

## Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879)

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Instituto de Recursos Naturales. Av. Fco. J. Múgica S/N. Morelia Michoacán Tel. (443) 322 3500.

E-mail: palacios@umich.mx

---

### Abstract

The silver side from Patzcuaro lake in central Mexico is an species with a great regional importance. Its prices are impressive high in the local markets. Unfortunately the high fisheries pressure and the pollution of their environment have become the species in danger. A lot of effort has been done to develop their pilot culture. The present paper describes the advances in feeding and nutrition of those important fish. The studies of the feeding anatomy of the species permitted classify it as a carnivorous zooplantofagous fish, that occasionally feed small fishes and crustaceans when adult. Studies on the enzymatic activities in a stomach less intestinal tract, with a high pH, show that chemiotrypsin is the most important enzyme; the activity for this enzyme for the day 20<sup>th</sup> after hatching ( higher of 15,000 mU/mg) overtakes the values for the same enzyme activities (900mU/mg) for *Morone saxatilis*, a carnivorous fish with stomach. Studies to determine the protein requirements for *Chirostoma estor estor* shown 42% protein requirement in the diet with the best survival and best growth. Other studies to determine the vitamin C requirements shown that juveniles have a requiremet of 93.2mg vitamin C / Kg of feed. In terms of fatty acid requirements, the species shown a high capacity to convert EPA or other omega 3 fatty acids to DHA. The high levels of DHA and EPA in the flesh makes this fish a very important species for human nutrition unless it is a fresh water species.

## Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879)

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross

---

### Resumen

El pescado blanco de Pátzcuaro es una especie de una gran importancia regional y con un alto potencial de cultivo, debido a sus altos precios en el mercado regional; desafortunadamente la presión de pesca y el deterioro de su único ambiente lo ha colocado en peligro. Se ha requerido de un gran esfuerzo de investigación para desarrollar las bases de su cultivo a nivel piloto. En el presente trabajo se describe el avance de investigación en alimentación y nutrición de esta especie. El conocimiento de su anatomía permitió reconocer a un pez carnívoro sin estómago que tiene hábitos de filtrador zooplanktófago, con capacidad de alimentarse de peces y crustáceos en forma ocasional cuando es adulto. En términos de actividad enzimática se ha encontrado que, al poseer un intestino con un pH alcalino y carecer de estómago, la actividad más importante es la de quimiotripsina; de hecho la actividad de quimiotripsina encontrada para el día 20 (mayor a 15 000 mU/mg) sobrepasa notablemente los valores detectados (900 mU/mg) para *Morone saxatilis*, un pez con estómago. Los requerimientos de proteína a nivel de juveniles se han determinado en 42% proteína en la dieta con un máximo de supervivencia y crecimiento. Se determinó también el requerimiento de vitamina C en juveniles de esta especie encontrando 93.2mg/Kg de alimento. En términos de ácidos grasos los experimentos llevados a cabo muestran la capacidad de la especie para convertir EPA y otros ácidos grasos omega 3 en DHA.

Los altos niveles de DHA y EPA, lo convierten en una especie de gran importancia para la alimentación humana a pesar de ser una especie de agua dulce.

## Introducción

La familia *Atherinopsidae* se encuentra representada por alrededor de 150 especies marinas, de aguas salobres y dulceacuícolas. En el grupo *Jordani* de esta familia se encuentran los llamados peces blancos de los lagos del altiplano mexicano, que pertenecen al género *Chirostoma*, los cuales tienen una enorme importancia cultural, económica y alimenticia para los habitantes indígenas de estos lagos, quienes en las últimas décadas han visto como las pesquerías de estas especies van en clara disminución, debido a una increíble sobre pesca, a la contaminación urbana del lago y a la pérdida de superficie y profundidad del mismo, debidas a una mala utilización de los bosques en la cuenca. La demanda turística por estos peces ha hecho que el precio por kilogramo alcance precios bastante altos, pues se llega a pagar hasta 80.00 dólares por un kilo de peces grandes de 200 a 250 gramos (Martínez-Palacios *et al.*, 2002).

El único posible rescate de las especies de *Chirostoma* es el uso de técnicas de repoblación y explotación, que permitan llevarlas a una producción por acuicultura, teniendo en cuenta que existe un mercado nacional insatisfecho en la región, que tiene un amplio potencial a nivel internacional, debido al gran número de consumidores michoacanos con tradición de consumo de pez blanco en el vecino país del norte.

Teniendo en cuenta que en la actualidad se ha desarrollado con éxito el cultivo piloto de *Chirostoma estor estor*, y nuestros proyectos mas importantes, tienen como objetivo la transferencia tecnológica a las comunidades del lago principalmente en sistemas semi intensivos e intensivos, se hace muy evidente la necesidad de generar información básica sobre nutrición y alimentación de esta especie. A continuación se describen los adelantos obtenidos en el tema de alimentación y nutrición de esta especie tan importante para la región y, en particular, para el estado de Michoacán, en la parte central de México. (Martínez-Palacios,*et al.*, 2006, Ross *et. al.*, 2006).

### Estructuras alimenticias de *Chirostoma estor*

El pez blanco, *Chirostoma estor estor*, es un organismo que presenta una cabeza pequeña, con una abertura de boca muy estrecha, la cual presenta finos dientes unicúspides en la mandíbula, así como dientes faringeos. Adicionalmente, presenta un tracto digestivo muy corto, sin estómago o ciegos pilóricos lo que nos permite identificar al pez blanco como un filtrador continuo. El alimento ingerido por el pez blanco es concentrado al momento de llegar a los dientes faringeos ubicados en la porción final de la cavidad bucal, el alimento es triturado antes de pasar al tracto digestivo en donde el componente alimenticio es degradado por diversas enzimas (Martínez-Palacios, *et al.*, 2006)

*Morfología e Histología del Tracto Digestivo* (Martínez-Palacios, *et al.*, 2006):

*Chirostoma estor estor* presenta una boca pequeña, en posición terminal y protractil, con una abertura máxima de 21 mm en organismos adultos (22 cm de longitud estándar), El maxilar superior presenta tres filas de dientes unicúspides, mientras que maxilar inferior presenta cuatro filas de dientes cónicos unicúspides, los cuales son pequeños y frágiles. Estos dientes son típicos

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). 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.

en depredadores pelágicos los cuales se alimentan de pequeñas presas.

El tracto digestivo consiste de una estructura circular simple, el esófago esta formado por un tubo corto y musculoso, el cual presenta un epitelio mucoso ligeramente plegado, y estratificado en su parte anterior, sin embargo en la parte posterior se encuentra solamente estratificado. Las células epiteliales contienen sustancias mucosas en el citoplasma y la sub-mucosa esta constituida de tejido conectivo de cierta forma más denso que la lámina propia.

El intestino esta formado por tres regiones: una parte anterior, posterior y el recto. Sin embargo no existe evidencia alguna de un estómago, algún tipo de ensanchamiento ó incremento muscular, ni ciegos pilóricos.

En la parte anterior del tracto digestivo se encuentran los conductos biliares, los cuales son análogos con el duodeno y se encuentran antes del anillo. La parte posterior del intestino, es más muscular después del anillo. La mucosa intestinal esta formada por una lámina simple de células epiteliales columnares que contienen células globulares dispersas. Los dobleces de la mucosa, son profundos en todo lo largo del intestino hasta llegar al recto en donde los dobleces son más someros. El recto esta constituido por capas musculares gruesas.

*Morfología del Aparato Bucofaríngeo* (Martínez-Palacios, *et al.*, 2006):

La estructura y conformación de la estructura branquial es una proyección conspicua de la cavidad bucal ventral (Fig. 1a). El primer arco branquial, presenta dos tipos de espinas branquiales. El lado anterior del arco presenta espinas largas con posición anterior, (Fig 1b). Estas espinas incrementan su tamaño de acuerdo a la edad de los peces, sin embargo, inician el desarrollo de espínulas laterales cuando los peces alcanzan los 100 días de edad (Fig. 1d). Las espinas incrementan su número al incrementar la talla de los peces y las espínulas también se incrementan hasta formar una doble fila en peces de mayor talla (Fig 1bc). El primer arco branquial también presenta una fila de pequeñas espinas las cuales son idénticas a las dos filas de pequeñas espínulas que se presentan en los arcos branquiales 2 al 4 (Fig. 1b). Inicialmente estas estructuras aparecen como simples tapetes, las cuales desarrollan espínulas y llegan a ser cada vez más complejas durante el desarrollo de los organismos. La forma de estas espinas como tapetes en un pez adulto, se proyectan en toda la superficie interior del arco branquial (Fig 2).

El espacio de las espinas grandes del primer arco branquial es mayor que en los otros cuatro arcos braquiales y estos espacios se incrementan de acuerdo a la edad de los peces (Tabla 2, Fig 2). El número y longitud de las espinas en ambos casos también se incrementa con la edad (Tabla 2), sin embargo, las espinas en el primer arco branquial son hasta cinco veces más largos que las de los arcos 2 al 4. El número de espínulas en las espinas se incrementa con la edad. La manipulación cuidadosa de las estructuras branquiales de forma individual, reveló que los tapetes o cojinetes branquiales en los arcos 2 al 4 se intercalan con extrema precisión, formando un filtro contraído a partir de un tapete continuo de cojinetes espinosos (Fig. 2). El crecimiento simultáneo y el desarrollo de los cojinetes espinosos de los arcos 2 al 4 aseguran que se mantenga un filtro de espinas durante todo el desarrollo. Este cojinete o tapete flexible de espinas, parece formar el principal aparato filtrador de esta especie.

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor* estor Jordan, 1879). 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 Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15 - 17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

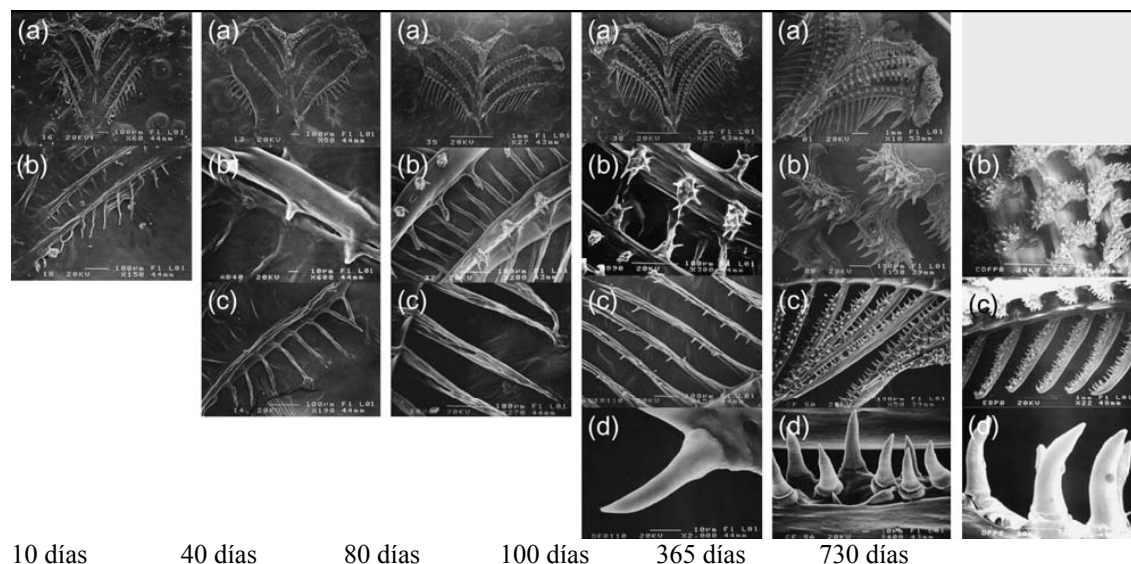


Figura 1. Microfotografías electrónicas de barrido que muestran el desarrollo de los cepillos branquiales de *Chirostoma estor estor*. a) Filtros branquiales. b) Cepillos cortos en los arcos branquiales, donde se muestra el desarrollo de las espinulas, las cuales se desarrollan de acuerdo con la edad de los peces. c) Cepillos largos del primer arco branquial. d) Espinulas del primer arco branquial.

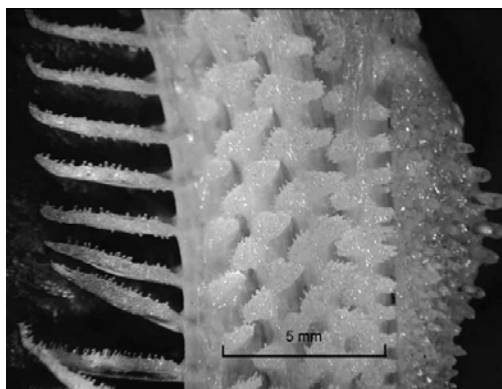


Figura 2. Los cepillos branquiales de *Chirostoma estor estor*, en donde se muestra los cepillos tranquiles largos del primer arco branquial (izquierda), así como la incorporación de los cepillos branquiales de los arcos branquiales 1 al 4, los cuales forman un cojinete o tapete filtrador de espinulas (centro), así como los dientes faríngeos (derecha)

Tabla 2. Valores promedio de las mediciones de espinas y espínulas del primer arco branquial y de los arcos branquiales 2 al 4 de *Chirostoma estor estor*.

EDAD EN DÍAS	NÚMERO DE ESPINAS BRANQUIALES	LONGITUD DE LAS ESPINAS BRANQUIALES (µm)	DISTANCIA ENTRE LAS ESPINAS BRANQUIALES (µm)	NÚMERO DE ESPÍNULAS BRANQUIALES POR ESPINA	LONGITUD DE LAS ESPÍNULAS BRANQUIALES (µm)	DISTANCIA ENTRE LAS ESPÍNULAS BRANQUIALES (µm)
<b>Primer arco branquial</b>						
10	0	-	-	0	-	-
20	13	93	37	0	-	-
40	13	135	50	0	-	-
80	15	374	65	0	-	-
100	18	630	93	3	36	70
360	23	1,536	266	40	71	73
720	26	2,159	580	40	173	78
<b>2 al 4 Arco branquial</b>						
10	0	-	-	0	-	-
20	0	-	-	0	-	-
40	0	-	-	0	-	-
80	18	64	70	2	27	11
100	23	93	102	3	32	15
360	27	286	207	11	71	29.6
720	36	755	397	20	160	54.3

*Chirostoma estor estor* presenta dientes faríngeos dorsales y ventrales (Fig 3), a pesar de ser rudimentarios en las primeras etapas, los cojinetes faríngeos se desarrollan drásticamente conforme el organismo incrementa su talla y en los adultos se presenta un elevado número de filosos dientes unicúspides con hileras de grandes dientes moliformes en la parte posterior del cojinete ventral (Fig 3)

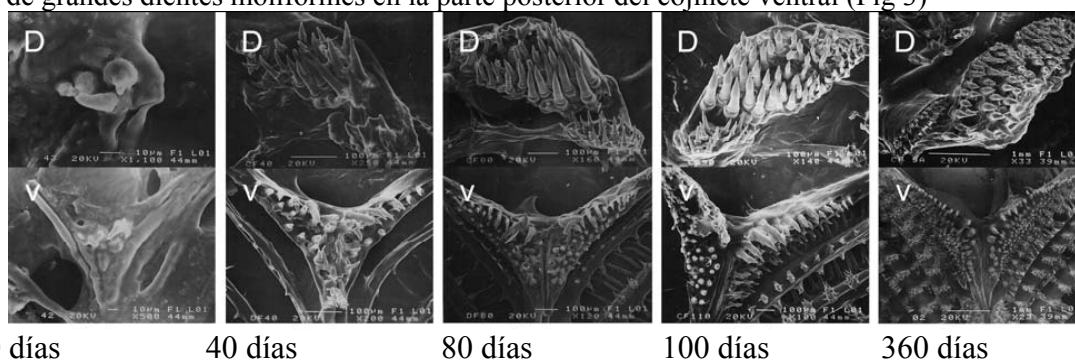


Figura 3. Microfotografías electrónicas de barrido que muestran el desarrollo de los dientes faríngeos durante el desarrollo de *Chirostoma estor estor*. D) dientes faríngeos dorsales. V) Dientes faríngeos ventrales.

## Desarrollo de la capacidad digestiva durante la ontogenia larvaria del pez blanco

El proceso de digestión de los alimentos, y en particular de las proteínas de las dietas, comienza en el estómago, donde las secreciones de las glándulas gástricas, como la pepsina y el ácido clorhídrico, efectúan la muy importante desnaturalización y digestión preliminar de las proteínas (Lauff y Hofer, 1984). Estos procesos facilitan su posterior hidrólisis completa en el intestino, que es llevada a cabo por enzimas pancreáticas e intestinales. La tripsina y quimotripsina, proteasas pancreáticas de gran relevancia, realizan una hidrólisis selectiva esencial. En cuanto a las proteasas intestinales, se encuentran las citosólicas, como la leucin-alanin peptidasa, y las localizadas en las membranas de borde de cepillo: leucin aminopeptidasa,  $\gamma$ -glutamil transpeptidasa, fosfatasa alcalina y maltasa. Todas estas facilitan la degradación, transporte y absorción de los nutrientes.

En las larvas los tiempos de tránsito del alimento son muy cortos, lo que aunado a un sistema digestivo inmaduro en muchas especies, con ausencia de HCl y secreción de pepsina, conllevan a una hidrólisis de proteínas en el lumen poco eficiente, por lo que ésta debe ser complementada por procesos de micropinocitosis y digestión intracelular en la región posterior del intestino (Walford y Lam, 1993). Conforme la maduración digestiva ocurre, se presenta una progresiva disminución de la digestión intracelular (característica de este proceso) y el incremento en las actividades luminales, dadas importantemente por enzimas de borde de cepillo (Cahu y Zambonino., 2001). La disminución de la enzima citosólica sugiere una disminución en la digestión intracelular (pinocitosis) durante el desarrollo (Ribeiro *et al.*, 1999), mientras que el aumento de las enzimas del borde de cepillo son indicadores de la maduración de los enterocitos y de su capacidad hidrolítica y absorptiva que mejora sus cualidades digestivas (Bogé *et al.*, 1982; Ferraris y Ahearn, 1984; Avella *et al.*, 1992).

Resultados de investigaciones han dilucidado la existencia de patrones en la actividad de enzimas digestivas que son indicativas de la madurez del tracto digestivo y de su capacidad, entre las que se encuentra una elevada actividad proteolítica pancreática e intestinal en los peces carentes de estómago (Walford y Lam, 1993; Moyano *et al.*, 1996).

Las enzimas digestivas han sido poco estudiadas en los Atherinópsidos michoacanos, existiendo hasta el momento solo tres reportes. Ríos-Durán (2000) menciona que las larvas presentan ya indicios de un sistema digestivo funcional y que por tanto deberían ser capaces de digerir alimento inerte. Menciona también que la actividad proteolítica más importante en esta especie parece estar dada por la tripsina más que por la pepsina. En un estudio posterior se encuentra un pH alcalino (6.5 y 8) a lo largo de todo el tracto gastrointestinal de adultos de *Ch. estor estor* y *Ch. estor copandaro* y una actividad proteolítica mas prominente en condiciones relativamente alcalinas, hallazgos que sugieren que estas son especies agástricas (Graham, 2001). Un último estudio reporta una mayor actividad lipolítica en la parte anterior y media del tracto digestivo del pez adulto, con un pH óptimo de actividad de 9 (Pineda-Garibay, 2002).

En la búsqueda de una mejor caracterización de la fisiología digestiva de la especie y del periodo de su maduración digestiva, iniciamos una serie experimental determinando la actividad de diversas enzimas digestivas durante la ontogenia larvaria. En larvas de pez blanco de 0, 10, 20 y

30 días se evaluaron actividades pancreáticas (tripsina, quimotripsina, amilasa y lipasa) e intestinales (fosfatasa alcalina (ALP), maltasa, leucin aminopeptidasa N (APN) y la enzima citosólica leucina alanina peptidasa (LAP))( Bessey *et al.*, 1946; Dahlqvist, 1970; Maroux *et al.*, 1973; Nicholson y Kim, 1975; Tseng *et al.*, 1984; Worthington, 1982; Metáis y Bieth, 1968; Iijima *et al.*, 1998).

Como se observa en la Figura 1, todas las enzimas digestivas analizadas presentan un desarrollo temprano de actividad desde el momento de la eclosión (día cero) y, a excepción de la peptidasa citosólica (LAP) y la amilasa, siguen el patrón de desarrollo descrito en otros peces marinos (Cahu y Zambonino, 1994; Moyano *et al.*, 1996; Ribeiro *et al.*, 1999; Cara *et al.*, 2002 y Álvarez *et al.*, 2003).

Los niveles de actividad de quimotripsina encontrados son mucho más elevados que los de tripsina, encontrando de manera inicial actividades muy bajas para ésta última (Figura 2). La quimotripsina comparte los mismos sitios de corte con la pepsina por lo que la elevada actividad de quimotripsina observada en el pez blanco podría compensar la aparente ausencia de actividad de pepsina. En concordancia, la actividad de quimotripsina encontrada para el día 20 (mayor a 15 000 mU/mg) sobrepasa notablemente los valores detectados (900 mU/mg) para *Morone saxatilis* –un pez con estómago- (Baragi and Novell, 1986 en De Silva y Andersen, 1995).

Las actividades enzimáticas determinadas en los juveniles son similares o menores a las presentes en la etapa larvaria, a excepción de la enzima ALP y la LAP, cuyos valores son mucho más elevados. De acuerdo a Stroband (1979), el desarrollo de la actividad de fosfatasa alcalina podría indicar un adecuado establecimiento de la membrana de borde de cepillo. Por otro lado, el aumento en la actividad de la enzima citosólica LAP parece reflejar un incremento, durante la ontogenia, en la importancia de la digestión citosólica sobre la luminal. De hecho, la actividad de APN muestra una importante caída en su actividad en el día 30, contrario al resto de las actividades enzimáticas (Figura 2).



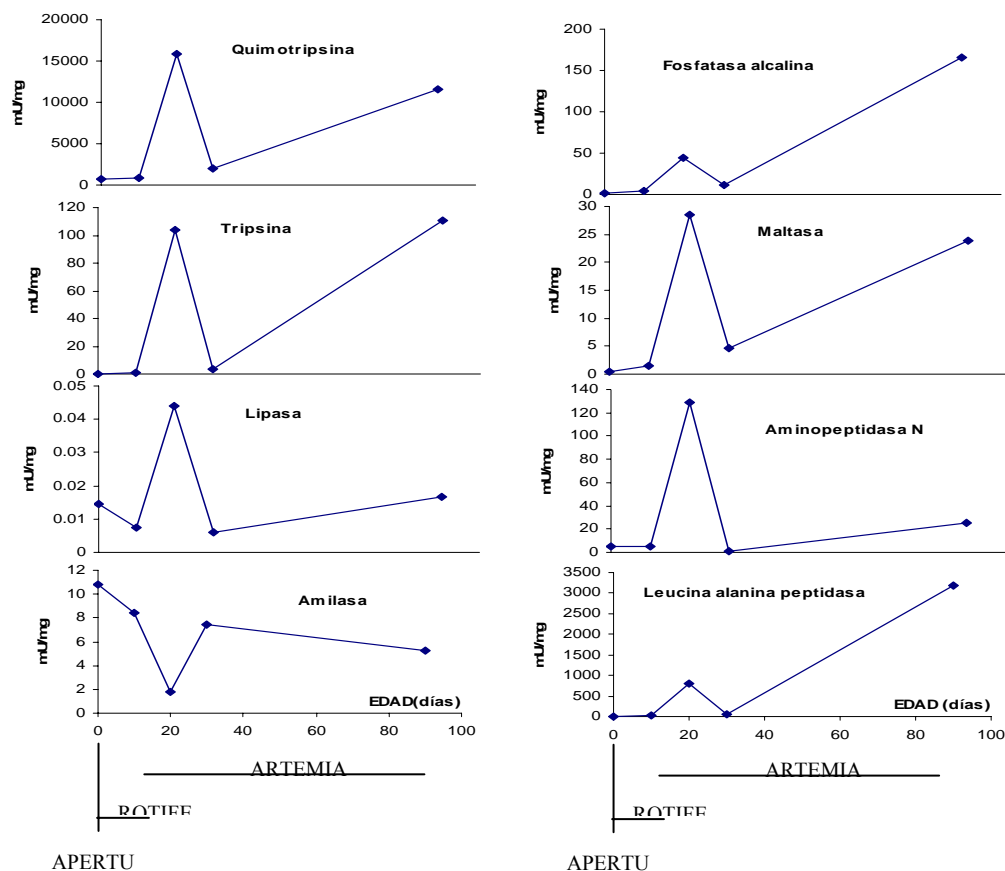


Figura 1. Actividades específicas de las enzimas digestivas evaluadas durante el desarrollo larvario de *Chirostoma estor estor*.

Las relaciones entre las proteasas luminales (tripsina y quimotripsina) y la citosólica LAP, indicadoras de la importancia de la digestión luminal frente a la citosólica (Figura 3), nos muestran que durante la etapa larvaria la digestión citosólica se vuelve más importante que la luminal, contrario al modelo de maduración descrito para peces con estómago. Las actividades de tripsina y quimotripsina se pueden correlacionar con los cambios en el desarrollo del tracto gastrointestinal asociados con el cambio de la digestión proteínica intracelular a luminal (De-Silva *et al.*, 1995).

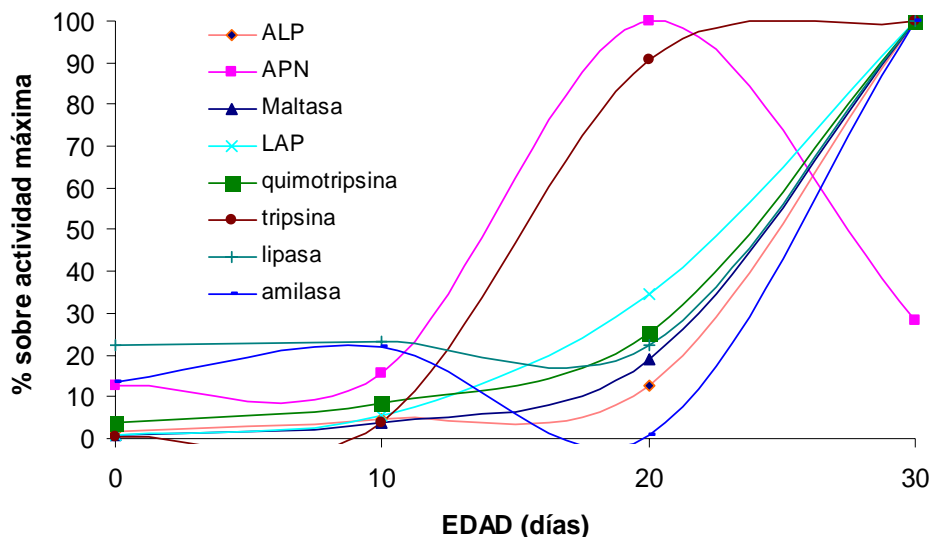


Figura 2. Evolución comparativa de las diferentes actividades enzimáticas durante el desarrollo larvario de *Ch. estor estor*.

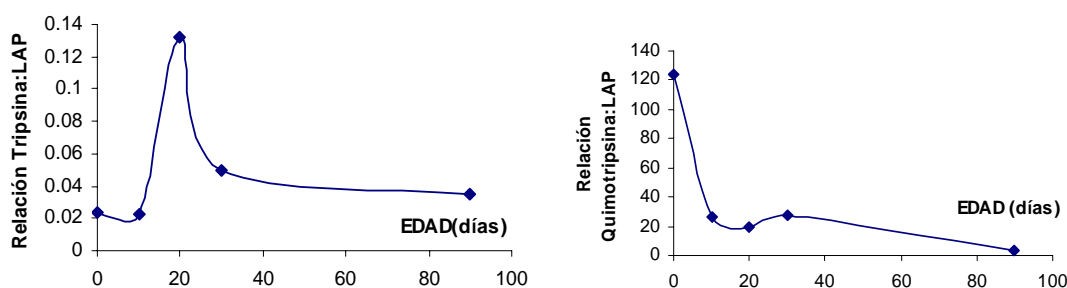


Figura 3. Relación Proteasas luminales: Peptidasa citosólica

### Requerimientos de Proteína (Martínez-Palacios *et al.*, en prensa)

La proteína es uno de los nutrientes más importantes dentro de los requerimientos nutricionales de los peces. Es necesaria para el crecimiento, mantenimiento y reproducción o puede servir como una importante fuente de energía al entrar en las vías catabólicas. Los requerimientos de proteína de los peces están influenciados por diferentes factores tales como la edad, la calidad de los ingredientes de la dieta, la relación proteína-energía, la tasa alimenticia, etc., lo cual se ve reflejado en el crecimiento y la calidad de los peces (Tacon, 1989).

Se llevó a cabo un estudio para determinar los requerimientos de proteína de juveniles de pez blanco (*Chirostoma estor estor*). Se elaboraron siete dietas isoenergéticas ( $\approx 1986.24$  kJ/ 100g) en hojuelas, con niveles de proteína de 25, 30, 35, 40, 45, 50 y 55g 100g<sup>-1</sup> utilizando filetes de jurel (*Caranx sp.*) y huachinango (*Lutjanus sp.*), gónada de atún (*Thunnus sp.*) y calamar (*Loligo sp.*)

como fuentes de proteína, y se evaluaron sus efectos sobre el crecimiento, supervivencia y utilización del alimento en los juveniles de pez blanco ( $69.24 \pm 5.03$  mg de peso inicial). Los peces fueron alimentados manualmente a saciedad, cinco veces al día, durante ocho semanas.

Los mejores crecimientos y supervivencias se obtuvieron con las dietas entre 40 y 50% de proteína ( $p < 0.05$ ). En la figura 1 se muestra el crecimiento de los peces alimentados con las diferentes dietas a lo largo del experimento. La tasa específica de crecimiento, el alimento consumido individual y la tasa de eficiencia protéica también fueron las más altas para dichos tratamientos ( $p < 0.05$ ). No hubo diferencias significativas en la tasa de conversión alimenticia entre los peces alimentados con las diferentes dietas. Al aplicar el análisis del punto de quiebre (Zeitoun *et al.*, 1976), del peso ganado individual contra el nivel de proteína, se obtuvo un requerimiento de proteína de  $42.02\text{g } 100\text{g}^{-1}$  para los juveniles de *Chirostoma estor estor* (Figura 2).

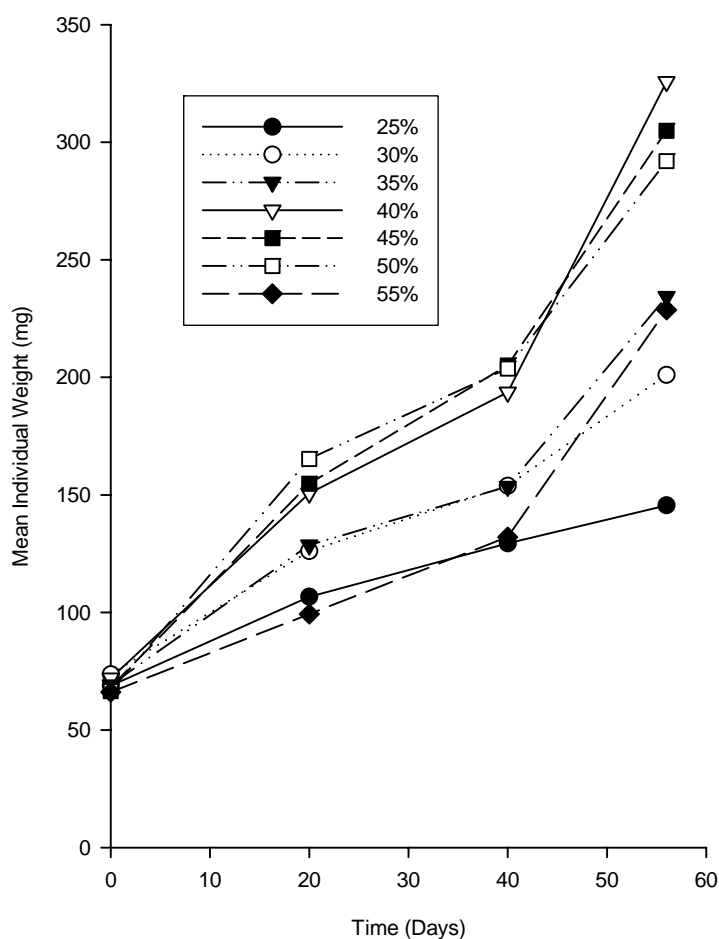


Figura 1. Crecimiento de los juveniles de *Chirostoma estor estor* alimentados con diferentes niveles de proteína durante 8 semanas.

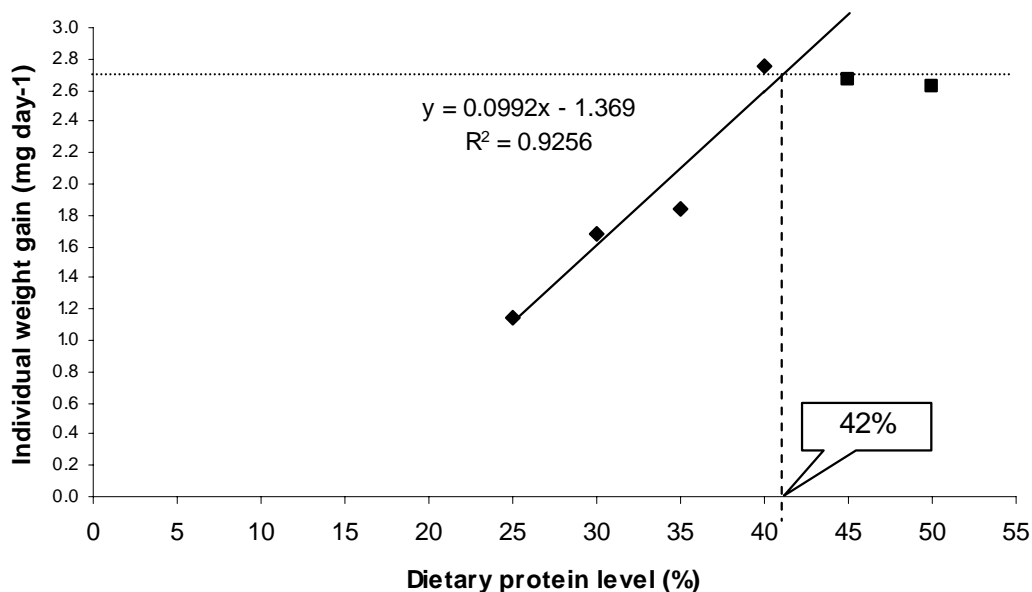


Figura . Reuquerimiento de proteína de juveniles de *Chirostoma estor estor* calculado mediante el análisis de punto de quiebre (Zeitoun *et al.*, 1976) del peso ganado individual (mg day<sup>-1</sup>) contra el nivel de proteína dietárica (g 100g<sup>-1</sup>).

### Requerimientos de Vitamina C en Juveniles de *C. estor estor*

La vitamina C (ácido ascórbico) es esencial para obtener un crecimiento normal, además de funcionar en numerosos procesos metabólicos (Tolbert, 1979). Debido a que la mayoría de los peces no pueden sintetizar el ácido ascórbico, es necesario proveerlo en la dieta como un componente esencial (Li *et al.*, 1998). Se llevó a cabo un experimento para determinar el requerimiento de Vitamina C de juveniles de Pez blanco (*Chirostoma estor estor*). Se elaboraron siete dietas isoenergéticas ( $\approx 2222$  KJ/100g) en hojuelas, con diferentes niveles de vitamina C (L-Ascorbil-2-Polifosfato: AsPP) (25, 40, 80, 100, 125, 480 y 660 mg/Kg), y se evaluaron sus efectos sobre el crecimiento, supervivencia y eficiencia alimenticia en juveniles de pez blanco de  $1.3 \pm 0.08$  g de peso inicial. Los peces fueron alimentados a saciedad seis veces al día con las diferentes dietas, durante 90 días y se observaron los posibles signos externos de deficiencia de vitamina C. Los signos de deficiencia observados fueron hemorragias, lordosis, escoliosis, malformaciones óseas, erosión de aletas, exoftalmia, y córneas blanquecinas (cataratas), entre otros. Los peces alimentados con las dietas con mayores concentraciones de vitamina C, presentaron una menor incidencia ( $p < 0.05$ ) de signos de deficiencia que los alimentados con los niveles más bajos de esta vitamina (figura 1). Los peces alimentados con los niveles más bajos de vitamina C (25 y 40 mg/Kg) presentaron las más bajas supervivencias. No se presentaron diferencias significativas en la supervivencia entre los peces sometidos a los demás tratamientos, que mostraron mayores supervivencias (Figura 2). Tampoco se presentaron diferencias significativas en la utilización del alimento ni en los resultados de eficiencia alimenticia entre los diferentes tratamientos ( $p > 0.05$ ). De acuerdo a los resultados obtenidos de crecimiento y aplicando la técnica del punto de quiebre de Zeitoun *et al.* (1976) de la Ganancia de peso

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). 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 Acuícola VIII. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15 - 17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. ISBN 970-694-333-5.

Individual (GPI) contra el nivel de vitamina C de la dieta, se obtuvo un requerimiento de vitamina C de 93 mg/Kg para los juveniles de *Chirostoma estor estor* (figura 3).

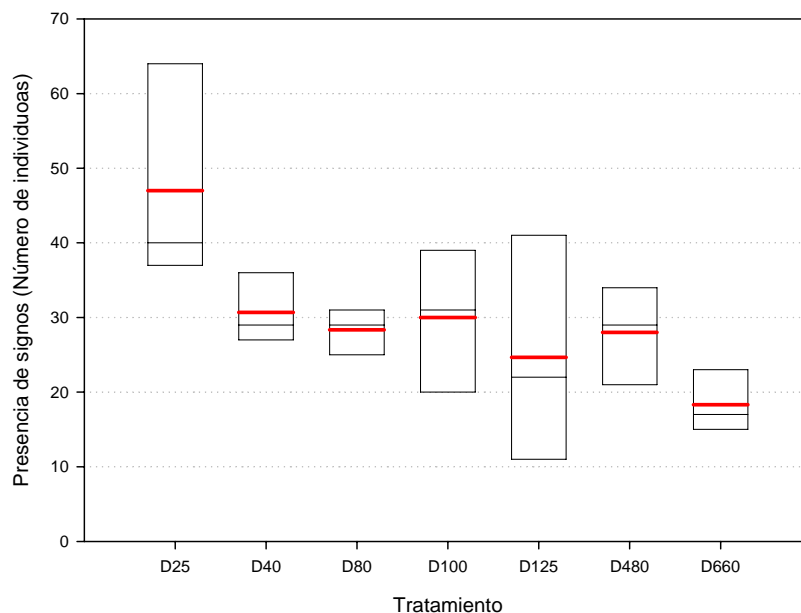


Figura 1. Presencia de signos de deficiencia en los juveniles de *C. estor estor* alimentados con dietas con diferentes niveles de vitamina C.

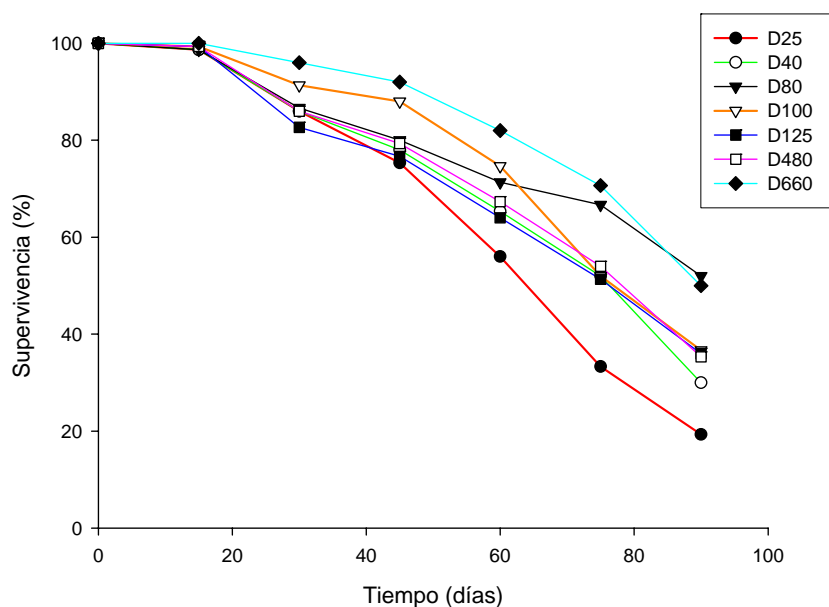


Figura 2. Supervivencia de los juveniles de pez blanco a lo largo del experimento de alimentación con diferentes niveles de vitamina C.

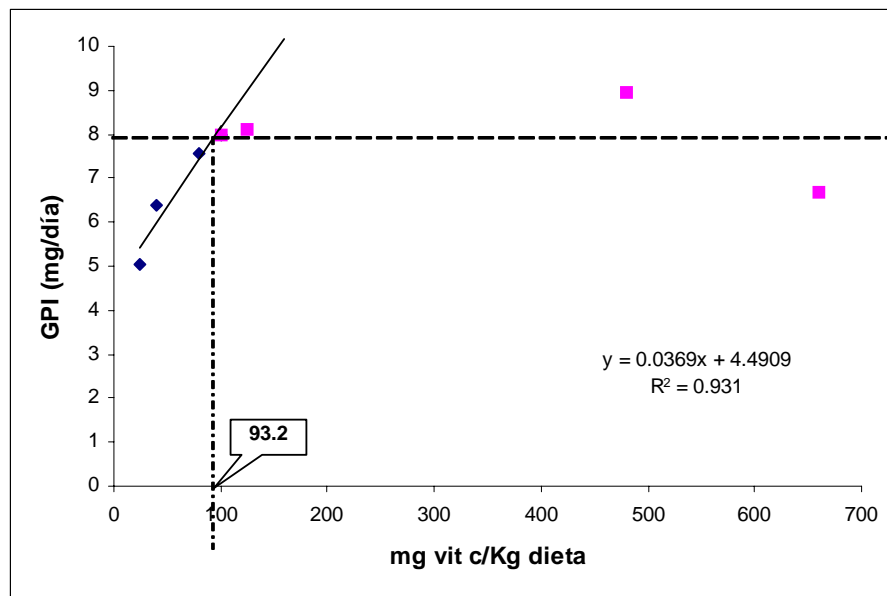


Figura 3. Requerimiento de vitamina C (mg/Kg) de juveniles de pez blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor*).

### Ácidos Grasos y su importancia en la alimentación de los peces blancos

Establecer los requerimientos nutricionales, específicamente la determinación de ácidos grasos esenciales (EFA), es sumamente importante para el cultivo de especies con alto potencial comercial. La mayoría de peces de agua dulce, en contraste con las especies marinas tienen la capacidad de elongar y desaturar ácidos grasos de 18 carbonos (ácido linoleico, 18:2n-6 y ácido linolénico, 18:3n-3) a ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) de 20 carbonos (ácido araquidónico ó ARA, 20:4n-6 y ácido eicosapentanoico ó EPA, 20:5n-3) y 22 carbonos (ácido docosahexanoico o DHA, 22:6n-3). Se sabe que los ácidos grasos de 18 carbonos son EFA para peces de agua dulce, mientras que ARA, EPA y DHA son considerados EFA para peces marinos (Sargent *et al.*, 1995). Sin embargo, los hábitos alimenticios de los peces también determinan los requerimientos de EFA: especies herbívoras obtienen ácidos grasos principalmente de 18 carbonos de su alimento natural y deben convertirlos a ARA, EPA y DHA; las especies carnívoras por su parte, obtienen estos ácidos grasos directamente de su alimento y tienen una capacidad limitada para desaturar y elongar ácidos grasos de 18 carbonos (Sargent *et al.*, 1999). Debido a que *C. estor estor* tiene características análogas a Atherinopsidos marinos y ha sido considerada como una especie carnívora (Ross, et al. 2006) los requerimientos de EFA podrían ser más parecidos a las de una especie carnívora marina y estar menos relacionados con los de una especie dulceacuícola. Si esta aseveración es verdadera, ARA, EPA y DHA deben ser incluidos en la dieta para cubrir los requerimientos nutricionales de la especie y así facilitar su cultivo, con la consecuente elevación de los costos de las dietas.

Organismos silvestres adultos presentaron niveles altos de DHA (de 20 a 32% de los ácidos grasos totales) pero también presentaron niveles bajos de EPA (de 1 a 3%) en diferentes tejidos

analizados (Figura 7). La proporción de ácidos grasos encontrados en los diferentes tejidos contrasta significativamente con la composición de ácidos grasos encontrados en las muestras de plankton obtenidas del lago de Pátzcuaro, Michoacán (12% DHA y 13% de EPA) el cual funge como fuente principal de alimento de *C. estor estor* en su medio acuático natural (Martínez-Palacios *et al.*, 2003). Existen dos explicaciones posibles a éste hallazgo; la primera es que *C. estor estor* selectivamente acumula determinados ácidos grasos de acuerdo a sus necesidades fisiológicas, y la segunda es que ésta especie tiene la capacidad de convertir EPA y/ú otros ácidos grasos omega-3 a DHA. La explicación de la capacidad de síntesis de DHA por esta especie, también es respaldada por la presencia de DHA en larvas alimentadas con una dieta de rotíferos que tienen muy bajos niveles de DHA pero que contienen niveles altos de ácido alfa-linolénico (18:3n-3). Es interesante que *C. estor estor*, una especie de agua dulce con ancestros marinos (Barbour, 1973), los cuales es sabido que tienen una muy limitada capacidad de sintetizar HUFA (Sargent *et al.*, 1995), al parecer han desarrollado dicha capacidad y obtienen DHA a partir de la conversión de EPA o 18:3n-3.

Se encontró que huevos de organismos silvestres de *C. estor estor* tienen un mayor contenido de 20:4n-6 (ARA) y niveles similares de DHA en la comparación con huevos de peces cultivados (Martínez Palacios *et al.* 2006). Como sucedió con los adultos, los huevos tuvieron una alta proporción de DHA (24-34%) y bajas proporciones de EPA (3-4%) indicando la importancia de DHA para el desarrollo temprano de las larvas (Sargent, 1995). Los niveles de EPA en huevos, aunque fueron escasos, resultaron ser más altos que los encontrados en distintos tejidos corporales. Por ésta razón se sugiere que cierta incorporación selectiva de EPA a los huevos puede estar ocurriendo de acuerdo el papel específico que este ácido graso tiene en etapas de desarrollo temprano de larvas (Sargent *et al.*, 1995). La diferencia más importante entre huevos provenientes de organismos silvestres y los cultivados fue el bajo contenido de ARA en los cultivados, lo que sugiere que existe una falta de ARA en la dieta de los organismos reproductores cultivados. Además, en estadios de desarrollo más avanzados los peces alimentados con *Artemia* presentaron niveles bajos de DHA, reflejando la ausencia de este ácido graso en la dieta (Aparicio-Simón, 2004).

Se llevó a cabo un experimento para poder observar el desempeño de las larvas de menos de 20 días de vida alimentadas con rotíferos enriquecidos con diferentes aceites (Valencia-Betancourt *et al.*, 2004). Se observó que el peso seco y la longitud fueron significativamente más altos en larvas de peces alimentadas con microalgas o levadura enriquecida con aceite de hígado de bacalao comparados con las larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos solamente con levadura o con aceite de maíz (Tabla 1) (Martínez-Palacios, *et al.* 2006). También fueron observados valores intermedios de peso seco obtenidos con el enriquecimiento de rotíferos con una emulsión comercial rica en HUFA; la longitud de las larvas con este tratamiento fue tan bajo como el tratamiento de levadura sin enriquecer o conteniendo aceite de hígado de bacalao, a pesar de tener un alto contenido de HUFA en la emulsión comercial y de los altos valores encontrados en larvas alimentadas con esta dieta (Martínez-Palacios, *et al.*, 2006) (Tabla 3). La misma tendencia fue encontrada para la supervivencia aunque no se encontraron diferencias significativas. Los resultados sugieren que niveles altos de HUFA no son necesarios, considerando los datos del desempeño general de las larvas.

Alimentando a larvas de más de 20 días de vida con *Artemia* enriquecida con una emulsión comercial rica en HUFA tampoco mejoró el desempeño de *C. estor*. Este tratamiento no mostró resultados diferentes a los otros dos tratamientos, *Artemia* enriquecida con aceite de pescado y con la microalga *C. vulgaris*. Lo interesante de esta investigación, es que corrobora la posible síntesis de DHA en los peces, pues las larvas de *C. estor* registraron niveles relativamente altos de DHA a pesar de la ausencia de este ácido graso en la dieta enriquecida con *C. vulgaris*.

Como se ha observado en otras especies de peces (Lavens *et al.*, 1994) la levadura puede ser substituida por microalgas en la dieta para rotíferos siempre y cuando el medio sea enriquecido adecuadamente. El mejor desempeño larvario con la dieta de rotíferos alimentados con *C. vulgaris* puede estar relacionado con otro tipo de nutrientes aportados por la microalga. Sin embargo, considerando los altos niveles de ácido linoleico (18:2n-6) y ácido alfa-linolénico en rotíferos alimentados con microalgas, se puede argumentar que el suplemento de HUFA no parece ser necesario si están presentes suficiente precursores metabólicos de HUFA en la dieta. Esto es corroborado por los altos niveles de DHA encontrados en larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con *C. vulgaris* mientras que no sucedió lo mismo con larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con únicamente levadura o aceite de maíz. Sin embargo, los niveles bajos de DHA y EPA obtenidos con *C. vulgaris* comparado con el enriquecimiento con aceite de bacalao o la emulsión comercial rica en HUFA indica que la síntesis de los mencionados ácidos grasos es limitada.



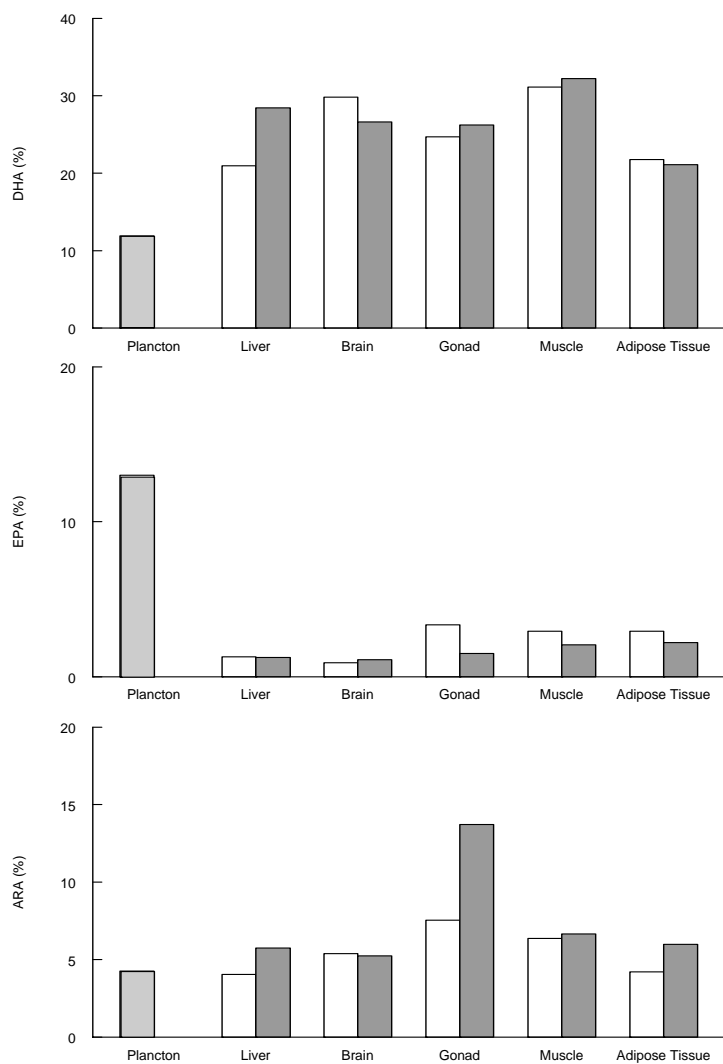


Figura 6. Proporción de ácido docosahexanoico (DHA), ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido araquidónico (ARA) en plankton y tejidos seleccionados de hembras (barras blancas) y machos (barras oscuras) de *Chirostoma estor*.

Tabla 1. Supervivencia y crecimiento de larvas de *Chirostoma estor* alimentadas con diferentes dietas de rotíferos enriquecidos.

	<i>C. vulgaris</i>	Levadura	Aceite de maíz	Ac. De hígado de bacalao	Emulsión comercial Salt-Creek
Peso seco Inicial (g)	0.07±0.006	0.08±0.003	0.08±0.003	0.08±0.01	0.07±0.005
Peso seco final (g)	1.72±0.41 <sup>a</sup>	1.1±0.09 <sup>c</sup>	1.05±0.07 <sup>c</sup>	1.61±0.42 <sup>ab</sup>	1.35±0.12 <sup>bc</sup>
Longitud inicial (mm)	5.07±0.12	5.01±0.07	5.04±0.05	5.03±0.06	5.02±0.06
Longitud final (mm)	14.1±0.8 <sup>a</sup>	9.75±0.1 <sup>c</sup>	9.60±0.8 <sup>c</sup>	11.0±0.9 <sup>b</sup>	9.91±0.6 <sup>c</sup>
Sobrevivencia (%)	83.3±10.4	66.7±2.9	66.7±7.6	75.0±5.0	68.3±2.9

Promedio (± desviación estándar) con diferentes letras son significativamente diferentes.

Tabla 3. Composición (%) de ácidos grasos seleccionados de larvas de *C. estor* al inicio y al final de el experimento.

	Initial		<i>C. vulgaris</i>		Levadura		Aceite de maíz		Ac. De hígado de bacalao		Emulsión comercial Salt-Creek	
	NL	PL	NL	PL	NL	PL	NL	PL	NL	PL	NL	PL
18:2(n-6)	2.2	1.0	2.2	2.3	2.9	2.7	12.4	12.6	9.8	6.0	3.3	1.6
18:3(n-3)	1.2	0.4	1.4	0.4	0.7	0.2	1.9	0.5	1.7	0.4	2.3	0.8
20:4(n-6)	3.4	5.2	1.4	4.3	2.1	3.7	1.6	4.6	2.0	3.6	2.7	3.9
20:5(n-3)	1.0	0.8	0.6	0.4	0.5	0.3	0.9	0.4	1.2	1.2	1.7	1.6
22:6(n-3)	10.8	28.3	6.3	8.0	4.4	4.7	3.8	6.1	8.8	15.0	12.0	21.3

NL: Lípidos neutrales, PL: Lípidos polares

## Conclusiones

Es evidente que se ha avanzado notoriamente en el cultivo de *Chirostoma estor estor* puesto que se tienen algunas bases que nos permiten entender cuáles fueron los problemas en el pasado y por qué se tuvieron tantos problemas para su manejo. En el pasado se intentó manejarlos de una manera rudimentaria tratando de generalizar algunas técnicas de cultivo de especies de agua dulce como carpas, truchas, tilapias o bagres, cuando definitivamente la especie tiene un hábitat y requerimientos muy diferentes, más parecidos a peces marinos que a especies dulceacuícolas.

Actualmente se tienen las bases para iniciar una investigación metódica en los temas de mayor importancia para hacer despegar el cultivo piloto comercial de la especie. Definitivamente no es una especie tolerante, pero su cultivo es factible.

Una vez que se ha avanzado en la larvicultura del pez blanco con la producción masiva de larvas y juveniles, se requieren urgentemente estudios de cultivo controlado en sistemas extensivos, semi-intensivos e intensivos tanto en estanques como en jaulas. Por ello, la producción en sistemas comerciales para acuicultura se obtendrá a mediano plazo.

Los estudios básicos sobre requerimientos nutricionales permiten hoy día entender más de la situación nutricional de esta especie tan peculiar y con ello generar las dietas en términos niveles proteicos, aminoácidos, ácidos grasos, requerimientos de vitaminas, digestibilidad, tamaños de partícula, aglutinantes a utilizar, etc.

## Referencias

- Álvarez-González C. A. 2003. Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (PERCOIDEI:SERRANIDAE). Tesis doctoral. Departamento de desarrollo de tecnologías. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. 180pp.
- Avella M, Blaise O, Berhaut J. 1992. Effects of starvation on valine and alanine transport across the intestinal mucosal border in sea bass, *Dicentrarchus labrax*. J. Comp. Physiol. 162B: 430-435.
- Armijo, O. A. y Y. L. Sasso. 1976. Observaciones preliminares en acuarios sobre incubación y alevinaje de aterínidos (*Chirostoma spp.*) del Lago de Pátzcuaro, Mich. Fideicomiso para el Desarrollo de la fauna Acuática, Vol. 3, 13p.
- Aune, A., Inmsland, A.K.. & K. Pittman. 1997. Grow of juvenile halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.), under a constant and switched temperature regime. *Aquaculture Research*. 28:931-939.
- Baglolle CJ., Goff GP., Wright GM. 1998. Distribution and ontogeny of digestive enzymes in larval yellowtail and winter flounder. J. Fish Biol. 53: 767-784.
- Barbour, C. D. 1973. The systematics and evolution of the genus *Chirostoma* Swainson (Pisces:Atherinidae). *Tulane Studies in Zoology and Botany*, 18(3):97-141.
- Bessey, A.O., Lowry, O.H. and Brock, M.J. 1946. Rapid coloric method for determination of alkaline phosphatase in five cubic millimeters of serum J. Biol. Chem. 164: 321-329.
- Bogé G, Rigal A y Péres G. 1982. The use of intestinal brush border membrana vesicles for comparative studies of glucosa and 2-amino isobutyric acid transport by four species marine teleost. *Comp. Biochem. Physiol.* 72A: 85-89.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Cahu C.L., Zambonino-Infante J.L. 1994. Early weaning of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae with a compound diet: effect on digestive enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol 109A. No. 2. pp 213-222.
- Cahu CL and Zambonino Infante JL. 1995. Maturation of the pancreatic and intestinal digestive functions in sea bass (*Dicentrarchus labrax*): effect of weaning with different protein sources. *Fish. Physiol. Biochem.* 14 (6): 431-437.
- Cahu C., Zambonino-Infante J.L. 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture* 200:161-180.
- Campos, A. 2000. Comparación del crecimiento de tres especies del género *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae), en cultivo experimental dentro de sistemas parciales de recirculación de agua. Tesis de Maestría. U.M.S.N.H. Morelia, Michoacán. 70 p.
- Cara-Torres J. B., Moyano F. J., Fernandez-Diaz C., Yúfera M. 2002. Actividad de enzimas digestivas durante el desarrollo larvario del Sargo (*Diplodus sargas*). I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. p110-121.
- Comas-Morte, J. 2001. Tolerance of *Chirostoma estor estor* (Family Atherinidae) larvae to saline environments. MSc Thesis. Institute of Aquaculture, University of Stirling. 61p
- Cousin JB, Baudin-Laurencin F, Gabaudan J. 1987. Ontogeny of enzymatic activities in fed and fasting turbot, *Scophthalmus maximus* L. J. Fish Biol. 30: 15-33.
- Dabrowski, K. & J. Glogowski. 1977. Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion processes in fish. *Hydrobiologia*, 54 (2): 129-134.
- Dahlqvist, A. 1970. Assay of intestinal disaccharidase. *Enzym. Biol. Clin.* 11, 112-116.
- De Silva S. S. y Anderson T. A. (1995). *Fish Nutrition in Aquaculture*. Chapman and Holl Great Britain. Pp 317.
- Díaz, M., Moyano, F. J., García-Carreño, F. L., Alarcón, F. J. & M. C. Sarasquete. 1997. Substrate-SDS-PAGE determination of protease activity through larval development in sea bream. *Aquaculture international*, 5: 461- 471.
- Ferraris RP and Ahearn GA. 1984. Sugar and amino acid transport in fish intestine. *Comp. Biochem. Physiol.* 77A: 397-413.
- Gawlicka, A., Parent, B., Horn, M., Ross, N., Opstad, I. and O. Torrissen. 2000. Activity of digestive enzymes in yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*): indication of readiness for first feeding. *Aquaculture*, 184: 303-314.
- Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). 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.

- Graham, AM (2001). Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive traces of the subspecies of pez blanco (*Chirostoma estor estor* and *Chirostoma estor copandaro* (Pisces:Atherinidae). BSc. (Hon) Aquaculture Project. Institute of Aquaculture, University of Stirling. 35p.
- Henning SJ. 1987. Functional development of the gastrointestinal tract. In: Jonhson LR. (Ed). Physiology of the Gastrointestinal Tract. 2<sup>nd</sup> edn. Raven Press, New York, pp. 285-300.
- Hoffer, R. & A. Nassir- Uddin. 1985. Digestive processes during the development of the roach, *Rutilus rutilus* L. J. Fish. Biol., 26: 683-689.
- Horvát, L., Tamás, G. & I. Tölg. 1984. Special methods in pond fish husbandry. Halver, J. (Ed.). Akadémiai Kiadó. Halver Coprporation, Seattle. Budapest. 148 p.
- Jones, A. & E. D. Houde. 1986. Mass rearing of fish fry for aquaculture. In: Bilio, M. Rosenthal, H. & C. F. Sindermann (Eds.), Realism in Aquaculture: Achievements, constraints and perspectives. European Aquaculture society, Bredene. 351-373 pp.
- Kolkovski, S., Tandler, A., Kissil, G. W. and A. Gertler. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. Fish Physiol. Biochem. 12: 203-209.
- Lagler, K; Bardach, E; Miller, R. and D. May Passino. 1977. Ichthyology. John Wiley & Sons, Second edition. USA. 506p.
- Lijima, N., Tanaka, S. and Ota, Y. 1998. Purification and characterization of bile saltactivated lipase from the hepatopancreas of red sea bream, *Pagrus major*. Fish Physiol. Bioch. 18:59-69.
- Kolkovski, S., Tandler, A., Kissil, G. W. and A. Gertler. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. Fish Physiol. Biochem. 12: 203-209.
- Li M.H., Wise D.J. and E.H. Robinson. 1998. Effect of dietary vitamin C on weight gain, tissue ascorbate concentration, stress response and disease resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. J. World Aquacult. Soc. 29 (1):1-8.
- Maroux, S., Louvard, D. and Baratti, J. 1973. The aminopeptidases from hog-intestinal brush border. Biochem. Biophys. Acta, 321:282-295.
- Martínez-Palacios, C.A.; Barriga-Tovar, E; Taylor, J.F; Ríos-Durán, M.G. and L.G. Ross. 2002. Effect of temperature on growth and survival of *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. Aquaculture, 209:369-377.
- Martínez-Palacios C.A., Morte J.C., Tello-Ballinas J.A., Toledo-Cuevas M., Ross L.G. 2004. The effects of saline environments on survival and growth of eggs and larvae of *Chirostoma estor estor* Jordan 1880 (Pisces:Atherinidae). Aquaculture. 238:509-522.
- Martínez-Palacios, C.A., Chavez Sánchez Ma. C., Papp G.S, Abdo de la Parra, Ross L.G. *et al.* Observations on spawning, early development and growth of the puffer fish *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1843). 2004. Journal of Aquaculture in the tropics. 17(1) (2002) 59-66.
- Martínez-Palacios, C. A; Ambriz-Cervantes' L; Ríos-Durán M. G; Ross, L.G. & K.J. Jauncey. Dietary protein requirement of juvenile Mexican Silverside (*Chirostoma estor estor* Jordan 1879), a stomachless zooplanktophagous fish. Aquaculture Nutrition, *in press*.
- Métais, P. and Bieth, J. 1968. Determination de l'alfa-amilase par une microtechnique. Annal. Biol. Clin., 26:133-142.
- Moyano, F. J., Díaz, M., Alarcón, F. J. and M. C. Sarasquete. 1996. Characterization of digestive enzymes activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish Physiol. Biochem. 15: 121-130.
- Morelos, M.G., Segura, V. y A. Chacón. 1994. Desarrollo embrionario del pez blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor* Jordan 1873 (Pisces:Atherinidae). Zoología Informa, 27(8):22-46.
- Nicholson, J. A. and Kim, Y.S. 1975. A one-step L-amino acid oxidase assay for intestinal peptide hydrolase activity. Anal. Biochem. 63:110-117.
- Oseguera, L. 1990. Caracterización morfológica de estadios embrionarios y juveniles de *Chirostoma grandocule* Steindachner (1896) y verificación del híbrido con *Chirostoma attenuatum* Meek (1902) del lago de Pátzcuaro, Mich., México. Tesis Profesional. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Escuela de Biología. Morelia, Michoacán. 65 p.
- Pedersen, B. H., Nilssen, E. M. & K. Hjelmeland. 1987. Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring (*Clupea arengus*) digesting copepod nauplii. Marine Biology, 94: 171-181.

Carlos A. Martínez-Palacios, Mayra Toledo-Cuevas, Elias Racotta Dimitrov, Ma. Gisela Ríos-Durán, Elena Palacios Metchenov, Jorge Fonseca Madrigal, Antonio Campos Mendoza y L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). 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.

- Pineda-Garibay, E. 2002. Actividad enzimática de lipasas en intestino de pez blanco adulto (*Chirostoma estor estor*) del lago de Pátzcuaro. Tesis de Licenciatura, Escuela de Químico Farmacobiología, U.M.S.N.H. 58p.
- Ribeiro, L., Zambonino-Infante, J. L., Cahu, C. and M. T. Dinis. 1999. Development of digestive enzymes in larvae of *Solea senegalensis*, Kaup 1858. *Aquaculture*, 179: 465-473.
- Ríos-Durán, M.G. 2000. Actividad proteolítica en larvas de pez blanco *Chirostoma estor copandaro* (Pisces: Atherinidae): Implicaciones para su cultivo. Tesis de Maestría. UMSNH. 53 p.
- Rojas CPM, Mares BLG, León JF, León MG (2000). Descripción del desarrollo larvario del pescado larvario *Chirostoma estor* Jordan (Pisces:Atherinidae). En preparación.
- Rosas, M. 1970. Pescado blanco (*Chirostoma estor*), su fomento y cultivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras, Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México. 79 p.
- Ross LG, Martínez-Palacios C. A., Aguilar Valdez Ma. del C., Beveridge M. C. M. , Chavez Sanchez Ma. C. (2006). Determination Of Feeding Mode In Fish: The Importance Of Using Structural And Functional Feeding Studies In Conjunction With Gut Analysis In A Selective Zooplanktivore *Chirostoma estor estor* Jordan 1880. *Journal of Fish Biology* 68: 1-13
- Segner, H. Rösch, R., Schmidt, H. & K.J. Von Poeppinghausen. 1989. Digestive enzymes in larval *Coregonus lavaretus* L. *J. Fish. Biol.*, 35: 249-263.
- Segner H. Rosch R, Verreth J, Witt U. 1993. Larval nutritional physiology: studies with *Clarias gariepinus*, *Coregonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus*. *J. World Aquacult.* 24: 121-134.
- Segner H, Storch V, Reinecke M, Kloas W, Hanke W. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs i turbot *Scophthalmus maximus* *Mar. Biol.* 119, 471-486.
- Smith LS. 1989. Digestive functions in teleost fishes. In Halver JE. Ed. *Fish Nutrition*. 2<sup>nd</sup> ed. London. Academic press. p 331-422.
- Solórzano, A. 1963. Algunos aspectos biológicos del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich. (*Chirostoma estor* Jordan, 1879). Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras. Dirección General de Pesca e Industrias Conexas. México. 15 p.
- Tello-Ballinas J. A.; Toledo-Cuevas M. y C.A. Martínez-Palacios 2001. Efecto de la salinidad en la supervivencia de huevos y larvas de pez blanco *chirostoma estor estor* (Pisces: Atherinidae). *Memorias del XVI Congreso Nacional de Ictiología*, 28 oct.-1 nov., 2001 , México.
- Tolbert, B.M. 1979. Ascorbic acid metabolism and physiological function. *Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl.* 19, 127-142.
- Trewavas, E. 1983. Tilapiine fishes of the genera SAROTHERODON, OREOCHROMIS and DANAKILIA. *British Museum (Natural History)*. First Edition. London. 583p.
- Walford J and Lam TJ. 1993. Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture* 109: 187-205.
- Watanabe, T. y V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Review. Aquaculture*, 124: 223-251.
- Worthington, T.M. 1982. *Enzymes and Related Biochemicals*. Biochemical Products Division. Worthington Diagnostic System Inc., Freehold. New Jersey.
- Zambonino Infante JL and Cahu C. 1994. Development and responses to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 12: 399-408.
- Zambonino-Infante, J.L. and Cahu, C.L. 2001. Ontogeny of the gastrointestinal tract of marine fish larvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 130C: 477-487.
- Zeitoun, I.H., Ulrey, D. E., Magee, W. T., Gill, J. L. & Bergen, W. G. 1976. Quantifying nutrient requirements of fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 33: 167-172.