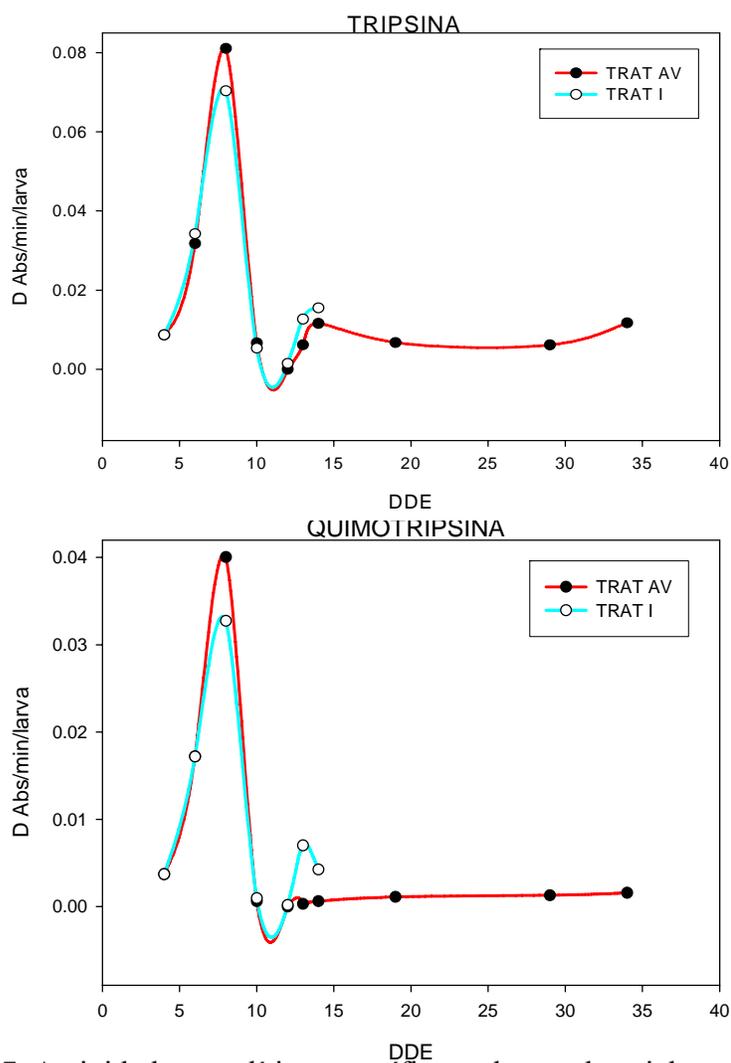
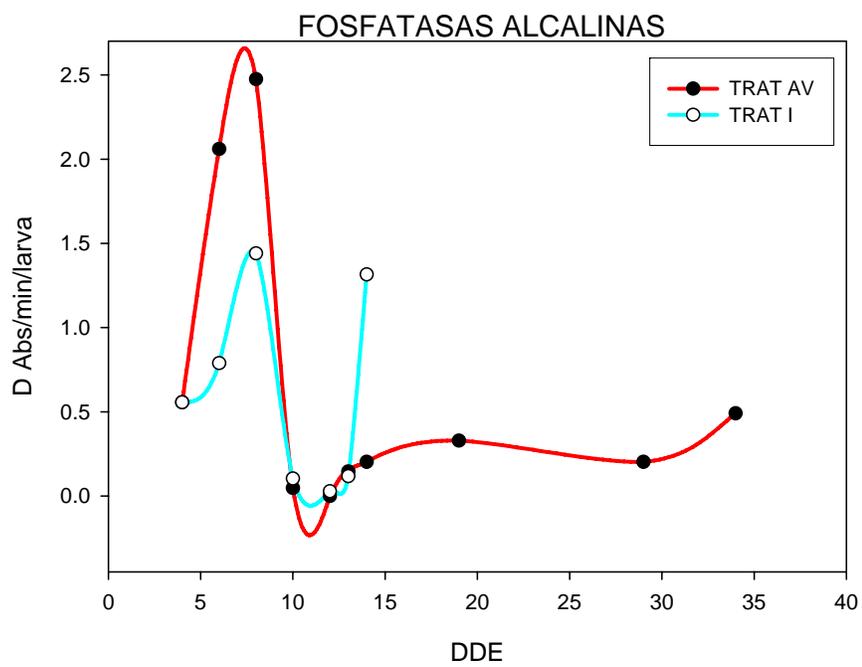
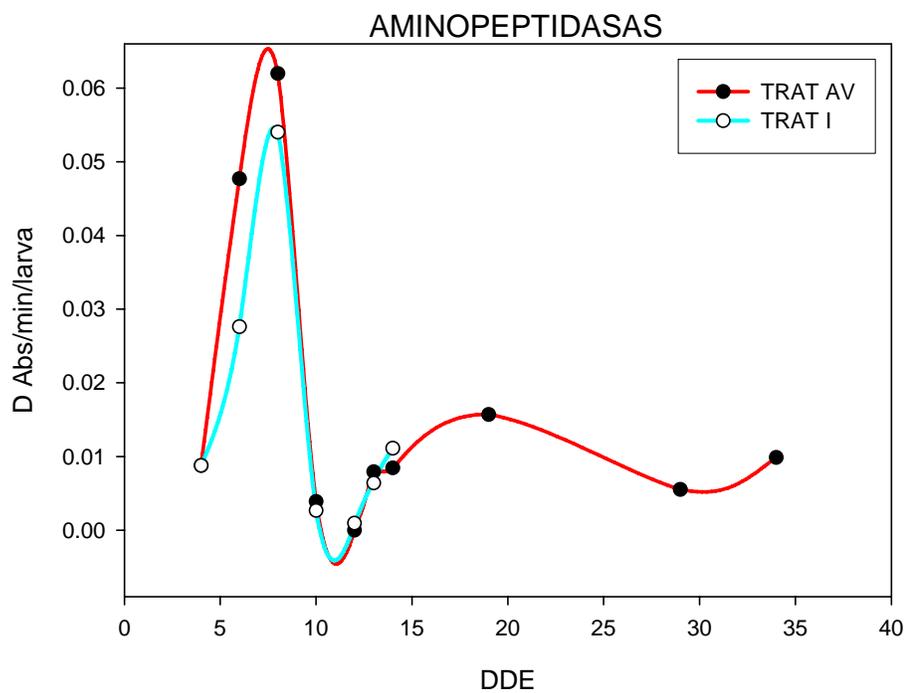


Figura 7. Actividad proteolítica específica en larvas de pejelagarto.



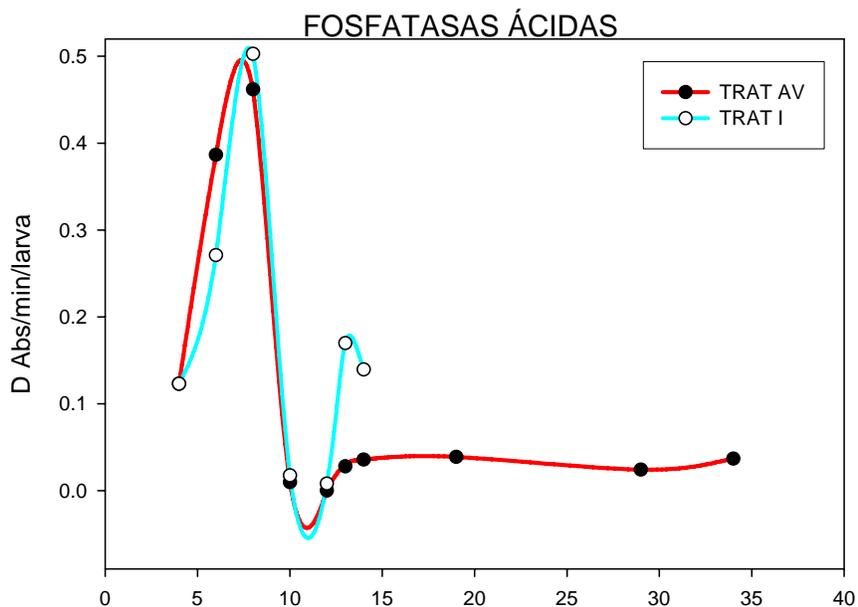


Figura 8. Actividad de las fosfatasa<sup>s</sup> ácidas y alcalinas en larvas de pejelagarto.

#### *Lipasas (Esterasas).*

La actividad de las lipasas se registró a los 4 DDE antes del inicio de la alimentación exógena. Los niveles de actividad fueron relativamente altos en comparación con las demás enzimas estudiadas y presentaron el mismo comportamiento descrito para los primeros 14 DDE. En los últimos días del experimento no se observaron fluctuaciones en esta actividad enzimática (Fig. 9).

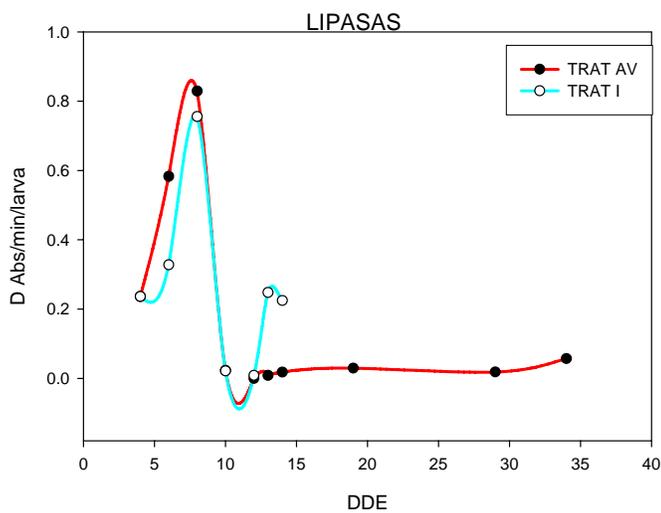


Figura 9. Actividad de lipasas no específicas en larvas de pejelagarto.

### 1.3. Estudios en la alimentación de de larvas.

#### *Punto crítico de no retorno en larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.*

#### *Materiales y Métodos.*

El diseño experimental estuvo constituido por 14 tratamientos, considerando que la supervivencia de las larvas en inanición se mantuvieron alrededor de 13 días; cada tratamiento fue triplicado y las unidades experimentales fueron sembradas con 10 larvas por litro con un volumen de cultivo 5 litros (n =50) (Tabla 5). Para determinar el inicio de la alimentación se consideró la formación de un lote de 100 larvas en una tina de fibra de vidrio con 50 litros de agua, donde regularmente les fueron suministrado nauplios de *Artemia*. Para este propósito se realizaron observaciones directas cada hora y se colectaron 10 larvas, se considero a este como la hora cero (HO) o de inicio de la alimentación, momento en el que se inició el experimento.

Tabla 5. Diseño experimental para la determinación de los horarios de alimentación.

Tratamientos	Hora de inicio de la alimentación
1	Control en inanición
2	0 Control Hora cero
3	24 Hrs
4	48 Hrs
5	72 Hrs
6	96 Hrs
7	120 Hrs
8	144 Hrs
9	168 Hrs
10	192 Hrs
11	216 Hrs
12	240 Hrs
13	264 Hrs
14	288 Hrs

#### *Resultados.*

Al final del experimento las larvas que no estuvieron en inanición (HO tratamiento control) presentaron 40.05 mm de longitud total y un peso de 138.1 mg. La sobrevivencia de este tratamiento fue la más alta con un 60.6%, este valor se consideró como el 100% o valor patrón para propósitos de las comparaciones con el resto de los tratamientos.

Las larvas con 24 horas de inanición presentaron 39.41 mm de longitud total y 223.2 mg de peso, la sobrevivencia fue del 94.55%, estos valores fueron similares al tratamiento control ( $P > 0.05$ ).

Para las larvas de 48 horas de inanición, el crecimiento (38.2 mm de longitud total y 216.8 mg de peso) no fue significativo respecto al control y la sobrevivencia (70.29%) se comporto de igual manera ( $P < 0.05$ ).

Las larvas que estuvieron en inanición durante 72 horas alcanzaron 40.23 mm de longitud total y 242.7 mg de peso, no encontrándose diferencias con el control aunque la sobrevivencia fue ligeramente menor (69.3%).

Las larvas expuestas a 96 horas de inanición, alcanzaron una longitud total de 34.69 mm, un peso de 201 mg y la sobrevivencia estuvo en 59.4% con respecto al control. Los valores de peso y sobrevivencia no difieren estadísticamente con el de 48 horas, pero sí el valor de la longitud total.

Aquellas larvas que estuvieron en 120 horas de inanición presentaron una longitud total de 34.28 mm y un peso de 161.4 mg. Los valores de talla y peso de este tratamiento y los posteriores

difieren estadísticamente con el control. La sobrevivencia (60.3%) no fue diferente del tratamiento control ( $P < 0.05$ ).

Las larvas que estuvieron a 144 y 168 horas de inanición presentaron los valores más bajos de los parámetros biológicos (31.2 y 28.71 mm de longitud total, el peso de 138 y 113.6 mg respectivamente) al igual que la sobrevivencia (33 y 28.54 %).

A las 24 horas siguientes se dio por terminado el experimento porque se observó una mortalidad mayor al 90% en los tratamientos restantes.

Los valores más altos de ganancia de peso ( $P > 0.05$ ) y de la tasa de crecimiento instantáneo se presentaron en el tratamiento control y en los que recibieron alimento entre la 0 y 72 horas.

El punto crítico de no retorno se presentó entre las 96 y 120 horas de inanición.

### **Fases de alimentación de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.**

#### **Materiales y Métodos.**

Para determinar el tiempo en que ocurren las diferentes fases de alimentación en las larvas del pejelagarto, fueron recolectados 1000 embriones y colocados en una tina de fibra de vidrio con aireación constante. Una vez que eclosionaron, se colectaron 10 larvas cada 8 horas para la revisión morfológica de los ejemplares, con ayuda de un microscopio estereoscópico se determinaron las principales características externas, así como el proceso de diferenciación del hocico y el momento en que abre para dar inicio a la alimentación externa (micro crustáceos: Cladóceros y Copépodos). El muestreo finalizó 48 horas después de haber iniciado la alimentación externa. Todas las larvas se preservaron en formol al 10% neutralizado con borato de sodio.

Con ayuda de un microscopio estereoscópico, se realizó la revisión del contenido de vitelo, el desarrollo del aparato digestivo y el contenido estomacal de las larvas, se consideraron los siguientes parámetros morfométricos: longitud total, longitud estándar, longitud del área que ocupa el vitelo y el intestino, altura máxima de la masa de vitelo, longitud del estómago y del intestino (Rana, 1985; Millares *et al.*, 1988). Para determinar el volumen del vitelo de las larvas recién eclosionadas hasta que inició la fase de alimentación exógena, se empleó la fórmula propuesta por Blaxter y Hempel (1963).

$$V = (3.1416/6) / L / H^2$$

Donde L es la longitud de la masa de vitelo y H es la altura de la masa de vitelo.

#### **Resultados.**

En base al análisis del contenido estomacal de las larvas de pejelagarto y de los criterios establecidos por Rana (1985) y Millares *et al.*, (1988) se determinaron las fases de alimentación.

La fase de alimentación endógena concluye cuando el 50% de las larvas presentaron contenido estomacal, iniciando la fase de alimentación mixta (endógena-exógena). La fase de alimentación mixta terminó cuando el 50% o menos de las larvas no presentaron restos apreciables de vitelo, además de que un porcentaje cercano al 100% presentan contenido estomacal, momento en el cual se inicia la fase de alimentación exógena.

La fase de alimentación mixta de las larvas de pejelagarto inició entre las 120 y 128 horas posteclosión; la longitud fue de 16.05 mm, el vitelo presentó un volumen de 4.66 mm<sup>3</sup>, el estómago midió 2.98 mm y el intestino 3.95 mm. En este momento el 60% de las larvas presentó una forma alargada y la cabeza era más plana, el disco adhesivo estuvo presente pero no fue funcional y comenzó a degenerar. Las aletas iniciaron su diferenciación, el urostilo se

observó más prominente. La vejiga natatoria presentó un aspecto esponjoso y al final del estomago se observó el inicio del intestino, además un tipo de tejido que posiblemente corresponda a los ciegos pilóricos.

**Evaluación del uso de cladóceros y nauplios de artemia en la alimentación de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.**

**Materiales y Métodos.**

Se realizó un diseño completamente aleatorizado, fueron 5 tratamientos con 3 replicas cada uno. En cada unidad experimental se sembraron 50 larvas de pejelagartos, la duración del experimento fue de 10 días (Tabla 6).

Tabla 6. Diseño experimental para la determinación de los tipos de alimento para larvas de pejelagarto.

Tratamiento	Tipo de alimento
1	Pulga de agua (100 % Cladóceros)
2	Nauplios de Artemia (100 %)
3	Combinado 1 (Pulga 80 %) Artemia (20 %)
4	Combinado 2 (Pulgas 50 %) (Artemia 80 %)
5	Combinado 3 (Pulgas 20 %) (Artemia 80 %)

Se utilizaron tanques de 19 litros de capacidad, el volumen del cultivo fue de 10 litros, con un recambio diario del 50 % a partir del segundo día de alimentación. Las heces y los restos de alimento fueron eliminados diariamente. Se implementaron cultivos de pulga de agua (cladóceros) en tinas de fibra de vidrio con una capacidad de 400 litros y para la obtención de los nauplios recién eclosionados de artemia, se realizó la incubación de quistes en garrafones de 20 litros. Para la alimentación de las larvas de pejelagartos se determinó el número de nauplios o pulgas por mililitros y fueron suministradas tres porciones al día.

**Resultados.**

Las larvas que se alimentaron exclusivamente con nauplios de *Artemia* fueron las que alcanzaron una mayor talla, seguidas por aquellas que tuvieron como alimento un 80 % y un 20 % de nauplios de *Artemia* en la dieta.

Al comparar el crecimiento en peso de las larvas en los distintos tratamientos, encontramos una respuesta similar, las larvas con mejores pesos fueron aquellas que se alimentaron con 100, 80 y 20% de *Artemia* (Tabla 7).

Tabla 7. Comparación del crecimiento y supervivencia de las larvas de pejelagarto alimentadas con diferentes presas.

Tratamiento	Crecimiento		Supervivencia ( % )
	Peso(g)	Talla (mm)	
Pulga de agua (100 % Cladóceros)	26.1 <sup>a</sup>	0.067 <sup>a</sup>	85
Nauplios de Artemia (100 %)	30.7 <sup>d</sup>	0.129 <sup>c</sup>	93
Combinado 1 (Pulga 80 %) Artemia (20 %)	29.1 <sup>c</sup>	0.120 <sup>c</sup>	89
Combinado 2 (Pulgas 50 %) (Artemia 50 %)	28.5 <sup>b</sup>	0.101 <sup>b</sup>	96
Combinado 3 (Pulgas 20 %) (Artemia 80 %)	29.7 <sup>cd</sup>	0.125 <sup>c</sup>	90

Letras iguales no presentan diferencias significativas

Al finalizar el experimento la supervivencia general fue de un 86.5 %, valor que se puede considerar como satisfactorio al igual que el esquema de alimentación utilizado y el manejo al que fueron sometidas las larvas durante su cultivo.

La ganancia en peso vario de 0.10 a 0.15 gramos/día y el incremento de talla fue de 0.81 a 0.85 mm/día. La supervivencia fue alta en todos los tratamientos, no se observaron casos de canibalismo o agresiones y los ejemplares muertos estuvieron asociados al manejo de los tanques de cultivo.

### **Frecuencia de alimentación en la larvicultura del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Materiales y Métodos.**

Se colectaron 1500 huevos, los cuales se depositaron para su incubación en una tina de fibra de vidrio de 1 x 1 x 0.5 metros, con agua limpia y aireada. Las larvas recibieron la primera alimentación a las 96 horas posteriores a la eclosión, momento en que inició la alimentación mixta de las larvas y señaló el comienzo del experimento.

El diseño experimental fue completamente al azar con 6 tratamientos y 3 replicas en cada tratamiento. Se utilizaron 5 larvas por litro y el volumen del cultivo fue de 5 litros. Diariamente se realizo un recambio del 50 % para mantener la calidad del agua, de la misma manera se retiraron los restos de alimentos y heces fecales (Tabla 8).

Tabla 8. Diseño experimental para la determinación de la frecuencia de alimentación.

<b>Tratamiento</b>	<b>Frecuencia de alimentación</b>
1	1 vez al día
2	2 veces al día
3	3 veces al día
4	4 veces al día
5	5 veces al día
6	6 veces al día

Al inicio del experimento se realizó una biometría a un total de 30 peces seleccionados al azar, considerándose los valores de longitud total, longitud patrón y peso. Se utilizó un vernier con 0.1 mm de precisión y una balanza analítica. Al finalizar el experimento los peces fueron medidos y pesados nuevamente.

El experimento terminó en el momento en que el 100 % de las larvas presentaron los primeros radios de las aletas pélvicas, las cuales son las ultimas en aparecer. Todos los ejemplares se alimentaron con el mismo esquema de alimentación, siendo Artemia el alimento fundamental para la cría de larvas, la única variable fue la frecuencia en que se suministraron los alimentos.

#### **Resultados.**

Los resultados indican que la frecuencia de alimentación no influyó en el desarrollo de las estructuras de las larvas, ya que las que fueron alimentadas 1 hasta 6 veces al día presentan los radios en las aletas pélvicas. Con respecto a los datos obtenidos para el crecimiento en este experimento se muestran como las larvas presentan una ligera tendencia a incrementar peso a partir de aquellas que recibieron 3,4,5 y 6 veces más frecuencias de alimentaciones al día, encontrándose un incremento en peso casi similar.

En el tratamiento 3 se aprecia la separación del crecimiento en peso entre todos los tratamientos. Los tratamientos 5 y 6 presentaron los mejores crecimientos en peso, siendo diferentes estadísticamente de los tratamientos 1 y 2. Al finalizar el experimento se observó que no existe

diferencias significativas entre las larvas alimentadas en 3, 4, 5 y 6 veces al día (Fig. 10, Tabla 9).

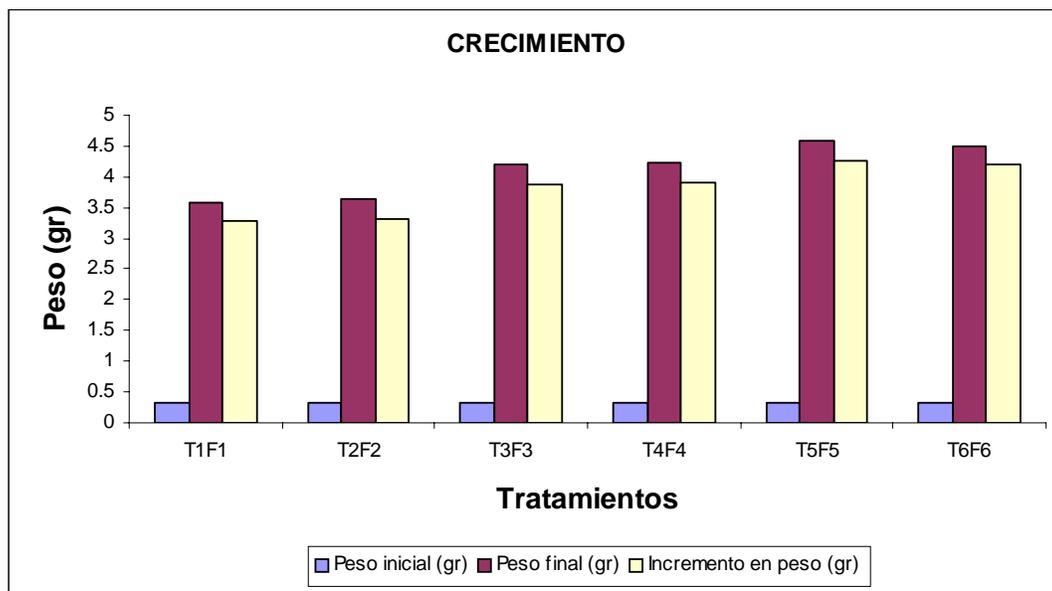


Figura 10. Comparación del crecimiento e incremento en talla de las larvas alimentadas a los diferentes tiempos.

Tabla 9. Indices de crecimiento y ganancia en peso de las larvas de pejelagarto a las diferentes frecuencias de alimentación.

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Incremento en peso (g)	Ganancia en peso (g)	Peso ganado individual
T1F1	0.32	3.59	3.27	0.11	0.009
T2F2	0.32	3.64	3.32	0.11	0.009
T3F3	0.32	4.21	3.89	0.13	0.01
T4F4	0.32	4.22	3.90	0.13	0.01
T5F5	0.32	4.59	4.27	0.14	0.01
T6F6	0.32	4.51	4.19	0.14	0.01

T = Tratamientos F = Frecuencias de alimentación

En la tabla se observa el incremento en peso (g), la ganancia en peso (g) y el peso ganado individual (g) de las larvas alimentadas a diferentes frecuencias de alimentación. La ganancia en peso aparentemente incrementó cuando se aumenta la frecuencia de alimentación. (Fig. 11)

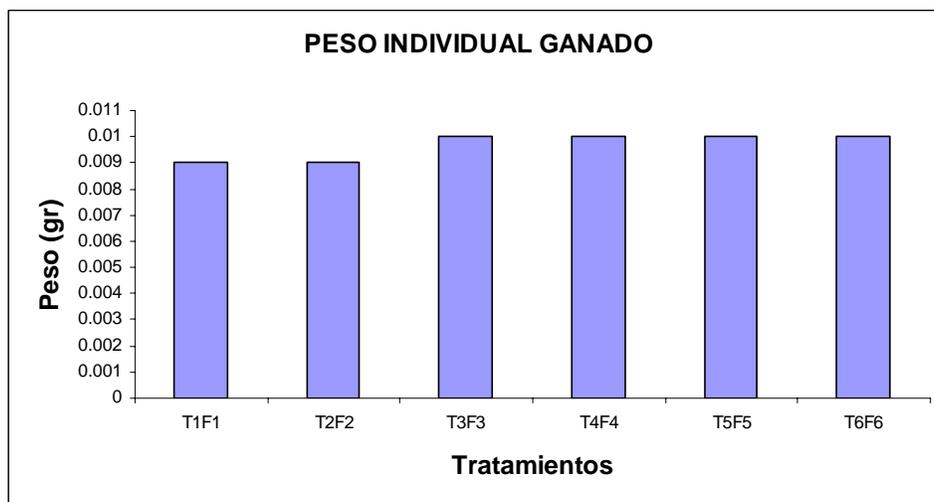


Figura 11. Incremento en peso (g), la ganancia en peso (g) y el peso ganado individual (g) de las larvas alimentadas a diferentes frecuencias de alimentación

Los resultados obtenidos del crecimiento en talla (mm) muestran como las larvas que recibieron 5 y 6 frecuencias de alimentación al día presentaron un mejor crecimiento en comparación con aquellas que se alimentaron con 1 y 2 frecuencias de alimentación al día respectivamente.

En la Figura 10 podemos observar que a partir del tratamiento 3 (tres frecuencias de alimentación) se aprecia la separación del crecimiento entre los tratamientos. Los tratamientos 5 y 6 (frecuencias) presentaron los mejores crecimientos, siendo diferentes de las larvas alimentadas con 1 y 2 frecuencias de alimentación.

Al terminó del experimento se aprecia que existe una tendencia del crecimiento en talla al aumentar la frecuencia de alimentación, por lo tanto el mejor crecimiento se obtuvo en el tratamiento 6 (frecuencias de alimentación).

A la conclusión del experimento se obtuvo un porcentaje de supervivencia mayor al 92 % en todos los tratamientos y que la mortalidad registrada fue debido al manejo (1.1 %), agresión (0.48 %) y por muerte natural (3.1 %). No hubo diferencia significativa entre replicas ( $P > 0.05$ ). La prueba de Chi cuadrada indica que no existen diferencias estadísticas significativas en la supervivencia de las larvas de todos los tratamientos.

Por lo tanto los resultados del presente trabajo nos muestran que la supervivencia de las larvas del pejelagarto *A. tropicus* no fue afectada significativamente por las diferentes frecuencias de alimentación.

### **Efecto del horario de alimentación en el crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.**

#### **Materiales y Métodos.**

Se realizaron 3 ensayos, en cada uno de ellos se evaluaron distintos horarios de alimentación, iniciando el suministro de alimento a las 08 horas y concluyendo a las 04 horas de la mañana del día siguiente, cubriendo las 24 horas del día a intervalos de tiempo iguales, cubriendo 3 horarios específicos: matutino vespertino y nocturno.

En el primer ensayo se evaluó la respuesta en crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto al suministrar el alimento en un determinado horario del día (Tabla 10).

Tabla 10. Diseño experimental para la alimentación en horario fijo de larvas de pejelagarto.

<b>Tratamientos</b>	<b>Horario de alimentación</b>	<b>Frecuencia (Veces/Día)</b>
1 Matutino	08 Hrs	1
2 Matutino	12 Hrs	1
3 Vespertino	16 Hrs	1
4 Vespertino	20 Hrs	1
5 Nocturno	24 Hrs	1
6 Nocturno	04 Hrs	1
7 Control	08-12-16-20-24-04 Hrs	6

En el segundo ensayo se evaluó el efecto de diferentes específicos sobre el crecimiento y la supervivencia de larvas (Tabla 11).

Tabla 11. Diseño experimental para la alimentación en horario específico de larvas de pejelagarto.

<b>Tratamientos</b>	<b>Horario de alimentación</b>	<b>Frecuencia (Veces/Día)</b>
1 Matutino-Matutino	08-12 Hrs	2
2 Vespertino-Vespertino	16-20 Hrs	2
3 Nocturno- Nocturno	24-04 Hrs	2
4 Control	08-12-16-20-24-04 Hrs	6

Finalmente en el tercer ensayo se evaluó la combinación de horarios en la alimentación de larvas de pejelagarto y su efecto en el crecimiento y la supervivencia (Tabla 12).

Tabla 12. Diseño experimental para la alimentación combinada a diferentes horarios para larvas de pejelagarto.

<b>Tratamientos</b>	<b>Horario de alimentación</b>
1 Matutino-Vespertino	08-12-16-20 Hrs
2 Matutino-Nocturno	08-12-24-04 Hrs
3 Vespertino-Nocturno	16-20-24-04 Hrs
4 Control	08-12-16-20-24-04 Hrs

El esquema de alimentación empleado fue el descrito por Hernández (1999). El manejo del cultivo de larvas y criterios de evaluación fueron similares a los empleados en los trabajos antes descritos.

## **Resultados.**

Las larvas de todos los experimentos recibieron el mismo tipo de alimento y la misma cantidad, fueron suministrado nauplios de artemia recién eclosionados durante 9 días y los siguientes 3 días recibieron artemias adultas vivas. Los resultados del primer experimento indican que las larvas alimentadas una sola vez en el horario de 00:00, 04:00 y 08:00 hrs fueron significativas más grandes que las larvas alimentadas en otros horarios, siendo las larvas del tratamiento control las de mayor tamaño. La sobrevivencia de los tratamientos vario de 80 al 93%.

En el experimento 2 las larvas alimentadas en el horario de la tarde y las alimentadas por la noche presentaron un mejor peso que las alimentadas por la mañana, en relación al crecimiento en talla no se observaron diferencias entre estos tres tratamientos pero si con respecto al tratamiento control, la sobrevivencia estuvo entre 83 y 93%.

Los resultados del experimento 3 señalan que las larvas alimentadas mediante la combinación de horarios presentan un crecimiento en talla y peso similar, no se observaron diferencias con respecto al tratamiento control. La sobrevivencia fue la mejor de los tres experimentos, variando del 92 al 100%. En los trabajos de cría de larvas se reportado que los alimentos vivos favorecen un buen crecimiento en peso y talla; además de influir en un mayor porcentaje de sobrevivencia.

### **Efecto de la densidad en el crecimiento y supervivencia en el cultivo de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.**

#### **Materiales y Métodos.**

El diseño experimental fue completamente aleatorizado, consistiendo de 7 tratamientos con 3 replicas cada uno. Se utilizaron tanques de plástico de 10 litros de capacidad y el volumen de cultivo se realizó en 5 litros de agua, cada tanque fue sembrado el día en que dio inicio la alimentación exógena (Tabla 13).

Tabla 13. Diseño experimental para la evaluación de la densidad de siembra para larvas de pejelagarto.

<b>Tratamientos</b>	<b>Densidad No. de ejemplares / L</b>
1	1
2	5
3	10
4	15
5	20
6	30
7	40

Las larvas fueron alimentadas 3 veces al día bajo un mismo esquema de alimentación, utilizando nauplios recién eclosionados y adultos. Los tratamientos recibieron un recambio de agua diario del 80% del volumen total. Las heces y los restos de alimento fueron eliminados por sifón.

#### **Resultados.**

Las larvas de pejelagarto cultivadas en distintas densidades obtuvieron valores de peso y talla muy similares entre si, sin existir diferencias significativas entre los grupos. La ganancia en peso vario de 0.014 a 0.015g /día y el crecimiento en talla fue de 1.84 a 1.91 mm/día. La sobrevivencia fue alta en todos los tratamientos (93%), la mortalidad en los experimento se debió al manejo a los que fueron sometidos durante los recambios de agua; y solo se presento un caso de canibalismo en uno de los tratamientos (Tabla 14).

Tabla 14. Crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto sembradas a diferentes densidades

Tratamientos	Talla (mm)	Peso (mg)	Supervivencia (%)
1 larva/litro	36.9	0.183	93.3
5 larva /litro	37.8	0.190	93.3
10 larva /litro	37.6	0.181	94.6
15 larva /litro	37.7	0.187	93.1
20 larva /litro	37.9	0.185	93.6
30 larva /litro	36.7	0.183	94.7
40 larva /litro	37.5	0.183	95.6

**Evaluación de la biomasa de artemia congelada la alimentación de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*.  
Materiales y Métodos.**

Las larvas de tres días post-eclosión fueron recolectadas y sembradas en un tanque de fibra de vidrio de 1 x 1 x 0.5 metros de largo, ancho y altura respectivamente. Con este grupo de larvas se realizaron dos ensayos.

*Ensayo 1. Uso directo de la biomasa de Artemia congelada en la primera alimentación de larvas de pejelagarto.*

Para este ensayo se utilizó un diseño experimental completamente aleatorizado, el cual consistió de 3 tratamientos con 4 réplicas. Se emplearon tanques de plástico de 10 litros de capacidad y el volumen del cultivo larvario se realizó con 5 litros de agua. En cada tanque fueron sembradas 80 larvas (16 larvas/L). El inicio del ensayo correspondió al cuarto día post eclosión (dpe) de las larvas, día 1 de la alimentación mixta (Hernández, 1999) y se dio por terminado el día 11, al observarse la presencia de los primeros radios de las aletas pectorales y caudal (Aguilera *et al.*, 2002).

Las larvas del tratamiento 1 fueron alimentadas con nauplios de *Artemia* vivos (N). Para el tratamiento 2 las larvas se alimentaron con biomasa de *Artemia* congelada (BAC) y para el tratamiento 3 las larvas se alimentaron con el 50% de la ración de N suministrada al tratamiento 1 y 50% de la ración de BAC suministrada al tratamiento 2 para así lograr una ración combinada a partes iguales de N y BAC que fue suministrada del día 1 al día 11 (Fig. 12).

TRATAMIENTOS	DIAS										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
N (control)	N	→									
BAC	BAC	→									
N/BAC	N/BAC	→									

Figura 12. Esquema de alimentación del experimento 1. **N**= Nauplios de *Artemia* vivos, **BAC**= Biomasa de *Artemia* congelada. **N/BAC**= 50% de nauplios de *Artemia* y 50% biomasa de *Artemia* congelada.

*Ensayo 2. Tiempo de adaptación de larvas de pejelagarto al consumo de biomasa de Artemia congelada.*

El diseño consistió de 6 tratamientos con 4 réplicas que fueron distribuidos al azar en 24 tanques de cultivo de 10 L de capacidad llenados a un nivel de 5 L de agua. Cada tanque fue sembrado

con 80 larvas. El experimento inició (primera alimentación de las larvas) al cuarto día post eclosión y tuvo una duración de 11 días, según los criterios aplicados en el experimento anterior. Las larvas del tratamiento 1 (N) fueron alimentadas con nauplios de *Artemia* vivos durante todo el experimento. La alimentación para el tratamiento 2 consistió en alimentarlos con N el primer día y a partir del día 2 con biomasa de *Artemia* congelada (1 BAC). Para el tratamiento 3 las larvas se alimentaron los 2 primeros días con N y posteriormente con BAC (2 BAC). Las larvas del tratamiento 4 se alimentaron los 3 primeros días con N y los días siguientes con BAC (3 BAC). Para el tratamiento 5 se suministraron N los 4 primeros días y posteriormente con BAC (4 BAC). En el tratamiento 6, las larvas se alimentaron los 5 primeros días con N y del día 6 en adelante con BAC (5 BAC) (Fig. 13).

TRATAMIENTOS	DIAS											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
N (control)	N											
1 BAC	N	BAC										
2 BAC	N	N	BAC									
3 BAC	N	N	N	BAC								
4 BAC	N	N	N	N	BAC							
5 BAC	N	N	N	N	N	BAC						

Figura 13.- Esquema de alimentación para el experimento 2. N= Nauplios de *Artemia* vivos, BAC= Biomasa de *Artemia* congelada. N= alimentación a base de nauplios. **1 BAC**= larvas alimentadas el primer día con nauplios seguido por 10 días de alimentación a base de biomasa de *Artemia* congelada. **2 BAC**= larvas alimentadas dos días con nauplios seguido por 9 días de alimentación a base de biomasa de *Artemia* congelada. **3 BAC**= larvas alimentadas tres días con nauplios seguido por 8 días de alimentación a base de biomasa de *Artemia* congelada. **4 BAC**= larvas alimentadas cuatro días con nauplios seguido por 7 días de alimentación a base de biomasa de *Artemia* congelada. **5 BAC**= larvas alimentadas cinco días con nauplios seguido por 6 días de alimentación a base de biomasa de *Artemia* congelada

Las larvas de ambos ensayos fueron alimentadas *ad libitum* con una frecuencia de 3 veces al día (08:00, 14:00 y 20:00 horas). Antes de cada alimentación se realizaron recambios totales por sifoneo para eliminar restos de alimentos no consumidos y heces fecales (Hernández, 1999; Zacarías, 2003, Ramón, 2003; Rivera y Márquez, 2004).

Para los recambios de agua se utilizó agua del suministro local reposada, la cual fue almacenada en un recipiente de fibra de vidrio de 0.5 X 0.5 X 1 m. El agua se mantuvo en recirculación a lo largo del día utilizando una bomba sumergible.

El agua del reservorio fue muestreada para determinar parámetros fisicoquímicos; oxígeno disuelto y temperatura, utilizando un oxímetro YSI modelo 54 y pH con un potenciómetro Orion cada tercer día, asimismo se tomaron datos de cada tratamiento.

Se realizaron muestreos al inicio y término de cada experimento, determinándose la longitud total con un vernier digital Marathon con una precisión de 0.1 mm y el peso mediante una balanza analítica Ohaus modelo AS200 con una precisión de 0.001 g. Las larvas se anestesiaron para su manejo con una solución de MS 222 (Metasulfonato de tricafina). Los datos de mortalidad se registraron diariamente, así como los datos de canibalismo. Las larvas caníbales se extrajeron de la unidad experimental para evitar que ese ejemplar agrediera otras larvas (Francis y Bengtson, 1999).

El crecimiento en peso y longitud total de ambos experimentos fueron analizados previamente en torno a la normalidad y homogeneidad de varianza, cumpliéndose estos postulados por lo que se aplicó un análisis de ANOVA de una vía. Las diferencias entre tratamientos se determinaron

por medio de una prueba de Tukey. En el caso de la supervivencia y canibalismo, éstas al no cumplir con la normalidad, fueron analizadas por medio de una prueba de Kruskal-Wallis. Para describir la tasa de crecimiento de las larvas se determinó la tasa de crecimiento específico (TCE) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{TCE} = 100 [ (\ln P_2 - \ln P_1) / t ]$$

En donde,  $P_1$  = peso inicial;  $P_2$  = peso final y  $t$  = tiempo (días) (Bureau *et al.*, 2002).

Debido a que no se observó normalidad en los datos se empleó para la comparación de los tratamientos la prueba de rangos múltiples de Kruskal-Wallis. En todos los casos se usó un nivel de significancia de 0.05. Las pruebas estadísticas fueron realizadas con el programa Statistica V. 6.0.

### Resultados.

Ensayo 1: Uso directo de la biomasa de *Artemia* congelada en la primera alimentación de larvas de pejelagarto.

El crecimiento en talla de las larvas alimentadas exclusivamente con nauplios de *Artemia* recién eclosionados (N) presentaron el mejor crecimiento en longitud total (38.6 mm), seguido las larvas fueron alimentadas con una combinación de biomasa de *Artemia* congelada y nauplios recién eclosionados (N/BAC) y presentaron una talla promedio de 38.5 mm, el menor valor se observó en las larvas que fueron alimentadas con biomasa de *Artemia* congelada (BAC) exclusivamente, con 37.6 mm longitud total. El análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas en el crecimiento en talla entre los tratamientos de este experimento ( $P = 0.340$ ) (Fig. 14, Tabla 15).

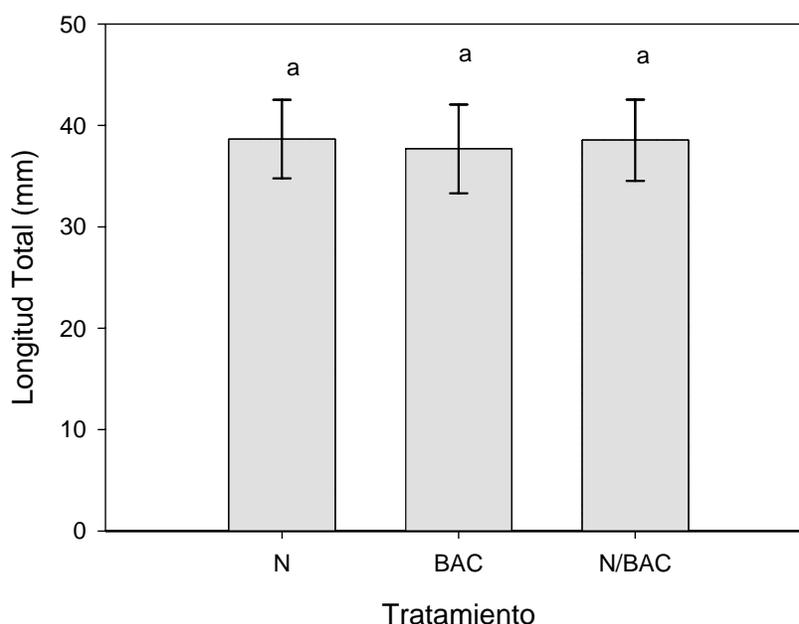


Figura 14.- Crecimiento larvas de *A. tropicus* alimentadas con N, BAC y N/BAC. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

En relación al peso, las larvas alimentadas con biomasa de *Artemia* congelada (BAC) presentaron un peso promedio de 0.173 gramos, siendo menor al de las larvas que fueron alimentadas con nauplios vivos (N) y la combinación de nauplios vivos y biomasa de *Artemia* congelada (N/BAC), con un peso de 0.193 g y 0.190 g. respectivamente (tabla 2), encontrándose que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos siendo el valor de  $P=0.054$  (Fig. 15).

Tabla 15.- Valores de media ( $\pm$  D.E.) para peso en experimento 1: *Uso directo de la biomasa de Artemia congelada en la primera alimentación de larvas de pejelagarto*

Tratamiento	Valor de media (g)
N	0.193411 ( $\pm$ 0.04) a
BAC	0.173714 ( $\pm$ 0.05) a
N/BAC	0.190141 ( $\pm$ 0.05) a

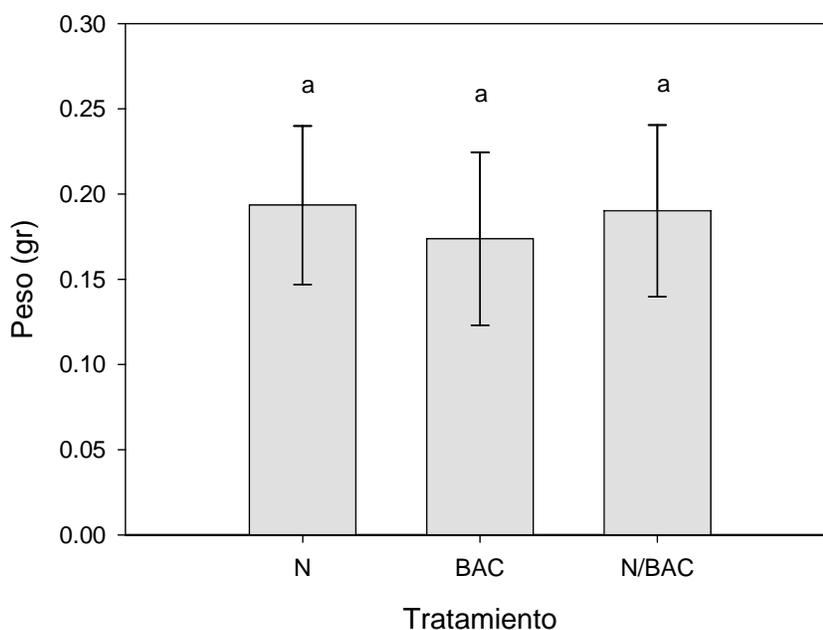


Figura 15.- Crecimiento en peso de las larvas de *A. tropicus*. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

La supervivencia fue mejor en el grupo de larvas alimentadas con la combinación de nauplios de *Artemia* y biomasa de *Artemia* congelada (N/BAC) obteniendo un 94%, seguido con el 86% por las larvas alimentadas con biomasa de artemia congelada (BAC) y con nauplios de artemia recién eclosionados (N). El análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas entre los tres tratamientos (Fig. 16).

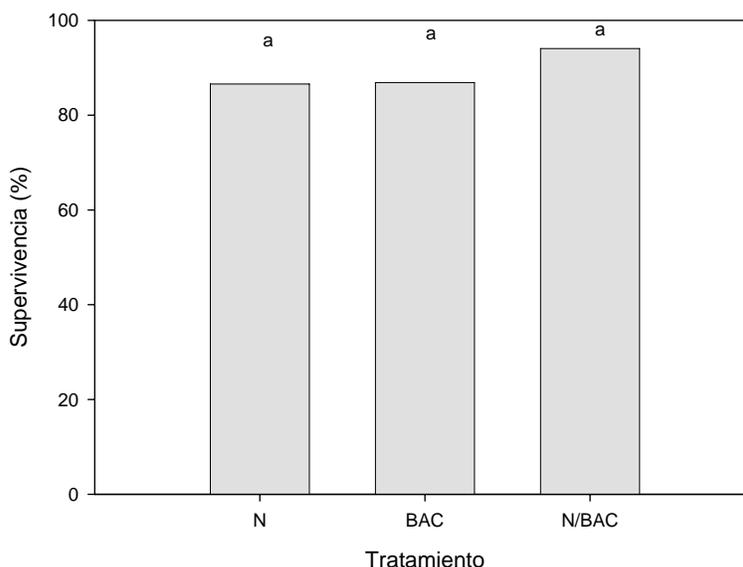


Figura 16.- Supervivencia a los 11 días del experimento 1 empleando nauplios y biomasa de *Artemia* congelada en primera alimentación de larvas de *A.tropicus*. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos.

En relación al canibalismo, se registraron casos aislados en todos los tratamientos, siendo la mayor frecuencia para el tratamiento BAC. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. El análisis estadístico determinó que no existen diferencias significativas entre la tasa de crecimiento específico (TCE) de los tres tratamientos (Tabla 16), las larvas presentaron una tasa de crecimiento similar al ser alimentadas con nauplios, biomasa de *Artemia* congelada o la mezcla de ambas.

Tabla 16. Porcentajes de supervivencia ( $\pm$  D.E.), canibalismo ( $\pm$  D.E.) y tasa de crecimiento específico (TCE % diario) para el experimento 1: *Uso directo de la biomasa de Artemia congelada en la primera alimentación de larvas de pejelagarto.*

Tratamiento	Supervivencia (%)	Canibalismo (%)	TCE (% diario)
<i>N</i>	86.56 ( $\pm$ 9.97) a	0.31 ( $\pm$ 0.62) a	15.32 a
<i>BAC</i>	86.87 ( $\pm$ 8.19) a	2.81 ( $\pm$ 3.28) a	14.35 a
<i>N/BAC</i>	94.06 ( $\pm$ 6.07) a	2.18 ( $\pm$ 1.57) a	15.19 a

Ensayo 2: Tiempo de adaptación de larvas de pejelagarto al consumo de biomasa de *Artemia* congelada.

Las larvas que tuvieron un mejor crecimiento en longitud total fueron las alimentadas desde el primer día con biomasa de artemia congelada (1 BAC), obteniendo un valor de media de 39.7 mm seguidas por aquellas que fueron alimentadas solo con nauplios de artemia recién eclosionados (N) con una talla promedio de 38.6 mm. Los demás grupos experimentales tuvieron un crecimiento ligeramente menor; 2 BAC con 37.4 mm; 4 BAC con 37.3mm; 3 BAC con 37.2 mm. El menor resultado se obtuvo con el tratamiento 5 BAC con 36.6 mm.

Se determinó que existieron diferencias significativas ( $P= 0.00$ ) entre los tratamientos (Tabla 17). El análisis indicó que las diferencias fueron entre los tratamientos N y 5 BAC, asimismo, el tratamiento 1 BAC es diferente a 2 BAC ,3 BAC, 4 BAC y 5 BAC. Observándose así una tendencia a que la talla aumenta al usar menos días los nauplios recién eclosionados, el cambio de una dieta a base de alimento vivo por una inerte como la biomasa de artemia congelada influye en al adaptación y consumo del nuevo tipo de alimento (Fig. 17).

Tabla 17.- Valor de media ( $\pm$  D.E.) para longitud total de los seis tratamientos del experimento 2: *Tiempo de adaptación de larvas de pejelagarto al consumo de la biomasa de Artemia congelada.*

Tratamiento	Valor de media (mm)
N	38.64 ( $\pm 3.87$ ) ab
1 BAC	39.73 ( $\pm 4.72$ ) a
2 BAC	37.45 ( $\pm 4.42$ ) bc
3 BAC	37.25 ( $\pm 4.0$ ) bc
4 BAC	37.33 ( $\pm 3.74$ ) bc
5 BAC	36.69 ( $\pm 4.24$ ) cd

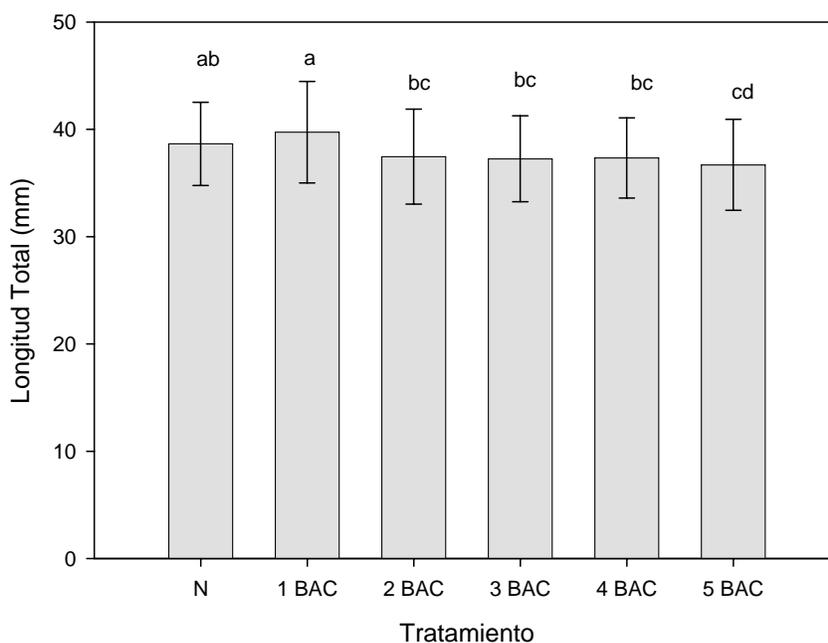


Figura 17. Crecimiento en talla para larvas de *A. tropicus* en el experimento 2. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos.

En relación al crecimiento en peso, el comportamiento es muy similar al anteriormente descrito para la longitud total, las larvas con mejor peso correspondieron a las alimentadas desde el primer día con la biomasa de artemia congelada (1 BAC), con un peso medio de 0.1968 gr., seguido por el grupo de larvas alimentadas con nauplios recién eclosionados (N) con 0.193 g, el menor peso se registro en las larvas que fueron alimentadas a partir del tercer día con la biomasa de artemia congelada (3 BAC) con un peso de 0.172 g. Los valores de media de todos los tratamientos se presentan en la tabla 5. Los resultados obtenidos en peso indicaron que existen

diferencias significativas entre tratamientos, siendo el valor de  $P= 0.01$ . El análisis estadístico indicó que las diferencias fueron entre los tratamientos N y 3 BAC, así como entre 1 BAC respecto a 3 BAC, 4 BAC y 5 BAC (Fig. 18, Tabla 18).

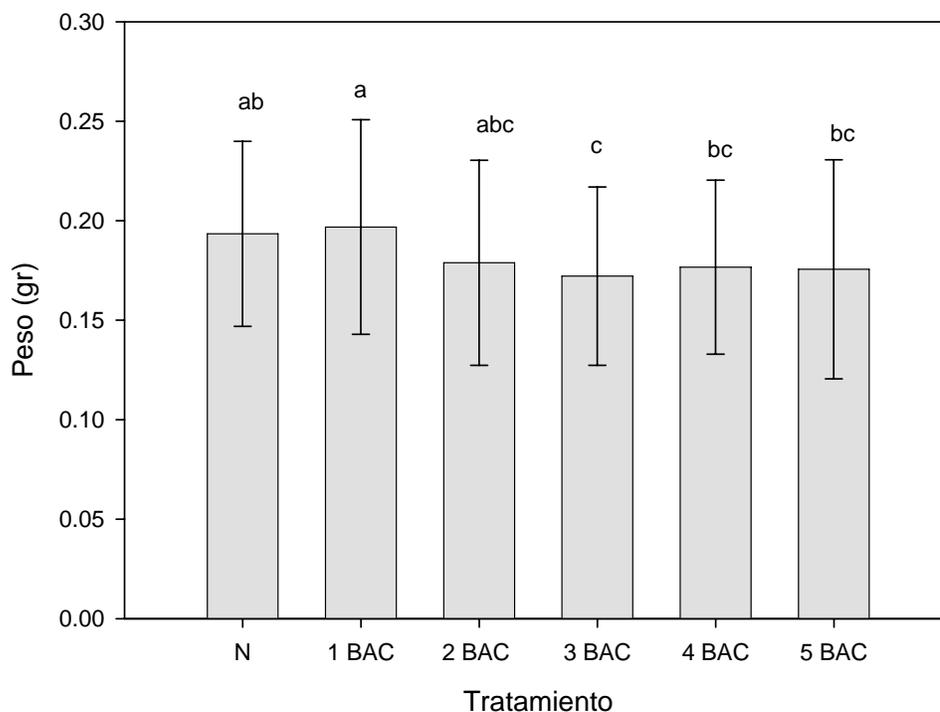


Figura 18. Crecimiento en peso para las larvas de *A. tropicus* del experimento 2. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos.

Tabla 18. Valor de media ( $\pm$  D.E.) para peso de los seis tratamientos del experimento 2: *Tiempo de adaptación de larvas de pejelagarto al consumo de la biomasa de Artemia congelada.*

Tratamiento	Valor de media (g)
N	0.1934 ( $\pm 0.046$ ) ab
1 BAC	0.1968 ( $\pm 0.053$ ) a
2 BAC	0.1788 ( $\pm 0.051$ ) abc
3 BAC	0.1721 ( $\pm 0.044$ ) c
4 BAC	0.1766 ( $\pm 0.043$ ) bc
5 BAC	0.1755 ( $\pm 0.055$ ) bc

En este experimento, el mayor porcentaje de supervivencia se obtuvo en los tratamientos 1 BAC y 2 BAC (90% y 92%, respectivamente). Sin embargo, el análisis estadístico determinó que no existieron diferencias significativas entre los porcentajes de supervivencia para los seis tratamientos (Fig. 19).

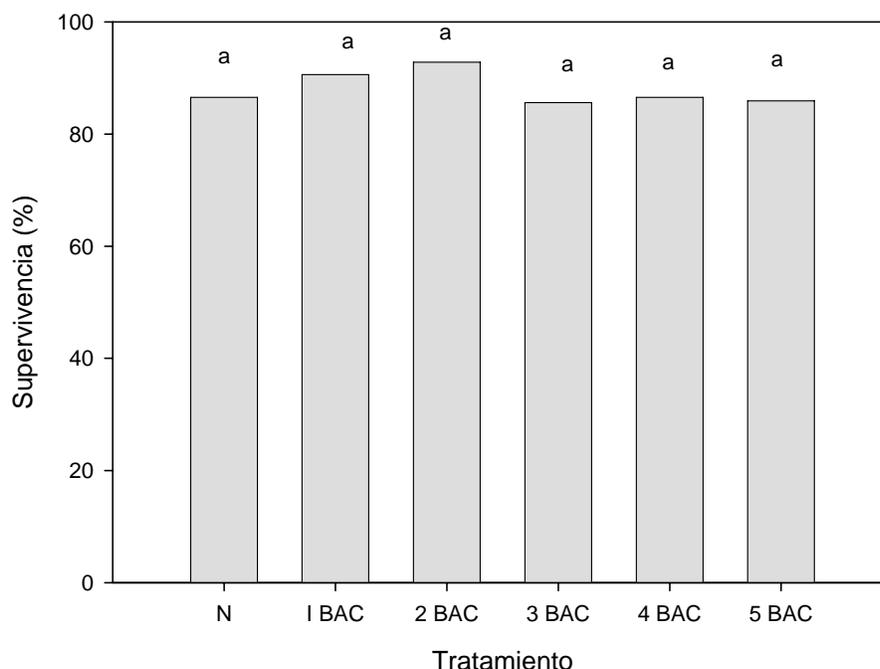


Figura 19. Supervivencia al final del experimento 2. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas.

El primer caso de canibalismo se presentó en el tratamiento 3 BAC el día 3 y otro caso el día 4 en el tratamiento 4 BAC. A partir del día 5 se incrementaron los casos en todos los tratamientos siendo los tratamientos con más frecuencia de canibalismo al final del experimento el 3 BAC, 4 BAC Y 5 BAC (Tabla 19). Sin embargo estos no fueron diferentes estadísticamente al ser comparados.

La TCE se representa en la tabla 19 mostrándose los porcentajes de crecimiento obtenidos para cada tratamiento los cuales no presentaron diferencias significativas entre sí.

Tabla 19.- Porcentajes de supervivencia ( $\pm$  D.E.), canibalismo ( $\pm$  D.E.) y tasa de crecimiento específico (TCE % diario) para las larvas de *A. tropicus* del Experimento 2

Tratamiento	Supervivencia (%)	Canibalismo (%)	TCE (%por día)
<b>N</b>	86.56 ( $\pm$ 9.37) a	0.31 ( $\pm$ 0.62) a	15.32 a
<b>1BAC</b>	90.62 ( $\pm$ 4.62) a	0.93 ( $\pm$ 1.19) a	15.48 a
<b>2 BAC</b>	92.81 ( $\pm$ 5.80) a	1.25 ( $\pm$ 1.02) a	14.64 a
<b>3 BAC</b>	85.62 ( $\pm$ 8.32) a	3.43 ( $\pm$ 1.57) a	14.29 a
<b>4 BAC</b>	86.56 ( $\pm$ 8.74) a	3.12 ( $\pm$ 1.61) a	14.25 a
<b>5 BAC</b>	85.9 ( $\pm$ 4.82) a	2.5 ( $\pm$ 1.02) a	14.54 a

En ambos experimentos la temperatura promedio del agua se mantuvo sobre los 27.7°C ( $\pm$ 1.5) Mientras que el pH registrado se observó estable en todas las unidades experimentales (7.4). En relación al oxígeno disuelto, la concentración se mantuvo en 2.6 mg/L ( $\pm$ 0.81) antes de llevar a cabo el cambio total de agua. El agua limpia que fue ingresada a los tanques mantuvo una

temperatura de 29.7°C, un pH similar (7.5) y mayor concentración de oxígeno disuelto 7mg/L ( $\pm$  0.17).

### **Adaptación de larvas de *Atractosteus tropicus* al consumo de alimento balanceado. Materiales y Métodos.**

Las larvas utilizadas en este estudio fueron colectadas tres días después de la eclosión y se colocaron en un tanque comunitario de 100 L para su distribución aleatoria en las unidades experimentales. El diseño experimental consistió de siete tratamientos, cada uno con tres réplicas.

Tratamiento 1 (AV). Alimentación con nauplio, biomasa viva y biomasa congelada de artemia durante 35 días.

Tratamiento 2 (AT0). Alimentación con dieta artificial desde la apertura de la boca.

Tratamiento 3 (AT6). Alimentación con dieta artificial a partir del día 6 después de la apertura de la boca.

Tratamiento 4 (AT11). Alimentación con dieta artificial a partir del día 11 después de la apertura de la boca.

Tratamiento 5 (AT16). Alimentación con dieta artificial a partir del día 16 después de la apertura de la boca.

Tratamiento 6 (AT21). Alimentación con dieta artificial a partir del día 21 después de la apertura de la boca.

Tratamiento 7 (AT26). Alimentación con dieta artificial a partir del día 26 después de la apertura de la boca.

La densidad de siembra fue de 100 larvas/tanque en 21 tanques ovalados de plástico de color blanco de 100 L de capacidad cada uno. El cultivo se realizó por medio del aumento progresivo de volumen, iniciando con un volumen de 40 L; a los 10 días de iniciado el experimento se incrementó el volumen a 60 L. Para el día 20 del experimento el volumen se incrementó al máximo de capacidad (100 L). La alimentación de las larvas consistió en suministrar nauplios de artemia recién eclosionados, mezclados con biomasas de artemia viva y congelada del día 1 al 26 a partir de la apertura de boca. La cantidad de alimento suministrado fue del 200 % de la biomasa, ajustando las cantidades de alimento para los días posteriores. Las cantidades de alimento resuministrado por tratamiento se muestran en la tabla 12.

La frecuencia de alimentación fue de 4 veces al día, dividiéndose la ración diaria y alimentando cada tres horas. Se realizaron recambios de agua (100%) diariamente una hora después de cada alimentación. El alimento artificial utilizado fue el de trucha marca Pedregal (SILVER CUP) que contenía 45 % de proteína cruda y 16 % de lípidos. Este alimento fue micronizado y tamizado para obtener los tamaños de partícula necesarios en función de la boca de las larvas. El tamaño de partícula inicial fue de 650 – 850  $\mu\text{m}$ , después se utilizó un tamaño de partícula de 850 – 1200  $\mu\text{m}$  y finalmente se utilizó el tamaño máximo de 1500  $\mu\text{m}$  (Tabla 20).

Tabla 20. Cantidad de alimentos suministrados a las larvas de pejelagarto para los distintos tratamientos.

Tratamiento	NA (No.)	BV (ml)	BC (gr)	AA (g)
AV	5200	850	2950	0
AT0	0	0	0	850
AT6	2200	250	350	570
AT11	3200	850	650	500
AT16	4200	850	1050	400
AT21	4200	850	1700	350
AT26	4200	850	2500	250
<b>Totales</b>	23200	4500	9200	2920

NA: Nauplios de artemia; BV: Biomasa viva de artemia; BC: Biomasa congelada de artemia y AA: Alimento artificial.

Se realizaron análisis de la calidad del agua semanalmente tomando los siguientes parámetros: Temperatura ( $27.7 \pm 1.21$  °C), oxígeno disuelto ( $5.0 \pm 0.2$  mg/L), pH ( $7.9 \pm 0.6$ ), nitratos ( $0.002 \pm 0.0004$  mg/L), nitritos ( $0.039 \pm 0.0040$  mg/L) y amonio ( $0.0121 \pm 0.0005$  mg/L).

Durante este experimento se realizaron tres biometrías al inicio, a los 15 días y a los 35 días de iniciado el experimento. En las dos primeras biometrías se tomaron 30 larvas por tanque y al final del experimento se evaluó el total de la población. Se determinó el peso por medio de una balanza analítica OHAUS (AS200) y la longitud total individual por medio de un Vernier digital marca (Marathon) y el porcentaje de supervivencia se obtuvo por conteo directo.

## Resultados.

Durante los primeros 15 días de haber realizado alimentación de las larvas de pejelagarto, se observó que los grupos co-alimentados con nauplios recién eclosionados, biomasa viva y congelada de artemia (AV) y los grupos que recientemente iniciaban la alimentación a base de alimento artificial (AT6, AT11 y AT16) tuvieron un peso significativamente mayor ( $P < 0.05$ ) con respecto a las larvas que recibieron solo alimento artificial (AT0). Sin embargo, para el día 35 en que concluyó el experimento las larvas alimentadas con dieta inerte a partir del primer día (AT0) fueron significativamente mayores en peso y longitud que las larvas adaptadas al consumo de la dieta inerte a partir de los 11, 16, 21 y 26 (AT11, AT16, AT21, y AT26 respectivamente) y fueron iguales a las larvas adaptadas a la dieta inerte a partir de los 6 días (AT6). El crecimiento en longitud presentó un comportamiento similar. En ambos casos, al final del experimento las larvas alimentadas con la artemia (AV) fueron significativamente menores en peso y longitud que el resto de los tratamientos probados (Tabla 21 y 22, Fig. 20 y 21).

Tabla 21. Crecimiento en peso promedio (g  $\pm$  d.e.) de larvas de pejelagarto adaptadas paulatinamente al consumo de alimento artificial.

Tiempo (días)	AV	AT0	AT6	AT11	AT16	AT21	AT26
0	0.029 $\pm$ 0.002ns	0.029 $\pm$ 0.001ns	0.030 $\pm$ 0.002ns	0.029 $\pm$ 0.002ns	0.031 $\pm$ 0.003ns	0.029 $\pm$ 0.003ns	0.028 $\pm$ 0.005ns
15	0.534 $\pm$ 0.121a	0.448 $\pm$ 0.133b	0.539 $\pm$ 0.160a	0.516 $\pm$ 0.125a	0.500 $\pm$ 0.090ab	0.513 $\pm$ 0.115ab	0.519 $\pm$ 0.096a
35	1.900 $\pm$ 0.577e	5.016 $\pm$ 1.384a	5.022 $\pm$ 1.691a	4.023 $\pm$ 1.218b	2.986 $\pm$ 0.979c	2.742 $\pm$ 1.103c	2.296 $\pm$ 0.934d

Letras diferentes entre renglones indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla 22. Crecimiento en longitud total promedio (mm  $\pm$  d.e.) de larvas de pejelagarto alimentadas con dieta artificial en diferentes tiempos.

Tiempo (días)	AV	AT0	AT6	AT11	AT16	AT21	AT26
0	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns	16 $\pm$ 1ns
15	53 $\pm$ 5a	46 $\pm$ 5b	52 $\pm$ 5a	52 $\pm$ 4a	52 $\pm$ 3a	53 $\pm$ 4a	53 $\pm$ 4a
35	83 $\pm$ 8e	111 $\pm$ 12a	115 $\pm$ 14a	104 $\pm$ 11b	97 $\pm$ 12c	91 $\pm$ 12d	88 $\pm$ 12d

Letras diferentes entre renglones indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

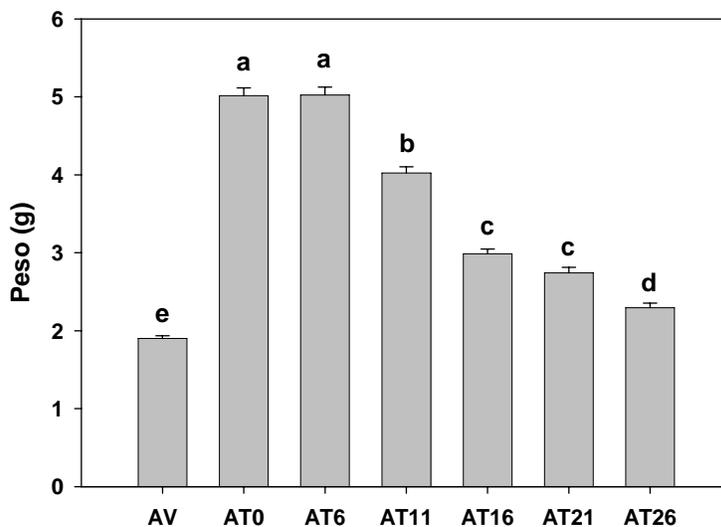


Figura 20. Peso promedio (g  $\pm$  e.e.) de larvas de pejelagarto en el día 30 alimentados con dieta artificial en diferentes tiempos. Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

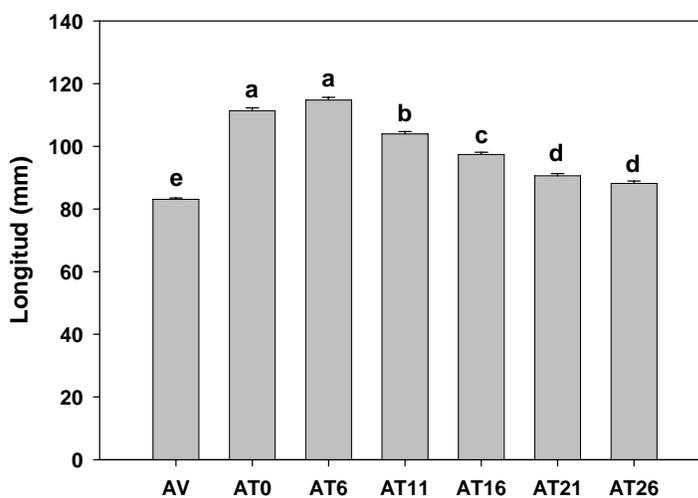


Figura 21. Longitud total promedio (mm  $\pm$  e.e.) de larvas de pejelagarto en el día 30 alimentados con dieta artificial en diferentes tiempos. Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

El porcentaje de supervivencia final mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) solamente para las larvas alimentadas con dieta inerte (AT0), siendo el tratamiento donde se obtuvo el menor porcentaje de supervivencia (67 %). La supervivencia del resto de los tratamientos fue igual entre ellos estando alrededor del 90 % (Fig. 22).

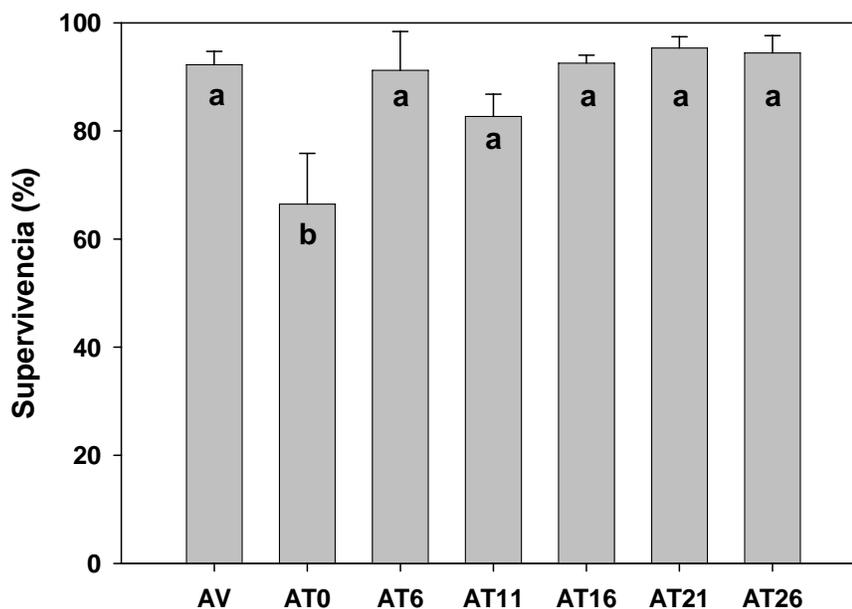


Figura 22. Porcentaje de supervivencia ( $\% \pm$  d.e.) de larvas de pejelagarto en el día 30 alimentados con dieta artificial en diferentes tiempos. Letras diferentes entre barras indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### **Efecto del alimento comercial sobre el crecimiento y la supervivencia en prejuveniles de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Materiales y Métodos.**

Para este estudio se cultivaron 2000 larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* en un tanque comunitario durante los primeros 18 días posteclosión, de los cuales, los primeros correspondieron a la terminación del desarrollo de la fase de prelarva (3 días) en la cual su nutrición proviene del saco de vitelo. Del día 4 al 18 fueron alimentadas con biomasa de Artemia congelada y alimento artificial para trucha “El Pedregal” (45% proteína y 16 % lípidos). Al concluir esta etapa se realizó la determinación del peso y longitud total de una muestra de la población en cultivo, se determinaron los grupos de peso y talla para se realizar la selección de los prejuveniles que fueron empleados en el experimento.

De los tres alimentos comerciales probados, los peces alimentados con el SCA fueron los de mayor peso y LT, seguido de los alimentados con el SCE y finalizando con los peces alimentados con el SCR a partir de los 30 días de iniciado el experimento. Al final del experimento, se detectaron diferencias significativas donde los peces alimentados con SCA tuvieron mejores GP(%), GPD(%/d), TEC(%/d), FCA, TEP y GDP(g/d). Se evaluó la alimentación de prejuveniles con tres alimentos comerciales para trucha (Silver Cup). Dos mil larvas fueron adaptadas al consumo de alimento artificial por quince días. Con estos prejuveniles

se realizó un diseño experimental de tres tratamientos: El primero (SCR), utilizando una dieta para reproductor con 45% de proteína y 10% de grasa. El segundo (SCE), suministrando un alimento para engorda con 38% de proteína y 10% de grasa. El tercero (SCA), dando una dieta de alevinaje con 45% de proteína y 16% de grasa. La duración del experimento fue de 45 días utilizando una densidad de siembra de 1 pez/L (n=100). Los alimentos se suministraron cuatro veces al día. Cada quince días se evaluó el peso, la longitud total (LT) y la supervivencia. Asimismo, se determinaron diversos índices de crecimiento y de calidad del alimento.

### **Resultados.**

De los tres productos comerciales probados, los prejuveniles de pejelagarto alimentados con el alimento que contenía 45% de proteína y 16 de lípidos (SCA) fueron los de mayor peso y longitud total, seguido de los grupos alimentados con el alimento de 38% de proteína y 10% de lípidos (SCE) y el menor peso y longitud se presentó en los pejelagartos que recibieron el alimento con 45% de proteína y 10% de grasa (SCR).

En relación a los índices de crecimiento y de calidad del alimento, se detectaron diferencias significativas en algunos de estos indicadores, los prejuveniles alimentados con la dieta de 45% de proteína y 16 de lípidos tuvieron mejores valores en la Ganancia en peso (95.7 %), Ganancia de peso diario (0.19 %/d), Tasa específica de crecimiento (7 %/d), Factor de conversión alimenticia (1.16), Tasa eficiencia proteínica (2) y Ganancia de proteína diaria (963 g/d). En todos los tratamientos la supervivencia fue mayor al 95% (Tabla 23, Fig. 23 y 24).

Tabla 23. Factores de crecimiento y de calidad del alimento en prejuveniles de pejelagarto alimentados con tres tipos de un alimento comercial. SCR: Silver Cup Reproductor (Proteína 45 %, Lípidos 10 %); SCE: Silver Cup Engorda (Proteína 38 %, Lípidos 10 %); SCA: Silver Cup Alevinaje (Proteína 45 %, Lípidos 16 %).

Índices	Alimento comercial		
	P45% /L10% SCR	P 38% /L10% SCE	P45%/L16% SCA
<b>Supervivencia (%)</b>	95.0 ± 1.7	96.7 ± 2.9	98.0 ± 1.7
<b>Biomasa final (g)</b>	563 ± 24	653 ± 44	860 ± 62
<b>Ganancia (%)</b>	93.9 ± 0.4 <sup>b</sup>	94.4 ± 0.2 <sup>b</sup>	95.7 ± 0.6 <sup>a</sup>
<b>FC</b>	0.34 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.40 ± 0.02
<b>TEC(%/día)</b>	6.2 ± 0.1 <sup>b</sup>	6.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	7.0 ± 0.3 <sup>a</sup>
<b>GPD</b>	0.12 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>a</sup>
<b>FCA</b>	1.77 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.53 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.16 ± 0.10 <sup>a</sup>
<b>TEP</b>	1.26 ± 0.10 <sup>b</sup>	1.73 ± 0.12 <sup>b</sup>	2.0 ± 0.14 <sup>a</sup>
<b>GPD</b>	933 ± 17 <sup>b</sup>	802 ± 23 <sup>b</sup>	963 ± 17 <sup>a</sup>
<b>TEL</b>	5.66 ± 0.25	6.57 ± 0.45	5.43 ± 0.40

Superíndices diferentes entre columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

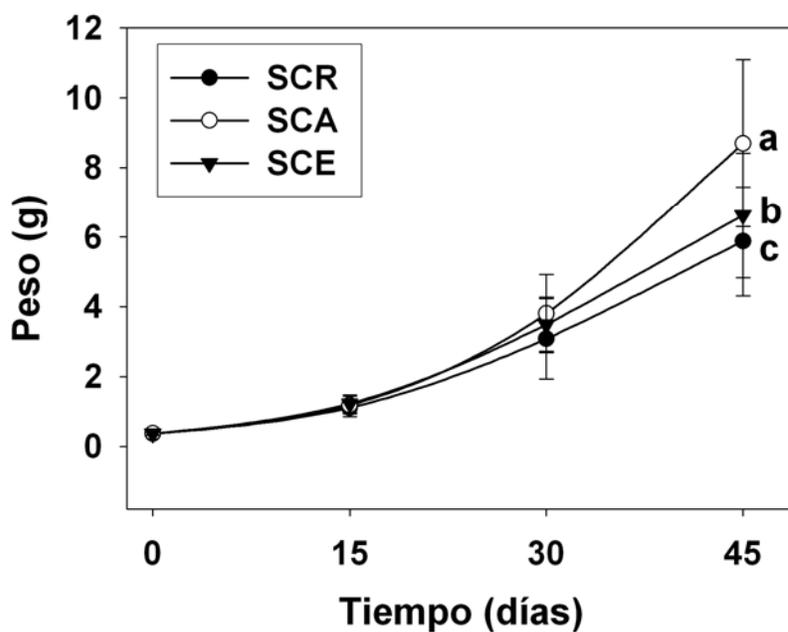


Figura 23. Crecimiento en peso de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas comerciales.

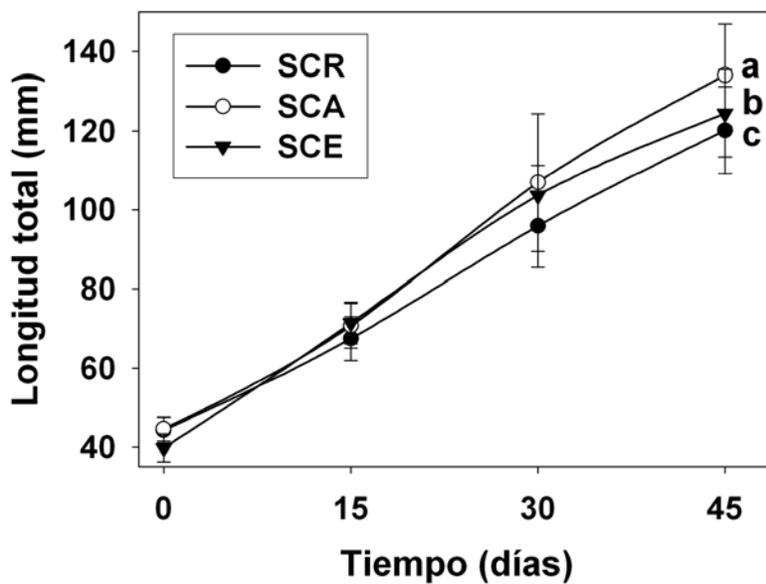


Figura 24. Crecimiento en Longitud total de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas comerciales.

## **2. Determinación de los Requerimientos Nutricionales.**

### **Estudio sobre el requerimiento de proteína y energía.**

#### **Materiales y Métodos.**

Se llevaron a cabo 2 ensayos, en ambos se utilizó un diseño factorial 5 x 2, se evaluaron cinco niveles de proteína (20%, 30%, 40%, 50% 60%) y dos niveles de energía (300 y 400 Kcal. / 100 gr. de dieta seca). Cada tratamiento (n=10) fue ejecutado por triplicado (n=30) y la distribución de las unidades experimentales fue completamente al azar.

#### *Primer ensayo. Proteína-Energía en prejuveniles.*

El primer ensayo fue realizado con prejuveniles (0.5 a 1 gramo de peso) de pejelagarto adaptados al consumo de alimento balanceado, el peso, la talla y edad correspondió a ejemplares de 30 días de haber concluido el destete y la duración del experimento fue de 45 días. En este primer ensayo se sembraron 30 prejuveniles destetados en tanques circulares de color blanco, el volumen de agua para su cultivo será de 70 litros y la densidad correspondió a 2 ejemplares / litro. Los tanques que fueron empleados son parte de un sistema de recirculación con temperatura controlada, filtración biológica y mecánica, esterilización mediante lámparas de luz ultravioleta, con suministro de agua independiente regulado por válvulas de paso, el desagüe de los tanques esta conectado a un tubo recolector que conduce al agua al sistema de filtración o a la caja de desalajo de aguas residuales.

A todos los ejemplares se les realizó una biometría inicial tomando en cuenta el peso y la longitud total, empleando una balanza analítica y un vernier con precisión de 0.1 mm. Los peces fueron sujetos de una adaptación previa al consumo de las dietas por 7 días, al concluir se realizó una biometría previa a 10 peces/tanque (n=30) para reajuste del alimento. Se determinó la supervivencia por conteo directo y se determinó el consumo de alimento por diferencia entre la cantidad de dieta suministrada de peso seco y la obtenida al secar de nuevo el alimento sobrante que consistirán en recolectar por sifón el sobrante de alimento, luego fue secado a la temperatura en que se elaboraron las dietas (pellets) en una estufa marca Fisher Scientific con temperatura controlada de 60 a 70° C y el tiempo de secado no excedió de 12 horas.

En estos 7 días la ración de alimento fue ofrecida 4 veces al día, la rutina de trabajo consistió de pesar anticipadamente cada ración de alimento por dieta, por sifón retirar las heces fecales antes de alimentar, se suministrar el alimento distribuyendo en 2 partes iguales y equidistantes en el tanque, después de una hora de haber suministrado el alimento se realizó la recolecta de los residuos o excedentes, luego se abrió las válvulas de paso del agua para dejar funcionando el sistema de recirculación, y posteriormente hasta las siguiente alimentación.

Cada 15 días se realizó un muestreo completo (30 ejemplares de cada tanque para determinar el peso, la talla y supervivencia. Al término del ensayo todos los ejemplares fueron pesados (balanza semianalítica OHAUS (600x0.02) y medidos con vernier.

#### *Segundo ensayo. Proteína-Energía en juveniles.*

El segundo ensayo fue realizado con ejemplares juveniles (5 a 7 gramos de peso) adaptados al consumo de alimento artificial, aproximadamente de 75 días posteriores al destete. Este ensayo se dio por concluido a los 35 días de haber suministrado las dietas experimentales. Se realizó una adaptación al consumo de las dietas experimentales de 7 días, todos los ejemplares fueron medidos y pesados al inicio y final de este periodo de adaptación. La densidad de siembra fue de 6 ejemplares por tanque, empleándose el sistema de recirculación descrito en el experimento anterior. La rutina de trabajo fue similar también y solo cambió la frecuencia de alimentación. En

este ensayo fueron suministradas las dietas en 2 porciones al día, una por la mañana y otra por la tarde. Media hora después de cada alimentación se recogió el alimento sobrante, se mantuvieron en congelación y al final del día se procedió a su secado entre 60° y 70° C equivalentes a la temperatura de secado de las dietas, se utilizó una estufa marca Fisher Scientific y el tiempo de secado no excedió de 12 horas.

El sistema de recirculación fue monitoreado para conocer las posibles variaciones en la calidad del agua durante el desarrollo de los experimentos. Diariamente se determinaron la temperatura del agua una vez al día de cada unidad experimental, oxígeno disuelto y el pH, empleando un equipo YSI 55 y un potenciómetro Denver Instrument ultraBASIC. Cada semana se realizó un monitoreo de amonio, nitratos y nitritos.

En las Tablas 24 y 25 se presentan los ingredientes empleados para la elaboración de las dietas semipurificadas que fueron utilizadas para ambos ensayos.

Tabla 24. Composición (%) de las dietas experimentales empleada para evaluar los niveles de Proteína y Energía del primer ensayo

Ingredientes	NIVEL DE PROTEINA (%)									
	20	20	30	30	40	40	50	50	60	60
Harina de Pescado	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Caseína	300	300	524	524	748	748	970	970	1194	1194
Almidón de Papa	390	564	320	500	250	424	76	154	104	208
Aceite de. Soya	156	230	128	200	100	172	72	144	42	84
Aceite de Pescado	156	230	128	200	100	172	72	144	42	84
Premezcla Vitaminas 1	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Premezcla Minerales 2	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Vitaminas C	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
Betaina	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
Carboximetil Celulosa	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Alfacelulosa	729	407	631	307	533	215	541	319	349	161
<b>Energía (Kcal/100 g de dieta)</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>

Tabla 25. Composición (%) de las dietas experimentales empleada para evaluar los niveles de Proteína y Energía del segundo ensayo.

Ingredientes	NIVEL DE PROTEINA (%)									
	20	20	30	30	40	40	50	50	60	60
Harina de Pescado	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
Caseína	300	300	524	524	748	748	970	970	1194	1194
Almidón de Papa	390	564	320	500	250	424	76	154	104	208
Aceite de. Soya	156	230	128	200	100	172	72	144	42	84
Aceite de Pescado	156	230	128	200	100	172	72	144	42	84
Premezcla Vitaminas 1	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8	6.8
Premezcla Minerales 2	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
Vitaminas C	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8	10.8
Carboximetil Celulosa	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Alfacelulosa	718	396	620	296	522	204	530	308	338	150
<b>Energía (Kcal/100 g de dieta)</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>	<b>300</b>	<b>400</b>

Los cálculos en la formulación de las dietas se realizaron de manera manual considerando la calidad nutricional de cada ingrediente y el nivel de proteína y energía requerido en cada dieta.

Para la elaboración de las dietas, las materias prima la Harina de pescado y la Caseína, se llevaron a un mismo tamaño de partícula y fue utilizado un molino picadora marca BRAUN modelo KSM2, y un tamiz eléctrico marca LEESON modelo RX-812, los ingredientes se pesaron según la formulación de las dietas experimentales con una balanza analítica marca Sartorius modelo BL 310 con  $0.1 \pm$  mg. de precisión, posteriormente se mezclaron los macronutrientes en seco durante 10-15 minutos utilizando una batidora de rotación marca BATHAMMEX, y luego se agregaron los micronutrientes (premezcla de vitaminas, minerales y vitaminas C) durante 10-15 minutos, después se añadieron los aceites y posteriormente mezclar durante 10-15 minutos, se le agregó el aglutínate en esta caso Carboximetilcelulosa (CMC) que previamente fue disuelto con agua caliente utilizando una parrilla marca Thermolyne SYBRON modelo SPA1025B y se mezcló, poco a poco se ira agregando agua y seguir mezclando hasta que se presente la masa compactada, y se colocó en un molino marca TOROREY M-22R1 para dar forma a los pellets, y luego se secaron a una temperatura constante de alrededor de los 60 a 70°C en un periodo de secado de 10 a 12 horas. Las dietas fueron aclimatadas a temperatura ambiente y guardadas en refrigeración.

Durante el experimento cada 10 días se realizaron recambio totales de un 100% de agua en cada una de las tinas, el agua provino de un reservorio con medidas de 4 x 4 x 1 m con aeración constante con agua limpia y libre de cloro, pasada a través de una bomba sumergible marca Pedrorollo modelo 3966/A de 0.50 caballos que reabasteció a un filtro mecánico / biológico con recirculación semi-cerrada utilizando otra bomba sumergible de la misma marca y un termostato de titanio marca PSA modelo R9ce371 para mantener la temperatura constante a  $30^{\circ} \text{C} \pm$ , también una bomba tipo jacuzzi modelo JWPA5D-230<sup>a</sup> marca Star-rite de  $\frac{3}{4}$  caballo para la distribución del agua en todo el sistema pasando antes por una lámpara de luz ultravioleta, marca Empesor Aquactic modelo 02025 de 25 Watts.

Los resultados fueron sujetos a un análisis varianza de 2 vías ANOVA para la interacción de proteína y energía. También se realizó una prueba de Tukey presentando la media de las replicas de grupo y un valor de significancia de 0.05. El análisis estadístico fue realizado mediante el programa Statistical Package version 9.0 INC.

## **Resultados.**

Primer ensayo. Proteína-Energía en prejuveniles.

En el periodo de adaptación al consumo de las dietas semipurificadas (7 días) que fue realizado con los prejuveniles de pejelagarto, se observó que en la todas las unidades experimentales hubieron pejelagartos que aceptaron y consumieron las diferentes dietas semipurificadas en un tiempo menor al periodo de adaptación. Pero, también se observaron en todos los tratamientos que algunos ejemplares aceptaron las dietas como alimento único pero con un consumo menor.

Considerando el nivel de proteína como factor, se determino que el mejor crecimiento en peso (g) se presentó en los prejuveniles de pejelagarto que fueron alimentados con dietas semipurificadas que contenían niveles de proteína de 60% (14.06 g  $\pm$ 1.94), seguidos en orden descendente por los ejemplares que consumieron la dieta con 50% de proteína (13.55 g  $\pm$ 1.79), después por los peces que alimentados con la dieta de 40% de proteína (3.37 g  $\pm$ 4.38).

Al disminuir el nivel de proteína a 30% el crecimiento en peso es significativamente menor (9.89 g  $\pm$ 0.02) y se acentuó en los prejuveniles que recibieron la dieta con un 20% de proteína (3.68 g

$\pm 1.24$ ). Se observó en este caso un efecto directamente proporcional: a mayor nivel de proteína en la dieta mayor crecimiento en peso de los prejuveniles de esta especie.

Desde el punto de vista estadístico, no se observaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) entre los prejuveniles alimentados con las dietas de 60%, 50% y 40% de proteína (Fig. 25). Pero sí presentaron diferencias al ser comparados con los ejemplares que se alimentaron con las dietas que contenían el 30% y 20% de proteína.

Los prejuveniles de pejelagarto que recibieron las dietas con 30% y 20% presentaron diferencias significativas al ser comparados ( $P < 0.05$ ).

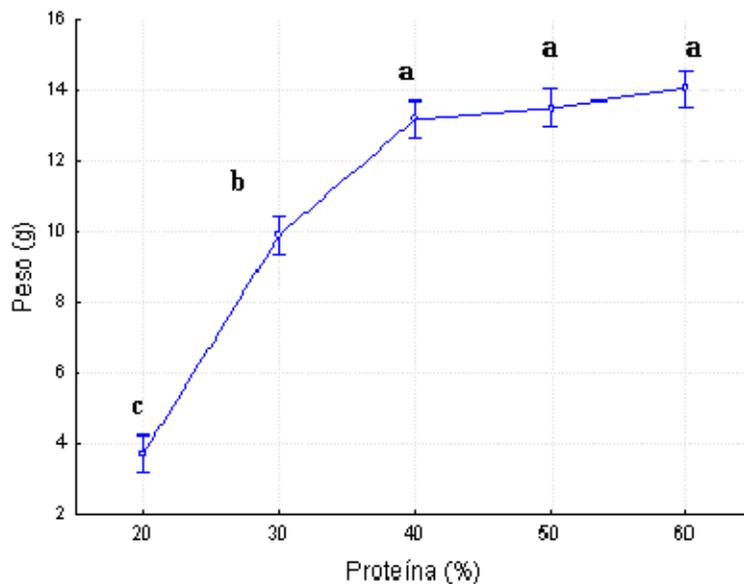


Figura 25. Comparación del crecimiento en peso promedio ( $g \pm D. E.$ ) de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de proteína por 45 días.

En relación al crecimiento en talla, se observó un patrón similar al descrito en el crecimiento en peso. La mayor longitud total se presentó en los prejuveniles alimentados con la dieta que contenían 60% de proteína (150.90 mm  $\pm 5.54$ ). Decreciendo la longitud total de manera directamente proporcional con el nivel de la proteína. Los ejemplares alimentados con 50% de proteína en la dieta presentaron una longitud total de 149.48 mm ( $\pm 6.17$ ). Mientras que los de la dieta con 40% de proteína tuvieron una longitud total de 147.91 mm ( $\pm 14.95$ ). Al compararlos estadísticamente no se observaron diferencias entre estos tres grupos (Fig. 26).

Los prejuveniles alimentados con las dietas que contenían un nivel de 30% y 20% de proteína fue donde se presentaron los ejemplares con menor crecimiento en longitud total (137.31 mm ( $\pm 1.35$ ) y 103.33 mm ( $\pm 10.43$ ) respectivamente, encontrándose diferencias significativas al ser comparados ( $P < 0.05$ ).

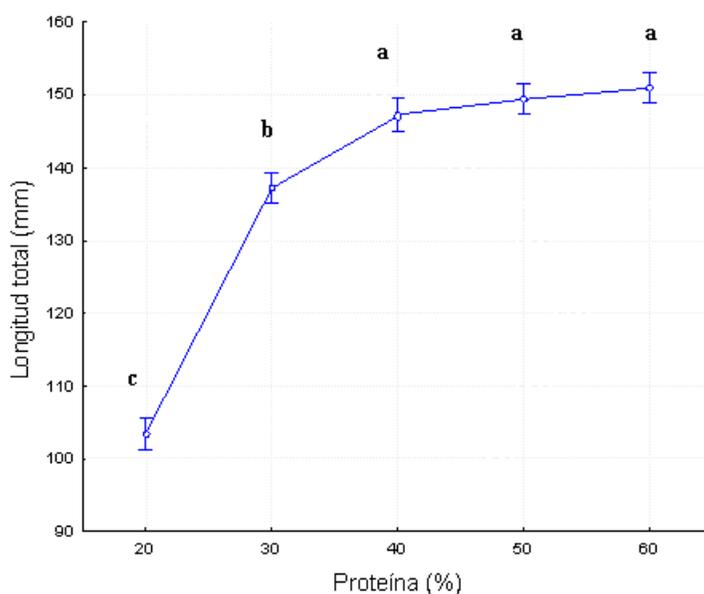


Figura 26. Comparación del crecimiento en longitud total promedio (mm  $\pm$  D. E.) de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de proteína por 45 días.

Los prejuveniles de pejelagartos que recibieron las dietas con un mayor nivel de energía (400 kcal/100 g de dieta) presentaron un mejor crecimiento en peso (Fig. 27) y longitud total (Fig. 28) que aquellos que fueron alimentados con las dietas que contenían un menor nivel (300 kcal/100 g de dieta). Al ser comparados estadísticamente los niveles de energía, se observó que hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

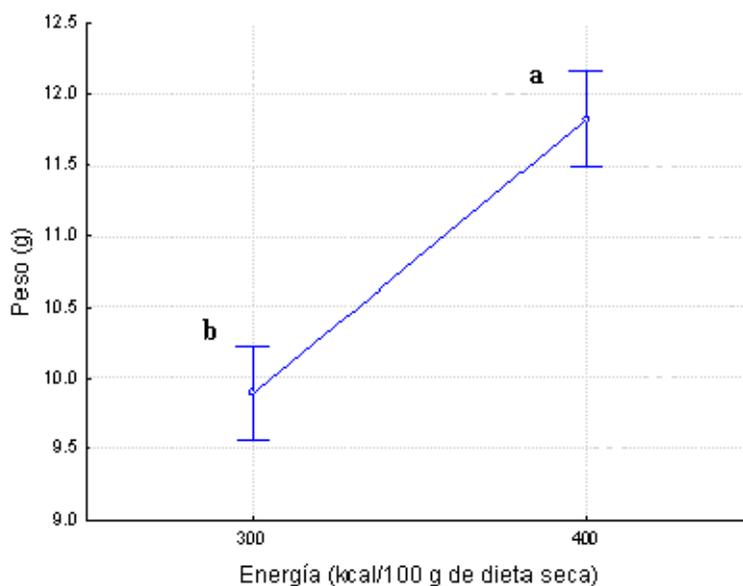


Figura. 27. Peso promedio (g  $\pm$  D. E.) de los prejuveniles de pejelagarto en el día 45 alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía.

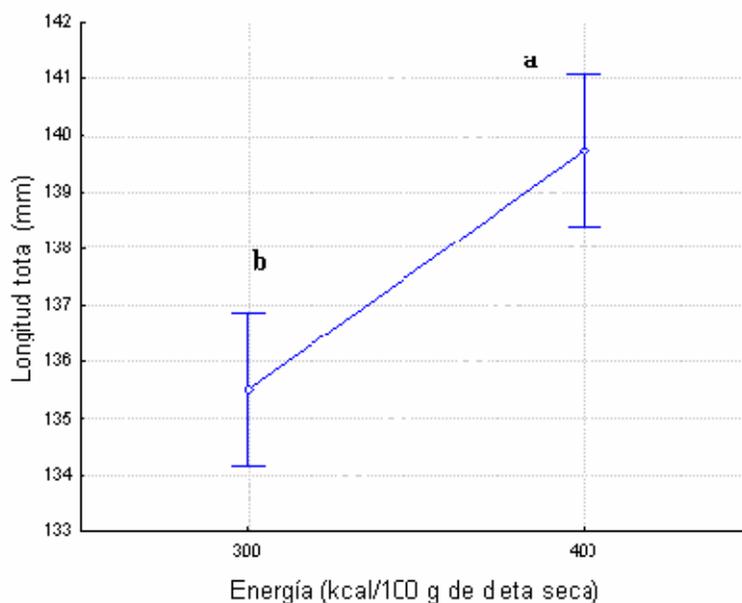


Figura. 28. Longitud total promedio (mm  $\pm$  D. E.) de prejuveniles de pejelagarto en el día 45 alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía.

Se determinó que existe una interacción entre la proteína y la energía. Cuando se alimentaron con dietas de 60%, 50% y 40% de proteína y 400 kcal/g de dieta el crecimiento en peso y talla de los prejuveniles fue mayor (Fig. 29 y 30) que la de prejuveniles alimentados con dietas en los mismos niveles de proteína pero con menor energía (300 kcal/100 g de dieta).

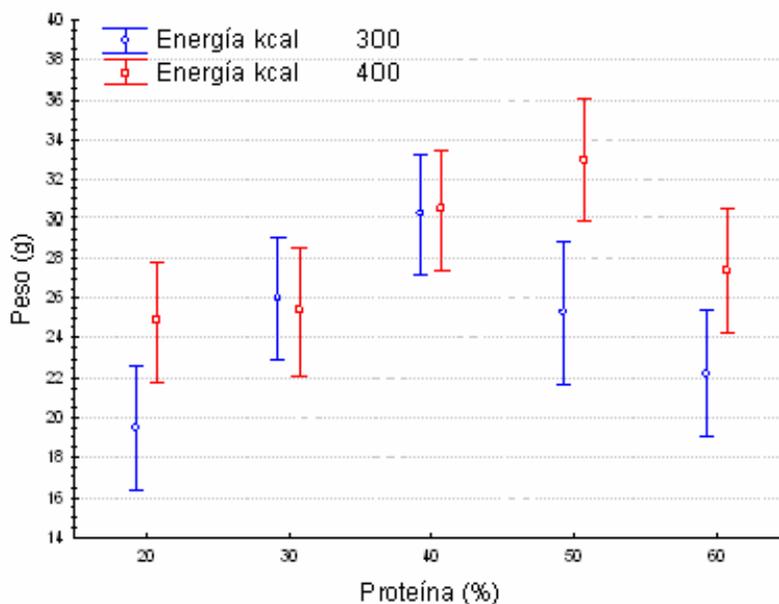


Figura. 29. Comparación del crecimiento en peso promedio de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía por 45 días.

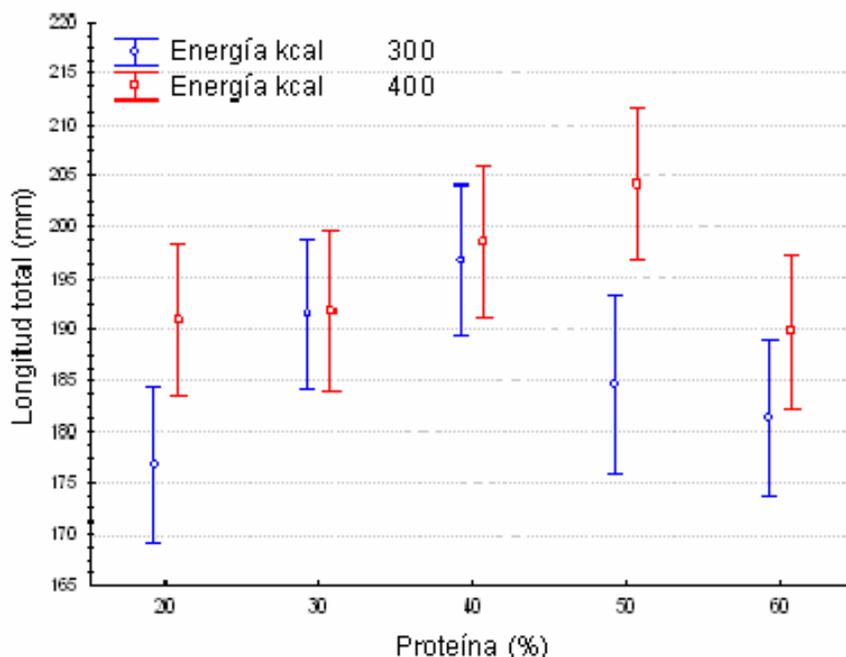


Figura. 30. Comparación del crecimiento en longitud total promedio de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía por 45 días.

#### Segundo ensayo. Proteína-Energía en juveniles.

La respuesta al proceso de adaptación al consumo de las dietas semipurificadas en juveniles de 8 g de peso fue similar al patrón descrito en prejuveniles, aceptaron y consumieron con apetito las dietas antes de concluir los 7 días de adaptación y solo algunos ejemplares tuvieron un consumo en menor proporción.

Los resultados de crecimiento en peso mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) considerando solamente el nivel de proteína como factor, donde los peces alimentados con la dieta que contenía el 40 ( $30.32 \text{ g} \pm 0.17$ ), y 50% de proteína ( $29.62 \text{ g} \pm 5.39$ ) fueron mayores que el resto de los tratamientos. No presentaron diferencias significativas al ser comparados ( $P > 0.05$ ). Pero, los juveniles alimentados con 40% proteína fueron diferentes de los grupos de juveniles alimentados con 60, 30 y 20% de proteína (Fig. 31).

En los juveniles que consumieron la dieta con 30% de proteína el crecimiento en peso ( $25.73 \text{ g} \pm 0.49$ ) fue similar al compararlo con el nivel de 60% de proteína ( $24.78 \text{ g} \pm 3.63$ ) y el nivel de 20% de proteína ( $22.23 \text{ g} \pm 3.78$ ).

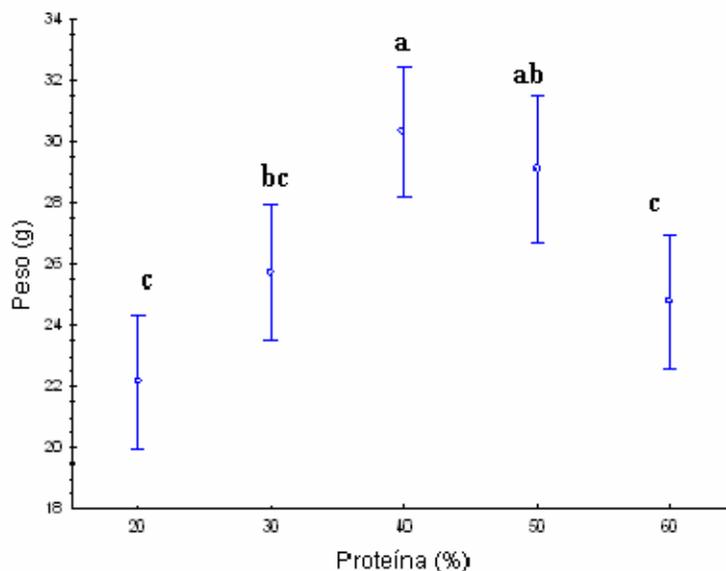


Figura 31. Comparación del crecimiento en peso promedio de juveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de proteína por 37 días.

En relación al crecimiento en longitud total, se observó que los juveniles alimentados con las dietas que contenían 40, 50 y 30% de proteína ( $197.58 \text{ mm} \pm 1.22$ ;  $195.73 \text{ mm} \pm 13.87$ ;  $191.59 \text{ mm} \pm 0.22$  respectivamente) fueron de mayor talla que el resto de los grupos experimentales. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre estos tres grupos (Fig. 32). Los juveniles alimentados con dietas que contenían 60 y 20% de proteína tuvieron un menor crecimiento en longitud total ( $185.50 \text{ mm} \pm 5.95$ ) y ( $184.03 \pm 9.91$  respectivamente) y presentaron diferencias significativas con los juveniles que recibieron 40% de proteína en la dieta ( $P < 0.05$ ).

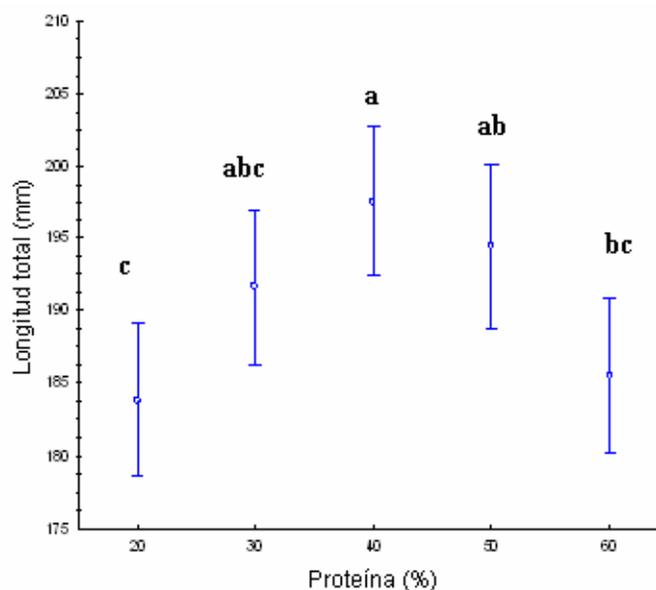


Figura 32. Comparación del crecimiento en longitud promedio ( $\text{mm} \pm \text{d. e.}$ ) de juveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de proteína por 37 días.

Los juveniles de pejelagarto que consumieron las dietas con un mayor nivel de energía (400 kcal/100 g de dieta) presentaron un mejor crecimiento en peso (Fig. 33) y longitud total (Fig. 34), que aquellos ejemplares que fueron alimentados con las dietas que contenían un menor nivel (300 kcal/100 g de dieta). Al ser comparados estadísticamente los niveles de energía, se observó que hubo diferencias significativas ( $P > 0.05$ ).

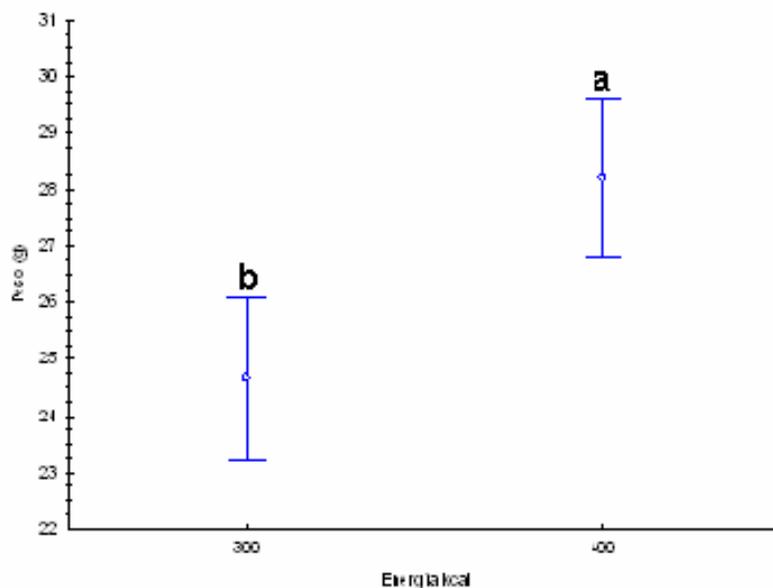


Figura 33. Peso promedio ( $g \pm d. e.$ ) de los juveniles de pejelagarto en el día 37 alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía.

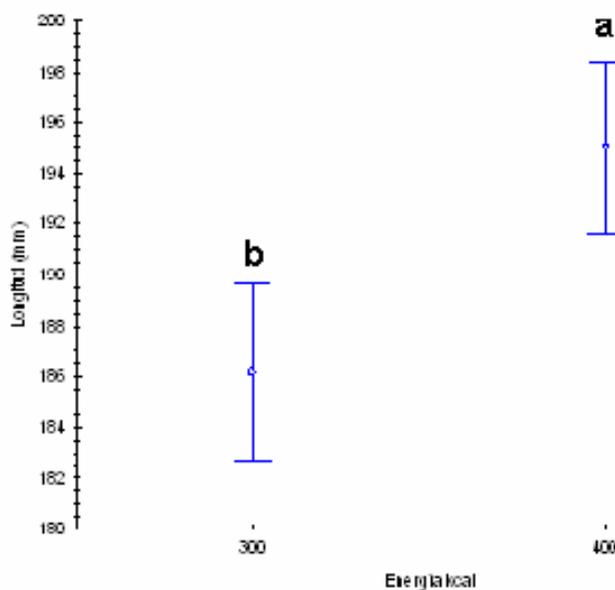


Figura 34. Longitud total promedio ( $mm \pm d. e.$ ) de los juveniles de pejelagarto en el día 37 alimentados con dietas semipurificadas con diferentes niveles de energía.

De acuerdo con los resultados se determinó que existe una interacción entre la proteína y la energía (Fig. 35). Los juveniles fueron alimentados con 5 niveles diferentes de proteína y 2 niveles de energía en la dieta. El mejor crecimiento en peso se observó en los ejemplares que se alimentaron con dietas de 50% de proteína ( $32.92 \text{ g} \pm 5.39$ ). Seguido por los juveniles alimentados con dietas con 40% de proteína ( $30.44 \text{ g} \pm 0.17$ ). Para el caso de la dieta con 60% de proteína ( $27.34 \text{ g} \pm 3.63$ ). Pero con un nivel de 400 kcal/g de dieta. En el caso, de los juveniles alimentados con 40% y 30% de proteína con un nivel de 300 kcal/g de dieta, tuvieron un crecimiento en peso de ( $30.20 \text{ g} \pm 0.17$ ) y ( $26.05 \text{ g} \pm 0.49$ ) respectivamente. Al compararse estadísticamente no se observó diferencias significativas entre estos grupos ( $P < 0.05$ ).

Por otra parte en los juveniles alimentados con 30% de proteína ( $25.36 \text{ g} \pm 0.49$ ) pero con un nivel de 400 kcal/g de dieta. En los ejemplares alimentados con la dieta con 50% de proteína ( $25.31 \text{ g} \pm 0.17$ ) y 300 kcal/g de dieta. De igual forma para los juveniles alimentados con 20% de proteína ( $24.83 \text{ g} \pm 3.78$ ). No se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). El menor crecimiento se observó en los juveniles alimentados con 20% de proteína ( $19.48 \text{ g} \pm 3.78$ ) con 300 kcal/g de dieta.

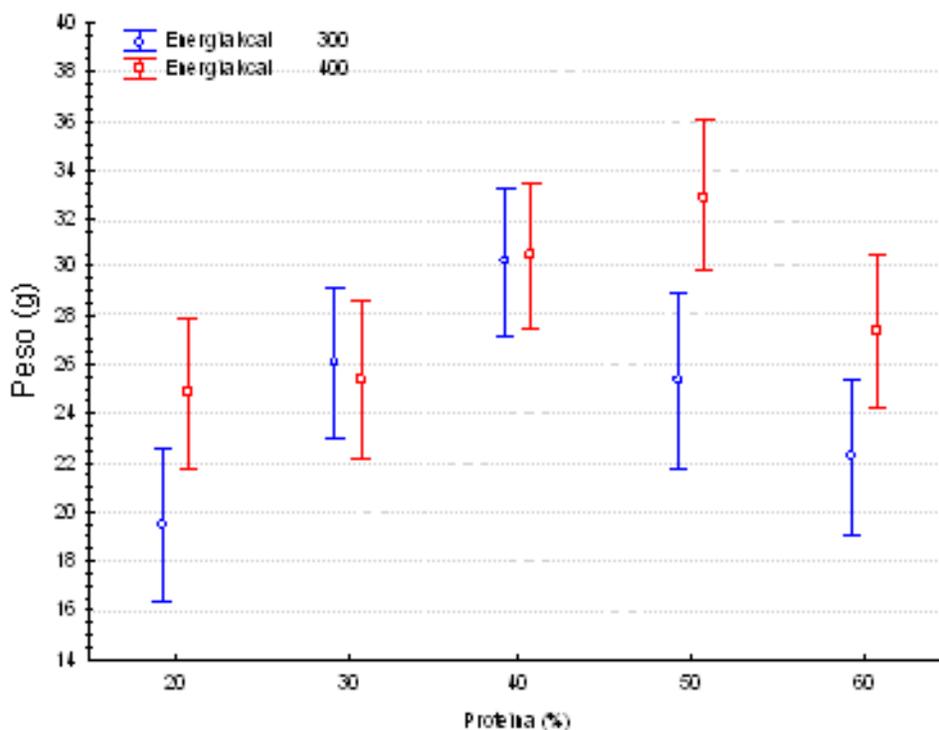


Figura 35 Crecimiento en peso ( $\text{g} \pm \text{d. e.}$ ) de la interacción de proteína y energía en juveniles de pejelagarto en el día 37 alimentados con dietas semipurificadas.

Relacionado al crecimiento en talla, se observó un comportamiento similar al descrito al crecimiento en peso. La mayor longitud total fueron en los juveniles alimentados con la dieta que contenían 50 % de proteína ( $204.24 \text{ mm} \pm 13.87$ ). Seguido de manera descendente por los ejemplares con 40% de proteína ( $198.44 \text{ mm} \pm 1.22$ ). Pero en ambos caso con un nivel de 400 kcal/g de dieta. Para el 40% de proteína con 300 kcal/g de dieta fue ( $196.72 \text{ mm} \pm 1.22$ ). Al realizarle un análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Para los ejemplares que fueron alimentados con 30% de proteína ( $191.75 \text{ mm} \pm 0.22$ ) con 300 kcal/g de dieta. En los juveniles alimentados con la dieta con 30%, 20% y 40% de proteína con

400 kcal/g de dieta, el crecimiento en longitud total fue ( $191.44 \text{ mm} \pm 0.22$ ), ( $190.83 \text{ mm} \pm 9.91$ ) y ( $189.71 \text{ mm} \pm 5.95$ ). Para los pejelagarto juveniles con el nivel con 50% de proteína y 300 kcal/g de dieta fue de ( $184.29 \text{ mm} \pm 5.95$ ). No mostraron diferencia significativas ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado, se observó juveniles con un menor crecimiento en longitud total, fueron aquellos alimentados con la dieta que contenían un 60% y 30% de proteína y 300 kcal/g de dieta ( $181.29 \text{ mm} \pm 5.95$ ) y ( $176.82 \text{ mm} \pm 9.91$ ).

Finalmente, la interacción entre la proteína y energía mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), donde la única interacción detectada fue en relación a la combinación de 50% de proteína y 400 kcal/100g de dieta sobre el resto de los tratamientos (Fig. 36).

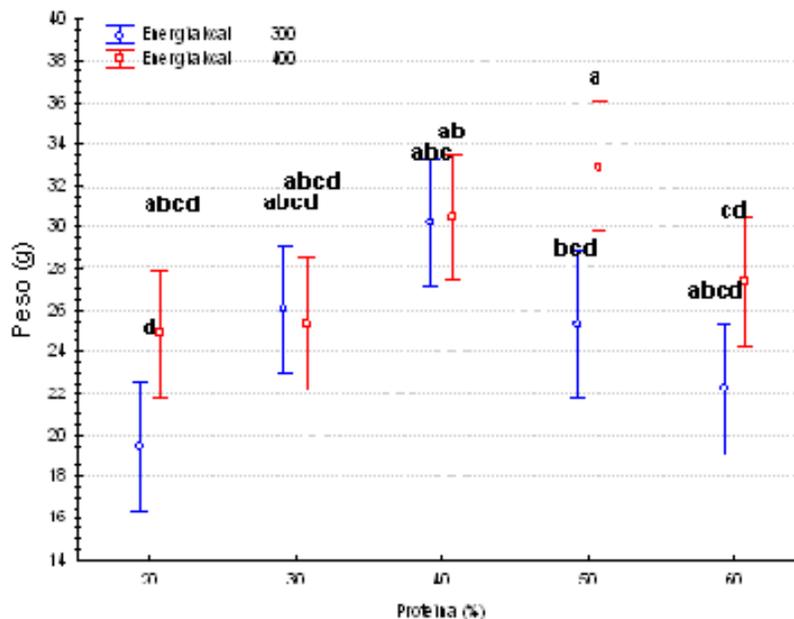


Figura 36. Crecimiento en longitud total ( $g \pm d. e.$ ) de la interacción de proteína y energía en juveniles de pejelagarto en el día 37 alimentados con dietas semipurificadas.

### Estudio sobre el requerimiento de lípidos.

#### Materiales y Métodos.

Se realizaron dos ensayos para la determinación del requerimiento de lípidos en prejuveniles y juveniles de pejelagarto usando dietas semipurificadas.

Para el primer ensayo se utilizaron prejuveniles previamente cultivados desde la fase larvaria por 45 días, para lo cual se realizó una biometría general de 600 prejuveniles, en donde se tomó en cuenta dos variables (peso y longitud), el peso se obtuvo a través de una balanza analítica, y la longitud con un vernier, la cual se sembró con un peso inicial, de 0.52 g y una talla inicial, de 55 mm. Una vez obtenidos la frecuencia de talla y peso, se procedió a aleatorizar, los tratamientos de los cuatro niveles de lípidos en tres replicas, dando un total de 12 unidades experimentales con una siembra de 25 organismos por tina (300 prejuveniles).

El tiempo de duración de este experimento fue de 56 días al final del experimento se tomó una muestra de diez peces por tinas, para ser fijados en un tanque de nitrógeno, pesando su contenido en fresco, para después, procesarlos a la liofilización, para los análisis bioquímicos.

Para este primer ensayo los alimentos experimentales se formularon en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste utilizando el programa MixitWin (Tabla 26).

Para la realización de los alimentos experimentales se procedió a moler y tamizar (MONTINOX) las harinas o macronutrientes finamente, para su utilización para esta actividad se utilizó, dos frascos precipitados de 1L, así como un calentador (THERMOLYNE SPA1025B), para el aglutinante (Carboximetil celulosa), dos espátulas, 1L de agua destilada, balanza digital (XP-600), pelletizadora (TORO REY M-22 R1), estufa (CORIAT HC-35-D304) y una maquina mezcladora (BATHAMAX PAT # 178716).

La preparación de los alimentos consistió en mezclar los macronutrientes, la cual se depositó en la maquina mezcladora por 20 minutos, hasta que las partículas quedaron homogéneamente mezcladas posteriormente se peso todos los micronutrientes (vitamina C, Premezcla de vitaminas y minerales) y se mezcló con los macronutrientes, en donde se les dejó otros 20 minutos, para obtener una homogenización uniforme una vez pasado este lapso de tiempo, se le adiciono los aceites por ultimo fue la añadidura del aglutinante (Carboximetil celulosa), previamente calentado con agua destilada, se procuro de no adicionárselo caliente, ya que se pierden propiedades de los nutrientes, en donde se dejó en la mezcladora otros 20 minutos, una vez transcurrido este periodo se paso a la máquina pelletizadora en el cual se paso tres veces hasta obtención de la masa final, a continuación los pellets se colocó en una charola con papel, donde se depositó en una estufa a 60°C. Para su cocción, tratando de estar retirándoles, el papel cada cuatro horas, para su cocimiento uniforme.

Tabla 26. Formulación de dietas experimentales desarrolladas en el laboratorio de acuicultura de la DAC-BIOL en la alimentación de prejuveniles (0.5) del pejelagarto (*A. tropicus*)

INGREDIENTES	5%	10%	15%	20%
Caseína	44.57	45.13	45.69	46.25
Harina de sorgo	38.00	32.15	26.30	20.39
Aceite de pescado de Menhaden	2.02	5.81	9.60	12.95
Lecitina de soya	1.00	2.50	4.00	6.00
Harina de sardina	10.00	10.00	10.00	10.00
Carboximetil celulosa	3.00	3.00	3.00	3.00
L-lisina HCL	0.50	0.50	0.50	0.50
Premezcla de vitaminas	0.25	0.25	0.25	0.25
Minerales	0.15	0.15	0.15	0.15
L-Metionina	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamina C	0.05	0.05	0.05	0.05
BHT	0.004	0.004	0.004	0.004
NUTRIENTES				
Proteína cruda	45.00	45.00	45.00	45.00
Extracto etéreo	5.00	10.00	15.00	20.00
Fibra cruda	3.58	3.49	3.41	3.32
Cenizas	3.17	3.41	3.34	3.27
E.L.N.	42.95	38.1	33.25	28.41

Para el segundo ensayo se tomaron organismos ya crecidos, del área de producción del laboratorio de acuicultura de la DACBIOL. En donde se procedió hacer una biometría a la mitad de la población (160 organismos), para determinar la frecuencia de talla (cm) y peso (g), utilizando una balanza digital (OHAUS M-w3) y un vernier (MARATHON C0-030300).

Se probaron los mismos niveles de lípidos (5, 10, 15 y 20%) con dietas semipurificadas que en el experimento anterior pero esta vez se le añadió óxido crómico al 1 % para probar la digestibilidad aparente de los lípidos (Tabla 27). Este experimento se inició con peces de  $17 \pm 1$  g de peso promedio y una talla promedio de 17.5 cm. El experimento duró 56 días con el fin de obtener un peso promedio de 80 a 90 g.

Tabla 27. Formulación de dietas experimentales desarrolladas en el laboratorio de acuicultura de la DAC-BIOL en la alimentación de juveniles del pejelagarto (*A. tropicus*)

INGREDIENTES	5%	10%	15%	20%
Caseína	44.57	45.13	45.69	46.25
Harina de sorgo	38.00	31.15	25.30	19.39
Aceite de pescado de Menhaden	2.02	5.81	9.60	12.95
Lecitina de soya	1.00	2.50	4.00	6.00
Harina de sardina	10.00	10.00	10.00	10.00
Carboximetil celulosa	3.00	3.00	3.00	3.00
L-lisina HCL	0.50	0.50	0.50	0.50
Premezcla de vitaminas	0.25	0.25	0.25	0.25
Minerales	0.15	0.15	0.15	0.15
L-Metionina	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamina C	0.05	0.05	0.05	0.05
Oxido crómico	1.00	1.00	1.00	1.00
BHT	0.004	0.004	0.004	0.004
NUTRIENTES				
Proteína cruda	45.00	45.00	45.00	45.00
Extracto etéreo	5.00	10.00	15.00	20.00
Fibra cruda	3.58	3.49	3.41	3.32
Cenizas	3.17	3.41	3.34	3.27
E.L.N.	42.95	38.1	33.25	28.41

Para determinar la digestibilidad aparente de los lípidos se a los alimentos experimentales se les agregó el 1% de óxido crómico ( $Cr_2O_3$ ) como marcador externo. Las heces fueron colectadas tres veces al día dos horas después de cada alimentación. La colecta se realizó durante el tiempo que duró el experimento, se hizo mediante sifoneo manual, utilizando mangueras de  $\frac{1}{4}$  de plástico transparente. Después de la colecta se lavaron con agua destilada, siendo luego congeladas a  $-40$  °C para después ser liofilizadas.

Las heces liofilizadas, serán analizadas para determinar óxido crómico ( $Cr_2O_3$ ) y lípidos. Para la determinación de los lípidos se usará el método de Soxhlet por medio de la extracción con éter de petróleo según los métodos de la AOAC. (1995). Para determinar el óxido crómico se apoyará en la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) y modificada por Olvera-Novoa (1994) (Resultados no presentados).

Al final del experimento, se tomaron 3 peces por tinas para ser congelados en un tanque de nitrógeno, para el proceso de liofilización, así en este experimento se recogió las heces diarias, en cada alimentación para los análisis químicos del oxido crómico descritos anteriormente. Para ambos ensayos se realizaron los cálculos de los siguientes índices de crecimiento y calidad del alimento:

1.- Tasa de crecimiento específico (TCE) en peso:

$$TCE = [(ln pf - ln po) / \text{días}] \times 100.$$

Donde:

Pf = peso promedio en g de los peces en el día t

Po = peso inicial de los peces en g

Esta relación establece el aumento en peso del animal al día a través del tiempo y esta representado en (%). (Gracia-López y Castelló-Orvay, 1996).

2.- Factor de condición (FC):

$$FC = (Pf / Lt^3) \times 100$$

Donde:

Pf = peso promedio en g del pez en el día a través del tiempo

Lt = Longitud patrón del organismo en el día t

Este factor es un indicador del estado de robustez en los peces.

3.- Factor de conversión alimenticia (FCA):

$$FCA = Pa/Pg$$

Donde:

Pa = Peso del alimento ingerido (en estado de materia seca expresado en g)

Pg = Peso fresco ganado por el pez en g

Este factor expresa la ganancia en peso obtenida a partir de una unidad de peso del alimento. (Hepher, 1993).

4.- CONSUMO: Consumo total del alimento en función del tiempo.

5.- Ganancia en peso (GP):

$$GP = [(Pf - Po) / Po] \times 100$$

Donde:

Pf = Peso promedio en g de los peces en el día t

P0 = Peso inicial de los peces en g

Este factor define como el % de ganancia en peso obtenido por el pez a través del tiempo

6.- Supervivencia

$$\text{Supervivencia} = (Npf / Npo) \times 100$$

Donde:

Npf = Número de peces al final del experimento

Npo = Número de peces al inicio del experimento

Este factor nos indica el % de supervivencia a lo largo del experimento.

## Resultados.

Primer ensayo (prejuveniles).

Las figuras 37 y 38 muestran que el crecimiento en peso y longitud total de los prejuveniles de pejelagarto muestran in crecimiento continuo donde los peces alimentados con las dietas que contienen 15 % de lípidos dietarios fueron mayores al resto de los tratamientos.

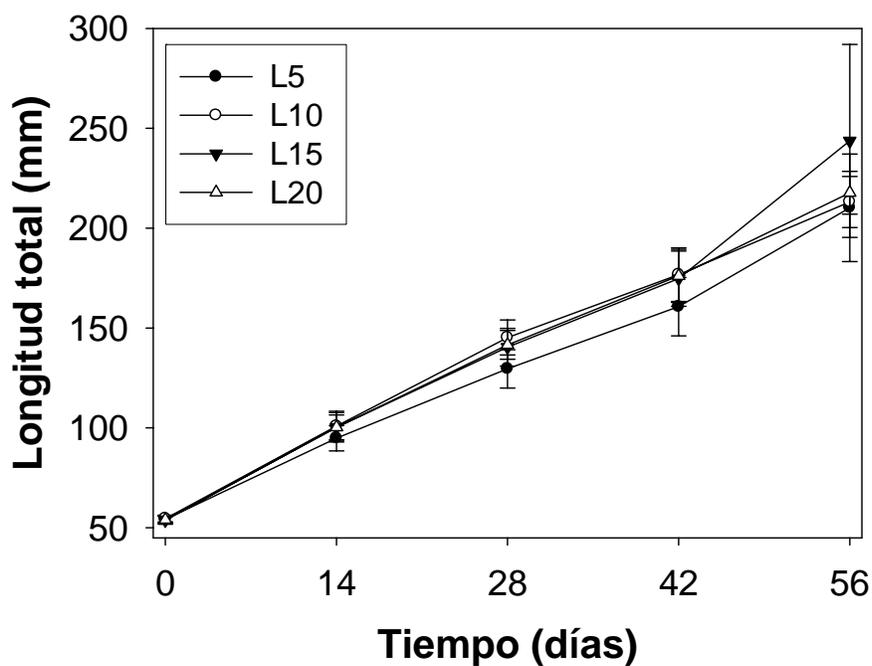


Figura 37. Crecimiento de peso (promedio  $\pm$  DS) de prejuveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

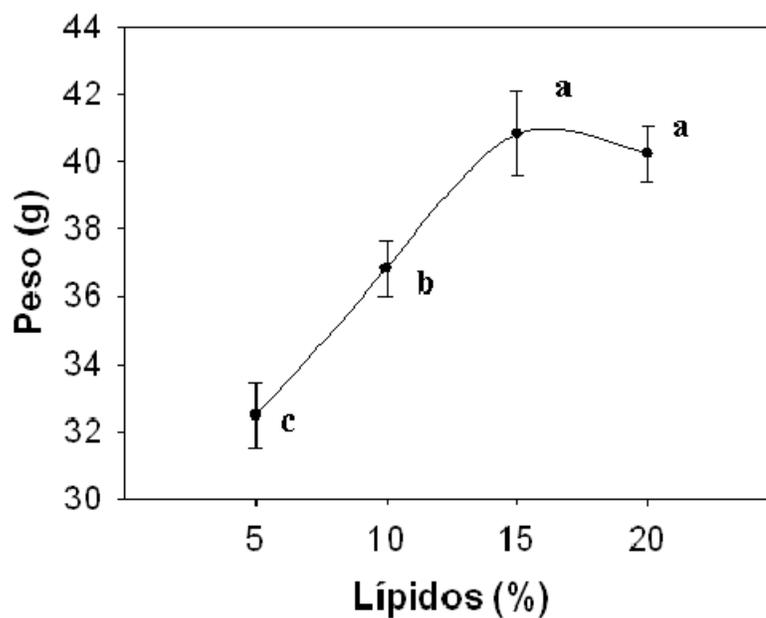


Figura 38. Crecimiento de longitud total (promedio  $\pm$  DS) de prejuveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

Las figuras 39 y 40 mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) donde los peces alimentados con 15 y 20 % de lípidos dietarios fueron mayores tanto en peso como en longitud total al final del experimento que los peces alimentados con 5 y 10% de lípidos.

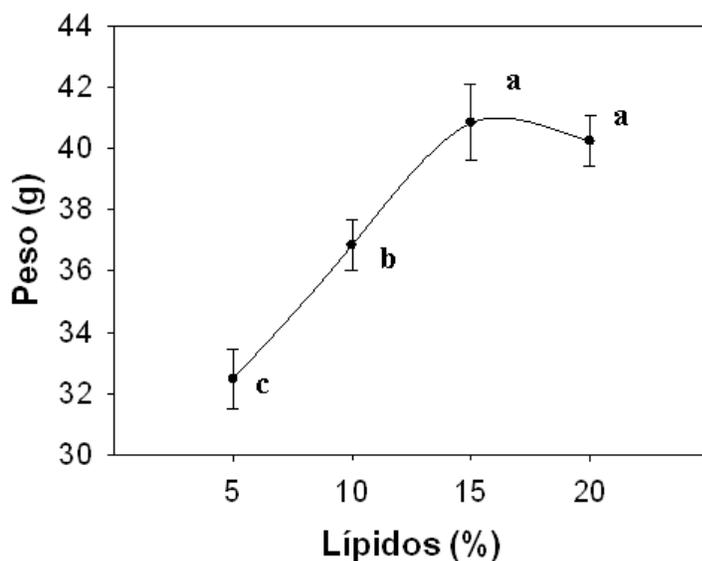


Figura 39. Comparación del peso (promedio  $\pm$  ES) de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

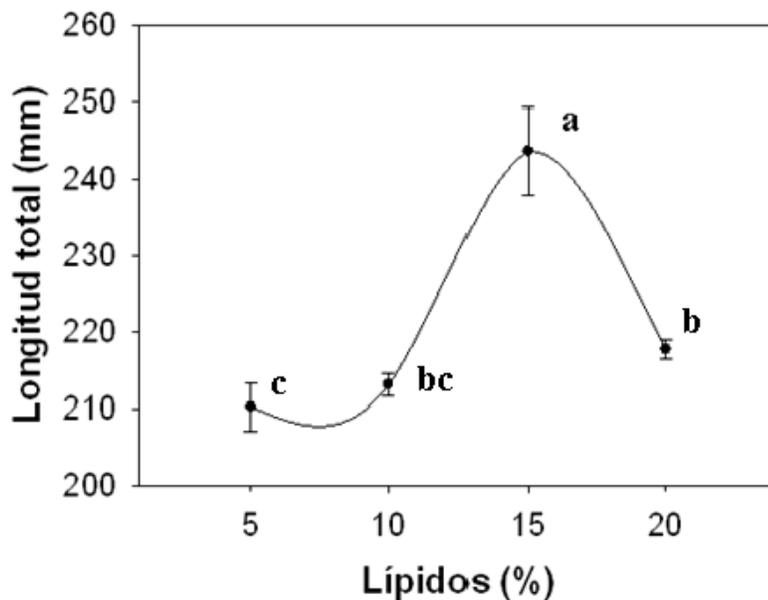


Figura 40. Comparación del peso (promedio  $\pm$  ES) de prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

La Tabla 28 muestra la supervivencia, los índices de crecimiento y calidad del alimento obtenidos durante el experimento de cultivo de prejuveniles de pejelagarto utilizando los diferentes niveles de lípidos dietarios. Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el factor de condición (CF), donde los peces alimentados con 15 % de lípidos dietarios fueron menos robustos que el resto de los tratamientos. En el caso de la ingesta diaria de lípidos (DLI), se detectó que los peces alimentados con la dieta con 20% de lípidos consumieron mayor cantidad de lípidos que el resto de los tratamientos. Finalmente, la tasa de eficiencia lipídica (LER), fue estadísticamente mayor en los peces alimentados con las dietas que contenían 5, 10 y 15%. El resto de los índices no mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla 28. Índices de crecimiento y calida del alimento (promedio  $\pm$  DS) de los prejuveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días.

INDICES	Lípido (%)			
	5	10	15	20
Consumo (g en BH)	341 $\pm$ 127	477 $\pm$ 41	521 $\pm$ 13	457 $\pm$ 108
WG (%) <sup>1</sup>	5551 $\pm$ 1302	6325 $\pm$ 963	6980 $\pm$ 1358	6277 $\pm$ 779
Supervivencia (%) <sup>2</sup>	96 $\pm$ 7	99 $\pm$ 2	95 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6
FCR <sup>3</sup>	0.4 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1	0.5 $\pm$ 0.1
SGR (%/día) <sup>4</sup>	7.2 $\pm$ 0.3	7.4 $\pm$ 0.2	7.7 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.1
CF <sup>5</sup>	0.35 $\pm$ 0.03 <sup>a b</sup>	0.38 $\pm$ 0.01 <sup>a b</sup>	0.29 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.39 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
DFI (g/día) <sup>6</sup>	0.61 $\pm$ 0.19	0.81 $\pm$ 0.03	0.86 $\pm$ 0.02	0.77 $\pm$ 0.14
DLI <sup>7</sup>	0.031 $\pm$ 0.010 <sup>b</sup>	0.081 $\pm$ 0.003 <sup>a b</sup>	0.128 $\pm$ 0.003 <sup>a b</sup>	0.154 $\pm$ 0.029 <sup>a</sup>
LER <sup>8</sup>	58.8 $\pm$ 40.4 <sup>a</sup>	20.6 $\pm$ 4.4 <sup>a b</sup>	13.3 $\pm$ 2.5 <sup>a b</sup>	10.5 $\pm$ 2.3 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Ganacia porcentual (GW%), <sup>2</sup>Supervivencia, <sup>3</sup>Factor de conversión alimenticio (FCR), <sup>4</sup>Tasa de crecimiento específico (SGR), <sup>5</sup>Factor de condición (CF), <sup>6</sup>Consumo de alimento diario (DFI), <sup>7</sup>Consumo diario de lípidos (DLI), <sup>8</sup>Tasa de eficiencia lipídica (LER).

Superíndices diferentes entre renglones muestran diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### *Segundo ensayo (juveniles).*

El crecimiento tanto en peso como en longitud total de los peces alimentados con las dietas experimentales tuvieron una tendencia similar. Sin embargo, los peces alimentados con la dieta que contenía 10 % de lípidos dietarios alcanzaron el mayor crecimiento (Figs. 41, 42 y 43)

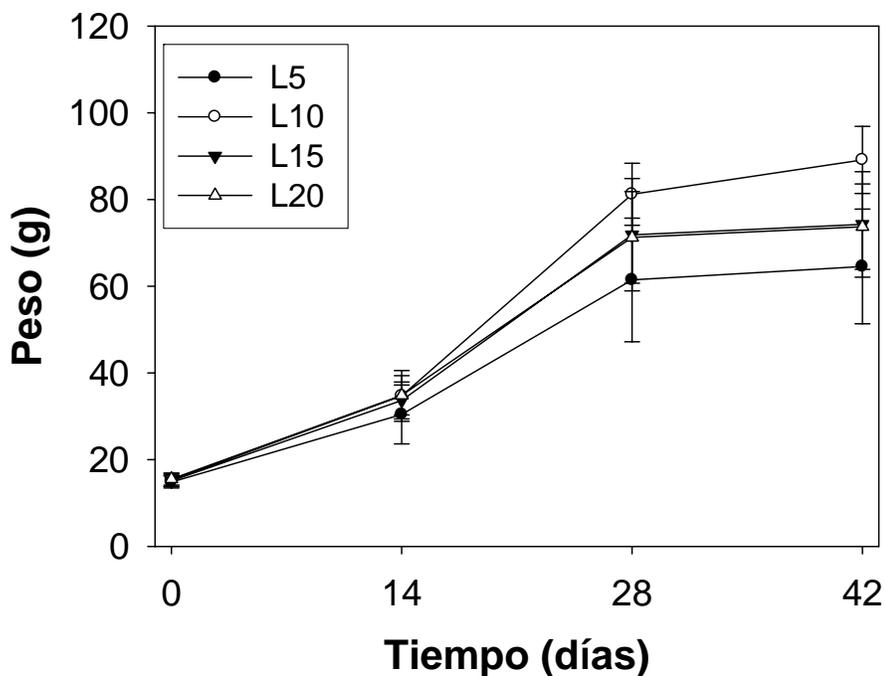


Figura 41. Crecimiento de peso (promedio  $\pm$  DS) de juveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

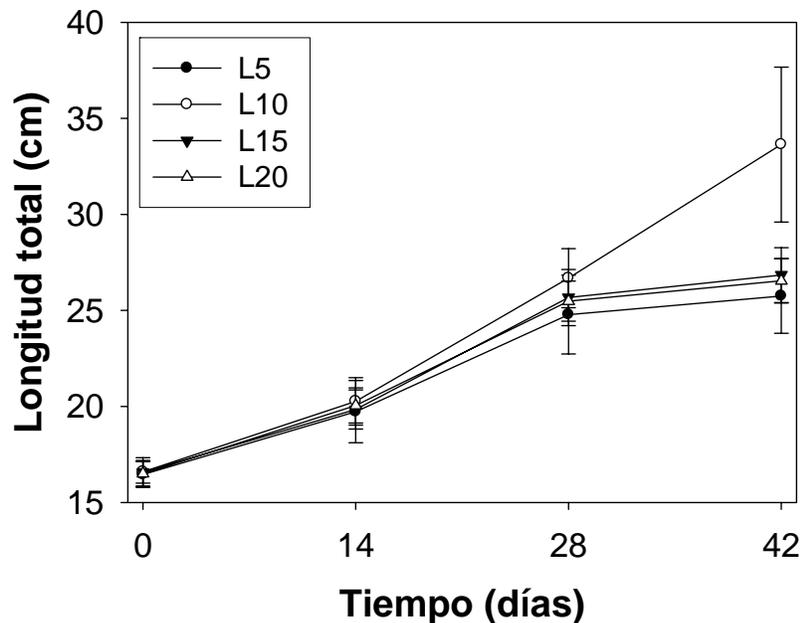


Figura 42. Crecimiento de longitud total (promedio  $\pm$  DS) de juveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

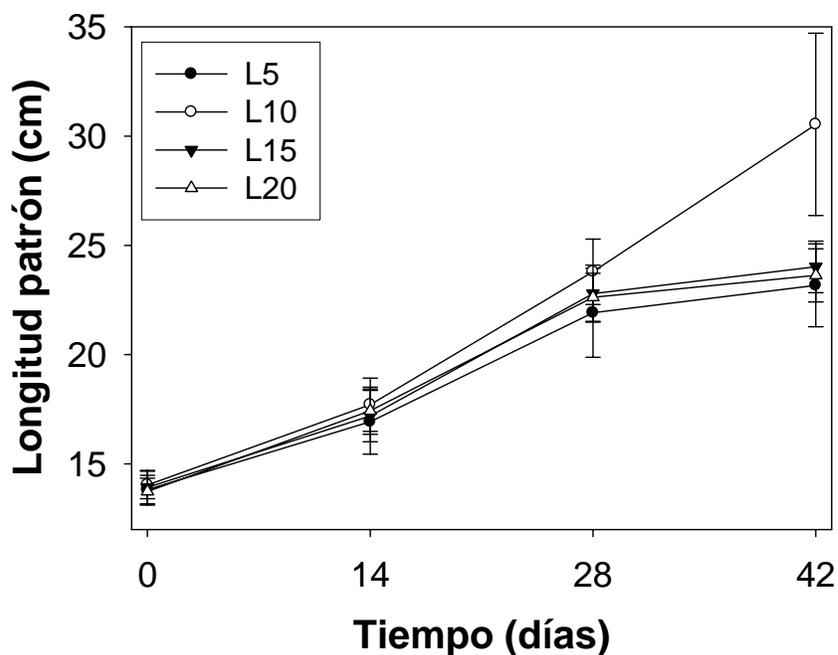


Figura 43. Crecimiento de longitud patrón (promedio  $\pm$  DS) de juveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

Al analizar el crecimiento en peso, longitud total y longitud patrón, correspondiente a la última biometría (día 42), se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), donde los peces alimentados con la dieta experimental que contenía 10% de lípidos dietarios, fueron mucho mayores que los peces alimentados con el resto de los tratamientos (Figs. 44, 45 y 46).

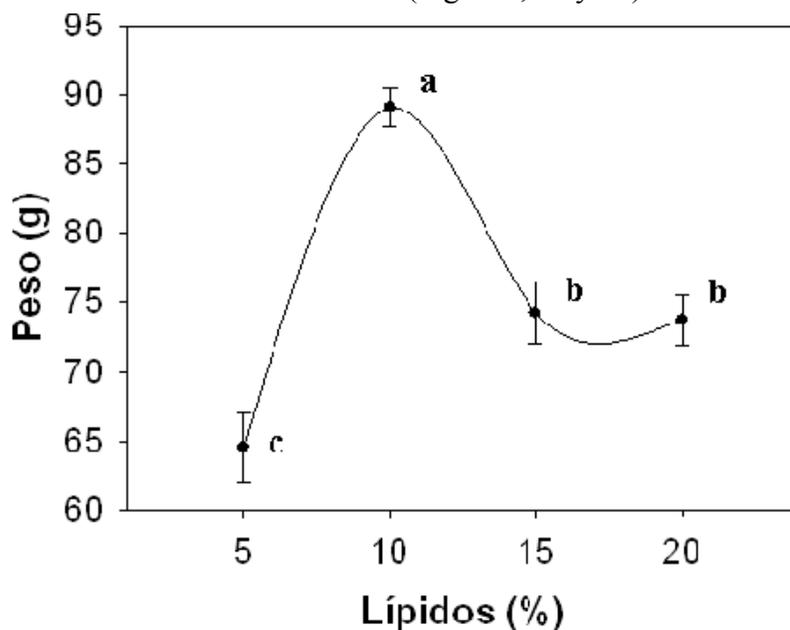


Figura 44. Comparación del peso (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

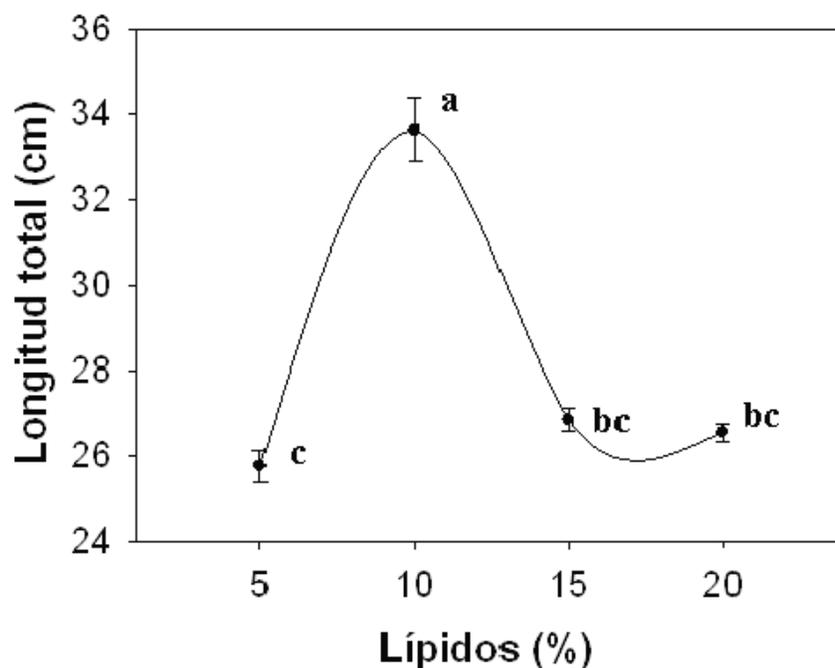


Figura 45. Comparación de la longitud total (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

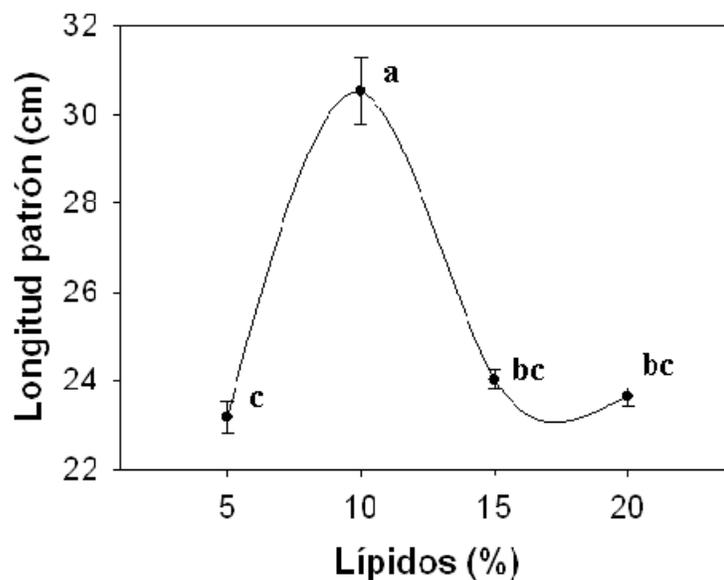


Figura 46. Comparación de la longitud patrón (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarato alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 56 días. L5: 5% de lípido dietario, L10: 10% de lípido dietario, L15: 15% de lípido dietario y L20: 20% de lípido dietario.

La Tabla 29 muestra la supervivencia, los índices de crecimiento y calidad del alimento obtenidos durante el experimento de cultivo de juveniles de pejelagarto utilizando los diferentes niveles de lípidos dietarios. Se detectaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en el factor de conversión alimenticio (FCR), donde los peces alimentados con 10 % de lípidos dietarios tuvieron el menor valor que el resto de los tratamientos. Para el factor de condición (CF), los peces menos robustos fueron aquellos alimentados con la dieta del 10% de lípidos. En el caso de la ingesta diaria de lípidos (DLI), se detectó que los peces alimentados con la dieta con 20% de lípidos consumieron mayor cantidad de lípidos que el resto de los tratamientos. Finalmente, la tasa de eficiencia lipídica (LER), fue estadísticamente mayor en los peces alimentados con las dietas que contenían 5, 10 y 15%. El resto de los índices no mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla 29. Índices de crecimiento y calidad del alimento (promedio  $\pm$  DS) de los juveniles de pejelagarto alimentados con dietas semipurificadas usando cuatro niveles de lípidos a los 42 días.

INDICES	Lípido (%)			
	5	10	15	20
Consumo (g en BH)	583 $\pm$ 24	629 $\pm$ 43	581 $\pm$ 36	586 $\pm$ 18
WG (%)	306 $\pm$ 20	484 $\pm$ 30	375 $\pm$ 83	375 $\pm$ 57
Supervivencia (%)	93 $\pm$ 5	100 $\pm$ 0	97 $\pm$ 6	100 $\pm$ 0
FCR	1.22 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.81 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	1.00 $\pm$ 0.17 <sup>ab</sup>	0.97 $\pm$ 0.13 <sup>ab</sup>
SGR (%/día)	2.6 $\pm$ 0.2	3.2 $\pm$ 0.1	2.8 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 0.2
CF	0.38 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.24 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	0.38 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.39 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>
DFI (g/día)	1.10 $\pm$ 0.08	1.11 $\pm$ 0.15	0.99 $\pm$ 0.06	1.03 $\pm$ 0.08
DLI	0.055 $\pm$ 0.004 <sup>b</sup>	0.111 $\pm$ 0.015 <sup>ab</sup>	0.148 $\pm$ 0.009 <sup>ab</sup>	0.206 $\pm$ 0.017 <sup>a</sup>
LER	16.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	12.4 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	6.8 $\pm$ 1.2 <sup>ab</sup>	5.2 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>

Supr Índices diferentes entre renglones muestran diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

### 3) Uso de Alimentos Prácticos en la Engorda de Pejelagarto.

#### 3.1 Engorda de pejelagarto con alimentos comerciales en estanques de concreto.

##### Materiales y Métodos

Los juveniles de pejelagarto empleados en este trabajo provienen de un lote de 3000 juveniles que se obtuvieron del desove de progenitores cautivos en julio en el Laboratorio de Acuicultura de la División Académica de Ciencias Biológicas.

Al inicio del experimento los organismos tenían un rango de peso de 35 a 45 g. Cabe mencionar que en este mes (Febrero-Marzo), los organismos fueron aclimatándose paulatinamente a los alimentos comerciales a probar.

Se realizó un diseño factorial 2 x 2 completamente al azar el cual consistió en 4 tratamientos con dos estrategias alimenticias; (factor 1: marca de alimento con dos niveles, factor 2: estrategia de alimentación con dos niveles). Cada uno de los tratamientos fue triplicado (Tabla 30). Se utilizaron un total de 12 estanques de concreto de 1 m de ancho x 5 m de largo, con profundidad de 1 m; cada unidad experimental con 90 ejemplares juveniles, para una biomasa inicial promedio de 3700 gramos ( $\pm$  1.5 g). La duración estimada del experimento fue de 6 meses.

Tabla 30. Diseño experimental utilizado para la engorda de pejelagarto utilizando alimentos comerciales y estrategias de alimentación.

Tratamientos	Marca del Alimento	Factor	Replica	Volumen del Cultivo (m) <sup>3</sup>
T <sub>1</sub>	Pedregal	Por demanda	3	5
T <sub>2</sub>		Por biomasa	3	
T <sub>3</sub>	As	Por demanda	3	5
T <sub>4</sub>		Por biomasa	3	

La alimentación se realizó utilizando dos estrategias alimenticias:

1. Por demanda: Esta estrategia implica 2 alimentaciones diarias en horas específicas (9:00 y 18:00 hrs.), a los organismos se les suministró alimento a saciedad. Al inicio y término de cada alimentación, se pesó el alimento de cada unidad experimental, para llevar un control de la cantidad consumida.

2. En base a la biomasa: el alimento se suministró a razón del 5% de la biomasa total del estanque, dividida en las dos raciones diarias, respetando el horario ya estipulado. El ajuste en la cantidad de alimento para esta estrategia se realizó cada 30 días. El tamaño del alimento balanceado empleado en el experimento fue de 3.5 mm.

Antes de iniciar el experimento se validó la composición química de los alimentos comerciales (Tabla 31).

Tabla 31. Composición química que viene impresa en los bultos de los alimentos comerciales a probar en este experimento.

COMPUESTO	AS (%)	PEDREGAL (%)
<i>Proteína (min)</i>	45	45
<i>Grasa (min)</i>	12	16
<i>Fibra (max)</i>	5	2.5
<i>Ceniza (max)</i>	10	12
<i>Humedad (max)</i>	12	10
<i>E.L.N. mínimo</i>	16	

Mensualmente se tomó una muestra de 30 ejemplares de cada unidad experimental para realizar la determinación del crecimiento en peso y longitud de los ejemplares. El peso se obtuvo mediante el uso de una balanza electrónica, modelo PCR-20 Clase III con suministro de energía de 127 Vca, Multirango con capacidad de 0-4 x 0.002 Kg. y 4-20 x 0.005 Kg. de la marca TOROREY; la longitud mediante un ictiometro. La supervivencia se obtuvo cada mes por conteo directo de los organismos y los valores se expresaron en porcentaje para su comparación.

Diariamente se realizó un recambio del agua del fondo del estanque de un 10% (500 litros) del volumen total (5 m<sup>3</sup>) y una vez a la semana del 50%. Cuando se alcanzaron 15 días de cultivo se realizó un cambio del 100% del agua y se inició nuevamente con el esquema antes descrito.

Durante el desarrollo del ensayo, se realizó un monitoreo cada 15 días de parámetros tales como la temperatura, el oxígeno disuelto, pH, nitritos, nitratos y amonio en los estanques donde se

llevó a cabo el experimento y de donde se obtuvo el agua para el desarrollo del mismo; con el fin de garantizar las condiciones adecuadas del agua. La temperatura y oxígeno disuelto se obtuvieron por medio de un oxímetro marca YSI Modelo 95/10FT. Cabe mencionar que por la mañana, antes de la primera alimentación se tomaron ambos parámetros y por la tarde antes de la segunda alimentación se tomó solamente la temperatura. Los nitritos, nitratos, amonio y pH se determinaron con ayuda de un Multiparameter Bench Spectrophotometer con suministro de energía de 12 a 20 volts, marca HANNA Instruments, se midieron los parámetros aquí mencionados.

Con el cálculo del consumo de alimento se determinaron los índices de crecimiento y calidad del alimento como se ha mencionado en apartados anteriores.

Los datos de crecimiento fueron analizados con el programa estadístico STAT GRAPHICS, en el que se les aplicó a los datos un Análisis de Varianza (ANOVA de Una Vía) para conocer si los datos obtenidos en las biometrías eran los adecuados para realizar un Análisis de tipo Paramétrico. Posteriormente, a los datos se les aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA Multifactorial), en la cual, se realizó una comparación estadística del peso de los organismos de cada tratamiento contra los factores (estrategia alimenticia y tipo de alimento) para conocer si existía diferencia significativa entre estos.

### **Resultados.**

En cuanto al crecimiento en peso, longitud total y longitud patrón, no se detectaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) para ni para el tipo de alimento ni para la interacción alimento-estrategia alimenticia, pero si se detectó diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) solo para el factor de estrategia donde los peces alimentados con la dieta se Silver cup fueron mayores que los peces alimentados con la dieta AS (Figs. 47, 48 y 49).

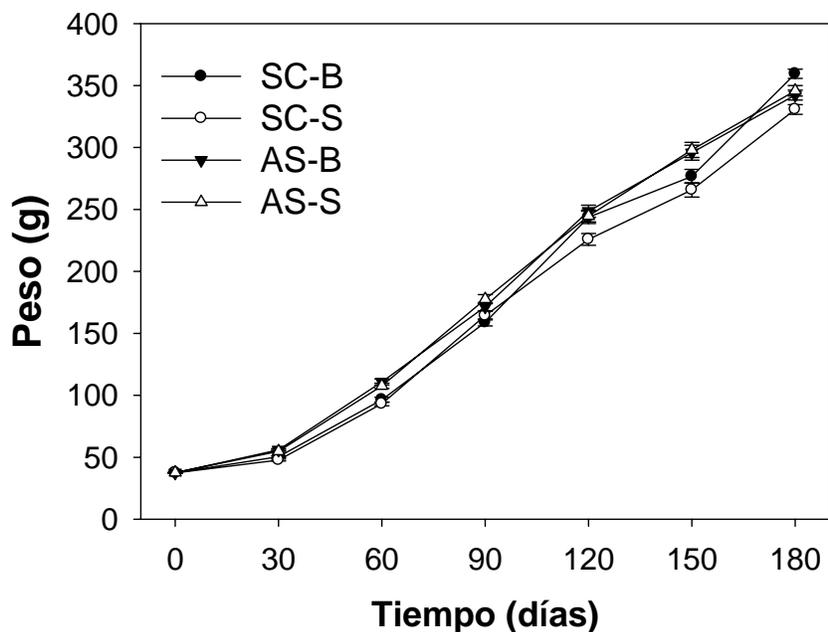


Figura 47. Crecimiento en peso (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarto alimentados con las dos dietas comerciales y las dos estrategias de alimentación. SC: Alimento Silver Cup, AS: Alimento AS, B: Porcentaje de la Biomasa (10%), S: Saciedad aparente.

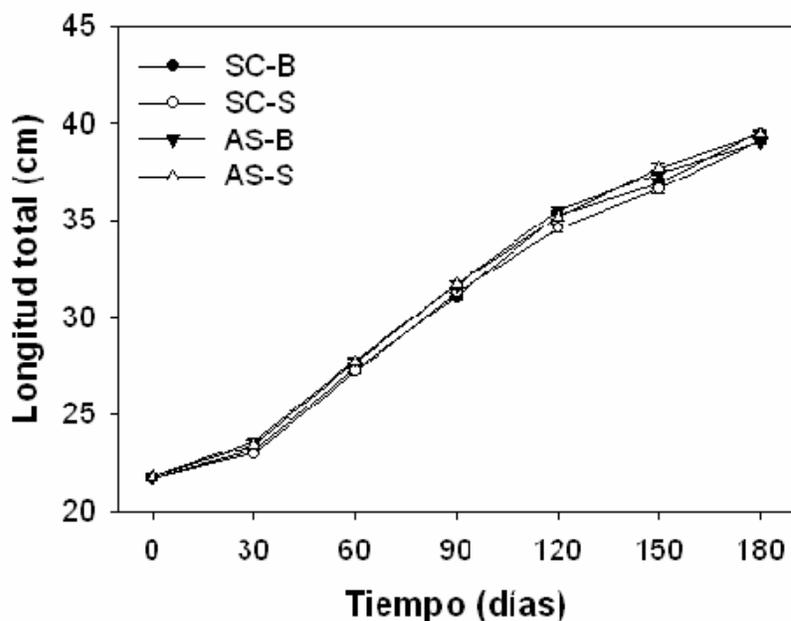


Figura 48. Crecimiento en longitud total (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarto alimentados con las dos dietas comerciales y las dos estrategias de alimentación. SC: Alimento Silver Cup, AS: Alimento AS, B: Porcentaje de la Biomasa (10%), S: Saciedad aparente.

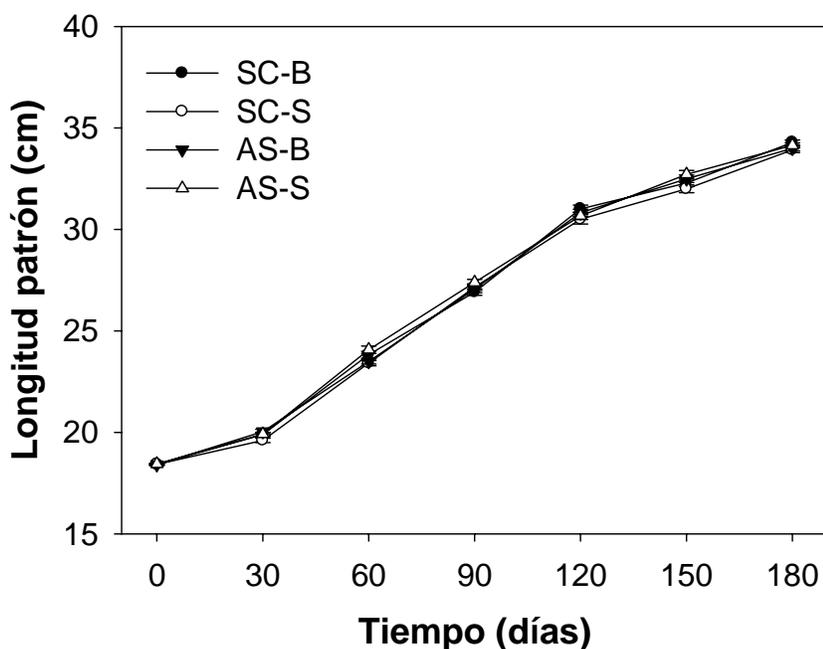


Figura 49. Crecimiento en longitud patrón (promedio  $\pm$  ES) de juveniles de pejelagarto alimentados con las dos dietas comerciales y las dos estrategias de alimentación. SC: Alimento Silver Cup, AS: Alimento AS, B: Porcentaje de la Biomasa (10%), S: Saciedad aparente.

En el caso de los índices de crecimiento y calidad del alimento, no se detectaron diferencias significativas entre los peces alimentados con las dietas comerciales (Silver cup o As) o con las

diferentes estrategias de alimentación (Biomasa o Sacidad aparente), ni para la interacción (Tabla 32).

Tabla 32. Índices de crecimiento y calidad del alimento determinados durante la alimentación de pejelagarto.

Trat	Ganancia (%)	FCA	GDP (g/d)	FC	AID	TEC (%/d)	Consumo (g)	Sup (%)
SC-B	85.8 ± 0.8	2.0 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.3 ± 0.1	39.9 ± 0.9	95.9 ± 1.7
SC-S	85.1 ± 1.8	2.3 ± 0.2	1.5 ± 0.2	0.5 ± 0.1	3.4 ± 0.2	1.3 ± 0.1	44.2 ± 3.0	94.4 ± 4.8
AS-B	87.2 ± 0.7	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	3.1 ± 0.1	1.4 ± 0.1	42.5 ± 0.4	99.6 ± 0.6
AS-S	87.1 ± 0.7	2.1 ± 0.1	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1	3.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1	48.8 ± 0.7	98.9 ± 1.1

### 3.2 Sustitución de harina de pescado por harinas renderers en alimentos prácticos para pejelagarto.

#### Materiales y Métodos.

Se realizó un ensayo para evaluar la sustitución de harina de pescado por harinas animales renderers en alimentos prácticos en juveniles del pejelagarto.

Los peces se obtuvieron a partir del desove inducido de una hembra y tres machos del lote de reproductores del Laboratorio de Acuicultura UJAT-DACBIOL.

Una vez que las larvas absorbieron el vitelo fueron alimentadas con presas vivas (Nauplios de Artemia) por 15 días, para después suministrarles biomasa de Artemia congelada por otros 15 días y realizar el proceso de adaptación al alimento artificial (Silver Cup trucha) por otros 10 días. Una vez que los peces fueron adaptados al alimento artificial se seleccionaron 750 peces ( $0.5 \pm 0.05$  g) sembrando 50 peces por tina.

El ensayo fue realizado en un sistema de recirculación, el cual consta de 30 tinajas circulares de plástico de 80 L de capacidad conectados a un filtro biológico, luz UV, filtro de arena y termostato de titanio.

El diseño experimental fue simple completamente aleatorizado comparando tres alimentos prácticos diseñados y un control de alimento comercial, todos los alimentos fueron formulados isoproteínicos e isolipídicos (45% de proteína y 15% lípidos).

Tratamiento 1. Sustitución al 100% de harina de pescado con harina de pollo.

Tratamiento 2. Sustitución al 100% de harina de pescado con harina de cerdo.

Tratamiento 3. Alimento con 100% de harina de pescado (sardina).

Tratamiento 4. Alimento comercial para trucha (Silver Cup trucha, 45 % proteína y 16 % lípidos).

Los peces fueron alimentados a saciedad aparente tres veces al día (08:00, 13:00 y 18:00 horas), la duración del ensayo fue de 45 días.

Las formulaciones de los alimentos prácticos fueron realizadas con ayuda del programa MixitWin v.5.0. Los alimentos fueron fabricados de la misma manera descrita en apartados anteriores (NOTA: Las formulaciones no se muestran ya que están en trámite de patente).

Durante el desarrollo de ambos ensayos se monitoreó diariamente la calidad del agua a través de la temperatura, OD y pH, y semanalmente las concentraciones de amonio, nitrito y nitratos.

Cada 15 días se realizaron biometrías para evaluar el peso y longitud total de toda la población. Al final de ambos ensayos se determinaron los mismos índices de crecimiento y calidad del alimentos, así como la supervivencia de acuerdo a lo mencionado en apartados anteriores.

**Resultados.**

El menor crecimiento en peso se presentó a los 15 días de haber iniciado el experimento en los juveniles tempranos que recibieron la dieta con harina de pollo, la cual fue significativamente diferente de los demás tratamientos.

Los ejemplares que se les suministró la dieta con harina de pescado tuvieron un crecimiento en peso similar a los del grupo con la dieta control. Fueron de mayor peso que los alimentados con la dieta con harina de pollo existiendo diferencias significativas al ser comparados (Fig. 50 y 51). El crecimiento en talla tuvo un comportamiento similar al crecimiento en peso. Los ejemplares alimentados con la dieta con harina de puerco presentaron una mayor talla (198 mm), seguidos por los grupos que recibieron la dieta control (197 mm) y con la dieta de harina de pescado (195 mm), no se observaron diferencias significativas al ser comparados estadísticamente (Fig. 52 y 53).

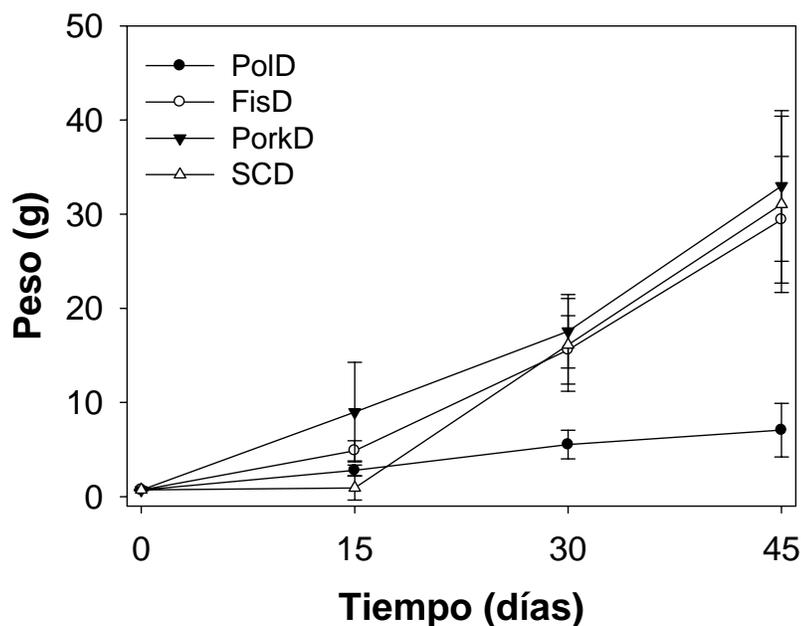


Figura 50. Crecimiento en peso ( $g \pm DS$ ) de los pejelagartos alimentados con las dietas experimentales. Polo: Dieta de Pollo, FisD: Dieta de pescado, PorkD: Dieta de puerco, SCD: Dieta Silver Cup trucha.

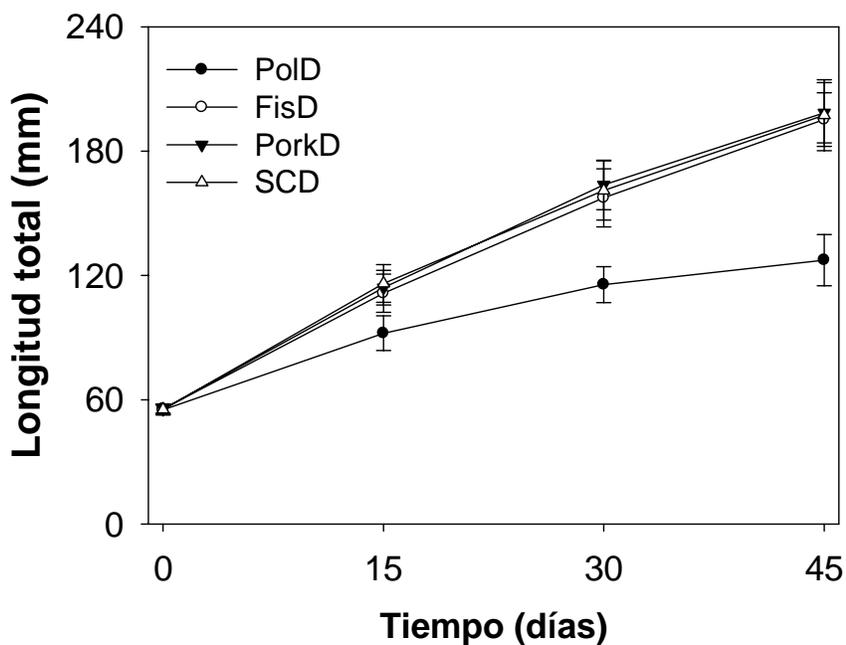


Figura 51. Crecimiento en Longitud total (mm  $\pm$  DS) de los pejelagartos alimentados con las dietas experimentales. Pollo: Dieta de Pollo, FisD: Dieta de pescado, PorkD: Dieta de puerco, SCD: Dieta Silver Cup trucha

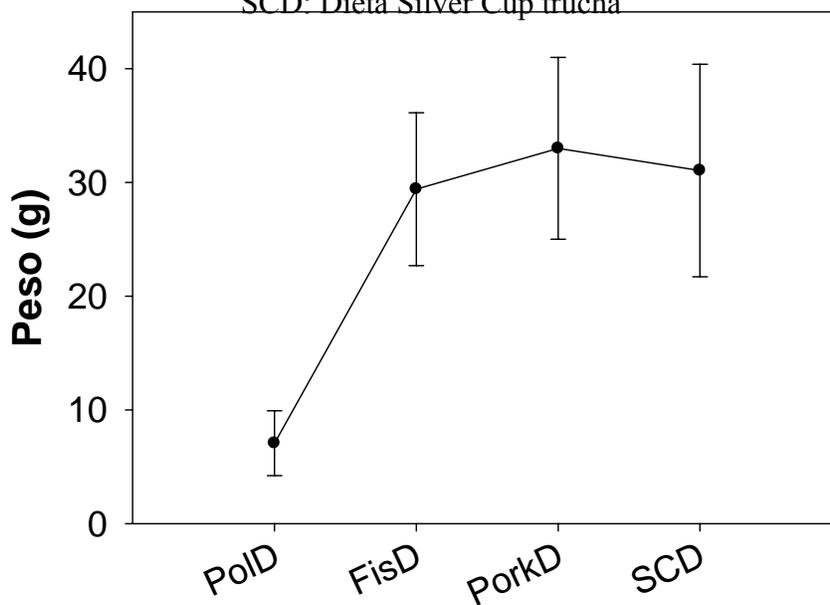


Figura 52. Comparación en peso (g  $\pm$  DS) en el día 45 de experimentación de los pejelagartos alimentados con las dietas experimentales. Pollo: Dieta de Pollo, FisD: Dieta de pescado, PorkD: Dieta de puerco, SCD: Dieta Silver Cup trucha.

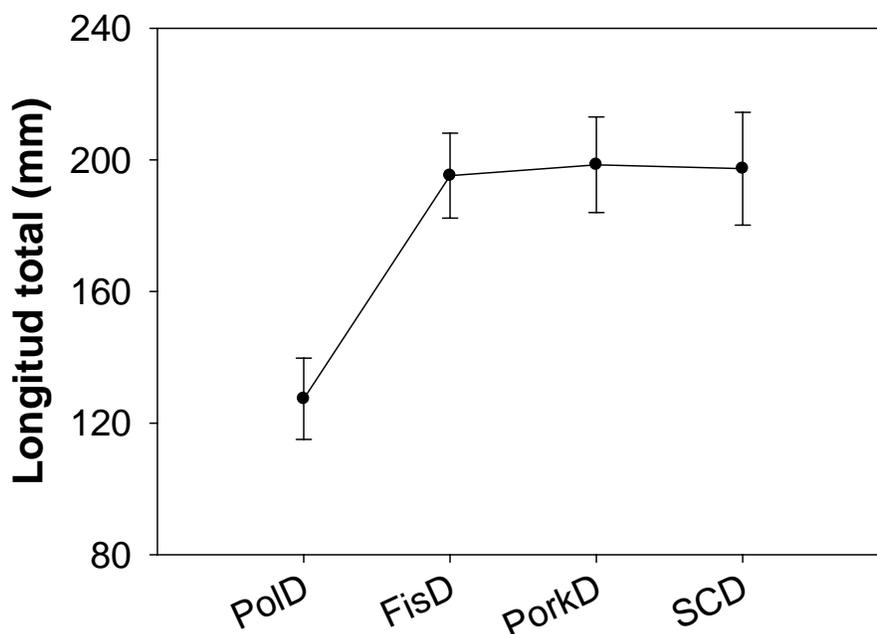


Figura 53. Comparación en Longitud total (mm  $\pm$  DS) en el día 45 de experimentación de los pejelagartos alimentados con las dietas experimentales. Polo: Dieta de Pollo, FisD: Dieta de pescado, PorkD: Dieta de puerco, SCD: Dieta Silver Cup trucha.

Los índices de crecimiento y calidad del alimento mostraron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) solamente para el alimento con 100% de harina de cerdo (PolD), donde los peces tuvieron los menores valores en torno al PER, DFI, CF, Consumo, WG%, Peso promedio final y supervivencia. Así como el valor más alto para el FCR (Tabla 33).

Tabla 33. Índices de crecimiento y calidad del alimento obtenidos durante la alimentación de juveniles de pejelagarto con alimentos prácticos.

Dieta	Peso final	WG %	Consumo	FCR	Supervivencia	SGR	CF	DFI	PER
PolD	7.1 <sup>b</sup>	1412.8 <sup>b</sup>	363.0 <sup>b</sup>	1.1 <sup>a</sup>	74.4 <sup>b</sup>	4.11 <sup>b</sup>	0.37 <sup>b</sup>	0.70 <sup>b</sup>	2.59 <sup>b</sup>
FisD	29.4 <sup>a</sup>	4020.5 <sup>a</sup>	616.5 <sup>a</sup>	0.7 <sup>b</sup>	97.8 <sup>a</sup>	6.65 <sup>a</sup>	0.40 <sup>a</sup>	1.05 <sup>a</sup>	4.31 <sup>a</sup>
PorkD	33.0 <sup>a</sup>	4499.4 <sup>a</sup>	623.2 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	94.4 <sup>a</sup>	6.87 <sup>a</sup>	0.42 <sup>a</sup>	1.02 <sup>a</sup>	4.73 <sup>a</sup>
SCD	31.1 <sup>a</sup>	4111.0 <sup>a</sup>	604.2 <sup>a</sup>	0.6 <sup>b</sup>	90.0 <sup>a</sup>	6.74 <sup>a</sup>	0.40 <sup>a</sup>	1.03 <sup>a</sup>	3.52 <sup>a</sup>

## 2. Discusión.

### 3.

Esta publicación representa el esfuerzo de 20 años de investigación no solamente en los aspectos de alimentación y nutrición del pejelagarto, sino también en estudios de básicos como son los aspectos para la determinación del estado actual de las poblaciones naturales en Tabasco (Márquez *et al.*, 2003). Wiley (1976) realizó una revisión filogenética y biogeográfica de las especies recientes y fósiles de este grupo. Asimismo, Reséndez y Salvadores (1983) reportaron que esta especie se localiza en aguas muy fangosas, con abundante vegetación acuática y con un intervalo variable de profundidad que va de 0.50 a 1.0 m. Por otra parte, Alemán y Contreras

(1987) determinaron que la temporada de reproducción se ubica entre los meses de junio y julio, donde se forman grupos o cardúmenes, pero que es una especie poco gregaria, su reproducción coincide con la inundación de áreas pantanosas, siendo someras (30-60cm.) y con abundante vegetación: lirio acuático (*Eichornia crassipes*), pasto (*Paspalum sp*), espadaño (*Typha latifolia*), popal (*Thalia geniculata*), lechuguilla (*Pistia stratiotes*) y abundante pasto estrella (*Cynodon plectostachyus*). Las concentraciones de oxígeno disuelto son bajas y fluctúan entre 0.4 y 1.0 mg/l mientras que la variación diurna de la temperatura del agua es de 28.5 a 32.5 ° C. Adicionalmente se estudió el desarrollo reproductivo (ovogénesis y espermatogénesis) a través de técnicas histológicas en organismos silvestres y en cautiverio. Recientemente, se estudió la maduración de reproductores a través de la determinación de los niveles de vitelogenina y hormonas reproductivas (Pérez, 1995; Mora, 1997; Pérez y Páramo, 1998; Hernández, 2002). En este mismo contexto, se ha logrado domesticar durante los últimos 8 años a organismos reproductores, los cuales fueron la base para los estudios de inducción por medio de inyección de ovaprim y la inserción de implantes de colesterol de aLHRH. Este tipo de técnicas han sido exitosamente usados en muchos otros peces, tanto marinos como dulceacuícolas (Frantzen et al., 1997; Henningsen, 1999; Asturiano et al., 2000). El éxito obtenido en este sentido, ha logrado que desde hace seis años se estén realizando inducciones continuas de los reproductores mantenidos en cautiverio y gracias a esto se ha logrado determinar que las hembras dependiendo de la talla (edad), desovan alrededor de 12,000 huevos por Kg. Además de esta información, se ha evaluado la proporción sexual adecuada siendo de 3 a 1 machos: hembras, utilizando esta proporción se ha logrado obtener un 95% de fertilización y un 98 % de eclosión.

En otro orden de ideas, una vez establecidas las bases para lograr la reproducción de esta especie, se iniciaron con los primeros intentos para desarrollar el larvicultivo, los primeros intentos fueron poco exitosos logrando supervivencias no mayores al 1%. Adicionalmente, a los experimentos presentados en este documento para estudiar la alimentación y nutrición de las larvas, se realizó la implementación de sistemas de recirculación para mejorar la calidad del agua. Es importante mencionar que Díaz y Otero (1991) evaluó el crecimiento de larvas y juveniles, en base a su alimentación, con tres diferentes tipos de alimento vivo: zooplancton (Cladóceros y Copépodos), larvas de mosco del género (*Culex sp.*) y *Poecilia sphenops*; encontrando que las larvas y los juveniles alcanzan una longitud de 10 cm y un peso de 4.37 g. a los 75 días de vida, superando su etapa crítica de alimentación a los 30 días de haber eclosionado. Sugiriendo que a partir de este tiempo ya pueden reincorporarse a medios naturales con fines de repoblamiento.

Desde el punto de vista del desarrollo tecnológico, el éxito de cualquier cultivo radica principalmente en abordar los problemas de manera integral, en este sentido los aspectos alimenticios y nutricionales son fundamentales si se quiere asegurar la supervivencia de los organismos durante sus diferentes etapas de cultivo. En el caso de los reproductores el manejo es similar al realizado para otras especies de peces con características de desovador sincrónico, donde en el periodo fuera de temporada de apareamiento, son mantenidos con alimentos comerciales, pero cuando se acerca la etapa de reproducción se inicia la alimentación con pescado fresco, sin embargo existen estudios recientes con miras a sustituir la utilización de este tipo de alimento por alimentos artificiales como en el caso de *Seriola mazatlanana*, *Paralichthys woolmani* y *Dicentrarchus labrax* (Benedetti, 1997; Bruce et al., 1999; Izquierdo et al., 2001), para el pejelagarto, este tipo de estudios todavía no han sido realizados, por lo cual este campo de investigación se encuentra en desarrollo.

En el caso de los estudios sobre la alimentación y nutrición de larvas, se ha logrado avanzar enormemente al optimizar el uso de nauplios de *Artemia* y biomasa de *Artemia* para la

alimentación a través de los estudios de tipos de presas, frecuencias alimenticias y hora de alimentación para las larvas. Para esta especie, uno de los principales problemas es el abastecimiento de alimento durante los primeros días de cultivo, lo que puede ocasionar un alto canibalismo, por lo que se debe realizar un manejo muy exhaustivo durante estos primeros días separando y aislando rápidamente los individuos que presentan este comportamiento. En este aspecto, si se quiere disminuir o evitar este fenómeno, es necesario asegurar un suministro continuo y adecuado de alimento que cubra adecuadamente su requerimiento nutricional, por lo cual la frecuencia de alimentación juega un papel fundamental para evitar el canibalismo, donde se ha demostrado que una frecuencia de al menos cuatro veces al día es adecuada para minimizar este problema. De esta manera, se iniciaron los estudios para implementar la sustitución de presas vivas por alimento artificial, lográndose resultados prometedores al observarse que es posible iniciar la coalimentación a con alimento artificial a partir del sexto día postalimentación y eliminando completamente el uso de presas vivas a partir del día 16 postalimentación. El éxito obtenido en relación al uso de alimentos artificiales es aun mayor gracias a los estudios sobre los requerimientos nutricionales y la digestibilidad *in vitro* para estos organismos, lo cual ha permitido desarrollar un alimento artificial específico para esta etapa de vida (datos no presentados). Este tipo de estudios han sido realizados con éxito en otras especies, las cuales actualmente están siendo cultivadas de manera comercial con peces de agua dulce y marinos (Coutteau *et al.*, 1995; Hart y Purser, 1996; Rosenlund *et al.*, 1997; Baskerville-Bridges y Kling, 2000).

Una vez que la adaptación al alimento artificial se consigue, el canibalismo cesa totalmente, lo cual coincide con el momento de la transformación de larva a juvenil, en este periodo de vida se inicia el proceso denominado preengorda, para lo cual se ha utilizado el alimento para trucha (45% de proteína y 16% de lípidos), cabe mencionar que con la utilización de este alimento comercial se avanzó de manera extraordinaria durante este proceso, pero actualmente se ha concluido con los estudios en torno a los requerimientos de proteínas, lípidos y energía, con lo cual se ha demostrado que al igual que otros peces el requerimiento de estos nutrientes es más alto durante los primeros estadios de vida y va disminuyendo conforme el organismo crece (Tacon, 1993). En el caso de prejuveniles de pejelagarto (menos de 1 g) el requerimiento de proteína es de 45%, 15 % de lípidos y 400 Kcal/100 g, durante la etapa de preengorda. Estas cantidades van disminuyendo cuando se llega a la etapa de engorda siendo 40% de proteína y 10% de lípidos, esto concuerda con lo obtenido para otras especies de peces con hábitos carnívoros (Davis y Stickney 1978; Austreng y Storebakken, 1984; Chen y Tsay, 1994; Asknes *et al.*, 1996; Chou y Shiau, 1996; Chou *et al.*, 2001; Espinos *et al.*, 2003).

Finalmente, gracias a los estudios relacionados con la digestibilidad *in vivo* e *in vitro* de juveniles (datos no mostrados), se ha logrado determinar la capacidad digestiva hacia diferentes ingredientes de tal manera que se ha logrado diseñar una serie de formulaciones específicas para ser utilizadas de manera comercial en la producción para alevinaje y engorda del pejelagarto. Actualmente, las investigaciones han permitido realizar la transferencia tecnológica en el fortalecimiento de las capacidades locales en el medio rural, de tal manera que en Tabasco existen cuatro centros de producción de crías de pejelagarto y se ha iniciado la construcción de tres centros más, dos en Chiapas y uno de Campeche, además de que existe una amplia infraestructura (jagüeyes, geomembranas, jaulas flotantes, estanques de concreto y estanquería rústica) para la engorda de esta especie en el sector rural de estas entidades.

#### 4. Conclusiones.

El desarrollo del cultivo de esta especie, especialmente en el ámbito de la alimentación y la nutrición, ha sido logrado a través del esfuerzo y colaboración de muchas instituciones que se han dado a la tarea de aprovechar sus experiencias y conocimientos y con esto entender desde los aspectos biológicos básicos hasta lograr desarrollar formulaciones específicas para el cultivo de esta especie, lo que ha permitido que a la fecha se haya transferido la tecnología de cultivo al sector social y privado del Sureste de México.

Actualmente, la producción masiva de semilla de alta calidad de esta especie es una realidad, lo que ha impulsado el desarrollo de infraestructura para su cultivo y requiere en un futuro cercano el desarrollo en paralelo de la industria de los alimentos acuícolas.

#### Agradecimientos.

Agradecemos al Consejo de Ciencia y Tecnología el financiamiento a través del proyecto “Investigaciones para desarrollar el cultivo del pejelagarto *Atractosteus tropicus* en el Sureste de México” SAGARPA-2002-CO1-2031/A-1. Asimismo, este trabajo no habría sido posible sin la participación de todos los estudiantes de Licenciatura, Maestría y Doctorado que se integraron a este proyecto. A las autoridades, investigadores y técnicos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, la Universidad Autónoma de Nuevo León, el Centro de Investigaciones Marinas de la Universidad de la Habana, Cuba y el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.

#### Referencias.

- Aguilera, G. C. 1999. Bases fisiológicas del desarrollo de larvas de catán (*Atractosteus spatula*) y perspectivas para su cultivo. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México, 184 pp.
- Aguilera, L., R. Mendoza., G. Rodríguez and G. Márquez. 2002. Morphological description of Alligator gar and Tropical gar larvae on emphasis on growth indicator. Transactions of the American Fisheries Society 131:899-909.
- Alemán, L. y W. Contreras. 1987. Algunas consideraciones sobre el pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y descripción de sus hábitos alimenticios. Memorias del IX congreso nacional de ictiología. 13-16 de Octubre. Tabasco, México.
- Alliot, E. 1979. Enzymologie Digestive. III. Évolution de quelques activités digestives au cours de développement larvaire des teleostéens. In : Nutrition des Poissons. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris, pp 4-33.
- Asknes, A., T. Hjertnes y J. Opstvedt. 1996. Effect of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture 145:225-233.
- Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Ramos, J., Kime, D.E., Carrillo, M., Zanuy, S., 2000. Hormonal regulation of the European sea bass reproductive cycle: an individualized female approach. Journal of Fish Biology 56, 1155–1172.
- Austreng, E. y T. Storebakken. 1984. Practical formulation of salmonid diets with emphasis on fat and protein. Acts of the Norwegian, French Workshop on Aquaculture 3:5-8.
- Baragi, V. and Richard T. Lovell. 1986. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larval development. Transactions of the American Fisheries Society 115:478-484.
- Baskerville-Bridges, B., Kling, L.J., 2000. Early weaning of Atlantic cod *Gadus morhua* larvae onto a microparticulate diet. Aquaculture 189, 109-117.
- Benetti, D.D. 1997. Spawning and larval husbandry of flounder (*Paralichthys woolmani*) and Pacific yellowtail (*Seriola mazatlanica*) new candidate species for aquaculture. Aquaculture 155, 307-318.

- Bernerfeld, P., 1955. Amylases (alpha) and (beta), in: Methods in Enzymology I, Colowick, S., and Kaplan N., Eds. Academic Press, N.Y. 149.
- Blaxter, J. And G. Hempel. 1963. The influence of Egg size on Herring Larvae (*Cuplea harengus*) . J. Du Conseil Int. Pour l'Expl. Du la Mer. 28: 211-240.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, G., Asturiano, J.F., Farndale, B., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Bromage, N. 1999. Development of broodstock diets for the European Sea Bass *Dicentrarchus labrax* with special emphasis on the importance of n-3 and n-6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture* 177, 85-97.
- Buddington, R.K. and S.I. Doroshov, 1986. Development of digestive secretions on white sturgeon juveniles (*Acipenser transmontanus*). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 83A, No. 2, pp. 233-238.
- Buddington, R.K. and S.I. Doroshov, 1986. Digestive enzyme complement of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 83A, No. 3 pp. 561-567.
- Buddington, R.K., 1985. Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. *Journal of Fish Biology.* 26, 715-723.
- Bussing, W. A. 1998. Peces de las aguas Continentales de Costa Rica. 2da Edición. Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. 468 pp.
- Cahu, C.L. and J.L. Zambonino, 1997. Is the digestive capacity of marine fish larvae sufficient for compound diet feeding? *Aquaculture International* 5, 151-160.
- Chávez, M., A. Mattheeuws y M. Pérez. 1989. Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para la piscicultura. INIREB-FUCID. Xalapa, Veracruz, México. 222 p.
- Chavez-Lomelí, M. 1989. Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para piscicultura. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bióticos y la Fundación Universitaria para la Cooperación, Jalapa, Ver. 19-27.
- Chen, H-Y. y J-C. Tsay. 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. *Aquaculture* 119:265-271.
- Chou, B.S. y S.S. Shiau. 1996. Optimal dietary lipid for growth of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*. *Aquaculture* 143: 185-195.
- Chou, R.L., M.S. Su y H.Y. Chen. 2001. Optimal dietary protein and lipid levels for juvenil cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 193: 81-89.
- Contreras, W. y G. Márquez. 1988. Crecimiento y alimentación de *Lepisosteus tropicus* en áreas confinadas, Tabasco, México. Resúmenes de la semana de investigación y cine científico. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 1:28 p.
- Contreras, W., G. Márquez y J.L. García. 1989. Habilitación de zonas pantanosas para el semicultivo del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* una propuesta para el manejo del ecosistema. En: Primer seminario sobre acuicultura PEMEX-UJAT en el estado de Tabasco. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Villahermosa, Tabasco, México. 15-19 p.
- Contreras-Macbeath, T. y E. Díaz Pardo. 1990. Primeros estadios ontogénicos de *Cichlasoma istlanum* (Pises: Cichlidae). *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.*, Méx. 33:885-101.
- Coutteau, P., Van Stappen, G., Sorgeloos, P., 1995. A standard experimental diet for the study of fatty acid requirements of weaning and first outgrowing stages of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) selection of the basal diet. *ICES Mar. Sci. Symp.* 201, 130-137.
- Dabrowski, K., and D. Culver, 1991. The physiology of larval fish: digestive tract and formulation of starter diets. *Aquaculture Magazine.* pp. 49-61.
- Dabrowski, K., G Krumshnabel, M. Pauku y J. Labanowski. 1992. Cyclic growth and activity of pancreatic enzymes in alevins of artic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Journal of Fish Biology.* 40:511-521.
- Davis, T.A. y R.R. Stickney. 1978. Growth response of *Tilapia aurea* to dietary protein quality and quantity. *Trans. Am. Fish. Soc.* 107:479-483.
- Espinós, F.J., A. Tomás, L.M. Pérez, S. Balasch y M. Jover. 2003. Growth of dentex fingerlings (*Dentex dentex*) fed diets containing different levels of protein and lipid. *Aquaculture* 218: 479-490.

- Fänge, R. and D. Grove. 1979. Digestion. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J., Brett, J.R., eds. Fish Physiology, Vol. VIII. New York: Academic Press. pp. 161-260.
- Francis, A.W. y Bengtson, D.A. 1999. Partitioning of fish and diet selection as methods for the reduction of cannibalism in *Paralichthys dentatus* larviculture. Journal of the World Aquaculture Society, (30) 2: 302-310.
- Frantzen, M., Johnsen, H.K., Mayer, I., 1997. Gonadal development and sex steroids in a female Arctic charr broodstock. Journal of Fish Biology 51, 697-709.
- García-Carreño, F.L., L.E. Dimes and N.F. Haard, 1993. Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinase inhibitors. Analytical Biochemistry, 214: 65-69.
- Gawlicka, A., S.J. The, S.S.O. Hung, D.E. Hinton and J. de la Noüe, 1995. Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. Fish Physiology and Biochemistry. 14 (5): 357-371.
- Hart, P.R., Purser, G.J., 1996. Weaning of hatchery-reared greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günter) from live to artificial diets: Effect of age and duration of the changeover period. Aquaculture 145, 171-181.
- Henningsen, A.D., 1999. Levels of recirculating reproductively-related steroid hormones in female elasmobranchs. Implications for reproduction in a captive environment. Aquarium Sciences and Conservation 2, 97-116. Díaz, S. M. 1991. Evaluación del crecimiento de larvas de pejelagarto, *Lepisosteus tropicus*, en base a su alimentación. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández, V. U. 1999. Punto crítico de no retorno de larvas del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Hernández, V. U. 2002. Identificación del sexo y evaluación de la inducción hormonal en el pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Nuevo León. Pp 1-82
- Hernández, V. U. 2002. Identificación del sexo y Evaluación de la inducción Hormonal en el Pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) a través de hormonas. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León. 83 p.
- Humason, G.L 1979. Animal Tissue Techniques. 4 th ed. W.H. Freeman and Company. USA. 661 pp.
- Izquierdo, M.S. Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.T., 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. Aquaculture 197, 25-42.
- Kumar, V. y Chase, H. 1971. Undernutrition and intestinal dipeptide hydrolase activity in rat. J. Nutr., 101: 1509-1514.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227: 680-685.
- Lauff, M. and R. Hofer. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. Aquaculture. 37: 335-346.
- Letelier, M.E., Repetto, Y., Aldunate, J. and Morillo, A. 1985. Acid and alkaline phosphatase activity in *Tripanosoma cruzi* epimastigotes. Comp. Biochem. Physiol. 81B: 47-51.
- Márquez, C. G., Contreras W., Hernández U. Y Hernández A. 2003. Estudio poblacional y estrategias para el uso sostenible del recurso pejelagarto *Atractosteus tropicus* en la Reserva de la Biosfera Pantanos de Centla. Informe final. Fondo; FIRCENTLA-UJAT. pp 439-446.
- Márquez, G., S. Páramo., C. Bautista., U. Hernández., S. Félix., D. Castillo., S. Santiago., H. Guzmán., L. Arias., F. González. y L. Dorantes. 1997. Efecto del fotoperíodo en el crecimiento y supervivencia de larvas del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: Memoria de la Semana de Divulgación y Video Científico de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de 1997 . pp 76-79.
- Márquez, H. 1998. Efectos de la temperatura en el desarrollo de embriones y en crecimiento de las larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* bajo condiciones de Laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México. 43p.

- Martínez, I., F.J. Moyano, C. Fernández-Díaz and M. Yúfera. 1999. Digestive enzyme activity during larval development of Senegal sole (*Solea senegalensis*). *Fish Physiology and Biochemistry* 21: 317-323.
- Mcdonal, A. 2003. Avances en la investigación científica y tecnológica para el cultivo del pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill 1823) en Tabasco. Memoria de Trabajo. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Tabasco, México. 67 p.
- Mora, J. M. 1997. Reproducción y alimentación del gaspar *A. tropicus* (Pisces: Lepisosteidae) en el refugio nacional de vida silvestre Caño Negro, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 45 (2): 861-866.
- Moyano, F.J., M. Diaz, F.J. Alarcon and M.C. Sarasquete, 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 15 (2): 121-130.
- Munilla-Moran, R., J.R. Stark and A. Barbour, 1990. The role of exogenous enzymes in digestion in cultured turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) *Aquaculture*. 88: 337-350.
- Pathak, R.M., P.K. Dudeja, S. Ansari and A. Mahmood. 1982. Alterations in intestinal functions in response to thyroxine and cortisone administration in undernourished rats. *A. Nutr. Metab.* 26, 331-336.
- Pérez, E. 1995. Efecto de la gonadotropina coriónica humana (GCH) en la maduración gonádica del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) Gill 1923 en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. División Académica de Ciencias Biológicas. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 46 p.
- Pérez, E. y S. Páramo. 1998. Estudio Histológico de las gónadas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. *Universidad y Ciencia* 14(27): 69-82.
- Person-Le Ruyet, J. 1989. Early weaning of marine fish larvae onto microdiets: constraints and perspectives. *Advances in tropical aquaculture, Tahiti, 1989.* 625-642.
- Ramón, Z. F. 2003. Frecuencia de alimentación y su efecto sobre el desarrollo, crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* en condiciones de laboratorio. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México, 42 pp.
- Rana, J. 1985. Influence of egg size on the growth, onset of feeding, point of no return, and survival of unfed *Oreochromis mossambicus* fry. *Aquaculture* 46: 119-131
- Reséndez, A. y M. Salvadores. 1983. Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca *Petenia splendida* (Gunther) del Estado de Tabasco. *Biótica* 8(4):413-426
- Rivera, Y. y G. Márquez. 2004. Efecto de la densidad en el crecimiento y supervivencia en el cultivo de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill) bajo condiciones de laboratorio. En: *Memorias del IX Congreso Nacional de Ictiología.* Villahermosa, Tabasco. 155 p.
- Rivera, Y.O. y G. Márquez. 2001. Efecto de la densidad en el crecimiento y supervivencia en el cultivo de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* (Gill) bajo condiciones de laboratorio. En: *Memoria de la semana de investigación y video científico de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco 2001,* México: 433-438.
- Rosenlund, G., Stoss, J., Talbot, C., 1997. Co-feeding marine fish larvae with inert and live diet. *Aquaculture* 155, 183-191.
- Tacon A.G.J., 1993. Feed ingredients for warmwater fish: fish meal and other processed feedstuffs. *FAO Fisheries Circular*, 845, 64 pp.
- Tanaka, M., 1971. Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae--iii. development of the digestive system during postlarval stage. *Japanese Journal of Ichthyology.* 18 (4): 164-163.
- Ueberschär, B.F.R., 1985. Experiments on the development of proteolytic enzyme activity in turbot larvae (*Scophthalmus maximus*). *International council of the exploration of the sea.* 10p.
- Velasco, R. 1976. Los peces de agua dulce del estado de Chiapas. Ed. Gobierno del estado de Chiapas. México. 20 pp.
- Weber, K. and M. Osborn, 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Biol. Chem.*, 244: 4406-4412.

- Wiley, E.O.1976. The phylogeny and biogeography of fossil and recent gars (Actinopterygii: Lepisosteidae). Univ. Of Kansas. Mus. Nat. Hist. Misc. Publ. 64: 1-111.
- Zacarias, S.A. 2003. Efecto del horario de alimentación en el crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. México. 42 pp.
- Zambonino, J.L.and C.L. Cahu. 1994. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiology and Biochemistry vol. 12 no. 5 pp 399-408.