

Avances en la Nutrición de la Cabrilla Arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*)

Roberto Civera¹, José Luis Ortiz², Silvie Dumas², Héctor Nolasco¹, Alfonso Alvarez², Benjamín Anguas², Renato Peña², Martín Rosales², Víctor Carrasco², Rubén García² y Ernesto Goytortúa¹.

¹ Laboratorio de Nutrición Acuícola. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. Mar Bermejo No. 195, Col. Playa Palo Santa Rita. La Paz, B.C.S., México. C. P. 23090. E-mail: rcivera@cibnor.mx

² Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, UPIMA. Av. I.P.N. s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, PO Box 592, La Paz, B.C.S., México. C. P. 23096.

RESUMEN

México es un país con alto potencial de desarrollo, ya que cuenta con aproximadamente 10,000 km² de costas susceptibles de ser explotables y una innumerable cantidad de especies nativas con potencial pesquero y acuícola. Desafortunadamente, la mayoría de los estudios se han enfocado solamente a algunas especies marinas (básicamente crustáceos y moluscos), y es sorprendente que teniendo esta capacidad de desarrollo, el cultivo de peces marinos no haya sido considerado seriamente. Sin embargo, existen instituciones nacionales que se han preocupado por abordar este problema y han iniciado una serie de estudios aplicados en las diversas áreas de investigación, a fin de desarrollar el cultivo de especies nativas de importancia comercial.

El Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) y el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), han venido desarrollando desde hace más de 7 años investigación en el área de la nutrición de la cabrilla arenera, enfocándose a organismos en diferentes estadios de desarrollo, y abordando temas tales como nivel de proteína y digestibilidad *in vitro* de ingredientes para alimentos de reproductores, anatomía y desarrollo ontogénico del aparato digestivo y las enzimas digestivas de larvas, evaluación de alimentos y tiempos de destete en larvas, determinación condiciones experimentales para realizar bioensayos nutricionales, medición de la digestibilidad *in vivo* de alimentos, y evaluación de alimentos con diferentes niveles de proteína y lípidos en juveniles. Todo lo anterior con la finalidad de diseñar alimentos balanceados que permitan mejorar y optimizar la supervivencia y el crecimiento de esta especie en cultivo. Para ello, se ha mantenido una fuerte colaboración entre los grupos de trabajo y se han realizado diversos

proyectos de investigación, lo que ha generado avances importantes tanto en la formación de recursos humanos, como en la difusión de los resultados sobre los aspectos básicos nutricionales, que se espera puedan contribuir a implementar el cultivo rentables y sustentable de la cabrilla arenera a nivel comercial. El presente trabajo es una compilación de investigaciones realizadas por el CICIMAR y el CIBNOR, donde se presentan los resultados más relevantes y los avances en la nutrición de la cabrilla arenera, con el fin de apoyar el cultivo de peces marinos en México.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de organismos marinos, específicamente peces, representa una alternativa económica con un gran potencial de desarrollo en México. Si bien es cierto que actualmente dicha actividad presenta una de sus principales dificultades durante las etapas del cultivo de los organismos en sus fases iniciales de desarrollo, es indudable que el éxito de la piscicultura tanto como unidad de producción como ámbito de investigación, presenta gran importancia dentro de los planes de desarrollo de nuestro país. Por esta razón, la Secretaría de Pesca a través de la Dirección Gral. de Acuicultura contrató a diversas instituciones para elaborar manuales para el desarrollo científico y tecnológico del cultivo de peces marinos, tales como el robalo (SEPESCA-CIBNOR, 1994), el pargo (SEPESCA-CIDESON, 1994a), la totoaba (SEPESCA-CIDESON, 1994b), la corvina (SEPESCA-IMIT, 1994a), el jurel (SEPESCA-IMIT, 1994b) y la cabrilla (SEPESCA-UABCS). Estos documentos fueron bases teóricas para el desarrollo de la piscicultura marina, aunque aún falta mucho por hacer, para que esta actividad sea productiva y rentable.

Actualmente, varias instituciones se han interesado en investigar y proponer el desarrollo de sistemas y tecnologías de cultivo aplicables a las especies locales de importancia comercial. Dentro de este grupo de especies, destaca en particular la cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*), ya que actualmente es la especie de pez marino con el mayor esfuerzo de investigación en México. En nuestro país, el recurso “cabrilla” lo constituyen las especies *Paralabrax maculatofasciatus*, *Epinephelus analogus* y *E. labriformis* (Secretaría de Pesca, 1994) y constituyen parte del volumen de captura de las pesquerías artesanales, las cuales se llevan a cabo en zonas relativamente cercanas a la costa. Las cabrillas tienen una fuerte demanda comercial por su carne blanca y buen sabor. En el año 2000, se tuvo una captura nacional de 4,007 TM, de las cuales el 88 % correspondió a Baja California Sur (SAGARPA/CONAPESCA, 2000). Siendo así, se entiende que en este Estado, se ha visto la posibilidad de aumentar la oferta a través de la piscicultura marina, como una alternativa para incrementar la producción de este recurso. Los estudios para desarrollar la tecnología de cultivo de la cabrilla los inician Matus-Nivón *et al.* (1990), ya que la señalan como una especie con potencial acuacultural, debido al crecimiento obtenido en sus primeros dos meses de vida y su resistencia al manejo. Posteriormente en el CRIP-La Paz, Avilés-Quevedo *et al.* (1995) con base a su experiencia de la cría larvaria en un laboratorio de producción con sistema abierto, y con la engorda en jaulas de cultivo en el exterior, desarrollan un esquema teórico en el que establecen la obtención de organismos de talla comercial (25-30 cm LT) a los 8-11 meses de edad; sin presentar datos de supervivencia en las diferentes etapas del cultivo. Más adelante, el grupo de investigación del CICIMAR, conjunta la experiencia previamente

desarrollada y aplica un esquema integral para obtener el desarrollo biotecnológico de la cabrilla arenera, en el cual se contemplan cinco rubros: 1) producción de alimento vivo; 2) producción de huevecillos; 3) cría larvaria; 4) engorda de juveniles, y 5) calidad del agua y enfermedades. En la producción de alimento vivo, se busca un alimento intermedio entre el rotífero y la *Artemia*, así se establecen las condiciones para la producción intensiva de un copépodo marino *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Osorio-Galindo, 1998). Esto, permite incorporarlos al esquema de alimentación para la cabrilla arenera utilizado por Alvarez-González (2001), junto con el enriquecimiento de los rotíferos y los nauplios y metanauplios de *Artemia* con emulsificantes comerciales. Este esquema, da un crecimiento por arriba de lo reportado por Roldán-Libenson *et al.* (1999), al alimentar larvas de cabrilla arenera con rotíferos enriquecidos con aceite de langostilla y lo de Avilés-Quevedo *et al.* (2002) que alimentan los rotíferos con mezclas de microalgas y levadura de pan. Los resultados de producción de huevecillos, permiten establecer las condiciones de fotoperíodo (13 L: 11 O) y temperatura (23 °C) en un sistema de circulación cerrada, para inducir a la maduración gonádica y obtener el desove espontáneo en diferentes estaciones a lo largo del año (Rosales-Velázquez, 1997), con lo que se obtienen huevecillos de la calidad y cantidad necesaria para los desarrollos experimentales requeridos. La cría larvaria, se logró llevar hasta el período juvenil en sistemas estáticos, con una supervivencia a los 17 días de edad de 5.3 % (Martínez-Díaz *et al.*, 2001). Posteriormente, al utilizar sistemas de circulación cerrada y al probar diferentes densidades de siembra, esta supervivencia se elevó a 11.1 % a los dos meses de edad (Alvarez-González *et al.*, 2001). De igual forma, se determinó la mejor densidad de siembra para la preengorda y la engorda en jaulas flotantes (Grayeb del Alamo, 2001), logrando una talla por debajo del esperado en el esquema teórico de Avilés-Quevedo *et al.* (1995), debido en parte a la maduración temprana de los organismos bajo cultivo. Se obtuvo el seguimiento de los parámetros de calidad del agua (físicoquímicos y microbiológicos) durante la cría de larvas y el estudio de enfermedades en adultos (Martínez-Díaz, 1995).

De acuerdo al estado actual de la tecnología del cultivo de la cabrilla arenera, una vez logrado establecer los sistemas de cultivo y las densidades de siembra de las distintas etapas de producción, los principales puntos a resolver son la madurez precoz y la nutrición durante las diferentes etapas del cultivo. En el caso de la madurez precoz, se pretende evitar mediante la producción de organismos triploides infértiles o con la producción de monosexos, aprovechando la condición de hermafrodita protogínico que tiene la especie (Hastings, 1989).

Hasta la fecha, no se han publicado trabajos que integren la información disponible sobre la nutrición y alimentación de la cabrilla arenera, por lo que el presente documento pretende mostrar los principales avances que se han tenido en las investigaciones realizadas por el CICIMAR y el CIBNOR en los últimos años, a fin de dar a conocer el estado del conocimiento y establecer una base para estudios futuros.

NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN

A manera de tener una mayor claridad, el trabajo ha sido subdividido en tres secciones: 1) reproductores, 2) larvas, y 3) juveniles. En cada sección se describen los objetivos, la

metodología empleada, los principales resultados y discusiones, así como conclusiones de los diferentes experimentos que se han realizado.

Reproductores

Alimentación

Uno de los factores más importantes para lograr la reproducción y domesticar las especies, es el contar con lotes de reproductores en buen estado nutricional, por lo que se diseñaron 2 experimentos para seleccionar la alimentación más adecuada. Para ello se comparó un alimento fresco (trozos de pescado) contra dos dietas semi-húmedas (35 y 50 % de proteína), y se midió su efecto en los desoves de la cabrilla arenera. Se capturaron peces adultos de la cabrilla (Fig. 1) y se trasladaron al Sistema de Inducción al Desove del Laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN en la ciudad de La Paz, B.C.S.



Figura 1. Fotografía de ejemplares adultos de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*.

Todos los peces fueron alimentados inicialmente con pescado fresco en trozos (especímenes del género *Eucinostomus*) y posteriormente con dos dietas semihúmedas, formuladas según Teng *et al.* (1978), pero con insumos locales (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación entre los ingredientes reportados y los utilizados en este estudio.

Formulación usada por Teng <i>et al.</i> (1978)			Ingredientes utilizados en nuestro estudio				
	Dietas (%)	30	50		Dietas (%)	35	50
Músculo de atún seco		22.8	57.0	* Harina de pescado		55.77	76.38
Alfa-celulosa		31.2	18.0	* Harina de maíz		30.30	11.56
Aceite de maíz		14.0	3.0	* Aceite de maíz (Mazola)		3.00	3.00
Aceite de hígado de bacalao		3.0	3.0	* Emulsión de Scott		1.93	0.06
Aglutinante (carboximetil-celulosa)		6.0	6.0	* Aglutinante (ALGIMAR ©MR. con 138 cps de viscosidad)		3.00	3.00
Dextrina		20.0	10	* Almidón		3.00	3.00
Premezcla de vitaminas		2.7	2.7	* Premezcla de vitaminas (complejo vitamínico PRIME)		2.00	2.00
Premezcla de minerales		0.3	0.3	* Premezcla de minerales		1.00	1.00

Los tratamientos alimenticios utilizados para evaluar el desempeño reproductivo de la cabrilla fueron dos dietas semihúmedas con 35 y 50 % de proteína, y un tratamiento a base de pescado fresco en trozos como testigo. La composición proximal del pescado fresco y de las dietas formuladas se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Análisis proximal de los tratamientos alimenticios utilizados para reproductores.

	Humedad ^a	Proteína ^b	Lípidos ^b	Cenizas ^b	Carbohidratos ^b
Pescado fresco	77.79	71.43	4.46	21.45	2.66 %
Dieta 35	50.52	34.5	9.56	14.03	41.91
Dieta 50	51.2	49.01	9.02	13.46	28.51

¹No determinado. ^aEn base húmeda. ^bEn base seca.

Se realizaron dos experimentos por duplicado, en los que los peces se mantuvieron separados por sexo un mes con los alimentos en cuestión, y posteriormente se pusieron en proporción de 1:1 para favorecer los desoves, y poder así evaluarlos.

En comparación con las dos dietas artificiales, los reproductores alimentados con el pescado fresco mostraron mejores resultados, presentando diferencias significativas ($p < 0.05$) en varios aspectos, entre los que se destacan el total de huevos fecundados y los desoves por día (Tabla 3). Otra diferencia encontrada fue en relación al porcentaje de eclosión, en el cual los peces alimentados con la dieta de 35 % de proteína, mostraron valores significativamente menores ($p < 0.05$) que el resto de los tratamientos utilizados. Es posible que este resultado se haya presentado como consecuencia del bajo porcentaje de proteína utilizado en la formulación de esta dieta, sin embargo harían falta más análisis para poder determinarlo.

Tabla 3. Aspectos cuantitativos de los desoves de la cabrilla arenera.

Tipo de alimento	Pescado fresco		Dieta 35		Dieta 50	
Desoves/día	0.9 ^a	0.95 ^a	0.2 ^c	0	0.39 ^b	0.45 ^b
Desoves con huevos fecundados/día	0.9 ^a	0.95 ^a	0.15 ^b	0	0.06 ^b	0.1 ^b
Total de huevos fecundados	910,851 ^a	716,799 ^a	61,828 ^b	0	7,635 ^c	620 ^c
Porcentaje de eclosión	97 ^a % n= 300 h	89 ^a % n= 300 h	73 ^b % n= 300 h	0	93 ^a % n= 300 h	99 ^a % n= 210 h
Supervivencia a la absorción del vitelo	100 % n= 300 h	100 % n= 300 h	99 % n= 300 h	0	99 % n= 300 h	99 % n= 210 h

La media en el mismo renglón con diferentes superíndices representa diferencias significativas (P<0.05).

Algunos de los factores que pudieron influir en el bajo desempeño reproductivo de los peces alimentados con las dietas 35 y 50 % de proteína, pueden ser la inclusión de ingredientes de origen terrestre, como la harina y el aceite de maíz, los cuales representaron porcentajes del 15 al 33 % del total de los ingredientes utilizados. Estos ingredientes aportan grandes cantidades de 18:2 n-6, del cual Watanabe *et al.* (1985) hacen referencia que este ácido graso influye negativamente en el desove de *Pagrus major*, y esto podría ser una de las razones por la cual los resultados no hayan sido favorables para las dietas con 35 y 50 % de proteína.

Los requerimientos alimenticios de reproductores de la cabrilla arenera no son conocidos, sin embargo, se tienen adelantos en cuanto al efecto de algunos alimentos en la reproducción. Entre algunas recomendaciones hechas en alimentación para reproductores, Luquet & Watanabe (1986) mencionaron que los peces marinos necesitan un porcentaje mayor en proteína y menor en energía que los peces dulceacuícolas. La cabrilla arenera fue alimentada exitosamente con fines reproductivos con pescado fresco, el cual tiene una composición proximal de 71 % de proteína, 4.5 % de lípidos, 78 % de humedad y 2.66 % de carbohidratos. Este porcentaje, comparativamente mayor en proteína del pescado fresco, con respecto a las dietas experimentales (Tabla 2), puede ser una razón por la cual los peces alimentados con este alimento presentaron buenos resultados en su desempeño reproductivo.

Se recomienda para peces reproductores marinos, la incorporación de ácidos grasos esenciales de la serie *n-3*, especialmente ácidos grasos altamente insaturados como el eicosapentaenoico 20:5 (*n-3*) (EPA) y el docosahexaenoico 22:6(*n-3*) (DHA), los cuales están contenidos principalmente en grasas de origen marino (Watanabe, 1990). Los lípidos afectan el desove y la calidad de los huevos de muchas especies de peces, y la deficiencia en (*n-3*) ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) en reproductores afectan negativamente la fecundidad, tasa de fertilización y eclosión (Rainuzzo *et al.*, 1997). A pesar de que en este trabajo se generaron algunos datos sobre la nutrición de reproductores de la cabrilla y su efecto en la reproducción, hacen falta estudios más finos en cuanto al aporte real, tanto de su alimentación natural, como del pescado fresco suministrado y los

requerimientos nutricionales de la cabrilla arenera en relación a los ácidos grasos que podrían favorecer la obtención de desoves de mayor calidad. Asimismo, se hace necesario conocer la disponibilidad de nutrientes a partir de ingredientes de origen terrestre y marino, a fin de optimizar las formulaciones alimenticias para los reproductores, y evitar la dependencia actual del alimento fresco, cuya calidad es muy variable.

Digestibilidad in vitro de ingredientes

A fin de seleccionar ingredientes para la formulación de alimentos para reproductores, se evaluó la capacidad digestiva de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* y se comparó con la de la trucha arcoiris *Oncorhynchus mykiss*, para digerir diferentes insumos animales y vegetales usando ensayos “*in vitro*”, así como técnicas de electroforesis SDS-PAGE. Para ello, doce reproductores de cabrilla arenera (153 ± 60 g) fueron mantenidos en el sistema cerrado de reproducción controlada del Laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN y alimentados con dieta fresca (mojarra) durante varios meses. Los peces fueron anestesiados y sacrificados para la obtención de las diferentes secciones del digestivo (estómago e intestino) después de un período de inanición de 24 h. Los extractos activos fueron preparados utilizando un homogenizador de tejidos en buffer fosfato 10 mM a pH 8 (80 mg/ml). Posteriormente fueron sonicados durante 2 segundos a 4°C y centrifugándolos (15,000 rpm, 30 min, 4 °C). Se recuperó el sobrenadante y se les ajustó el pH a 2 para el estómago y 8 para el intestino. Finalmente, las muestras fueron distribuidas en alícuotas de 1 ml y congeladas a -20 °C hasta su utilización. De la misma manera, diez truchas arcoiris de 250-300 g fueron sacrificadas, extrayéndoles el intestino y estómago; éstos fueron homogeneizados a 4°C en 1:5 w/v (200 mg/ml) volúmenes del mismo buffer y realizando la misma operación que con las muestras de cabrilla arenera. La concentración de proteína soluble fue calculada usando la técnica de Bradford (1975) usando albúmina sérica como estándar (1 mg/ml). La proteasa ácida fue medida por la técnica de Anson (1937) y la proteasa alcalina fue medida utilizando la técnica de Kunitz (1947) modificada por Walter (1984). Una unidad de actividad enzimática fue medida como 1 µg de tirosina liberada en 1 min usando un coeficiente de extinción para la tirosina de 0.005 ml/µg x cm. Todas las mediciones fueron hechas por triplicado. Para la determinación del grado de hidrólisis (GH %), se utilizó un pH STAT (718 Stat Titrino, Metrohm). Las soluciones de las diferentes fuentes de proteína (Tabla 4) fueron preparadas solubilizando las harinas en agua destilada (8 mg de proteína/ml). Para iniciar la reacción se ajustó el pH de la solución a 3.5 y una vez estabilizado se agregó el extracto estomacal (1000 U de actividad) dejándolo reaccionar por 15 min. Una vez concluida la digestión ácida, se aumento el pH a 8 hasta estabilizarla. Se agregó el extracto intestinal (100 U de actividad) y se inició la reacción por 45 min. Durante todo el proceso de digestión, se tomaron muestras para realizar electroforesis en condiciones disociantes (SDS-PAGE).

Las SDS-PAGE se realizaron en geles de poliacrilamida (10%) siguiendo el protocolo descrito por Laemmli (1970). Las electroforesis fueron corridas a volumen constante 100 V por gel durante una hora a 5 °C. La tinción de los geles se realizó con una solución de azul brillante de Coomassie (BBC-250) en una solución metanol: ácido acético:agua (50:20:50)

y destiñendo con una solución de metanol: ácido acético: agua (35:10:55). Todos los ensayos se realizaron por duplicado y se corrieron líneas base para determinar la autohidrólisis de las harinas.

Tabla 4. Naturaleza y composición química de las harinas utilizadas para la determinación del grado de hidrólisis en organismos reproductores de cabrilla arenera.

Clave	Ingrediente	Origen	Proteína (%)	Lípidos (%)	Humedad (%)
ICN	Caseína	Estados Unidos	90.0	-	1.0
CPSP2000	Hidrolizado de pescado	Noruega	73.2	20.5	2.0
HS0101-1	Harina de sardina	México	68.7	5.4	5.1
HL9804	Harina de langostilla	México	38.2	4.3	4.5
HC0101-1	Harina de calamar	México	71.6	5.0	10.6
GT0107-1	Gluten de trigo	México	81.9	1.0	5.1
PS0107-1	Pasta de soya	México	70.0	1.5	10.0
HIT 0107-1	Harina de trigo	México	13.0	2.3	5.7

Se detectaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para el GH de la cabrilla arenera comparada contra la trucha arcoiris, donde se puede apreciar que la capacidad digestiva de la cabrilla arenera es mayor que la de la trucha; excepto para la HIT 0107-1, la cual fue mayor para la trucha (Tabla 5). Estas diferencias demuestran que la cabrilla arenera es una especie con alta capacidad digestiva con harinas de origen animal y disminuye en más del 50 % para las harinas de origen vegetal. Estos resultados fueron comparables a los grados de hidrólisis que han sido calculados para otras especies como *Sparus aurata* y *Dentex dentex* (Alarcón, 1997; Alarcón *et al.*, 1999), aunque los porcentajes para estas especies son mayores a los de la cabrilla arenera (11 al 13 % harinas animales y 6 al 7 % para harinas vegetales).

Tabla 5. Comparación del grado de hidrólisis (GH) de diferentes harinas en cabrilla arenera y trucha arcoiris (Promedio \pm Desviación Estándar).

Clave	Insumo	GH (%)	
		Trucha arcoiris	Cabrilla arenera
ICN	Caseína	7.57 \pm 0.06 ^{bA}	9.41 \pm 0.01 ^{aA}
CPSP2000	Hidrolizado de pescado	5.13 \pm 0.14 ^{bB}	7.67 \pm 0.07 ^{aB}
HS0101-1	Harina de sardina	4.67 \pm 0.17 ^{bB}	6.40 \pm 0.10 ^{aBC}
HL9804	Harina de langostilla	2.80 \pm 0.06 ^{bC}	5.27 \pm 0.53 ^{aC}
HC0101-1	Harina de calamar	2.47 \pm 0.15 ^{bC}	3.48 \pm 0.03 ^{aD}
GT0107-1	Gluten de trigo	2.71 \pm 0.09 ^{nsC}	3.00 \pm 0.09 ^{nsDE}
PS0107-1	Pasta de soya	1.83 \pm 0.03 ^{bD}	2.60 \pm 0.03 ^{aE}
HIT 0107-1	Harina de trigo	3.81 \pm 0.03 ^{aBC}	3.78 \pm 0.22 ^{bD}

Superíndices en minúsculas representan diferencias significativas entre renglones y en mayúsculas entre columnas ($P < 0.05$).

Los estudios antes realizados se corroboraron tomando muestras a diferentes tiempos de la caseína (ICN) y la pasta de soya (PS0107-1), para comparar la digestión de ingredientes de origen animal contra los de origen vegetal. Las SDS-PAGE mostraron diferencias muy

marcadas en la forma en la que se digieren estos dos insumos. En el caso de la caseína, se observa tres grupos de proteínas al inicio de la digestión ácida. Se observaron proteínas de alto peso molecular, que fueron fuertemente hidrolizadas por las proteasas ácidas, para después disminuir gradualmente durante la digestión alcalina hasta desaparecer casi completamente, lo que permite asumir que los péptidos fueron hidrolizados a aminoácidos libres. En el caso de la pasta de soya, se observó que la digestión ácida no tiene ningún efecto sobre las proteínas de alto peso molecular y en muy poca medida en proteínas de peso molecular medio. Al pasar a la fase alcalina, se digiere una parte de las proteínas de alto peso molecular, liberando una mayor cantidad de péptidos de cadena media durante los primeros 100 s, pero después de este tiempo no se observa disminución de la cantidad de péptidos durante todo el proceso de digestión (Fig. 2).

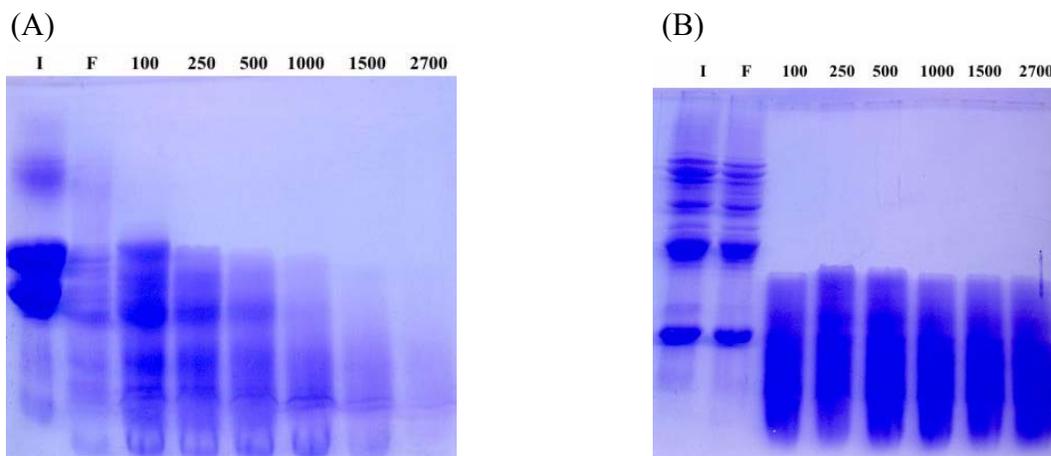


Figura 2. SDS-PAGE de ingredientes digeridos (A) caseína y (B) pasta de soya utilizando los extractos enzimáticos de la cabrilla arenera. (I): Inicio de la digestión ácida, (F): final de la digestión ácida. Los números indican la cantidad de segundos durante la digestión alcalina.

Estos resultados han sido corroborados por Moyano *et al.* (1999) y Moyano & Savoie (2001) en sus estudio con la dorada *Sparus aurata* y la tilapia, donde se menciona que la digestión de los diversos ingredientes utilizados para la acuicultura variarán en función de varias características, como son la capacidad digestiva de la especie (tipo de maquinaria enzimática), es decir su afinidad por el origen de la proteína, el estadio de desarrollo (ontogenia) y sus hábitos alimenticios (herbívoro, omnívoro, carnívoro, etc). Además del tipo de sistema para la determinación del grado de hidrólisis (abierto o cerrado). Por lo que en general las especies cultivadas tienen menor capacidad digestiva hacia las harinas de origen vegetal; lo anterior debido a que este tipo de harinas tienen composiciones de aminoácidos y estructuras moleculares diferentes a las harinas de origen animal, por lo que la afinidad por parte de las proteasas (endo o exopeptidasas) es menor (Dimes & Haard, 1994). Al comparar estos estudios con los realizados con la cabrilla arenera, se observó que los GH de la tilapia y de la dorada fueron mayores, aunque se debe de considerar que esto

variará dependiendo de las condiciones en las que se realice el ensayo (pH óptimo de las proteasas).

Se debe resaltar que la cabrilla arenera presenta una mejor capacidad digestiva que la trucha arcoiris, aunque su capacidad disminuye fuertemente en el caso de la pasta de soya (PS0107-1). Este fenómeno ha sido observado anteriormente en especies como la trucha, ya que este insumo presenta inhibidores de proteasas de forma natural y su inactivación dependerá del tratamiento que se le de durante su fabricación (Tacon, 1993). Es imprescindible mejorar la digestión de los diversos ingredientes para mejorar el proceso de absorción y lograr que los organismos adquieran los nutrientes en cantidad y calidad adecuada.

Se considera que desde el punto de vista nutricional, la cabrilla arenera es una especie con alto potencial acuícola, además de poseer un tipo de digestión similar a la de especies como la dorada y el dentón, al poder hidrolizar en mayor medida las harinas de origen vegetal que especies totalmente carnívoras como la trucha, por lo que la posible utilización de este tipo de harinas en dietas para esta especie, es otra línea de investigación que deberá ser explotada a fin de lograr la sustitución parcial de harinas animales por harinas vegetales. No obstante, se debe ser muy cuidadoso al utilizar las harinas vegetales, ya que estas pueden tener factores antinutricionales que afecten el crecimiento de los peces al ser incluidas en proporciones mayores a las requeridas, además de asegurarse que estas harinas tengan una buena calidad.

El estudio presentado aquí debe ser complementado con análisis de aminoácidos a fin de determinar la composición de los ingredientes utilizados durante la formulación, de manera que si existe carencia de los aminoácidos esenciales, éstos sean aportados a la dieta al momento de su fabricación, así como por estudios de digestibilidad in vivo, a fin de conocer la disponibilidad de los nutrientes de los diversos ingredientes del alimento para los reproductores de cabrilla.

Larvas

A continuación se describe brevemente la metodología que ha servido como base para la producción experimental de huevos de cabrilla en el CICIMAR desde 1994, misma que, en términos generales, ha sido utilizada para obtener el material biológico necesario para llevar a cabo diversos estudios sobre nutrición y alimentación de larvas y de juveniles. Cabe mencionar que a medida que se realizaron los estos estudios, y se fue adquiriendo experiencia en el manejo de los organismos, algunas de las condiciones de cultivo se han ido modificando y mejorando para optimizar el cultivo larvario.

Los huevos de la cabrilla arenera fueron obtenidos a través del desove natural de reproductores mantenidos en cautiverio bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN (Rosales-Velázquez, 1997). Los embriones fueron incubados en un tanque cilíndrico de fibra de vidrio de 100l de capacidad a 25

$\pm 1^\circ \text{C}$, salinidad de $36 \pm 0.5 \text{‰}$, con recambio de agua y aireación constante hasta su eclosión. Los eleuteroembriones fueron distribuidos en 12 tanques rectangulares de fibra de vidrio con fondo plano, conectados en un sistema de circulación cerrado ubicado en la UPIMA (Unidad Piloto de Maricultivos) del CICIMAR (Fig. 3) a una densidad de 50 ind/l.



Figura 3. Sistema de circulación cerrado utilizado para la crianza de larvas de cabrilla arenera en la UPIMA del CICIMAR. La unidad de filtración consiste de un filtro de arena, un filtro biológico con lodos activados, un espumador de albúmina, una unidad de luz U.V., y una columna de aireación.

Se realizó el seguimiento diario de los siguientes parámetros ambientales: salinidad, temperatura y oxígeno disuelto, que fueron tomadas por medio de un oxímetro de campo marca YSI modelo 85 (Yellow Springs, Ohio, USA), finalmente, el amonio total y el nitrato total se midieron por medio de técnicas colorimétricas (Strickland & Parsons, 1967). El cultivo se mantuvo en agua verde por los primeros 8 días adicionando *Nannochloropsis oculata* (300,000 cel/ml) debido a un bajo recambio de agua durante este tiempo (<10 % diario). Las larvas fueron alimentadas con el rotífero *Brachionus plicatilis* (1-10 ind/ml), suministrándose inicialmente sin enriquecer por los dos primeros días y enriqueciéndolos con una emulsión comercial hasta el día 15. En el día 15, se alimentó con nauplios de *Artemia sp.* sin enriquecer (0.5 – 2.0 ind/ml) y a partir del día 17 se suministró nauplios enriquecidos (2 – 3 ind/ml).

Anatomía del tracto digestivo de las larvas

El objetivo del presente estudio fue el de establecer las características morfológicas e histológicas del desarrollo ontogenético del tubo digestivo de larvas de la cabrilla arenera alimentadas con presas vivas. Diariamente, 40 larvas fueron recolectadas desde la eclosión hasta el día 14 y posteriormente cada dos días hasta el día 30. Las larvas recolectadas se anestesiaron con metil sulfonato de triclaína, (35 mg/L), se midieron y se fijaron con formol

10% ó formol neutro. Se incluyeron utilizando la técnica de doble inclusión alginato-parafina. Se realizaron las técnicas de hematoxilina-eosina para caracteres generales eosinófilos y basófilos, ácido peryódico de Schiff para carbohidratos y ninhidrina-Schiff para grupos amino (Davenport, 1960).

El desarrollo del tubo digestivo en larvas de *P. maculatofasciatus* sigue un patrón básico (Fig. 4), el cual fue propuesto inicialmente por Tanaka (1973) para otras especies. Después de la eclosión, el tubo digestivo consiste de un tubo indiferenciado que se encuentra sobre el saco vitelino (Fig. 4a). En el día 2 de desarrollo, la boca y el ano se abren, momento en que ocurre la primera alimentación y aparece una válvula intestinal delimitando el intestino anterior del intestino posterior (Fig. 4b). En el día 3 después de la eclosión, inicia la formación del estómago (Fig. 4c). Para el día 5 de desarrollo, el tubo digestivo está completamente diferenciado en bucofaringe, esófago, estómago, intestino anterior, intestino posterior y recto. En el día 6 de desarrollo inicia una torsión del tubo digestivo (Fig. 4d) que finalizará con la formación de un bucle, el cual permite un mayor tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo. A partir del día 16 después de la eclosión, aparecen las glándulas gástricas en el estómago (Fig. 4e) y el primer ciego pilórico, cuya presencia delimita el final del período larvario y el inicio del período juvenil. Finalmente, para el día 22 se observan 4 ciegos pilóricos (Fig. 4f).

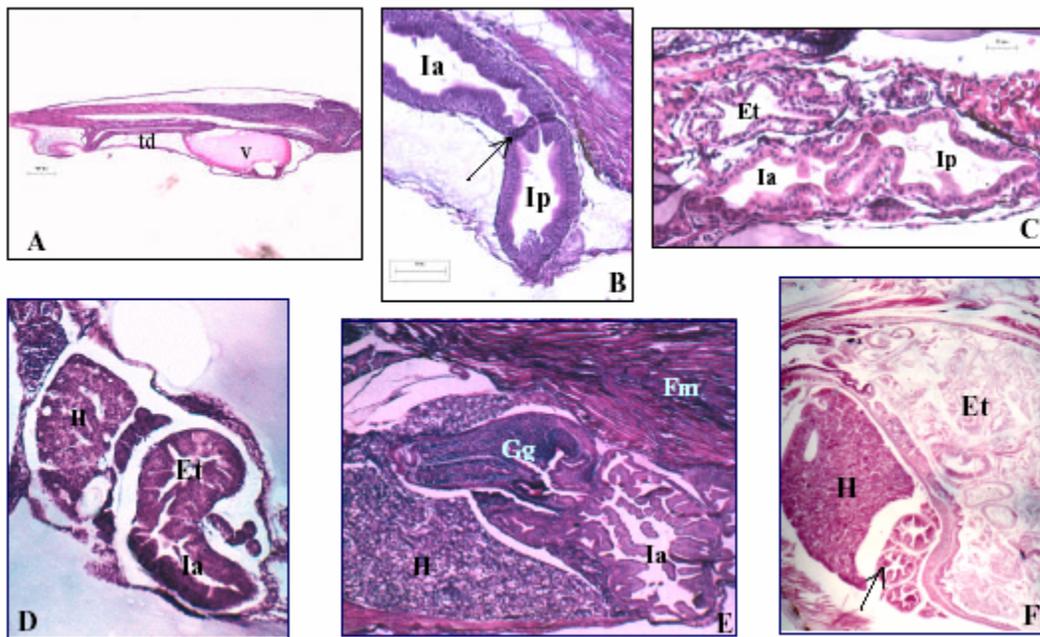


Figura 4. Desarrollo del tubo digestivo de larvas de la cabrilla arenera (técnica de tinción: hematoxilina-eosina). A) Momento de la eclosión. B) Día 2 de desarrollo; válvula intestinal (→) delimitando al intestino anterior del intestino posterior. C) Día 3 después de la eclosión, inicia el desarrollo del estómago. D) Día 6 de desarrollo, torsión del tubo digestivo. E) Día 16, glándulas gástricas en el estómago. F) Día 22, cuatro ciegos pilóricos (→) entre el hígado y el estómago: Et = estómago; Fm = fibras musculares; Gg = glándulas gástricas; H = hígado; Ia = intestino anterior; Ip = intestino posterior; td = tubo digestivo; v = vitelo.

El análisis histoquímico muestra que las larvas de la cabrilla arenera absorben y almacenan carbohidratos complejos a través de ambos intestinos desde el inicio de la alimentación exógena, lo cual ha sido corroborado con la detección de amilasa durante los primeros días de desarrollo (Alvarez-González, *et al.*, 2001). Por su parte, nuestros resultados muestran que las proteínas son absorbidas en el intestino posterior en forma de vacuolas supranucleares positivas a la reacción ninhidrina-Schiff, a partir de los dos días de iniciada la alimentación exógena, presumiblemente por pinocitosis como ocurre en otras especies (Watanabe, 1982) y como un mecanismo alternativo para suplir la falta de un estómago funcional durante el período larvario (Govoni *et al.*, 1986). Al igual que en otras especies, las larvas de la cabrilla arenera absorben los lípidos a través del intestino anterior en forma de vacuolas digestivas (Fig. 5).

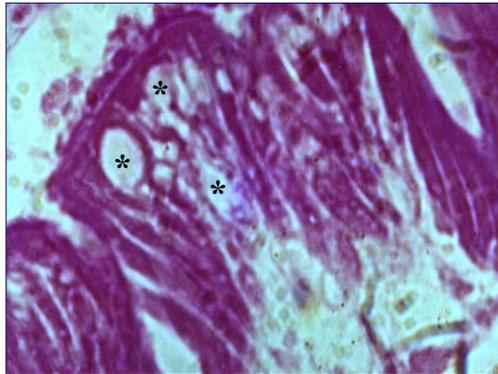


Figura 5. Vacuolas supranucleares (*) en el intestino anterior de larvas de la cabrilla arenera de 11 días después de la eclosión.

La aparición de las glándulas gástricas trae como consecuencia la disminución, tanto en número y tamaño, y eventual desaparición de las vacuolas en ambos intestinos. Lo cual ha sido asociado a la de madurez de la funcionalidad digestiva, al ocurrir una transición de los mecanismos digestivos de proteínas y a una mayor capacidad de transporte de lípidos por parte de los enterocitos del intestino anterior (Sargent *et al.* 1989).

La descripción del desarrollo del tubo digestivo representa un paso inicial para la identificación e implementación de nuevas dietas durante el cultivo de larvas de peces marinos. Estos estudios permiten identificar los caracteres morfológicos implicados en el proceso digestivo, y combinados con estudios enzimológicos, permiten deducir el mejor momento para iniciar el destete de las larvas, lo cual se vería reflejado en menores costos de producción del alimento vivo (Person Le Ruyet *et al.*, 1993).

El desarrollo del tubo digestivo de *P. maculatofasciatus* se ajusta a un patrón de desarrollo característico en los peces marinos. Lo mismo ocurre con el proceso y sitio de absorción de los diferentes biomoléculas. Las principales diferencias observadas con este patrón son en cuanto a los tiempos de aparición de diferentes estructuras (Peña *et al.*, en prensa).

Con base en los resultados del presente estudio, se podría sugerir modificar el calendario de alimentación de larvas de la cabrilla arenera, de tal forma que se inicie el destete de las larvas a partir del día en que aparecen las glándulas gástricas en el estómago (Peña *et al.*, en prensa). Los esfuerzos de investigación actualmente se encaminan a describir el desarrollo de la actividad enzimática de las larvas de la cabrilla arenera y se realizan ensayos bioquímicos y enzimoquímicos que nos permitirán lograr un mejor entendimiento de la fisiología digestiva de larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*.

Ontogenia enzimática

A fin de estudiar el desarrollo de enzimas digestivas durante la ontogenia de la cabrilla arenera se realizó el siguiente calendario de muestreo. De la incubadora se tomaron larvas que permanecieron en inanición durante 5 días, desde huevos (denotados como tiempo 0), 12, 24, 48, 72 y 96 horas después de la eclosión (HDE). En el caso de las larvas alimentadas, se tomaron a los 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15, 18, 25 y 30 días después de la eclosión (DDE). La cantidad de organismos obtenidos fue variable desde 800 huevos, disminuyendo gradualmente en cada período hasta tomar 15 larvas (30 DDE) por cada tanque. Además se recolectaron muestras de rotíferos enriquecidos y sin enriquecer, nauplios enriquecidos y sin enriquecer, además de juveniles y adultos de *Artemia sp.* Todas las muestras fueron enjuagadas con agua destilada, liofilizadas y preservadas a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior análisis.

Los extractos fueron obtenidos por medio de la maceración de las muestras de huevos, eleuteroembriones y larvas en inanición (0, 12, 24, 48, 72 y 96 HDE) y alimentadas (1-5, 7, 9, 12, 15, 18, 25 y 30 DDE) en 2 a 4 volúmenes de buffer tris-HCl 50 mM, 20 mM de CaCl_2 a un pH de 7.5 y la centrifugación a $14,000 \times g$ por 5 minutos a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para el cálculo de la concentración de proteína soluble de cada muestra, se utilizó la técnica de Bradford (Bradford, 1976). La recta patrón se llevó a cabo con una solución estándar de albúmina bovina (1 mg/ml). La actividad de proteasa alcalina, se realizó por el método de Kunitz (1947) modificado por Walter (1984) usando como sustrato caseína al 1%. La actividad tripsina fue evaluada probando BAPNA ($\text{N}\alpha$ -Benzoil-DL-Arginina-P-NitroAnilida) como sustrato según el método de Erlanger et al. (1961). La actividad quimotripsina se determinó por hidrólisis del BTEE (N-Benzoil-L-Tirosina Etil Ester) a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, según la metodología descrita por Ásgeirsson & Bjarnason (1991). La actividad aminopeptidasa N, se determinó por el método de Maraux (1973) utilizando como sustrato Leucina *p*-nitroanilida. La actividad de proteasa ácida, se midió por medio la técnica de Anson (1938) modificada, utilizando como sustrato hemoglobina al 0.5%. La actividad lipasa se realizó a través del método de Versaw *et al.* (1989) usando como sustrato β -naftil caprilato (200mM). La actividad α -amilasa (α 1-4 glucán 4-glucanohidrolasa) se valoró usando el procedimiento descrito por Robyt & Whelan (1968). La variación de la actividad fosfatasa ácida y alcalina se valoró usando 4 nitrofenilfosfato como sustrato.

Se utilizaron técnicas de electroforesis en condiciones desnaturalizantes (Laemmli, 1970) para caracterizar proteínas hidrosolubles así como se visualizó su actividad enzimática (zimogramas). En el caso de las proteasas alcalinas se utilizó la técnica de García-Carreño et al., (1993) para visualizar su actividad. Las electroforesis se corrieron a un voltaje constante de 200 volts (100 voltios por gel) e intensidad de 120 mA (60 mA por gel) durante unos 45 minutos. Los zimogramas de actividad lipasa fueron realizados en condiciones desnaturalizantes utilizando como sustrato β -naftil caprilato (200 mM). Finalmente, los zimogramas de actividad amilasa se corrieron bajo condiciones nativas (Davis, 1964) utilizando como sustrato almidón (0.5%) y revelando su actividad con yodo (Martínez *et al.*, 2000).

Los estudios sobre la ontogenia de la actividad enzimática, mostraron fluctuaciones a lo largo del tiempo para la cabrilla arenera. En el caso de la proteasa alcalina (Fig. 6a), se detectaron dos picos de actividad máxima correspondientes a los días 4 y 9, mientras que para los días 15 al 45 DDE, se observó una caída de la actividad. Cabe resaltar que la presencia de proteasas ácidas funcionales se detectó desde el día 12. De esta forma, al empatar las actividades de proteasas ácidas contra las alcalinas, se detectó una sucesión a partir del día 25, siendo más importante para la larva la digestión estomacal. Para este tipo de enzimas, al realizar la transformación a mU/larva, se detectó un incremento exponencial en las actividades y de la misma manera, la actividad ácida se vuelve más importante a partir del día 25. (Fig 6b).

El zimograma de actividad de proteasas alcalinas, denotó la misma tendencia observada para los ensayos *in vitro*, donde se resaltaron los cambios en las actividades a lo largo de la ontogenia. Sin embargo, el zimograma mostró cinco bandas de actividad, tres de bajo peso molecular y dos de mediano peso. Estas dos bandas permacionaron durante los primeros 5 días para después desaparecer intensificándose la actividad de las bandas de bajo peso molecular (Fig. 6c). Al relacionar estas actividades con la actividad del alimento vivo, se puede concluir que aparentemente el aporte del rotífero y la *Artemia* es bajo (Tabla 6). Esto concuerda con lo observado con larvas de *Sparus aurata* donde se relacionan esas fluctuaciones con los cambios de alimento (rotíferos y *Artemia*), aunque se considera que el aporte por parte de los alimentos vivos no representa el mayor porcentaje dentro de la capacidad enzimática para esta especie (Moyano *et al.*, 1996).

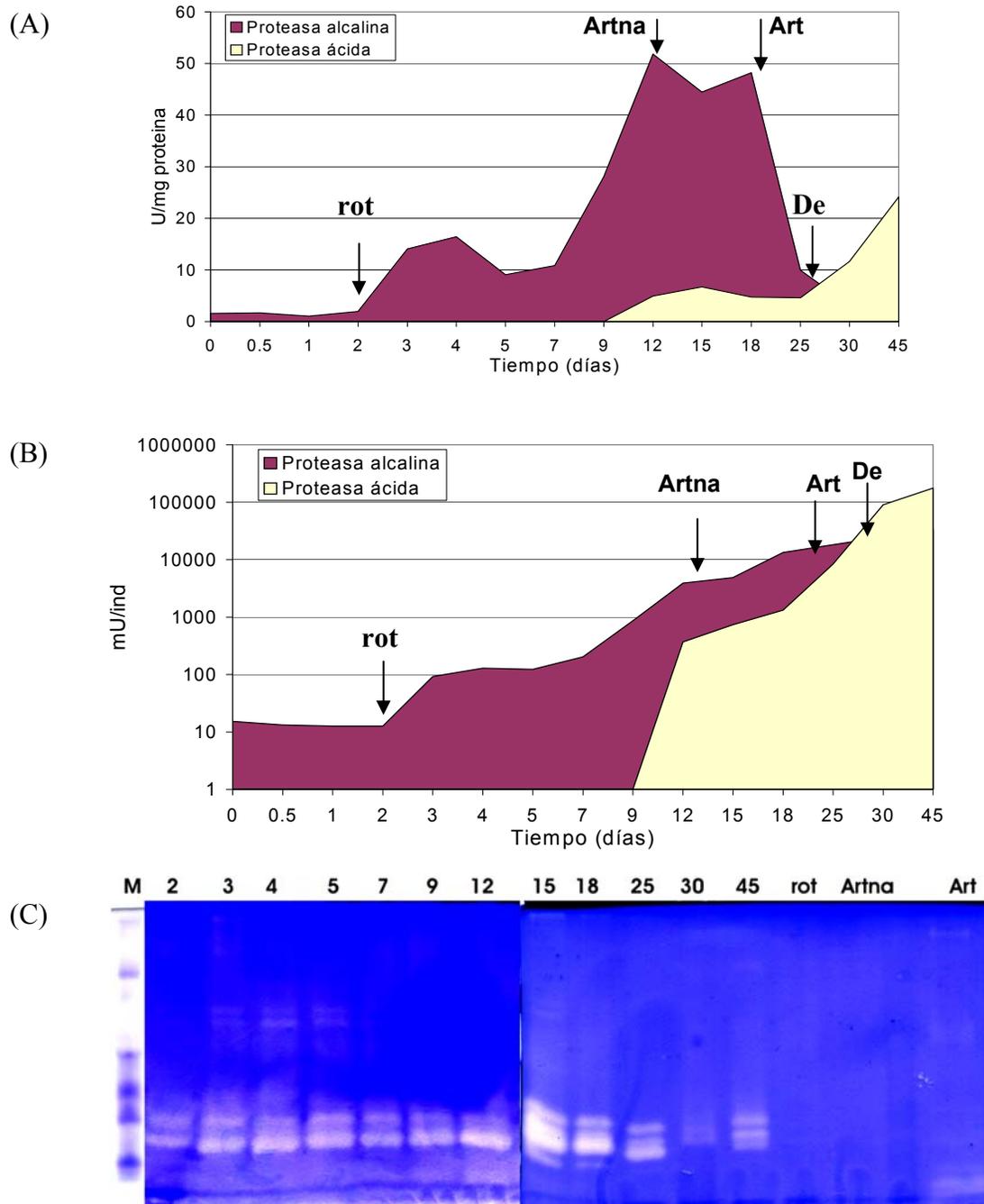


Figura 6. Ontogenia de la actividad proteasa ácida y alcalina de la cabrilla arenera. A) expresada en U/mg de proteína soluble, B) expresada en mU/larva, C) Zimograma de la actividad proteasa alcalina en condiciones desnaturalizantes. M: marcador de pesos moleculares; números indican el DDE; rot: rotífero; Artna: nauplio de Artemia; Art: Artemia adulta; Des: Destete.

Tabla 6. Actividades enzimáticas de los alimentos vivos (Promedio \pm Desviación Estándar): rotífero sin enriquecer, rotífero enriquecido, nauplio de *Artemia*, adulto de *Artemia*.

Actividades	rot sin/enriqu	rot enriqu	naup Art.	adulto Art.
Proteasa alcalina (U/mg prot)	3.11 \pm 0.31	4.28 \pm 0.30	2.34 \pm 0.26	23.41 \pm 0.73
Proteasa ácida (U/mg prot)	4.22 \pm 0.36	4.70 \pm 0.81	2.34 \pm 0.01	2.98 \pm 0.36
Lipasa (U/mg prot)	6736.70 \pm 669.58	5666.21 \pm 404.73	420.31 \pm 33.09	13397.15 \pm 675.64
Amilasa (U/mg prot)	645.05 \pm 34.87	774.09 \pm 47.02	49.35 \pm 11.87	1442.43 \pm 94.20
Fosfatasa ácida (mU/mg prot)	12.97 \pm 0.32	21.50 \pm 0.71	1.72 \pm 0.60	4.85 \pm 1.19
Fosfatasa alcalina (mU/mg prot)	10.18 \pm 1.04	11.26 \pm 1.29	4.77 \pm 0.62	12.56 \pm 2.28
Tripsina (mU \times 10 ⁻³ /mg prot)	1.19 \pm 0.19	1.50 \pm 0.19	0.51 \pm 0.03	7.95 \pm 0.60
Quimotripsina (mU \times 10 ⁻³ /mg prot)	265.05 \pm 33.05	113.98 \pm 10.61	172.30 \pm 17.49	201.16 \pm 6.55
Leucina aminopeptidasa (mU \times 10 ⁻³ /mg prot)	34.57 \pm 1.97	35.68 \pm 2.06	7.13 \pm 2.10	44.69 \pm 3.51

En la Tabla 7 se muestran los valores de actividad enzimática de endo y exopeptidasas de larvas en inanición y alimentadas. En el caso de las endopeptidasas como la tripsina, la cual hidroliza enlaces entre lisina y arginina, se observó la misma tendencia que la proteasa alcalina presentando los picos de máxima actividad en los mismos días, por lo que es posible que la mayor proporción de enzimas alcalinas sean tipo tripsina. La actividad quimotripsina, que hidroliza l-isómeros de tirosina, triptofano y fenilalanina, fue baja para los primeros tres días de vida de la larva, incrementándose en un 200% a partir del día 4 y manteniendo esa actividad, mostrando poca fluctuación, hasta el día 30 DDE. Es posible que este tipo de actividad sea proporcionalmente menor, comparada con la tripsina, aunque aparentemente son el tipo de enzimas que permanece sin alteraciones marcadas durante el período larvario, por lo que pudiera considerarse basal, y sin tener relación directa con cambios morfofisiológicos. Es importante resaltar que la acción de las endopeptidasas permite poner a disposición péptidos que a su vez pueden ser nuevamente hidrolizados por las mismas enzimas, además de las exopeptidasas (amino y carboxipeptidasas), las cuales liberan aminoácidos que serán absorbidos por los enterocitos.

La única exopeptidasa que se midió fue la leucina aminopeptidasa, la cual mostró dos picos de máxima actividad, el primero el día 3 DE y el segundo en el día 12 DE, lo cual concuerda con lo observado con los picos de la proteasa alcalina, aunque con un pequeño desfase en el segundo pico, el cual puede estar relacionado con el cambio de alimento de

nauplios de *Artemia* sin enriquecer a nauplios de *Artemia* enriquecidos. Dentro de las enzimas que permiten entender el proceso de liberación de minerales y transporte activo de nutrientes se encuentran las fosfatasas, las cuales fueron medidas en pH alcalino y ácido. Para el primer grupo se detectó la mayor actividad durante los primeros días de vida de la larva (en especial en el huevo), y una paulatina disminución de su actividad hasta el día 30 DE, aunque con un incremento en el día 12 DE. Al transformar estos datos a mU/larva, se observó un incremento exponencial durante la ontogenia y una muy importante disminución de su actividad durante los días 3 y 4 DE. Esto puede estar relacionado con los procesos de adaptación al alimento. En el caso de las fosfatasas ácidas, su actividad durante los primeros días de vida de la larva, no necesariamente están relacionados con su capacidad de liberar el fósforo, ya que durante este tiempo las condiciones del digestivo son totalmente alcalinas, por lo que pueden estar presentes pero no ser activas hasta que se da la presencia y funcionalidad de las glándulas gástricas, por lo que se encuentran en forma de zimógenos inactivos. El segundo grupo que corresponde a las fosfatasas alcalinas, presentaron la misma tendencia que las proteasas alcalinas, lo que pudiese estar totalmente relacionado con la capacidad de poner a disposición el fósforo para la mineralización del cuerpo de la larva, además del aumento de la capacidad de absorción en la pared de los enterocitos.

Tabla 7. Actividad tripsina, quimotripsina y aminopeptidasa N, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina durante la ontogenia de la cabrilla arenera, días después de la eclosión (DDE).

DDE	huevo	1	2	3	4	5	7	9	12	15	18	25	30			
	Vitelo	Inanición Alimentada	Inanición Alimentada	Inanición Alimentada	Alimentada											
Tripsina																
U/mg prot	0.49	0.80	0.39 ^a	0.56 ^b	0.41 ^a	1.32 ^b	0.49 ^a	1.21 ^b	0.74	0.55	3.71	9.73	8.54	8.70	1.88	1.28
mU/larva	0.01	0.00	0.00 ^a	0.01 ^b	0.00 ^a	0.01 ^b	0.00 ^a	0.01 ^b	0.01	0.01	0.04	0.09	0.08	0.08	0.02	0.01
Quimotripsina																
U/mg prot	133.53	143.1	73.58 ^a	122.95 ^b	100.83 ^a	324.93 ^b	76.46 ^a	251.68 ^b	292.8	336.0	378.0	333.7	382.1	367.9	217.0	170.0
mU/larva	1.27	0.00	0.70 ^a	1.17 ^b	0.96 ^a	3.08 ^b	0.73 ^a	2.39 ^b	2.78	3.19	3.58	3.17	3.62	3.49	2.06	1.61
Leucina aminopeptidasa																
U/mg prot	1.09	1.32	1.86 ^a	2.56 ^b	3.67 ^a	9.99 ^b	2.69 ^a	8.78 ^b	7.99	10.37	11.54	29.56	9.09	10.63	4.81	4.94
mU/larva	0.01	0.00	0.02 ^a	0.02 ^a	0.03 ^a	0.09 ^b	0.03 ^a	0.08 ^b	0.08	0.10	0.11	0.28	0.09	0.10	0.05	0.05
Fosfatasa alcalina																
U/mg prot	3.54	5.90	7.56 ^a	10.87 ^a	8.03 ^a	19.09 ^b	8.46 ^a	17.58 ^b	9.92	12.60	19.71	42.96	13.81	9.68	10.05	6.46
mU/larva	0.03	0.00	0.06 ^a	0.07 ^a	0.05 ^a	0.13 ^b	0.04 ^a	0.14 ^b	0.13	0.24	0.61	3.22	1.51	2.66	18.39	50.60
Fosfatasa ácida																
U/mg prot	22.73	16.24	14.70 ^a	22.70 ^b	10.97 ^a	13.87 ^b	12.67 ^a	12.58 ^a	9.72	11.41	18.30	20.78	10.90	6.98	7.66	4.72
mU/larva	0.22	0.00	0.12 ^a	0.15 ^a	0.07 ^a	0.09 ^a	0.05 ^a	0.10 ^b	0.13	0.21	0.56	1.56	1.19	1.92	14.01	36.92

Los superíndices diferentes representan diferencias significativas ($P < 0.05$) entre larvas en inanición y larvas alimentadas únicamente para los días 2, 3 y 4.

En el caso de la ontogenia de lipasas (Fig. 7a), se observó un pico de máxima actividad en el día 9, el cual pudiera estar relacionado con la presencia de esterasas no específicas y después una caída para el día 18 DE. A partir del día 25, nuevamente se observó un aumento en la actividad, la cual pudiera estar relacionada con el aumento de la capacidad digestiva por acción de las lipasas verdaderas presentes en estómago e intestino. Lo anterior está relacionado con el cambio a un periodo juvenil, donde la digestión de combustibles se hace más eficiente. Al comparar este tipo de actividad con especies como *Scophthalmus maximus*, *Theragra chalcogramma* y *Dicentrarchus labrax*, se ve la misma tendencia que en otras enzimas, donde los cambios de la actividad durante la ontogenia se explica por cambios morfológicos durante el periodo larvario y los cambios de alimento (Cousin *et al.*, 1987; Zambonino-Infante & Cahu, 1999; Oozeki & Bailey, 1995). La Figura 7b, que se refiere a la transformación a mU/larva, mostró que durante los primeros 18 días de vida de la larva existe un incremento muy lento en la actividad enzimática, que para el día 25 se incrementa fuertemente. La misma tendencia que en los ensayos *in vitro* se observó cuando se realizó el zimograma (Fig. 7c), ya que durante los primeros 9 días de vida la actividad lipasa fue fuerte, observándose dos bandas de actividad, una de alto peso y otra de mediano peso molecular. La actividad de esta enzima disminuyó paulatinamente hasta casi desaparecer para el día 25, además de que la banda de mediano peso molecular desaparece, y se observó la aparición de una nueva banda con actividad lipasa de bajo peso molecular. Finalmente, en el día 30, aumentó nuevamente la actividad hasta casi ser el mayor pico observado. Al integrar los resultados de las actividades, tanto de los estudios *in vitro* (Tabla 7), como con las bandas de actividad lipasa de los alimentos vivos, se puede pensar que la participación de esta enzima digestiva como aporte exógeno en la actividad digestiva total de las larvas, es importante durante la ontogenia de la cabrilla, al ser la actividad más elevada cuando se expresan en U/mg de proteína, especialmente en el caso de la *Artemia* adulta.

Para el caso de la actividad amilasa a lo largo de la ontogenia (Fig. 8a), se observó un incremento importante de la actividad durante los primeros 3 días de vida de la larva, para después mantenerse constante hasta el día 15 y elevarse nuevamente para el día 18. En los días 25 y 30, la actividad amilasa disminuye fuertemente hasta casi desaparecer. Esto puede ser debido a que en el día 25 se inició con el destete utilizando una dieta completa. Lo anterior permite suponer, que el aporte de enzimas exógenas es significativo a la capacidad enzimática total de las larvas. Esto se corrobora si se observa la Tabla 6, ya que la actividad amilasa del rotífero y la *Artemia* adulta es muy alta, y en el momento en el que se ofrece una dieta completa la disponibilidad de los carbohidratos se ve limitada por lo que la actividad amilasa disminuye, para enfocar los esfuerzos digestivos hacia proteínas y lípidos. Al transformar los datos de actividad amilasa en mU/larva (Fig. 8b) se observó un incremento exponencial por organismo hasta el día 45 después de la eclosión. Este resultado permite suponer que la actividad amilasa de las larvas de la cabrilla arenosa es baja, pero es suficiente para aprovechar en cierta medida la cantidad de carbohidratos disponibles en el alimento vivo y en la dieta completa. Al observar el zimograma de actividad amilasa (Fig. 8c), se marcaron cuatro bandas de actividad en la parte superior de la electroforesis, aunque aparentemente son isoformas de una misma enzima. Además, estas cuatro bandas se mantienen durante los primeros 7 días de vida de la larva, para después solamente observarse

una en la misma posición. Se debe mencionar, que al realizar las técnicas electroforéticas, no fue posible revelar la actividad amilasa en los alimentos vivos, por lo que los resultados deben ser interpretados con cierta cautela en este punto.

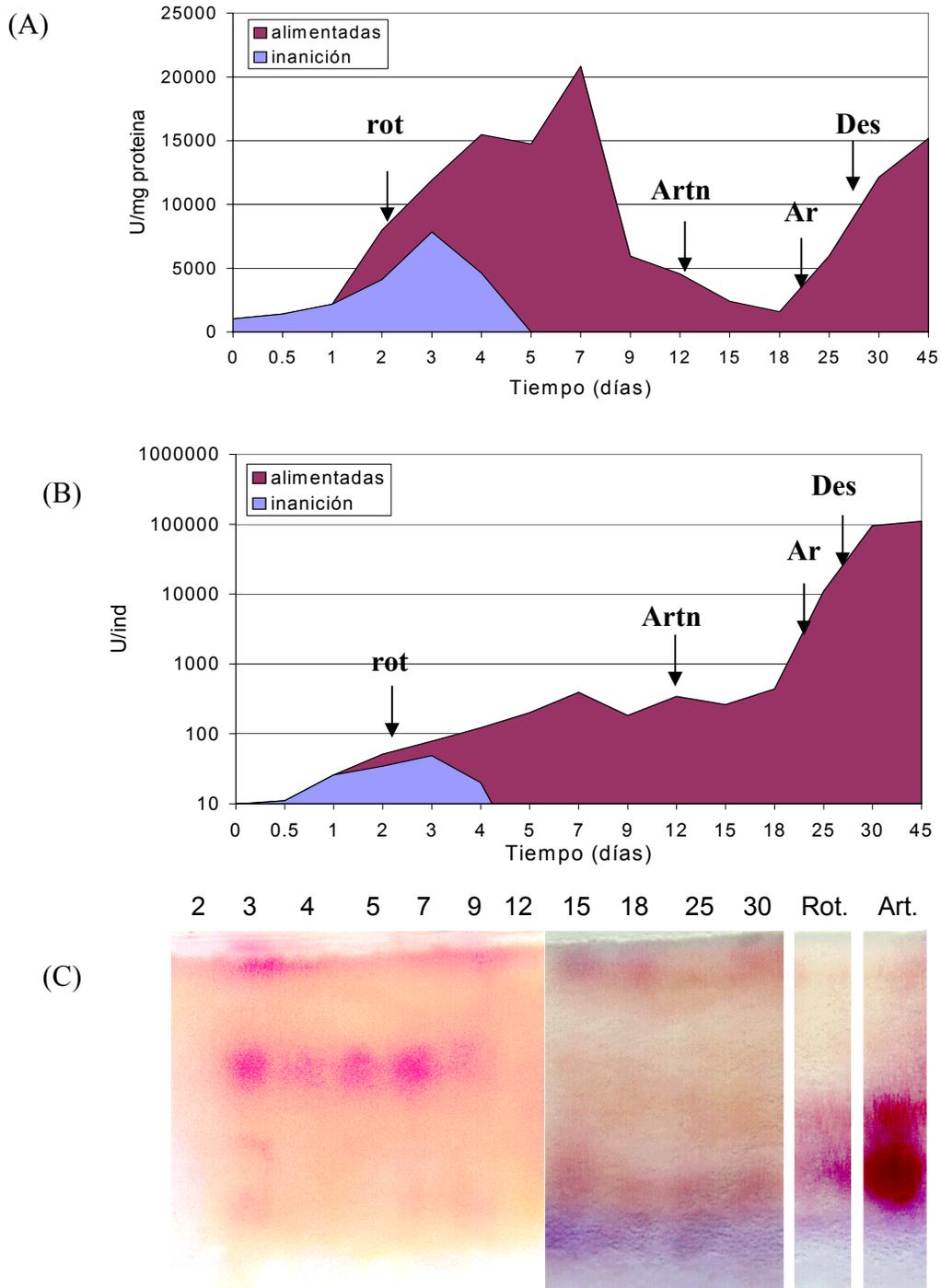


Figura 7. Ontogenia de la actividad lipasa de la cabrilla arenara. A) expresada en U/mg de proteína soluble, B) expresada en mgU/larva, C) Zimograma de la actividad lipasa en condiciones desnaturizantes. Los números indican el DDE; rot: rotífero; Art: nauplio de Artemia; Art: Artemia adulta; Des: Destete.

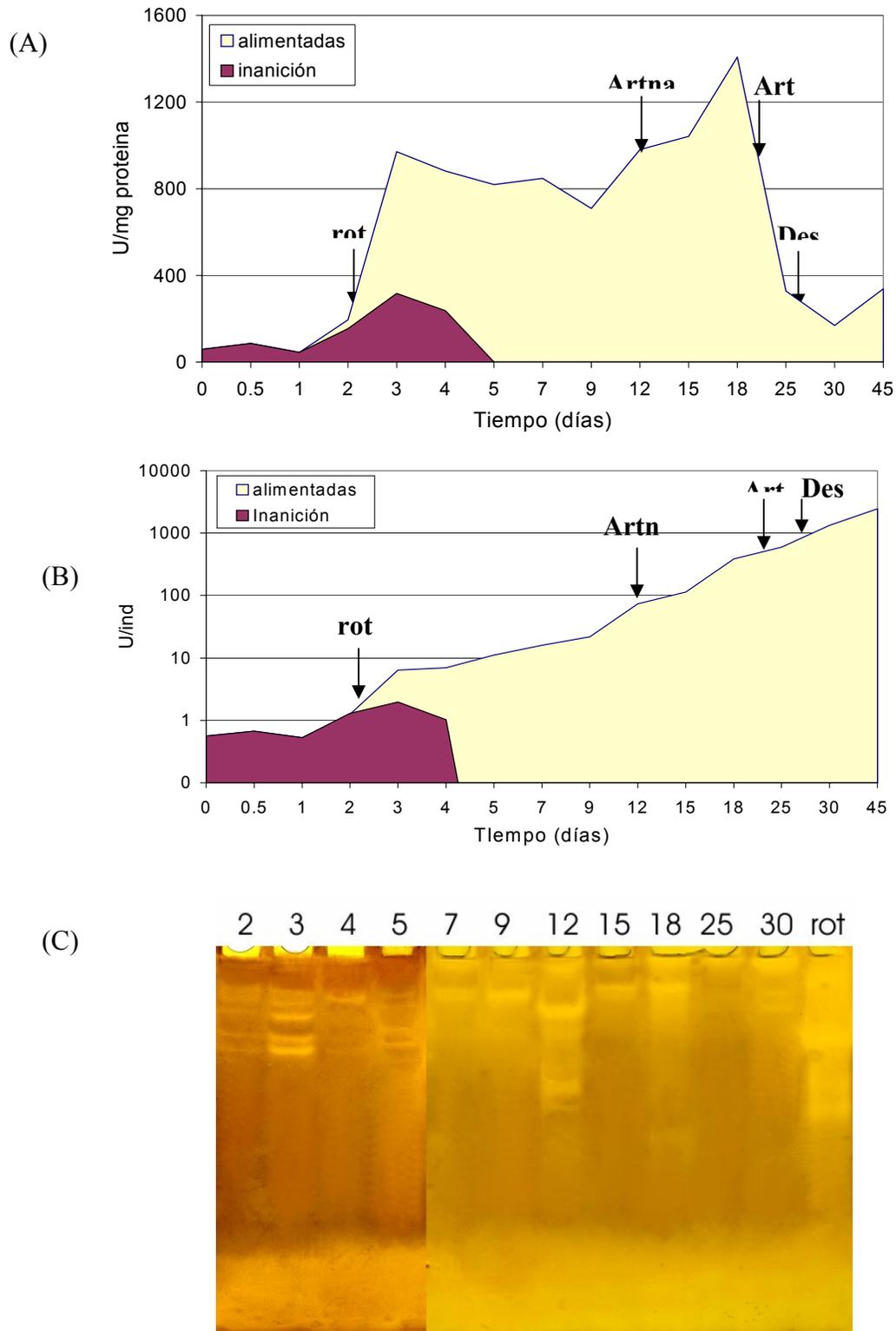


Figura 8. Ontogenia de la actividad amilasa de la cabrilla arenera. A) expresada en U/mg de proteína soluble, B) expresada en mU/larva, C) Zimograma de la actividad amilasas en condiciones nativas. Los números indican el DDE; rot: rotíferos; Des: Destete.

En conclusión, se puede decir que las larvas de la cabrilla arenera presentan las herramientas enzimáticas completas a partir del día 12 DDE, aunque su máxima capacidad se denota entre el día 18 y el 25 DDE, período en el cual se podría realizar un destete temprano con mayores posibilidades de éxito. Asimismo, se considera que esta especie tiene un comportamiento fisiológicamente similar a especies como la dorada, al tener un equipamiento enzimático variado y completo, capaz de aprovechar la mayoría de los nutrientes del alimento. Además, de que esta especie se podría catalogar no como un organismo totalmente carnívoro, sino como un omnívoro oportunista que puede aprovechar una amplia diversidad de presas.

Alimentación y destete de larvas

El primer intervalo natural de la ontogenia, el período embrionario, se caracteriza por una alimentación principalmente endógena, i.e. por la adquisición de nutrientes a través de los padres (Balon, 1990). La transición a una alimentación exógena, oralmente ingerida e intestinalmente digerida (período de iniciación), i.e. la adquisición de nutrientes de las fuentes en el ambiente externo, marcan el principio del siguiente período de vida, ya sea larva en caso de ontogenia indirecta o juvenil en caso de la directa. La cabrilla arenera muestra ontogenia indirecta (Butler *et al.*, 1982) lo que dificulta y encarece en cierta medida su alimentación en cultivo, por lo que es importante el poder establecer el momento en que las larvas pueden dejar de ser alimentadas con alimento vivo para empezar a emplear un alimento inerte o artificial, transición conocida como “el destete”. Para ese fin, se llevó a cabo un primer experimento en el que se intentó determinar la edad (tamaño) a la que las larvas de la cabrilla arenera pueden aceptar alimento artificial, introduciéndolo a partir de los 15, 25 y 30 días después de la eclosión (DDE), y utilizando la sobrevivencia y el crecimiento como criterios de evaluación.

En la Tabla 8 se presenta la composición de la dieta microparticulada para el destete de la cabrilla arenera. La formulación del alimento se realizó con la ayuda del programa Mixit 4, y la fabricación de la dieta se hizo siguiendo el método descrito por Civera & Guillaume (1989), pero moliendo finamente y tamizando los ingredientes a 50 micrones. Los análisis de la composición proximal de la dieta se realizaron en el Laboratorio de Nutrición del CIBNOR, utilizando los métodos descritos en el AOAC (1995).

Los resultados de supervivencia y crecimiento de las larvas alimentadas con alimento vivo y la dieta preparada se muestran en la Tabla 9. En las larvas “iniciadas” con la dieta artificial a los 15, 25 y 30 DDE, la supervivencia y el crecimiento fueron significativamente menores que los presentados por las larvas alimentadas con el alimento vivo e iniciadas con pescado crudo desmenuzado. Hay varios motivos que podrían explicar los resultados pobres de las larvas iniciadas con el alimento preparado, en términos de la diferente composición de los ácidos grasos esenciales (AGE) del alimento vivo y artificial (Rimmer *et al.*, 1994; Izquierdo, 1996; Kanazawa, 1998), la estrategia de alimentación (Bryant & Matty, 1981; Holt, 1990; Gennari *et al.*, 1996), problemas de asimilación por el uso de dietas secas (Gatesoupe, 1983; Tandler, 1993; Watanabe & Kiron, 1994), y el desarrollo del tracto digestivo y el correlativo metabolismo enzimático de las larvas tratadas (Zambonino-Infante *et al.*, 1996; Peña-Martínez & Dumas, 1998).

Tabla 8. Composición y análisis proximal de la dieta microparticulada utilizada para el primer experimento de “destete” de las larvas de la cabrilla arenera.

Ingredientes	Cantidad (g/100 g dieta)
Harina de sardina ¹	35.3
Harina de calamar ²	15.0
Harina de trigo	11.2
Pasta de soya	10.0
Harina de sangre ³	7.0
Harina de camarón ⁴	5.0
Grenetina	4.0
Aceite de pescado ⁵	3.0
Lecitina de soya	3.0
Levadura de pan	3.0
Premezcla de minerales ⁶	2.4
Premezcla de vitaminas ⁷	0.7
Cloruro de colina ⁸	0.2
Vitamina C ⁹	0.8
Análisis proximal (% base seca, excepto humedad)	
Proteína	55.38
Extracto de éter	10.27
Fibra	1.08
Cenizas	13.23
Humedad	7.23
E.L.N. ¹⁰	20.04

¹ Conservera San Carlos, San Carlos, B.C.S., Mexico. ² Calamar Gigante. Promotora Industrial Acuasisistemas, La Paz, B.C.S., México. ³ De H.J. Baker & Bro. Co., Toledo, Ohio, USA. ⁴ Preparada con cabezas de camarón. ⁵ De atún. Conservera San Carlos, San Carlos, B.C.S., Mexico. ⁶ Según requerimientos de peces marinos (mg/kg dieta): Acetato de Vitamina A, 0.86; Vitamina D3, 0.06; Acetato de Vitamina E, 80; Vitamina K3, 10.0; Mononitrato de Tiamina, 10.0; Riboflavina, 25.0; Hidrocloruro de Piridoxina, 20.0; Acido Pantoténico, 50.0; Niacina, 200; d-Biotina, 2.0; Acido Fólico, 10.0; Cianocobalamina, 0.02; Inositol, 500. ⁷ Según requerimientos para peces marinos (mg/kg dieta): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄•7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄•7H₂O, 150; ZnSO₄•7H₂O, 30; MnCl₂•4H₂O, 13; CuSO₄•5H₂O, 3; CaCl₂•2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1. ⁸ (50% agente activo). ⁹ Stay-C[®], 25% agente activo. Roche, Mexico. ¹⁰ Extracto libre de nitrógeno.

Tabla 9. Crecimiento (promedio ± desviación estándar) y sobrevivencia (%) de las larvas “iniciadas” a los 25 (W25) y 30 (W30) días de haber eclosionado (DDE), y el grupo control (GC) “destetado” a los 33 días con filete de pescado. Las larvas destetadas a los 15 días murieron a los 20 DDE.

	Peso final (mg)	SGR (%/d) Días 15-45	Sobrevivencia final (%) (0-45 d)
GC	517 ± 124a	18.1 ± 0.5a	2.3 ± 1.5a
W3	290 ± 19b	15.8 ± 0.2ab	2.7 ± 0.6a
W25	193 ± 12c	15.1 ± 0.8bc	1.7 ± 0.8a

Los valores de cada columna con la misma letra no son significativamente diferentes a $P > 0.05$.

Los datos de la Tabla 9 muestran con claridad un mayor efecto sobre el crecimiento del alimento “vivo” sobre el alimento “inerte” ofrecido a varios tiempos después de la eclosión

de las larvas. La presente investigación se enfocó en el período del cambio de alimentación de las larvas, de alimento vivo a un alimento inerte. Antes del presente trabajo, hubo varios ensayos en el CICIMAR para “destetar” a las larvas mediante el uso invariable de pescado crudo desmenuzado o pez entero como dieta de “iniciación”, comenzando este período a los 25 días después de la eclosión (Avilés-Quevedo *et al.*, 1995; Contreras-Olguín *et al.*, 1997), sin estar muy claros de por qué comenzar a esta edad y no en otra. Nuestro estudio fue el primero en intentar la regulación de los eventos conducentes a este proceso de “iniciación” de las larvas de la cabrilla arenera, por medio de una dieta microparticulada y estandarizar el método para “iniciar” a las larvas en condiciones de laboratorio (Anguas-Vélez *et al.*, 2000). Con base a estos resultados se sugirió que el destete de las larvas de la cabrilla arenera con una dieta inerte es posible, pero no debe hacerse antes de los 30 días después de la eclosión, a menos que se utilice una estrategia de alimentación diferente. Cabe mencionar que al momento de realizar este bioensayo, no se contaba con la información sobre la ontogenia enzimática de la cabrilla, ya que ésta fue generada apenas durante el año 2001. Una vez que se conocieron las capacidades digestivas de las larvas, descritas en la sección 2.2.2 de este trabajo, se diseñó un segundo experimento para evaluar tanto el tiempo en el que se introducía el alimento inerte, como dietas que contenían diversas fuentes de proteína, cuya digestibilidad *in vitro* ya era conocida.

Los huevos fueron obtenidos por medio de un desove natural de los reproductores de cabrilla arenera (Rosales-Velázquez, 1997) y posteriormente fueron incubados a $25 \pm 1^\circ \text{C}$, salinidad de $36 \pm 0.5 \text{‰}$ y con aireación moderada hasta la eclosión (24 h). El esquema de crianza aplicado fue el propuesto por Alvarez-González *et al.* (2001). Los eleuteroembriones fueron distribuidos en 18 tanques rectangulares de fibra de vidrio con fondo plano, conectados en un sistema de circulación cerrado. Se mantuvo el cultivo en agua verde por los primeros 8 días adicionando *Nannochloropsis oculata* (300,000 cel/ml) debido a un bajo recambio de agua durante este tiempo (<10 % diario). Las larvas fueron alimentadas con el rotífero *Brachionus plicatilis* (1-10 ind/ml), suministrándose inicialmente sin enriquecer por los dos primeros días y enriqueciéndolos hasta el día 15. El enriquecedor utilizado fue SELCO® (INVE Aquaculture; Derdenmonde, Bélgica). En el día 15, se alimentó con nauplios de *Artemia sp.* sin enriquecer (INVE, 0.5 – 2.0 ind/ml) y a partir del día 17 se suministró nauplios enriquecidos (2 – 3 ind/ml) con la misma emulsión lipídica. Se formularon y elaboraron tres dietas microparticuladas (DMP), las cuales fueron isocalóricas, isolipídicas e isoproteicas (Tabla 10), sustituyendo en un 15 % la cantidad total de harina de sardina por harina de calamar (DC), hidrolizado comercial de pescado (DH) y harina de sangre de res (DS), las cuales tuvieron como característica principal para su selección un alto contenido de aminoácidos libres (AAL) que sirvieran como attractante en cada formulación y una alta digestibilidad “*in vitro*” (Alvarez.González *et al.*, datos sin publicar).

Las DMP se suministraron en dos distintos tiempos de destete, el primero a los 17 días de eclosión y el segundo a los 22 días después de la eclosión, ambos con una coalimentación de tres días con alimento vivo (30:70, 50:50, 70:30 y 0:100; porcentaje de alimento vivo (DMP), en intervalos de tres horas a partir de las 8:00 AM hasta las 7:00 PM. Las partículas de las dietas fueron separadas en tres principales grupos, 300-500 μm , 500-800 μm y 800-1000 μm , los cuales fueron suministrados de acuerdo al tamaño de boca de las larvas. Se

realizaron mediciones de longitud notocordal y/o patrón cada 5 días, así como, la estimación de la supervivencia final y el porcentaje de aceptación a la DMP para los dos tiempos de destete. Para comparar entre el crecimiento, supervivencia y porcentaje de aceptación entre las microdietas y tiempos de destete se realizó el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis y la prueba Tukey (a posteriori) utilizando el paquete estadístico STATISTICA ver. 6.0. (Statsoft).

Tabla 10. Formulación de dietas microparticuladas (DMP) con diferentes fuentes de proteína para el segundo experimento de destete de larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*.

INGREDIENTES	DC	DS	DH
	%	%	%
Harina de sardina (HS010-1) ¹	42.72	36.02	41.09
Harina de calamar (HC0101-1) ¹	15.00	0.00	0.00
Harina de sangre (HSAN0201-1) ²	0.00	15.00	0.00
Hidrolizado de pescado comercial (CPSP2000) ³	0.00	0.00	15.00
Harina de trigo (HT10107-1) ¹	13.13	19.07	17.11
Gluten de trigo (GT0107) ¹	14.00	14.00	14.00
Aceite de sardina (AS0107-1) ¹	6.74	7.00	4.39
Lecitina de soya (LS0107-1) ⁴	4.00	4.00	4.00
Alginato (0204-1) ⁵	2.00	2.00	2.00
Betaina monohidratada	1.00	1.00	1.00
Premezcla vitaminas (CIBNOR) ⁶	0.70	0.70	0.70
Premezcla minerales (CIBNOR) ⁷	0.50	0.50	0.50
Cloruro de Colina 65%	0.13	0.13	0.13
Vitamina C 35% (Rovimix- Roche)	0.08	0.08	0.08
BHT (SIGMA)	0.002	0.002	0.002
Análisis químico (g/100 g de materia seca)			
Proteína cruda	52.2 ± 0.1	55.1 ± 0.1	57.5 ± 0.3
Extracto etéreo	15.5 ± 0.1	16.0 ± 0.1	15.3 ± 0.1
Cenizas	10.2 ± 0.1	7.8 ± 0.1	7.2 ± 0.1
Energía (cal/g)	4886 ± 3.9	5104 ± 4.9	5104 ± 4.9

¹PIASA, La Paz, Baja California Sur, México. ²España. ³Noruega. ⁴ODONAJI. Distribuidora de alimentos naturales y nutricionales S.A. de C.V., México. ⁵Algimar, La Paz, México. ⁶Premezcla de vitaminas (mg/Kg de dieta): Vit. A (retinol), 0.6; Vit. D3 (colecalfiferol), 0.0042; Vit. E (tocoferol), 35; Vit. K (menadiona), 7; Vit. B1 (tiamina), 0.7; Vit. B2 (riboflavina), 2.8; Vit. B6 (piridoxina), 2.1; Ácido pentanoico, 14; Niacina (ácido nicotínico), 7; Biotina, 0.112; Inositol, 210; Vit. B12 (cianocobalamina), 0.014; Ácido fólico, 0.7. ⁷ Premezcla de minerales (g/kg de dieta): CaCl₂*5H₂O, 2.57; Na₂HPO₄, 5.72; MgSO₄*7H₂O, 1.49; FeSO₄*7H₂O, 0.18; ZnSO₄*7H₂O, 0.028; MnCl₂*4H₂O, 0.0096; ; CuSO₄*5H₂O, 0.0025; KI, 0.0003 mg; SeS₂, 0.42 mg.

Los porcentajes de supervivencia obtenidos al final de cada destete (Tabla 11) no presentaron diferencias significativas entre las DMP ($P > 0.05$). A pesar de esto, la dieta de harina de sangre mostró un menor porcentaje de supervivencia con respecto al resto de las DMP. Anguas-Vélez *et al.* (2000) realizó un experimento de destete en los días 25 y 30 después de la eclosión para *Paralabrax maculatofasciatus*, obteniendo porcentajes de supervivencia similares a los de las tres DMP para el destete 17 y porcentajes menores a los de las DMP con harina de calamar e hidrolizado del destete 22. El cambio de alimento vivo hacia

alimento inerte es uno de los factores de estrés más importantes en la cría de peces y muchas veces es la principal causa de mortalidad en los cultivos (Bernabé & Guissi, 1994). Es por ello que se considera a la aceptación de las DMP por parte de los juveniles como principal factor de afectación a la sobrevivencia.

Tabla 11. Porcentajes de aceptación y sobrevivencia final de larvas de cabrilla alimentadas con dietas microparticuladas a diferentes tiempos de destete a partir de los días 17 y 22 después de la eclosión.

	Aceptación (%)		Sobrevivencia (%)	
	D17	D22	D17	D22
DC	41.68	58.60	2.30	4.24
DS	16.04	49.36	2.0	2.81
DH	33.66	77.38	2.32	4.60

DC- Dieta con harina de calamar; DS- Dieta con harina de sangre;
DH- Dieta con hidrolizado de pescado.

Los porcentajes de aceptación a las DMP no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en ninguno de los destetes; sin embargo, las DMP de calamar e hidrolizado resultaron las de mayor porcentaje de aceptación para los destetes 17 y 22 respectivamente (Tabla 11). Cuando se ha dado el cambio de alimentación viva a inerte, solo algunos de los individuos aceptaran fácilmente el cambio, sin embargo, a otros más les costará el cambio hasta el grado de que no puedan adaptarse y mueran. Esta es una respuesta de comportamiento, pues si a los organismos se le ha suministrado alimento móvil, resulta difícil que se adapten al cambio hacia alimento inerte. (Holt, 1993; Bernabé & Guissi, 1994); sin embargo, la aceptación de una dieta inerte podrá verse mejorada si se tiene cuidado de las características físicas de la micropartícula (tamaño, textura, digestibilidad), así como el tipo ingredientes con los que fueron formuladas las dietas inertes (Fernández-Díaz *et al.*, 1994). Aún cuando no exista diferencia estadística, es evidente que la menor aceptación la obtuvo la dieta con harina de sangre (DS), debido principalmente a presencia de este ingrediente. La harina de sangre es recomendada para sustituir la fuente proteica de una dieta inerte, pues contiene un alto nivel de proteínas. Sin embargo, su alto contenido de hierro debe afectar de alguna forma el crecimiento, así como el comportamiento de los peces. El-Sayed (1998) realizó un experimento de sustitución de harina de pescado por productos animales como fuente de proteína en dietas para tilapia, encontrando que los peces alimentados con harina de sangre en su dieta presentaron un comportamiento aletargado, a diferencia del resto de los ingredientes probados.

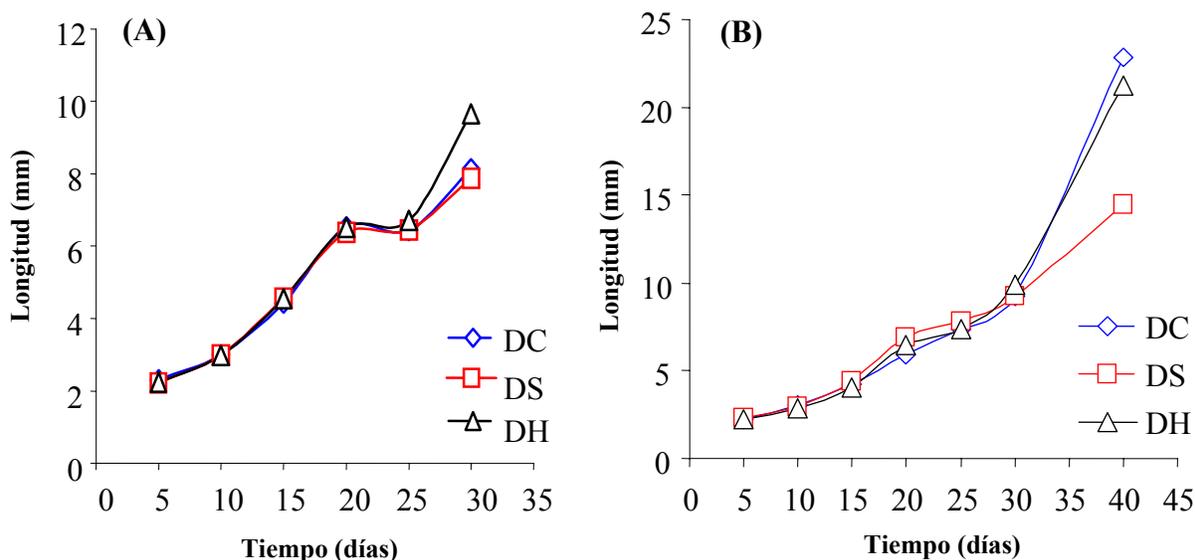


Figura 9. Longitudes notocordales y/o patrones promedio de las larvas de la cabrilla arenera destetadas a diferentes tiempos con alimentos microparticulados. (A) Destete 17 DDE, (B) Destete 22 DDE. DC = Dieta Calamar; DS = Dieta Sangre; DH = Dieta Hidrolizado de pescado.

La longitud de las larvas destetadas al día 17 DDE (Fig. 9) fue significativamente distinta ($P < 0.05$) a final del experimento (día 30) para las tres DMP. La prueba de Tuckey mostró que la dieta de hidrolizado de pescado (DH) fue significativamente mejor ($P < 0.01$) a las de calamar (DC) y sangre (DS), debido a que esta obtuvo mayores longitudes que las otras DMP. En el destete al día 22 DDE, las diferencias se encontraron hasta el día 40 ($P < 0.01$), donde la prueba Tuckey mostró una diferencia significativa ($P < 0.006$) entre la DS contra las dietas DC y DH, siendo estas últimas las que mayores longitudes notocordales permitieron alcanzar, y de ellas, la DC fue la mejor.

Muchas veces, la respuesta en crecimiento en peso y longitud de los peces sometidos a dietas inertes se detecta, dependiendo de la especie, hasta que se alcanzan tallas consideradas como tallas de juveniles (Bernabé & Guissi, 1994). En este caso, la diferencia notoria se observa hasta casi 14 días después del destete, tiempo en el cual se manifestaron más claramente los efectos de la utilización de los ingredientes de las tres DMP. Varios trabajos como los de El-Sayed (1998), Colosso et al. (1996) y Ogunji & Wirth (2001), entre otros, donde utilizan a la harina de sangre como fuente de proteína han mostrado poco incremento en peso y longitud de los peces. Así también, Fowler & Banks (1976) encontraron que utilizando un nivel de harina de sangre cercano al 17% se presentan anomalías en tejido hepático, y a consecuencia de ello, una baja tasa de incremento en peso. Riche & Brown (1992) encontraron deficiencia de fósforo en dietas con harina de sangre, el cual es necesario a nivel molecular para procesos energéticos. Es importante resaltar, que en ausencia de una protección adecuada con antioxidantes, la tasa de autooxidación de lípidos en materias alimenticias almacenadas se ha visto que aumenta en presencia de piroxidosa; los compuestos hemo (mioglobina / hemoglobina son agentes prooxidativos, y se les encuentra

en harinas de sangre, carne y pescado); peróxidos (producto de la autoxidación de lípidos); luz (UV con formación de singulete entre el oxígeno y radicales libres); y elementos traza donde se ha visto que el Fe y el Cu aceleran la oxidación lipídica por una transferencia directa de un electrón en las reacciones REDOX, mientras que el Zn induce el desdoblamiento de hidroperóxidos a radicales libres (ADCP, 1983). Todos estos trabajos son muestran que a pesar de tener un buen nivel proteínico, la harina de sangre presenta varios problemas, por lo que no es extraño que presente las menores longitudes en ambos destetes.

En términos generales, y considerando las condiciones de cultivo y dietas evaluadas hasta ahora, se puede decir que el destete en el día 17 DDE resulta un tanto cuanto prematuro para la cría de *Paralabrax maculatofaciatus*, pues los porcentajes de aceptación del alimento, sobrevivencia, así como sus longitudes promedio obtenidas son muy bajas, por lo que es más seguro realizar el destete al día 22 DDE.

Por otra parte, a pesar de tener un buen nivel proteico, la harina de sangre al nivel de inclusión empleado aquí, presentó problemas para el adecuado desarrollo de las larvas en cultivo, posiblemente debido a la presencia de componentes como el hierro, o a los bajos niveles de aminoácidos esenciales y fósforo. Por el contrario, el concentrado proteico de pescado y la harina de calamar pueden ser considerados como ingredientes de alto valor nutricional para las larvas de la cabrilla, y pueden servir como base para el desarrollo y optimización de nuevas formulaciones para realizar con éxito el destete temprano de las larvas y poder realizar estudios de requerimientos nutricionales en los primeros estadios de vida de esta especie.

Juveniles

Se realizaron una serie de experimentos preliminares, a fin de definir las condiciones experimentales más adecuadas para el cultivo de juveniles pequeños, y poder así posteriormente hacer los estudios de los requerimientos en proteína y lípidos de la cabrilla.

Optimización de condiciones experimentales para bioensayos nutricionales.

Se realizó un bioensayo en el laboratorio húmedo del Bioterio del CIBNOR (Fig. 10) para encontrar las condiciones de temperatura y densidad de cultivo más adecuadas para la cría de juveniles de la cabrilla.



Figura 10. Sistema de cultivo de flujo abierto en el Bioterio del CIBNOR. Cuenta con 18 acuarios de 40 L, suministro de agua de mar filtrada a 5 micras y esterilizada con luz U.V.

Los juveniles se obtuvieron de huevos desovados el 30 de abril de 1995 en el CICIMAR. Se seleccionaron 180 organismos con peso promedio de 2.1 ± 0.05 g, y se distribuyeron de manera aleatoria en 18 acuarios. Se aplicó un diseño factorial de 3×2 con tres temperaturas (24, 27 y 30° C) y dos densidades (8 y 12 peces/acuario; 0.40 y 0.63 g/L, respectivamente). Cada tratamiento experimental contó con tres réplicas. Se preparó una dieta húmeda utilizando los ingredientes y el método de fabricación descrito por Bower (1983). La composición de la dieta se muestra en la Tabla 12. Los peces se alimentaron a una tasa global, equivalente al $10.6 \pm 1.8\%$ de la biomasa promedio del período experimental, el cual tuvo una duración de 40 días.

Tabla 12. Composición del alimento húmedo utilizado para determinar el efecto de la temperatura y densidad de cultivo sobre el crecimiento de juveniles de cabrilla arenera.

Ingredientes	Cantidad (g/100 g dieta)
Filete de pescado ¹	17.5
Calamar ²	17.5
Harina de cabeza de camarón	17.5
Concentrado de proteína ³	19.5
Harina de sorgo	1.9
Levadura de cerveza	1.0
Premezcla de vitaminas ⁴	1.0
Gelatina sin sabor	11.6
Aceite de pescado	6.2
Lecitina de soya	6.2
Agua	450 ml
Composición proximal (% materia seca, excepto humedad) ⁵	
Proteína cruda (N X 6.25)	56 ± 0.35
Extracto etéreo (Soxhlet)	23 ± 0.04
Fibra cruda	4 ± 0.03
Cenizas	3 ± 0.07
Humedad	69 ± 1.96

¹ Pez gatillo (*Balistes polylepis*). ² Loligo sp. Entero ó filetes de *Dosidiscus gigas*. ³ Varias fuentes de proteína vegetal más algunos minerales, según Bower (1983). ⁴ (UI ó mg/kg dieta): Acetato de Vitamina A, 2500; Vitamina D3, 2400; Acetato de Vitamina E, 30; Vitamina K3, 10.0; Mononitrato de Tiamina, 10.0; Riboflavina, 25.0; Hidrocloruro de Piridoxina, 20.0; Ácido Pantoténico, 50.0; Niacina, 200; d-Biotina, 2.0; Ácido Fólico, 10.0; Cianocobalamina, 0.02; Inositol, 500. ⁵ Valores promedio de 3 determinaciones ± desviación estándar.

No se observó efecto alguno de la temperatura o a la densidad sobre la sobrevivencia de la cabrilla (Tabla 13). En los índices del crecimiento (peso final promedio y porcentaje de ganancia en peso PGP), el análisis de varianza mostró significancia en la temperatura, en la densidad y en la interacción; en cambio, en el FCA y el % de consumo aparente de alimento diario (CAAD), solo fue significativa la densidad pero no la interacción de las dos variables. Aunque los índices del crecimiento (peso final y PGP) indican el valor más alto para el grupo de peces sometidos a 27°C y 12 organismos/tanque, el crecimiento observado en los otros grupos fue muy semejante, con excepción de los grupos sometidos a 24°C y 12 organismos/tanque y 30°C y 12 organismos/tanque, los cuales definitivamente mostraron el menor crecimiento. Aparentemente, ni la temperatura, ni la densidad, por separado, mostraron una mayor influencia sobre el crecimiento de la cabrilla.

Tabla 13. Crecimiento y sobrevivencia de juveniles de la cabrilla arenera cultivados a diferentes temperaturas y densidades en condiciones de laboratorio. Los valores son promedios de tres tanques. Superíndices diferentes en la misma fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Parámetros	Tratamientos					
	24°C		27°C		30°C	
	Ind/acuario		Ind/acuario		Ind/acuario	
	8	12	8	12	8	12
Sobrevivencia %	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a
Peso inicial promedio (g)	2.0 ^a	2.1 ^a	2.1 ^a	2.1 ^a	2.1 ^a	2.1 ^a
Peso final promedio (g)	6.6 ^{ab}	6.3 ^b	7.3 ^a	7.8 ^a	7.1 ^a	5.7 ^b
Ganancia en peso (%)	217 ^{ab}	191 ^b	243 ^a	262 ^a	232 ^a	166 ^b
CAAD (%)	9.7 ^a	7.9 ^{ab}	9.3 ^a	6.4 ^b	9.5 ^a	8.5 ^a
FCA	3.8 ^a	2.7 ^{bc}	3.4 ^a	2.0 ^c	3.5 ^a	3.2 ^{ab}

¹ CAAD = % del consumo aparente de alimento diario por peso promedio unitario del pez

² FCA = factor de conversión alimenticia

Se sabe que en condiciones naturales, si la temperatura aumenta, la cantidad de alimento ingerida normalmente aumenta, así como la tasa de digestión (Brett, 1979). En este experimento, no se observó ningún aumento en el consumo de alimento con el aumento de temperatura de los tratamientos, dado que no se hizo un seguimiento específico de este aspecto. El %CAAD entre las tres temperaturas fue muy semejante (≈ 8.6) y al comparar las dos densidades de cada temperatura sólo hubo diferencias significativas en la temperatura de 27 °C. Este comportamiento diferencial entre las temperaturas pudiera estar enmascarado por un comportamiento jerárquico observado en la cabrilla arenera, aunque no de manera tan marcada como en otros serránidos (Anónimo, 2002). Se sabe que comúnmente puede observarse un comportamiento social competitivo entre los peces mantenidos en los tanques de cultivo, que redundaría en tasas de crecimiento reducidas y una variación interindividual en tallas (de March, 1997; Lahti & Lower, 2000; Irwin *et al.*, 2002). Los efectos derivados de la interacción social pueden intensificarse con la densidad de cultivo (Jorgensen *et al.*, 1993; Irwin, 2002), sin embargo, la respuesta a la densidad no es la misma en todas las especies (Baker & Ayles, 1990; Wang *et al.*, 2000; Lahti & Lower, 2000). Este tipo de interacciones pudieron apreciarse en los momentos de “las comidas” pero no se trató de darles seguimiento o de cuantificarlas, según un diseño experimental, por lo que, no puede hacerse ninguna inferencia. El mayor valor del FCA mostrado por el grupo T30D12 con respecto al grupo T27D12 explica el menor crecimiento de aquél con respecto al mayor crecimiento de éste último grupo. El porcentaje fijo de alimentación que se aplicó y la cantidad variable y desconocida del alimento no consumido seguramente influyeron en los valores de la TCA obtenidos. La uniformidad de los valores de FCA en la temperatura más alta (30 °C), probablemente fue enmascarada por el porcentaje de alimentación fijo utilizado en este trabajo. Al comparar el presupuesto energético de seis especies de teleósteos, Cui & Liu (1990; citados por Tuene & Nortvedt (1995), encontraron que la tasa de alimentación y la tasa de la energía disponible para el metabolismo explican la mayoría de las variaciones individuales en el crecimiento. Según Brown (1946, 1957; citado por Kapoor *et al.*, 1975) los peces pueden adaptarse a ciertas raciones de alimento. La reducción en la cantidad de alimento cercana a niveles de la ración de mantenimiento provoca pérdida de peso en un

principio, seguida de una ganancia en peso, después de que el pez se ha adaptado a su nueva ración. Probablemente, lo anterior pudiera explicar el hecho de que los peces de la temperatura intermedia (27°C) y la mayor densidad (12 peces/tanque) mostraron el mayor porcentaje de la ganancia en peso (262% vs. 243%) a pesar de los valores desiguales de FCA mostrados con respecto a los peces del grupo de la menor densidad (8 peces/tanque)(2.0 vs. 3.4). A este respecto, llama la atención las diferencias significativas de las dos densidades de las temperaturas baja (24 °C) e intermedia (27 °C). Este comportamiento pudiera estar relacionado con la fisiología adaptativa de la cabrilla arenera, que se caracteriza por su mayor afinidad a los ambientes templados que a los tropicales (Smith y Gómez, 1966, citado por Lluch-Cota, 1995).

Se concluye que las condiciones de cultivo en laboratorio más adecuadas para el crecimiento de juveniles de *P. maculatofasciatus* son una temperatura de 27 °C y una densidad de 12 peces por acuario (equivalente a 2 g/L ó ca. 1 kg/m³). Sin embargo, se requiere determinar el valor óptimo de aquellos parámetros del ambiente, tales como temperatura, oxígeno, etc., así como el efecto de las interacciones sociales que puedan influir en el crecimiento y aprovechamiento del alimento, especialmente de especies como la cabrilla arenera, que muestran un comportamiento jerárquico.

Digestibilidad in vivo de dietas semipurificadas.

Se realizó un estudio para determinar la digestibilidad aparente *in vivo* de una dieta semipurificada a base de caseína, antes de evaluar el efecto del nivel de proteína del alimento sobre el crecimiento y uso de la proteína en los juveniles de la cabrilla arenera. La composición de los ingredientes y nutrientes de la dieta experimental se muestra en la Tabla 14. Los alimentos fueron formulados con ayuda del paquete MIXIT 4, elaborados y analizados en los laboratorios de Nutrición Acuícola del CIBNOR.

Tabla 14. Composición de la dieta semipurificada para determinar los coeficientes de digestibilidad aparente de la proteína, lípidos, energía y materia seca en juveniles de la cabrilla arenera.

Ingredientes	(g/100 g de dieta seca)
Caseína sin vitaminas	50.5
Almidón de maíz	10.0
Celulosa	10.0
Lecitina de soya	5.0
Aceite de pescado (atún)	5.0
Premezcla de vitaminas ^a	4.0
Premezcla de minerales ^b	8.0
Mezcla de atractantes ^c	6.0
Hexametáfosfato de sodio	1.0
Oxido crómico	0.5
Análisis proximal (% de materia seca, excepto humedad)	
Proteína cruda	45.3
Lípidos crudos	11.1
Cenizas	10.3
Fibra cruda	10.1
ELN ^d	13.5
Humedad	9.7
Energía bruta (kcal/g)	4.6
Proporción P/E (mg proteína/kcal)	97.8

^a (UI ó mg/kg dieta): Acetato de Vitamina A, 2500; Vitamina D3, 2400; Acetato de Vitamina E, 30; Vitamina K3, 10.0; Mononitrato de Tiamina, 10.0; Riboflavina, 25.0; Hidrocloruro de Piridoxina, 20.0; Ácido Pantoténico, 50.0; Niacina, 200; d-Biotina, 2.0; Ácido Fólico, 10.0; Cianocobalamina, 0.02; Inositol, 500. ^b Según requerimientos para peces marinos (mg/kg dieta): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄•7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄•7H₂O, 150; ZnSO₄•7H₂O, 30; MnCl₂•4H₂O, 13; CuSO₄•5H₂O, 3; CaCl₂•2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1.

^c (g/100 g dieta: Betaina, 4.2; Glicina, 0.32; L-Arginina, 0.32; L-Prolina, 0.32; Inosina, 0.84. ^d Extracto libre de nitrógeno = 100-(%PC+ %LC+ %FC+ %Cenizas).

Para el bioensayo se utilizó un sistema compuesto de doce tanques de fibra de vidrio con capacidad de 140-L en la UPIMA del CICIMAR. La temperatura del agua se mantuvo a 27 °C mediante un termostato de titanio. Se colectaron con red de arrastre 120 juveniles en la bahía de La Paz, B.C.S., y se seleccionaron aleatoriamente 12 grupos de peces con peso promedio de 59 ± 2.8 g, para distribuirse en seis de los tanques de este sistema. Los peces se acondicionaron al sistema experimental y a la dieta con óxido crómico (45% de proteína) durante seis días antes de iniciar la colecta de las heces. El alimento se ofreció a mano tres veces al día, hasta saciedad aparente por un total de 20 días. Las heces para el análisis de digestibilidad se obtuvieron por sifoneo de los tanques cada media hora, después de la primera comida (08:00 hrs). La última muestra de heces se colectó a las 16:30 hrs. Los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA) se calcularon con la fórmula de Watanabe (1988).

Los coeficientes de digestibilidad aparente de la dieta a base de caseína fueron los siguientes: proteína = 96%, lípidos = 89%, materia seca = 78%, y energía = 84%. Con excepción del CDA para materia seca, los demás CDA's fueron relativamente altos y coinciden con lo reportado en la literatura para otras especies y dietas (Smith & Lovell (1973) para *Ictalurus punctatus*), con dieta a base de caseína y 40% proteína; Arzel *et al.* (1995) para *Salmo trutta*,

usando tres fuentes de proteína (caseína, concentrado soluble de pescado y harina de pescado noruega; Gibson-Gaylord & Gatlin (1996) para *Sciaenops ocellatus*, usando harina de pescado menhaden). El porcentaje relativamente bajo para la materia seca probablemente refleja la incorporación del almidón crudo de maíz en las dietas, en lugar de almidón precocido. Gibson Gaylord & Gatlin (1996) reportan que las especies de peces carnívoros no digieren fácilmente los carbohidratos de la dieta, por lo que, la digestibilidad de la materia seca disminuye. Sin embargo, otros estudios han mostrado que la digestibilidad de la proteína no es afectada por el nivel de la proteína en el alimento (Jauncey 1982; De la Higuera et al. 1989; Mohanty & Samantaray 1996), o por la temperatura (Carneiro *et al.*, 1994), aunque sí es influenciada por el nivel de energía en la dieta (Cho & Kaushik, 1985; Carneiro *et al.*, 1994).

La digestibilidad de la dieta semipurificada fue buena, por lo que se concluyó que la caseína, principal fuente de proteína del alimento, es bien aprovechada por los juveniles de la cabrilla arenera, y puede ser usada en dietas para determinar los requerimientos nutricionales de esta especie.

Requerimientos en proteína

Se evaluó el efecto de varios niveles de proteína dietaria sobre el crecimiento y la utilización de la proteína en juveniles de la cabrilla arenera, en condiciones de laboratorio. Para ello, se formularon y prepararon siete dietas semipurificadas con los siguientes niveles de proteína: 25, 30, 35, 40, 45, 50 y 55 % (Tabla 15) en el laboratorio de Nutrición Acuícola del CIBNOR.

Tabla 15. Composición en ingredientes y proximal de las dietas semipurificadas con diferente contenido de proteína.

Ingredientes (g/100 g dieta)	D I E T A S						
	1	2	3	4	5	6	7
Caseína	25.6	30.8	36.1	41.4	46.7	52.0	57.4
Almidón de maíz	37.4	32.1	26.8	21.5	16.2	10.9	5.6
Celulosa	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Lecitina de soya	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Aceite de atún	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Vitaminas ^a	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Minerales ^b	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Atractantes ^c	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Acido algínico	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Hexametáfosfato de sodio	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Análisis proximal (% materia seca, excepto humedad)							
Proteína cruda							
Extracto Etéreo	25.5	31.0	35.2	40.1	45.7	50.1	55.5
Cenizas	11.4	11.5	11.6	11.7	11.8	11.9	12.0
Fibra	7.7	7.7	7.7	7.7	7.8	7.8	7.8
ELN ^d	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
Humedad	36.4	31.8	27.1	22.5	17.8	13.1	8.5
EG ^e (kcal/g dieta)	8.3	8.5	8.3	8.7	9.0	9.2	9.5
Proporción P/ E ^f	4.30	4.38	4.47	4.44	4.54	4.77	4.91
	59.2	70.7	78.7	90.2	100.7	104.9	113.1

^a Según requerimientos de peces marinos (mg/kg dieta): Acetato de Vitamina A, 0.86; Vitamina D3, 0.06; Acetato de Vitamina E, 80; Vitamina K3, 10.0; Mononitrato de Tiamina, 10.0; Riboflavina, 25.0; Hidrocloruro de Piridoxina, 20.0; Acido Pantoténico, 50.0; Niacina, 200; d-Biotina, 2.0; Acido Fólico, 10.0; Cianocobalamina, 0.02; Inositol, 500.

^b Según requerimientos para peces marinos (mg/kg dieta): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄•7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄•7H₂O, 150; ZnSO₄•7H₂O, 30; MnCl₂•4H₂O, 13; CuSO₄•5H₂O, 3; CaCl₂•2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1.

^c (g / 100 g dieta): Betaina, 4.2; Glicina, 0.32; L-Arginina, 0.32; L-Prolina, 0.32; Inosina, 0.84. ^d ELN: extracto libre de nitrógeno= 100 -(% PC + % LC + % FC + % Cenizas). ^e EB: energía bruta, determinada con bomba calorimétrica.

^f Proporción de proteína/energía (P / E) (mg proteína /kcal).

Los juveniles se obtuvieron de huevos desovados en el laboratorio el 4 de noviembre de 1997, en el Laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR. El diseño experimental consistió en 7 dietas con tres réplicas y 15 organismos de peso promedio uniforme (2.5 g) por cada tanque. Los peces se alimentaron tres veces por día a saciedad aparente, durante 42 días. La temperatura se mantuvo en 27.0 ± 0.5 C y niveles de oxígeno entre 7-8 mg/L.

Para este experimento se utilizó un sistema de flujo de agua abierto, compuesto de 21 tanques de fibra de vidrio (0.5 X 0.5 X 0.6 m) con capacidad de 140 L, ubicado en las instalaciones de Maricultura de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (Fig. 11).



Figura 11. Sistema de cultivo en la Unidad de Maricultura de la UABCS (Pichilingue, La Paz, B.C.S.). Al fondo de la fotografía se observan 2 tanques cónicos de sedimentación.

Los resultados del crecimiento y aprovechamiento de los alimentos se muestran en la Tabla 16. El porcentaje de la ganancia en peso (%GP) final aumentó al aumentar el nivel de proteína dietaria, pero no hubo evidencia de alcanzar la asíntota en el crecimiento. El valor más bajo de la conversión alimenticia (FCA) y del consumo diario de alimento (CDA) se obtuvo en los juveniles alimentados con el nivel más bajo de proteína (25%), mientras que los peces alimentados con 45, 50 y 55% proteína mostraron el mejor crecimiento y aprovechamiento del alimento. Los valores de la eficiencia proteica (EP) oscilaron entre 0.9 y 1.26, pero no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. La sobrevivencia fue del 100% y no se vio afectada por el nivel de proteína dietaria.

Resultados similares al %GP observados en el presente trabajo han sido reportados por otros autores (Ogino & Saito 1970; Cowey *et al.*, 1972; Parazo 1990; Lazo *et al.*, 1998) con otras especies y otras fuentes de proteína. Cowey *et al.* (1972) sugiere que la explicación de estos resultados usando caseína en la dieta puede estar en su diferente contenido de energía metabolizable. Estos autores sugieren que las dietas con alto contenido de proteína probablemente son altas en energía metabolizable y, dado que los peces se alimentan para satisfacer sus requerimientos de energía, el contenido de la misma en las dietas pudo haber afectado el consumo de alimento. Este efecto es ahora muy bien conocido, y está relacionado con la proporción de proteína/energía (P/E) de la dieta (Guillaume, 1994; Yousif *et al.*, 1996). En este trabajo, se observó la típica relación inversa entre el nivel de proteína y el consumo de alimento. El CDA indica que el consumo total o absoluto de proteína digerible aumentó desde la dieta de 25% proteína hasta la dieta de 55% proteína. Lo anterior sugiere que los peces alimentados con los niveles más altos de proteína no consumieron la cantidad necesaria de proteína para un crecimiento óptimo, lo cual, explicaría el porqué no se alcanzó

la asíntota en la curva de crecimiento. El valor más alto de FCA (4.5) lo presentaron los peces alimentados con el nivel más bajo de proteína (25%). Tacon & Cowey (1985) mencionan que, en general, el aprovechamiento del alimento es pobre con dietas purificadas, en comparación con las dietas prácticas. En esta investigación el valor más bajo de FCA (1.5) se obtuvo con la dieta de 55% proteína, aunque no hubo diferencias significativas con las dietas de 40% ó más de proteína. Dado que no hubo diferencias significativas en los valores de la EP, parecería que la proteína fue utilizada con baja eficiencia, independientemente del nivel de proteína dietaria. El nivel óptimo de proteína es afectado también por el contenido de la energía no-proteica en las dietas de prueba y por el balance óptimo de la proporción de P/E (Cowey 1994; Wilson 1994). La proteína es usada en el metabolismo en lugar de ser aprovechada para el crecimiento, cuando los animales consumen dietas con un contenido inadecuado de energía (Yousif *et al.*, 1996; Ramseyer & Garling Jr. 1998). Así, el balance de P/E y la cantidad de energía no-proteica de nuestras dietas quizás no estuvieron dentro del intervalo óptimo para la cabrilla arenera.

Tabla 16. Crecimiento y utilización de la proteína dietaria en juveniles de la cabrilla arenera, alimentada con varios niveles de proteína. Los valores son promedios de tres tanques por tratamiento. Los números de cada fila con letras diferentes son significativos ($P < 0.05$).

Parámetros	Nivel de proteína (%)						
	25	30	35	40	45	50	55
Peso promedio inicial (g)	2.4 ^a	2.4 ^a	2.4 ^a	2.5 ^a	2.5 ^a	2.4 ^a	2.4 ^a
Ganancia en peso (%)	70 ^b	107 ^{ab}	116 ^{ab}	117 ^{ab}	126 ^{ab}	146 ^a	162 ^a
Factor de conversión alimenticia	4.5 ^a	2.6 ^{bc}	2.7 ^b	2.3 ^{bcd}	1.9 ^d	1.8 ^d	1.5 ^d
Eficiencia proteica (EP)	0.90 ^a	1.26 ^a	1.07 ^a	1.12 ^a	1.21 ^a	1.15 ^a	1.24 ^a
Consumo de alimento (CDA)	180.6 ^a	162.0 ^c	180.5 ^{ab}	161.3 ^c	137.1 ^d	146.6 ^d	140.8 ^d
Sobrevivencia (%)	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a	100 ^a

Los resultados de este primer estudio indicaron que los juveniles de 2.5 g (peso promedio) requieren al menos 55% de proteína cruda (equivalente a 52.8% de proteína digerible) para un mejor crecimiento, cuando se emplean dietas a base de caseína. Sin embargo, considerando el comportamiento del FCA, aparentemente el requerimiento proteico pudiera ser menor. Con la finalidad de clarar este punto, se realizó un experimento donde se deseaba evaluar el efecto de diferentes niveles de proteína y de energía en la dieta sobre el crecimiento y la composición química de los juveniles de la cabrilla arenera. Desafortunadamente, durante el desarrollo de dicho bioensayo se registró una mortalidad muy elevada en los organismos de todos los tanques, presumiblemente por estrés, y no se cuenta con esa información hasta el momento. No obstante, posteriormente se realizó un experimento en cuyo diseño experimental se evaluó el efecto del nivel de proteína, pero utilizando esta vez alimentos prácticos o completos.

En este estudio se evaluaron por triplicado tres dietas conteniendo 40, 45 y 50 % de proteína cruda durante 93 días. Las dietas experimentales se formularon utilizando el programa

MIXIT 4 y se elaboraron con la asesoría del personal del Laboratorio de Nutrición Acuícola del CIBNOR (Tabla 17).

Tabla 17. Composición de las dietas prácticas para determinar el efecto del nivel de proteína sobre el crecimiento de juveniles de cabrilla arenera (Promedio \pm desviación estándar).

Ingredientes	Dietas		
	40 %	45 %	50 %
Harina de sardina ^a	31.33	41.59	51.96
Pasta de soya ^a	10.00	10.00	10.00
Harina de calamar ^a	10.00	10.00	10.00
Harina de trigo ^a	33.81	24.32	14.65
Levadura pan ^b	6.00	6.0	6.0
Aceite de pescado ^a	1.98	1.21	1.0
Lecitina de soya ^a	1.5	1.5	1.0
Premezcla de vitaminas ^c	0.7	0.7	0.7
Premezcla de minerales ^d	2.0	2.0	2.0
Alginato ^e	2.4	2.4	2.4
Cloruro de colina	0.2	0.2	0.2
Vitamina C ^f	0.08	0.08	0.08
Análisis químico (g/100g de materia seca, excepto humedad)			
Humedad	22.27 \pm 0.09	18.56 \pm 0.30	23.92 \pm 0.17
Proteína cruda	41.92 \pm 0.26	46.37 \pm 0.09	52.52 \pm 0.09
Extracto etéreo	8.90 \pm 0.03	8.53 \pm 0.26	8.11 \pm 0.01
Cenizas	9.56 \pm 0.07	11.01 \pm 0.12	11.52 \pm 0.02
Fibra cruda	1.35 \pm 0.07	1.19 \pm 0.32	0.74 \pm 0.11
Extracto libre de nitrógeno	38.27	32.94	27.17
Energía total (cal/g)	4822 \pm 27.4	4842 \pm 15.2	4935 \pm 12.2

^a Promotora Industrial Acuasistemas S.A. de C.V., ^b Los Volcanes, ^c Premezcla de vitaminas (mg/Kg de dieta): Vit A acetato (retinol), 2.58 (ICN); Vit D3 (colecalfiferol), 0.18 ; Vit E acetato (tocoferol), 24 ; Vit K (menadiona), 240 ; Vit B1 mononitrato (tiamina), 30 ; Vit B2 (riboflavina), 75 ; Vit B6 hidrocloreada (piridoxina), 60 ; Acido pantotenoico ,50 ; Niacina (ácido nicotínico), 600 ; D-biotina, 6 (ICN); Acido fólico, 30 ; Vit B12 (cianocobalamina), 0.06 ; Inositol, 1500 . ^d Premezcla de minerales (g/kg de dieta; SIGMA): CaCl₂*5H₂O, 12.38; Na₂HPO₄, 27.48; MgSO₄*7H₂O, 7.17; FeSO₄*7H₂O, 0.86; KI, 0.0014 (mg/kg de dieta); ZnSO₄*7H₂O, 0.1325; MnCl₂*4H₂O, 0.0464; CuSO₄*5H₂O, 0.012; SeS₂, 0.2 (mg/kg de dieta). ^e ALGIMAR, ^f ROVIMIX, ROCHE.

Se seleccionaron 378 juveniles de 9.5 \pm 1.5 g de peso promedio, sembrándose de forma aleatoria a una densidad de 70 ind/m³ en 9 tanques circulares de fibra de vidrio de 600 l de capacidad cada uno, en el sistema de circulación cerrada de la UPIMA, CICIMAR (Fig 12).



Figura 12. Sistema de circulación cerrada (SCC-22) de la UPIMA, CICIMAR.

Los peces fueron alimentados a saciedad dos veces al día (7:00 y 17:00 horas) en dos raciones por vez, separadas por 30 min entre cada ración para asegurar que los peces fueran alimentados a saciedad aparente. Durante el desarrollo del experimento, se realizaron biometrías catorcenales, y semanalmente se realizó un seguimiento de la salinidad (32 ± 1 ‰), la temperatura (24.5 ± 0.5 °C), el oxígeno disuelto (6.9 ± 0.6 mg/l), el amonio (0.2 ± 0.1 mg/l) y nitrito (0.2 ± 0.1 mg/l).

El peso húmedo de los peces mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) para los días 35, 49 y 93 (Tabla 18), donde los peces alimentados con la dieta de 45 y 50 % de proteína tuvieron el mayor peso. Las longitudes mostraron diferencias solamente para el día 35 y para el final del experimento no se detectaron diferencias significativas.

Se realizaron las comparaciones entre los índices de calidad del alimento contra el porcentaje de proteína (Tabla 19). Solamente se detectaron diferencias para el SGR, donde la mayor tasa de crecimiento fue para los peces alimentados con 45 % de proteína. Para el resto de los índices no se detectaron diferencias significativas.

Tabla 18. Peso húmedo (g), longitudes patrón, cefálica y altura máxima (cm) de los juveniles de cabrilla arenera por nivel de proteína a lo largo de 93 días de cultivo. (valores promedio \pm desviación estándar).

PESO HÚMEDO							
Proteína	0	18	35	49	63	78	93
40 %	9.2 \pm 0.8	13.9 \pm 1.8	20.3 \pm 3.3 ^a	26.7 \pm 4.8 ^a	33.0 \pm 6.5	38.2 \pm 8.3	43.1 \pm 9.6 ^b
45 %	9.1 \pm 0.8	13.7 \pm 1.6	20.4 \pm 3.4 ^{ab}	27.5 \pm 5.1 ^{ab}	33.8 \pm 6.6	39.8 \pm 8.3	45.8 \pm 10.4 ^a
50 %	9.3 \pm 0.8	14.1 \pm 1.9	21.6 \pm 3.9 ^b	28.4 \pm 5.7 ^b	34.9 \pm 7.3	40.8 \pm 9.2	46.5 \pm 11.2 ^a
LONGITUD PATRÓN							
Proteína	0	18	35	49	63	78	93
40 %	7.5 \pm 0.2	8.5 \pm 0.3	9.3 \pm 0.5 ^a	10.1 \pm 0.6	10.9 \pm 0.7	11.2 \pm 0.7	11.7 \pm 0.8
45 %	7.5 \pm 0.2	8.4 \pm 0.3	9.1 \pm 0.5 ^b	10.1 \pm 0.6	10.9 \pm 0.7	11.3 \pm 0.8	11.8 \pm 0.8
50 %	7.5 \pm 0.2	8.5 \pm 0.3	9.3 \pm 0.5 ^a	10.2 \pm 0.6	10.9 \pm 0.7	11.2 \pm 0.7	11.8 \pm 0.8
LONGITUD CEFÁLICA							
Proteína	0	18	35	49	63	78	93
40 %	2.1 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.7 \pm 0.2 ^a	2.9 \pm 0.2	3.0 \pm 0.2	3.2 \pm 0.3	3.4 \pm 0.3
45 %	2.1 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2 ^b	2.9 \pm 0.2	3.0 \pm 0.2	3.2 \pm 0.3	3.4 \pm 0.3
50 %	2.1 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1	2.8 \pm 0.2 ^a	2.9 \pm 0.2	3.1 \pm 0.2	3.2 \pm 0.2	3.4 \pm 0.3
ALTURA MÁXIMA							
Proteína	0	18	35	49	63	78	93
40 %	2.3 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	2.9 \pm 0.2 ^a	3.2 \pm 0.2	3.3 \pm 0.3	3.4 \pm 0.3	3.6 \pm 0.3
45 %	2.3 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	2.8 \pm 0.2 ^b	3.2 \pm 0.2	3.4 \pm 0.3	3.5 \pm 0.3	3.7 \pm 0.3
50 %	2.3 \pm 0.1	2.6 \pm 0.1	2.9 \pm 0.2 ^a	3.2 \pm 0.2	3.4 \pm 0.3	3.5 \pm 0.3	3.7 \pm 0.3

Superíndices desiguales en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla 19. Índices de crecimiento y de calidad del alimento calculados para los juveniles de la cabrilla arenera alimentados con diferentes niveles de proteína en la dieta (Promedio \pm desviación estándar).

Índices	40 %	45 %	50 %
SGR (%/día)	1.65 \pm 0.05 ^b	1.74 \pm 0.06 ^a	1.73 \pm 0.32 ^a
PER	1.48 \pm 0.04	1.42 \pm 0.05	1.34 \pm 0.11
TCA	0.36 \pm 0.02	0.39 \pm 0.03	0.40 \pm 0.01
PPV (%)	43.47 \pm 1.07	44.22 \pm 1.25	43.49 \pm 3.15
FCA	1.60 \pm 0.04	1.53 \pm 0.05	1.43 \pm 0.11
FC	2.72 \pm 0.03	2.80 \pm 0.04	2.83 \pm 0.04
Ganancia en peso (%)	330.26 \pm 5.30	354.24 \pm 25.03	357.90 \pm 23.35

Superíndices desiguales en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

La Tabla 20 muestra la composición química y el contenido calórico del pescado entero, hígado y músculo de los juveniles de la cabrilla arenera. No se detectaron diferencias significativas entre ninguno de los niveles de proteína ($P>0.05$).

Tabla 20. Análisis químico proximal de pescado entero, hígado y músculo de los juveniles de la cabrilla arenera alimentados con diferentes niveles de proteína. (Promedio \pm desviación estándar; g/100 g de materia seca, excepto humedad).

Análisis	40 %	45 %	50 %
Pescado entero			
Proteína cruda	57.86 \pm 1.37	57.24 \pm 2.22	56.62 \pm 1.24
Extracto etéreo	28.16 \pm 1.84	28.80 \pm 0.42	29.42 \pm 1.18
Cenizas	13.43 \pm 0.35	13.21 \pm 0.51	12.52 \pm 0.68
Humedad	74.10 \pm 0.12	72.35 \pm 0.13	71.38 \pm 0.21
Energía (cal/g)	5666.13 \pm 130.65	5686.07 \pm 124.42	5726.82 \pm 122.36
Hígado			
Proteína cruda	15.24 \pm 0.42	14.24 \pm 0.80	13.73 \pm 0.93
Extracto etéreo	64.24 \pm 0.80	66.37 \pm 2.22	69.71 \pm 0.45
Cenizas	1.67 \pm 0.26	1.48 \pm 0.11	1.47 \pm 0.19
Músculo			
Proteína cruda	70.91 \pm 2.15	72.16 \pm 1.34	72.71 \pm 1.39
Extracto etéreo	22.64 \pm 3.91	22.47 \pm 1.42	20.97 \pm 1.00
Cenizas	5.60 \pm 0.44	5.68 \pm 0.38	5.87 \pm 0.58

En el presente estudio, se detectaron los mayores pesos promedio para los peces alimentados con las dietas de 45 y 50 % de proteína. Además, se detectó la mayor tasa de crecimiento (SGR) para los peces alimentados con 45 % de proteína dietaria. Lo anterior concuerda con otras investigaciones donde observaron que en la medida que aumenta el nivel de proteína en la dieta las tasas de crecimiento de los peces también se incrementan, pero si el nivel de proteína es excedido, las tasas de crecimiento se mantienen constantes o decrecen, debido a que parte de la energía obtenida de la proteína dietaria es utilizada para excretar el exceso de aminoácidos y para el anabolismo de los lípidos provocando la acumulación de grasas en tejidos y en músculo (Swann *et al.*, 1994). La tasa de crecimiento específica (SGR), fue mayor para los peces alimentados con la dieta de 45 % de proteína (1.74 %/día). Comparando estos resultados con el trabajo de Tacon *et al.* (1995) calcularon valores de 2.25 %/día para *Epinephelus tauvina* para 55 % de proteína óptima y de 2.96 %/día observado con *Lates calcalifer* para 55 % de proteína óptima. Además, Parazo (1990) calcularon valores de 3.77 %/día para *Siganus guttatus* para un nivel óptimo de proteína de 35 %, siendo mayores a los de la cabrilla. Lo anterior ha sido corroborado, indicando que al aumentar el nivel de proteína en la dieta se incrementa el crecimiento, aunque estas diferencias en las tasas específicas de crecimiento dependen principalmente de las diferencias entre las especies y su edad. Las tasas de eficiencia proteica (PER) de la cabrilla fueron similares a las reportadas en Robaina *et al.* (1997) para *Sparus aurata*, calculando valores de 1.2 a 1.5 para un nivel de proteína de 42 %, para *Dicentrarchus labrax* con valores de 1.18 a 1.66 para un nivel de

proteína entre 45 y 50 % (Pérez *et al.*, 1997). Mientras que en otros estudios se reportaron eficiencias mayores como en el estudio de Degani *et al.* (1989) cultivando juveniles de *Clarias gariepinus*, los cuales reportaron valores de 1.02 a 2.66 para un nivel de proteína de 40 %. Teng *et al.* (1978) con *Epinephelus salmoides*, calcularon valores desde 1.04 a 2.27 para un nivel de proteína de 50 % y finalmente Chen & Tsay (1994) con *Epinephelus malabaricus* (=guaza) calcularon valores de 1.97 a 3.01 para un nivel de proteína de 48 %. Aunque estas diferencias van a depender del tipo de cultivo empleado, el cual permita optimizar la alimentación, evitando al máximo las pérdidas, así como de la capacidad de asimilación de proteína dietaria para cada especie (Alvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 1994). Los valores proteínicos productivos (PPV) calculados para la cabrilla arenera fueron diferentes en la medida que los peces presentan mayor o menor capacidad de asimilación proteica dependiendo de la especie, la edad, el sexo y los requerimientos nutricionales. En el caso de *Siganus canaliculatus* y *Siganus gutatus*, sus valores fueron fijados desde 23.1 hasta 60.7 %, aumentando en la medida que se incrementa la cantidad de proteína en la dieta, aunque una vez llegando al nivel óptimo, el valor proteico productivo disminuyó (Parazo, 1990; Yousif *et al.*, 1996). Robaina *et al.* (1997), con *Sparus aurata* calcularon valores de 21.9 a 25.2 %. Al compararlos con los valores proteicos productivos de la cabrilla arenera, se observa que la capacidad de asimilación es similar e inclusive superior a los de estas especies, mostrando que de la proteína consumida por los peces se asimiló más del 40 %; sin embargo, esto no quiere decir que se haya llegado al nivel óptimo en la asimilación proteica ya que el método empleado no evaluó la digestibilidad de las dietas utilizadas. La composición química de los peces, denotó una tendencia a acumular mayor cantidad de lípidos, tanto en el pescado entero, como en el hígado, así como una disminución del porcentaje de proteína en estos mismos a medida que se incrementó el nivel de proteína en la dieta. Esta misma relación se encontró en las investigaciones de Serrano *et al.* (1992), Chen & Tsay (1994), Shiau & Lan (1996), Pérez *et al.* (1997) y Robaina *et al.* (1997), donde al aumentar el nivel de proteína en la dieta se incrementó la cantidad de lípidos en los tejidos, hasta el grado de tener peces gordos con grandes cantidades de grasa acumulada en los tejidos y en algunas ocasiones en el músculo. En cuanto a los porcentajes obtenidos de proteína y de lípidos para la cabrilla, tanto en el músculo, el pescado entero y el hígado, se considera que son similares para especies emparentadas como es el caso de *Dicentrarchus labrax*, *Epinephelus malabaricus*, híbridos de *Morone*, *Trachinotus carolinus*, *Sparus aurata* y *Sciaenops ocellatus*; los cuales varían en el caso del filete desde 75 hasta 80 % de proteína y de 25 a 30 % de lípidos; para el pez completo entre 51 hasta 63 % de proteína y de 18 a 30 % de lípidos; para el hígado desde 5 hasta 10 % de proteína y de 50 a 80 % de lípidos (Serrano *et al.*, 1992; Chen & Tsai, 1994; Swann *et al.*, 1994; Pérez *et al.*, 1997; Shiau & Lan, 1996; Asknes *et al.*, 1996; Lazo *et al.*, 1998).

Se considera que es adecuado el uso de 45 ó 50 % de proteína en dietas prácticas, aunque es necesario determinar de forma más precisa el nivel óptimo de proteína a diferentes niveles de energía. A una escala comercial, sería más adecuado el uso de 45 % de proteína en la dieta, lo que disminuirá los costos por alimentación si se considera que la principal fuente de proteína en la dieta es la harina de sardina. Desde un punto de vista práctico, la dieta que se utilizó, es considerada adecuada en relación con la aceptabilidad que tuvo por parte de los peces, además que el crecimiento de éstos, fue superior a los reportados en experiencias

anteriores y se encuentra al mismo nivel que otras especies que en la actualidad se cultivan de forma comercial en diversos países. Los índices de crecimiento y de calidad del alimento determinados para la cabrilla arenera, mostraron similitudes en relación con otras especies, por lo que el cultivo a una escala comercial sería factible, en la medida que se incremente la producción de semilla, se disminuya el costo de producción, se abran mercados adecuados y se integren canales de comercialización para el producto final. Los análisis de composición de proteína y lípidos de la cabrilla arenera, mostraron que esta especie contiene altos niveles de proteína, en especial en el músculo, por lo que es un producto de alta calidad nutricional que tendría una alta aceptabilidad en mercados nacionales e internacionales.

Sería recomendable realizar estudios sobre la capacidad digestiva (fisiología y bioquímica) de esta especie durante sus diferentes períodos de crecimiento, con lo que se mejoraría el uso de los ingredientes para la fabricación de alimentos adecuados a los requerimientos de la especie, posiblemente usando ingredientes alternativos como harinas y aceites de origen vegetal o animal poco convencionales. Además, se hace necesario estudiar el efecto del nivel de lípidos de la dieta sobre el crecimiento de los juveniles de cabrilla.

Requerimientos en lípidos

El objetivo de este estudio fue el evaluar el efecto del nivel de lípidos sobre el crecimiento de juveniles de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* alimentadas con dietas prácticas. Se seleccionaron juveniles (0.38 ± 0.06 g) de un lote de peces producidos en la Unidad Piloto de Maricultivos en CICIMAR-IPN, La Paz B.C.S., México. Los peces fueron aleatoriamente distribuidos (20 peces / tanque) en 12 tanques cúbicos de fibra de vidrio de 140 litros conectados a un sistema cerrado de recirculación descrito por Álvarez-González et al. (2001^b). El fotoperíodo fue de 13:11 luz:oscuridad. Los siguientes parámetros se monitorearon: temperatura ($26.5 \pm 1.2^\circ\text{C}$), salinidad (37.1 ± 0.6 ‰), oxígeno disuelto (4.9 ± 0.4 mg/l), amonio total (0.094 ± 0.032 mg/l), nitritos ($0.023 \pm .009$ mg/l) y pH (8.09 ± 0.07) fueron medidos según APHA (1976).

Tres dietas experimentales fueron formuladas conteniendo 5%, 10% y 15% de lípidos totales. El nivel de lípidos se ajustó reemplazando el aceite de pescado por lecitina de soya. Las dietas fueron isocalóricas e isoproteicas (Tabla 21). Todos los ingredientes fueron tamizados a través de una malla de 350 μm . Las dietas se prepararon según la metodología descrita en Álvarez-González et al. (2001^a) y fueron almacenadas a -10°C hasta su uso posterior. Durante el tiempo total del experimento, 42 días se suministró cada una de las dietas a diferente nivel de lípidos por triplicado. Los peces fueron alimentados a saciedad aparente cuatro veces al día durante los primeros 28 días (07:30, 11:00, 14:30 y 18:00), y tres veces al día (08:00, 13:00 y 18:00) hasta el final del experimento. Se guardó un registro por día del total del alimento consumido. Cada 2 semanas se efectuaron biometrías al total de la población registrando la longitud patrón (LP) y el peso húmedo (W). La tasa de crecimiento se determinó a través de transformaciones logarítmicas de peso húmedo, por análisis de covarianza usando el modelo $Y = ae^{bX}$ (Everhart et al., 1953). La comparación entre pendientes (b) fue hecha usando la prueba de Tukey (Zar, 1996). La sobrevivencia fue evaluada al final experimento, usando las pruebas de hipótesis de la diferencia de dos

poblaciones distintas (Daniel, 1997). Se efectuaron pruebas de homogeneidad y distribución normal de la varianza, así como pruebas de ANOVA de una vía, con el nivel de lípidos como factor. Cuando los datos se distribuyeron normalmente se usó un análisis de Kruskal-Wallis (LP, composición proximal del pez entero, como variables de peso). Las medias fueron comparadas por prueba múltiple de rango de Duncan. Los análisis estadísticos se efectuaron usando el paquete de computo STATISTICAL (v. 5.1) (StatSoft, Tulsa, OK, USA). Todos los análisis fueron hechos al 0.05 de nivel de significancia.

Tabla 21. Composición en ingredientes y química de las dietas experimentales con diferentes niveles de lípidos para el cultivo de juveniles de cabrilla arenera (valores promedio \pm desviación estándar).

Ingredientes (g/ 100g de dieta)	Dieta 5 %	Dieta 10 %	Dieta 15 %
Harina de sardina ^a	52.98	53.98	56.98
Harina de trigo ^a	25.58	20.93	9.86
Hidrolizado de pescado ^b	10.00	10.00	10.00
Harina de calamar ^a	5.00	5.00	5.00
Aceite de sardina ^a	0.00	3.65	11.72
Lecitina de soya ^c	2.50	2.50	2.50
Alginato de sodio ^d	2.00	2.00	2.00
Premezcla de minerales ^e (CIBNOR)	1.00	1.00	1.00
Premezcla de vitaminas ^f (CIBNOR)	0.70	0.70	0.70
Cloruro de colina	0.13	0.13	0.13
Vitamina C ^g	0.08	0.08	0.08
BHT	0.03	0.03	0.03
Análisis químico (g/100g de materia seca, excepto humedad)			
Humedad	6.44 \pm 0.06	5.63 \pm 0.17	4.15 \pm 0.09
Proteína cruda	51.35 \pm 0.34	51.45 \pm 0.37	51.26 \pm 0.07
Extracto etéreo	5.45 \pm 0.04	9.47 \pm 0.31	14.57 \pm 0.32
Cenizas	11.82 \pm 0.04	11.64 \pm 0.13	12.08 \pm 0.08
Energía total (cal/g)	4575 \pm 15	4804 \pm 01	4990 \pm 07

^a PIASA, La Paz, Baja California Sur, México. ^b Noruega. ^c ODANAJI. Distribuidora de alimentos naturales y nutricionales S.A. de C.V. México. ^d ALGIMAR, CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México. ^e Premezcla de vitaminas (mg/Kg de dieta): Vit. A (retinol), 0.6; Vit. D3 (colecalfiferol), 0.0042 ; Vit. E (tocoferol), 35 ; Vit. K (menadiona), 7 ; Vit. B1 (tiamina), 0.7 ; Vit. B2 (riboflavina), 2.8 ; Vit. B6 (piridoxina), 2.1 ; Ácido pentanoico, 14 ; Niacina (ácido nicotínico), 7 ; Biotina, 0.112 (ICN); Inositol, 210 ; Vit. B12 (cianocobalamina), 0.014 ; Ácido fólico, 0.7 ; Vehículo harina de sorgo. ^f Premezcla de minerales (g/kg de dieta; SIGMA): CaCl₂*5H₂O, 2.57; Na₂HPO₄, 5.72; MgSO₄*7H₂O, 1.49; FeSO₄*7H₂O, 0.18; ZnSO₄*7H₂O, 0.028; MnCl₂*4H₂O, 0.0096; ; CuSO₄*5H₂O, 0.0025; KI, 0.0003 mg; SeS₂, 0.42 mg. ^g ROVIMIX, ROCHE.

Se encontraron diferencias significativas entre los niveles de lípidos para los días 28 y 42. El mayor peso y longitud fue para la dieta con 15% de lípidos (Tabla 22).

Tabla 22. Peso y longitud patrón (LP) de juveniles de la cabrilla arenera alimentados a diferentes niveles de lípidos por 42 días (valores promedio \pm desviación estándar).

(día)	Peso (g)			LP (cm)		
	Nivel de lípidos (%)			Nivel de lípidos (%)		
	5	10	15	5	10	15
0	0.38 \pm 0.06	0.37 \pm 0.06	0.37 \pm 0.06	2.62 \pm 0.67	2.58 \pm 0.16	2.58 \pm 0.15
14	1.17 \pm .035	1.08 \pm 0.34	1.10 \pm 0.24	3.53 \pm 0.41	3.56 \pm 0.45	3.55 \pm 0.27
28	2.02 \pm 0.70 ^b	2.05 \pm 0.73 ^b	2.62 \pm 0.60 ^a	4.68 \pm 0.58 ^b	4.71 \pm 0.69 ^b	5.00 \pm 0.42 ^a
42	2.17 \pm 0.80 ^b	2.31 \pm 0.91 ^b	3.42 \pm 1.13 ^a	4.66 \pm 0.55 ^b	4.74 \pm 0.60 ^b	5.26 \pm 0.49 ^a

La media en el mismo renglón con diferente superíndice representa diferencia significativa (P<0.05).

Tabla 23. Índices de crecimiento y calidad del alimento de juveniles de la cabrilla arenera alimentadas a diferentes niveles de lípidos por 42 días (valores promedio \pm desviación estándar).

	Nivel de lípidos (%)		
	5	10	15
TCE (% / día) ^a	4.18 \pm 0.31 ^b	4.65 \pm 0.70 ^b	5.37 \pm 0.26 ^a
FC ^b	2.17 \pm 0.12	2.47 \pm 0.47	2.43 \pm 0.12
FCA ^c	0.39 \pm 0.02	0.49 \pm 0.15	0.67 \pm 0.06
TEL (%) ^d	5.37 \pm 1.34	3.44 \pm 1.04	3.15 \pm 0.49
Consumo (g) ^e	93.83 \pm 9.80	89.59 \pm 3.56	94.53 \pm 3.85
GP (%) ^f	183 \pm 26	228 \pm 81	318 \pm 41
Supervivencia (%) ^g	91.67 \pm 2.89	76.67 \pm 16.07	85.00 \pm 13.23

La media en el mismo renglón con diferente superíndice representa diferencia significativa (P<0.05).

^a Tasa de crecimiento específico (TCE): [(ln peso final - ln peso inicial) / días] X 100.

^b Factor de condición (FC): (peso promedio final / LP promedio final ³) X 100

^c Factor de Conversión Alimenticio (FCA): (alimento consumido, g en base seca) / (ganancia en peso, g).

^d Tasa de eficiencia lipídica (TEL): (peso ganado por los peces, g) / (lípidos consumido, g).

^e Consumo: Consumo total de alimento en función del tiempo.

^f Ganancia en peso (GP): [(peso promedio final - peso promedio inicial) / peso promedio final] X 100

^g Supervivencia: (número final de peces / número inicial de peces) X 100.

Los peces alimentados con la dieta de 15% de lípidos presentaron mayores tasas de crecimiento específico que aquellos de las dietas 5 y 10% de lípidos, mientras que no se detectaron diferencias marcadas en los demás índices de crecimiento y de calidad del alimento (Tabla 23).

En este estudio la dieta de 15% de lípidos mostró ser significativamente mejor para el desarrollo de los peces que las de 5 y 10% de lípidos. Este nivel de lípidos es similar al reportado para otros peces carnívoros (que está entre 7% y 12%), esto es ligeramente mayor que para los peces omnívoros o herbívoros como la tilapia, la carpa y el pez gato (Davis & Stickney, 1978; Ogino, 1980; Robinson & Robinette, 1994). El exceso de lípidos se manifiesta en la acumulación de tejido adiposo, así como en músculo (Ballestrazzi *et al.*, 1994, Swann *et al.*, 1994). Se podría considerar como satisfactoria la tasa de crecimiento específico que se obtuvo para este estudio de la cabrilla arenera comparada con estudios previos para esta misma especie (1.74 \pm 0.06 %/día Álvarez-González *et al.* (2001^b) y (1.46 \pm 0.28 %/día) Grayeb-Del Alamo *et al.*, (1998). El primero trabajo se diseñó con dietas secas cuya fórmula contenía 8% de extracto etéreo y 40%, 45% y 50% de proteína (base seca) bajo condiciones controladas, y el segundo se diseñó con dietas a base de pescado

fresco conteniendo 22% de extracto etéreo y 56% de proteína (base seca) bajo condiciones de cultivo en jaulas. Los resultados indican que los juveniles de cabrilla arenera requieren al menos 10% de lípidos en la dieta para obtener un óptimo desarrollo, quedando dentro del rango reportado para especies similares. Para estudios posteriores se recomienda ampliar el rango de lípidos para evidenciar más las necesidades de lípidos. Así como determinar tanto los requerimientos en energía y ácidos grasos, como de aminoácidos y el coeficiente de digestibilidad aparente de las fuentes de lípidos.

PERSPECTIVAS

A pesar de que se tienen algunos antecedentes sobre la nutrición en reproductores de la cabrilla y su efecto en la reproducción, hacen falta estudios sistemáticos para tratar de conocer los requerimientos en los nutrientes básicos como la proteína, los lípidos y en particular los ácidos grasos, así como de la energía que debe ser aportada en el alimento de estos organismos, a fin de mejorar la calidad de los desoves y las larvas, y también lograr sustituir el alimento fresco que se usa actualmente, por alimentos balanceados que sean de más fácil manejo, como los peletizados o los extruídos.

Actualmente ya se cuenta con información que es básica para poder iniciar los estudios de requerimientos nutricionales en larvas, ya que se conoce la ontogenia tanto del tracto digestivo, como de las enzimas responsables de digerir el alimento. Los esfuerzos de investigación actualmente se encaminan a describir el desarrollo de la actividad enzimática de las larvas de la cabrilla arenera y se realizan ensayos bioquímicos y enzimohistoquímicos que nos permitirán lograr un mejor entendimiento de la fisiología digestiva de larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*, lo que a su vez ayudará a seleccionar con mayor facilidad los ingredientes más adecuados a utilizar en los alimentos para la crianza larvaria, y poder optimizar el cultivo de esta especie. Dado que son muchas las variables o factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de las larvas de peces marinos, es necesario definir adecuadamente los requerimientos nutricionales de los reproductores y de las fases larvales, incluyendo la condición o vigor de las larvas, al momento del período de iniciación. La composición de los alimentos inertes, que se usen con las larvas (destete), habrán de modificarse y evaluarse para aumentar el nivel de lípidos disponibles y esenciales, así como disminuir la fracción de carbohidratos y el contenido de cenizas. Asimismo, sería aconsejable tratar de mantener la energía en niveles que no limiten el consumo del alimento. La composición y proporción de los aminoácidos y los ácidos grasos esenciales de las dietas completas usadas para iniciar a las larvas de los peces marinos, deben ajustarse a los niveles básicos, relativos a los diez aminoácidos esenciales y la proporción de DHA/EPA reportadas en la literatura para otras especies.

De igual importancia será el revisarse y adecuarse las características físicas y químicas de las micropartículas, de modo que se logre una flotabilidad media y provocar un mayor movimiento de las partículas en el agua, por medio de los flujos dentro del tanque, para lograr un consumo más eficiente. La utilización de microcápsulas representa una alternativa muy interesante para optimizar la alimentación de las larvas, mismo que deberá ser abordado.

El uso de herramientas de Biología Molecular tendrán un papel importante en el estudio de la fisiología digestiva de los organismos acuáticos, como por ejemplo, la adhesión de microorganismos en el tracto digestivo, que es un criterio para la selección de organismos probióticos para la acuicultura. De hecho, ya se han realizado algunas investigaciones en las que se evaluó el potencial de adhesión de 7 cepas de levadura al intestino de juveniles de la cabrilla arenera. La cepa CBS 8339 (*Debaryomyces hansenii*) fue seleccionada por su capacidad de adhesión al mucus intestinal de la cabrilla, que fue ya demostrado con la lubina Europea (*Dicentrarchus labrax*), y, por su capacidad de secretar poliaminas (Tovar *et al.*, 2002). Actualmente, se cuenta con las sondas de mRNA parcial codificante para las enzimas lipasa (EMBL AJ418039), tripsina (EMBL AJ344566) y GAPDH (EMBL AJ344567), para conocer más la mecánica digestiva de la cabrilla, pero se deberá determinar el papel de las poliaminas en la regulación de la expresión de la hormona gástrica colecistokinina (CCK) en líneas celulares del epitelio gástrico en juveniles de la cabrilla.

Si bien las investigaciones sobre los requerimientos nutricionales de los juveniles de cabrilla arenera ya han arrojado información muy valiosa para poder formular alimentos balanceados experimentales, y sabemos que los alimentos deben contener aproximadamente 45 % de proteína y 15% de lípidos, es necesario continuar estos estudios para determinar con precisión los requerimientos específicos en aminoácidos, lípidos y ácidos grasos altamente poliinsaturados, niveles más adecuados de energía, minerales, y vitaminas, a fin de sentar las bases para poder contar con formulaciones y alimentos fabricados a nivel comercial, que permitan realizar la pre-engorda y engorda de la cabrilla en jaulas o estanquería, con lo cual se obtendrían nuevos productos en el mercado de la acuicultura en nuestro país.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento otorgado para la ejecución de parte de los proyectos de investigación que conforman el presente trabajo, así como por las becas brindadas a los estudiantes de posgrado. De igual manera se agradece al Centro Interdisciplinario de Ciencias del Mar (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional y al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. (CIBNOR) por el apoyo económico y logístico aportado para la implementación de los experimentos

También se agradece al Dr. Jean Charles Guillaume del IFREMER de Francia y a los Drs. Francisco Javier Moyano López, Francisco Javier Alarcón López y Tomás Martínez de la Universidad de Almería en España por compartir sus conocimientos y amplia experiencia, gracias a los cuales el presente trabajo se ha visto sumamente enriquecido.

Se extiende el presente agradecimiento a Antonia Barroso, Tanos Grayeb, Rebeca Rueda, Dora Ester Hernández, Mauricio Contreras, Sonia Rocha, Dolores Astorga y Rosa María Estrada por su valioso apoyo técnico para lograr el cultivo de presas vivas, producción y mantenimiento de organismos, y la realización de análisis químicos. También se agradece al

Dr. Marco Antonio Cadena Roa por haber facilitado el uso de las instalaciones de maricultura de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, así como a todo aquel personal de las diferentes instituciones involucradas, que de una manera u otra ayudaron a la ejecución de cada una de las investigaciones que conforman el presente trabajo. A todos ustedes, gracias.

LITERATURA CITADA

- Alarcón, F. J., 1997. Procesos Digestivos en Peces Marinos. Caracterización y Aplicaciones Prácticas. Tesis Doctoral. Almería: Universidad de Almería, España.
- Alarcón, F.J., Moyano, Díaz, M., 1999. Effect of inhibitors present in protein sources on digestive proteases of juvenile sea bream *Sparus aurata*. *Aquat. Living Resour.* 12, 233-238.
- Alvarez-González, C.A., Ortiz-Galindo, J. L., Dumas, S., Martínez-Díaz, S. F., Hernández-Ceballos, D. E., Grayeb del Alamo, T., Moreno-Legorreta, M., Peña-Martínez, R., Civera-Cerecedo, R., 2001. Effect of stocking density on the growth and survival sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae in a closed recirculating system. *J. World Aquaculture Soc.* 32, 130-137.
- Alvarez-Lajonchere, L., Hernández-Molejón, O. G., 1994. Manual técnico para la producción piloto de juveniles de peces marinos. Centro de Investigaciones Pesqueras de Cuba. Universidad Juárez de Tabasco. 102 pp.
- Anguas-Vélez, B. H., Civera-Cerecedo, R., Contreras-Olguín, M., Rueda-Jasso, R. A., Guillaume, J., 2000. Preliminary study on the timing of weaning of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) larvae with a prepared diet: effects on growth and survival. *Journal of Applied Aquaculture* 10, 1-15.
- Anson, M. L., 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. gen. Physiol.* 22, 79-89.
- Avilés-Quevedo, A., Rodríguez-Ramos, R., Méndez-López, L., 2002. Evaluación de *Brachionus plicatilis* cultivado con cinco dietas de fitoplancton y levadura, en el crecimiento y mortalidad de larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*. *Acta Cient. CRIP-La Paz, B.C.S.* 1, 11-17.
- Avilés-Quevedo, A., McGregor-Pardo, U., Rodríguez-Ramos, R., Morales-Castro, O., Huerta-Bello, M. A., Iizawa, M., 1995. Biología y cultivo de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868). Secretaría de Pesca. Instituto Nacional de la Pesca. JICA. México, 85 pp.
- AOAC., 1995. 16th ed. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, vol. I, Washington, D.C. USA, 1234pp.
- Arzel, J., Métailler, R., Kerleguer, C., Le Delliou, H., Guillaume, J., 1995. The protein requirement of brown trout (*Salmo trutta*) fry. *Aquaculture* 130, 67-78.
- Ásgeirsson, B., Bjarnasson, J. B., 1991. Structural and kinetic properties of chymotrypsin from atlantic cod (*Gadus morhua*). Comparison with bovine chymotrypsin. *Comp. Biochem. Physiol.* 99B, 327-335.
- Asknes, A., Hjertnes, T., Opstvedt, J., 1996. Effect of dietary protein level on growth and carcass composition in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 145, 225-233.
- Baker, R. F., Ayles, G. B., 1990. The effects of varying density and loading level on the growth of arctic charr (*Salvelinus alpinus*, L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Aquaculture* 21, 58-62.
- Balon, E. K., 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyology Reviews* 1, 42.
- Ballestrazzi, R., Lanari, D., Agaro, E. D., Mion, A., 1994. The effect of dietary level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 127, 197-206.
- Bernabé, G., Guissi, A., 1994. Adaptation of the feeding behaviour of larvae of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), to an alternating live-food/compound-food regime. *Aqua. Fisher. Man.* 25, 537-546.
- Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Bryant, P. L., Matty, A. J., 1981. Adaptation of carp (*Cyprinus carpio*) larvae to artificial diets. 1. Optimum feeding rate and adaptation age for a commercial diet. *Aquaculture* 23, 275-286.
- Bower, C. E., 1983. *The Basic Marine Aquarium*. Charles C. Thomas, Publishers. Springfield.

- Brett, J. R., 1979. Environmental factors and growth. En: W. S. Hoar, Randall, D.J. y Brett, J.R. (Eds.). *Fish Physiology. V. VIII: Bioenergetics and Growth*. Academic press, Inc., San Diego, CA. USA. pp. 599-675.
- Butler, J. L., Moser, H. G., Hageman, G. S., Nordgren, I. E., 1982. Developmental stages of three California sea basses (*Paralabrax*, pisces, serranidae). *CalCOFI Rep.*, 23, 252-268.
- Carneiro, D. J., Rantin, R. T., Dias, T. C. R., Malheiros, E. B., 1994. Interaction between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). II. Effects on digestibility of protein and transit time through the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 124, 127-131.
- Chen, H. Y., Tsay, J. C., 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, *Epinephelus malabaricus*, fed semipurified diets. *Aquaculture* 119, 265-271.
- Civera, R., Guillaume, J. C., 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 77, 145-156.
- Cho, C. Y., Kaushik, S. J., 1985. Nutritional energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Rev. Nutr. Diet.*, 61, 132-172.
- Coloso, R., Hipolito, J. R., Murillo, D., 1996. Screening of inexpensive and indigenous ingredients for use in practical feed for juvenile sea bass (*Lates calcarifer* Bloch). Feeds for small-scale aquaculture. Proceedings of the National Seminar-Workshop on Fish Nutrition and Feeds. Tigbauan, Iloilo, Philippines, 1-2 June 1994. pp. 119.
- Contreras-Olguín, M., Rueda-Jasso, R. A., Matus-Nivón, E., Ortiz-Galindo, J. L., Dumas, S., Osorio-Galindo, M., 1997. Crianza de larvas y juveniles de cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*. Abstracts del V Congreso Nacional de Ictiología. Febrero, 1997. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa, Mazatlán, Sin., México.
- Cowey, C. B., 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124, 1-11.
- Cowey, C. B., J.A. Pope, J.W. Adron y A. Blair., 1972. Studies on the nutrition of marine flatfish. The protein requirement of plaice (*Pleuronectes platessa*). *British Journal of Nutrition* 28, 447-456.
- Cui, Y., Liu, J., 1990. Comparison of energy budget among six teleosts –IV. Individual differences in growth and energy budget. *Comparative Biochemistry and Physiology* 97A, 551-554.
- Daniel, W. W., 1997. *Biostatistics*. Wiley, NY, USA, 756p.
- Davis, B. J., 1964. Disc electrophoresis. II: Methods and application to human serum protein. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121, 404-427.
- Davis, T. A., Stickney, R. R., 1978. Growth response of *Tilapia aurea* to dietary protein quality and quantity. *Trans. Am. Fish. Soc.* 107, 479-483.
- Davenport, H. A., 1960. *Histological and Histochemical Technics*. W.B. Saunders Company, New York, U.S.A., 401 pp.
- De la Higuera, M., García-Gallego, M., Sanz, A., Hidalgo, M. C., Suárez, M. D., 1989. Utilization of dietary protein by the eel (*Anguilla anguilla*): Optimum dietary protein levels. *Aquaculture* 79, 53-61.
- De March, B. D. E., 1997. Social and genetical determinants of size variation in tanks of Nauyuk, Norwegian, and hybrid Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Aquaculture Research* 28, 305-315.
- Degani, G., Ben-Zvi, Y., Levanon, D., 1989. The effect of different protein level and temperatures on feed utilization, growth and body composition of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1982). *Aquaculture* 76, 293-301.
- Dimes, L. E., Haard, N. F., 1994. Estimation of protein digestibility: I. Development of an in vitro method for estimating protein digestibility in salmonids. *Comp. Biochem. Physiol.* 108 A, 349-362.
- El-Sayed, A. F. M., 1998. Total replacement of fish meal with animal protein sources in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), feeds. *Aquacult. Res.*, 29, 275-280.
- Erlanger, B., Kokowsky, N., Cohen, W., 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.*, 95, 271-278.
- Everhart, W. H., Eipper, A.W., Youngs, W.D., 1953. *Principles of fish science*. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, USA, 753 pp.
- Fernandez-Díaz, C., Pascual, E., Yúfera, M., 1994. Feeding and prey size selection of gilthead seabream, *Sparus aurata*, larvae feed on inert and live food. *Mar. Biol.* 118, 323-328 p.
- Foscarini, R., 1988. A review: intensive farming procedure for red sea bream (*Pagrus major*) in Japan. *Aquaculture* 72, 191-246.

- Fowler, L. G., Banks, J. L., 1973. Animal and vegetable substitutes for fish meal in the Abernathy diet. *Progr. Fish-Cult.*, 38, 123-126.
- Fukusho, K., 1991. Red sea bream culture in Japan. In: James P. Mc Vey (Ed.). *Handbook of Mariculture. Volume II. Finfish Aquaculture.* CRC Press. U.S.A. pp. 73-87.
- Gatesoupe, F. J., 1983. Weaning of sole, *Solea solea*, before metamorphosis, achieved with high growth and survival rates. *Aquaculture* 32, 401-404.
- García-Carreño, F. L., Dimes, L. E., Haard, N. F., 1993. Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Anal. Biochem.*, 214, 65-69.
- Gennari, L., Roncarati, A., Melotti, P., Loro, F., 1994. Early weaning trials of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using different artificial diets. *Aquaculture* 124:283-291.
- Gibson-Gaylord, T., Gatlin, D. M., 1996. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 139: 303-314.
- Grayeb del Alamo, T., 2001. Efecto de la densidad en el crecimiento de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae) cultivada en jaulas. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 110 pp.
- Grayeb-Del Alamo T., Ortiz –Galindo, J. L., Civera-Cerecedo, R., Dumas, S., 1998. Effect of density on growth and survival during the nursery and ground of spotted sand bass in floating sea cages. In: Ruas-de Moraes, F., Fernández-de Castro, P. (Eds.), *Aquicultura Brasil 98*, Recife, Brasil. 2-6 Nov. 1998
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W., Watanabe, Y., 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Env. Biol. Fish.*, 16, 59-77.
- Guillaume, J. C., 1999. Origen de las características nutricionales de los peces: una revisión. En: Mendoza, R., Cruz Suárez, L.E. y Ricque Marie, D. (Eds). *Avances en Nutrición Acuícola II. Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 7-9 Noviembre 1994. Monterrey, Nuevo León, México. pp. 311-322.
- Hastings, A. P., 1989. Protogynous hermaphroditism in *Paralabrax maculatofasciatus* (Pisces: Serranidae). *Copeia* 1, 184-188.
- Hepher, B., 1993. *Nutrición de peces comerciales en estanques.* Ed. LIMUSA. 406 pp.
- Holt, G. J. 1990. Growth and development of red drum eggs and larvae. In: Chamberlain, G.W., Miget, R.J. and Haby, M.G. (compilers). *Red Drum Aquaculture.* Texas A&M Sea Grant College Program No. TAMU-SG-90-603. Port Aransas, Texas. pp. 46-50.
- Holt, G. J., 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *J. World Aqua. Soc.*, 24, 225-230.
- Irwin, S. 2002a. The development of dominance hierarchies in groups of communally held turbot. <http://www.ucc.ie/ucc/research/adc/posters/poster9.html>
- Irwin, S. 2002b. The effect of stocking density on growth and variation in growth of juvenile turbot. <http://www.ucc.ie/ucc/research/adc/posters/poster10.html>
- Irwin, S., Ní Chara, U., Fitzgerald, R. D., O'Halloran, J., O'Driscoll, E., 2002. The effects of rearing practices on the development of hierarchies within turbot (*Scophthalmus maximus* L.) populations. <http://www.ucc.ie/ucc/research/adc/posters/poster14.html>
- Izquierdo, M. S., 1996. Review article: Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 2, 183-191.
- Jauncey, K., 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). *Aquaculture* 27, 43-54.
- Jorgensen, E. H., Christiansen, J. S., Jobling, M., 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110, 191-204.
- Kanazawa, A., 2000. Nutrition of fish larvae. En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.* Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México. pp. 53-64.
- Kapoor, B. G., Smith, H., Verighina, I. A., 1975. The Alimentary Canal and Digestion in Teleosts. *Advances in Marine Biology* 13, 109-239.
- Kunitz, M., 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *J. Gen. Physiol.*, 30, 291-310.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 5, 227-680.

- Lahti, K., Lower, N., 2000. Effects of size asymmetry on aggression and food acquisition in Arctic charr. *Journal of Fish Biology* 56, 915-922.
- Lazo, J. P., Davis, D. A., Arnold, C. R., 1998. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano *Trachinotus carolinus*. *Aquaculture* 169, 225-232.
- Lluch-Cota, D. B., 1995. Aspectos reproductivos de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus* (Pisces: Serranidae) en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur, México. Tesis maestría, CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 116 p.
- Luquet, P., Watanabe T., 1986. Interaction "nutrition-reproduction" in fish. *Fish Physiol. Biochem.* 2, 121-129.
- Maraux, S., Louvard, D., Baratti, J., 1973. The aminopeptidase from hog-intestinal brush border. *Biochim. Biophys. Acta* 321, 282-295.
- Martínez-Díaz, S. F., 1995. Estudio de una enfermedad hemorrágica ulcerativa en un lote de reproductores de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868): Osteichthyes; Serranidae. Tesis de Maestría en Ciencias. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 94 p.
- Martínez-Díaz, S. F., Martínez-Pecero, R., Rosales-Velázquez, M. O., Alvarado-Castillo, R., Pérez-España, H., Tucker, J. W. Jr., 2001. Voluntary spawning, early development, and completion of the cycle of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* in the laboratory. *J. World Aquaculture Soc.*, 32, 122-129.
- Martínez, T. F., Alarcón, F. J., Díaz-López, M., Moyano, F. J., 2000. Improved detection of amylase activity by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis with copolymerized starch. *Electrophoresis* 21, 2940-2943.
- Matus-Nivón, E., Ramírez-Sevilla, R., Martínez-Pecero, R., Ortiz-Galindo, J. L., 1990. Potencial acuacultural de ocho especies de peces marinos del Pacífico mexicano, con base en su biología temprana, In: G. De la Lanza-Espino y J.L. Arredondo-Figueroa (eds.). *La acuicultura en México: De los conceptos a la producción*. Instituto de Biología. UNAM. México. pp. 67-74.
- Mohanty, S. S., Samantaray, K., 1996. Effect of varying levels of dietary protein on the growth performance and feed conversion efficiency of snakehead *Channa striata* fry. *Aquaculture Nutrition* 2, 89-94.
- Moyano, F. J., Savoie, L., 2001. Comparison of in vitro systems of protein digestion using either mammal or fish proteolytic enzymes. *Comp. Biochem. Physiol.* 128, 359-368.
- Moyano-López, F. J., Martínez-Díaz, I., Díaz-López, M., Alarcón-López, F. J., 1999. Inhibition of digestive proteases by vegetable meals in three fish species; seabream (*Sparus aurata*), tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African sole (*Solea senegalensis*). *Comp. Biochem. Physiol.* 122, 327-332.
- Ogino, C., 1980. Protein requirement of carp and rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46, 385-391.
- Ogino, C., Saito, K., 1970. Protein Nutrition in Fish-I. The utilization of dietary protein by young carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36, 250-254.
- Ogunji, J. O., Wirth, M., 2001. Alternative protein sources as substitutes for fishmeal in the diet of young tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). *Isr. J. Aquacult./Bamidgheh* 53, 34-43.
- Osorio-Galindo, M., 1998. Efecto de la temperatura y la salinidad en parámetros poblacionales de *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson (Crustacea: Copepoda: Calanoidea) en condiciones controladas. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 68 pp.
- Parazo, M. M., 1990. Effect of dietary protein and energy level on growth, protein utilization and carcass composition of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Aquaculture* 84, 41-49.
- Peña-Martínez, R., Dumas, S., 2000. Desarrollo ontogenético del tubo digestivo de larvas de la cabrilla arenera, *P. maculatofasciatus* (Steindachner, 1868) (Teleostei: Serranidae). En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Peña, M. R., Dumas, S., Villaleja-Fuerte, M., Ortiz-Galindo, J. L., 2002. Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture* in press.
- Person-Le Ruyet, J. P., Alexandre, J. C., Thebaud, L., Mugnier, C., 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *J. World Aquacult. Soc.* 24, 211-224.
- Pérez, L., González, H., Jover, M., Fernández-Carmona, J., 1997. Growth of european sea bass fingerlings (*Dicentrarchus labrax*) fed extruded diets containing varying levels of protein, lipid and carbohydrate. *Aquaculture* 156, 183-193.

- Rainuzzo, J. R., Reitan, K. L., Olsen, Y., 1997. The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* 155, 103-115.
- Ramseyer, L. J., Garling, D. L. Jr., 1998. Effects of dietary protein to metabolizable energy ratios and total protein concentrations on the performance of yellow perch *Perca flavescens*. *Aquaculture Nutrition* 4, 217-223.
- Riche, M., Brown, P. B., 1992. Availability of phosphorus from feedstuffs fed to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 142, 269-282.
- Rimmer, M. A., Reed, A. W., Levit, M. S., Lisle, A. T., 1994. Effects of nutritional enhancement of live food organisms on growth and survival of barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), larvae. *Aquaculture and Fisheries Management* 25, 143-156.
- Robaina, L., Moyano, F. J., Izquierdo, M. S., Socorro, J., Vergara, J. M., Montero, D., 1997. Corn gluten and meat and bone meals as protein sources in diets for gilthead seabream *Sparus aurata* : nutritional and histological implications. *Aquaculture* 157, 347-359.
- Robinson, E. H., Robinette, H. R., 1994. Effects of dietary protein level and feeding regimen on growth and fattiness of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *J. Appl. Aquacult.*, 1, 67-89.
- Roby, J. F., Whelan, W. J., 1968. Starch and its Derivates. In: Radley, J. A. (Ed.). Chapman and Hall, London.)
- Roldan-Libenson, G., Molina-Camacho, E., Cáceres-Martínez, C., Civera-Cerecedo, R., 1999. Uso del aceite de langostilla como enriquecedor de rotíferos. Efectos sobre el crecimiento y la sobrevivencia de larvas de cabrilla (*Paralabrax maculatofasciatus*). *Hidrobiológica* 9, 77-82.
- Rosales-Velázquez, M. O., 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S., México. 62 pp.
- SAGARPA-CONAPESCA, 2000. Anuario Estadístico de Pesca. México.
- Sargent, J., Henderson, R. J., Tocher, D. R., 1989. The lipids. In: Halver, J.E. (Ed.) *Fish nutrition*. Academic Press, New York, pp. 153-218.
- SEPESCA, 1994. Atlas Pesquero de México. Secretaría de Pesca, Instituto Nacional de la Pesca. 234 pp.
- SEPESCA-CIBNOR, 1994. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo del robalo. Documento Interno. CIBNOR. México. 66 pp.
- SEPESCA-CIDESON, 1994a. Desarrollo científico y tecnológico para el cultivo del pargo (*Lutjanus sp.*) en jaulas flotantes. Documento Interno. SEPESCA. México. 85 pp.
- SEPESCA-CIDESON, 1994b. Desarrollo de la biotecnología para el cultivo de la totoaba. Documento Interno. SEPESCA. México. 89 pp.
- SEPESCA-IMIT, 1994a. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de corvina. Documento Interno. SEPESCA. México. 72 pp.
- SEPESCA-IMIT, 1994b. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo del jurel. Documento Interno. SEPESCA. México. 62 pp.
- SEPESCA-UABCS, 1994. Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de la cabrilla. Documento Interno. UABCS. México. 93 pp.
- Serrano, J. A., Nematipour, G. R., Gatlin, D. M. III., 1992. Dietary protein requirement of the red drum *Sciaenops ocellatus* and relative use of dietary carbohydrate and lipid. *Aquaculture* 101, 283-291.
- Shiau, S. Y., Lan, C. W., 1996. Optimum dietary protein level and protein to energy ratio for growth of grouper (*Epinephelus malabaricus*). *Aquaculture* 145, 259-266.
- Smith, B.W., Lovell, R. T., 1973. Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society* 4, 831-835.
- Strickland, J. D. H., Parsons, T. R., 1972. A practical handbook of seawater analysis. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa. 309 pp.
- Swann, D. L., Riepe, J. R., Stanley, J. D., Griffin, M. E., Brown, P. B., 1994. Cage culture of hybrids striped bass in India and evaluation of diets containing three levels of dietary protein. *J. World Aquacult. Soc.*, 25, 281-288.
- Tacon, A. G. J., 1993. Feed ingredients for warmwater fish: fish meal and other processed feedstuffs. *FAO Fisheries Circular* 845, 64.
- Tacon, A. G. J., Cowey, C. B., 1985. Protein and amino acid requirements. pp 155-183. In: P. Tytler and P. Calow, (eds.). *Fish energetics: new perspectives*. The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.

- Tacon, A. G. J., Phillips, M. J., Barg, U. C., 1995. Aquaculture feeds and the environment: the Asian experience. *Water Sci. Technol.*, 31, 41–59.
- Tanaka, M., 1973. Studies on the structure and function of the digestive system of teleost larvae. Ph. D. Thesis. Kyoto University, Japan, 136 pp.
- Tandler, A., 1993. Marine aquaculture in Israel with special emphasis on larval rearing. *Journal of the World Aquaculture Society* 24, 241-245.
- Teng, S. K., Chua, T. E., Lim, P. E., 1978. Preliminary observation on dietary protein requirement of estuary grouper *Epinephelus salmoides* (Maxwell) cultured in floating net cages. *Aquaculture* 15, 257–271.
- Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, J. F., Vázquez-Juárez, R., Lésel, R., 2002. Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass larvae. *Aquaculture* 204, 113-123.
- Tucker, J. W., 1998. *Marine fish culture*, Kluwer Academic Publishing, Norwell, MA, USA, 750 pp.
- Tuene, S., Nortvedt, R., 1995. Feed intake, growth and feed conversion efficiency of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.). *Aquaculture Nutrition* 1, 27-35.
- Verreth, J., Van Tongeren, M., 1989. Weaning time in *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. *Aquaculture* 83, 81-88.
- Walter, H. E., 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V, Edited by H.J. Bergmeyer. Verlag Chemie. Weinham. pp. 270-277.
- Wang, N., Hayward, R. S., Noltie, D. B., 2000. Effects of social interactions on growth of juvenile hybrid Sunfish held at two densities. *North American Journal of Aquaculture* 62, 161-167.
- Watanabe, Y., 1982. Intracellular digestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells of teleost larvae and juveniles. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48, 37-42.
- Watanabe, T., 1990. Nutrition and growth. In: C. J. Shepherd y N. R. Bromage (Ed.). *Intensive Fish Farming*. BSP Professional Books. Great Britain. pp. 154-197.
- Watanabe, T., 1988. *Fish nutrition and mariculture*. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries, Japan.
- Watanabe, T., Koizumi, T., Suzuki, H., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T., Tsukashima, Y., 1985. Improvement of quality of red sea bream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal or on raw krill shortly before spawning. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 51, 1511-1521.
- Watanabe, T., Kiron, V., 1994. Prospects in larval fish dietetics-A review. *Aquaculture* 124, 223-251.
- Wilson, R. P., 1999. Requerimientos de aminoácidos en peces. En: Mendoza, R., Cruz Suárez, L.E. y Ricque Marie, D.(Eds). *Avances en Nutrición Acuicola II. Memorias del Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*, 7-9 Noviembre 1994. Monterrey, Nuevo León, México pp. 283-299.
- Yousif, O. M., Osman, M. F., Anawhi, A. A., Cherain, T., 1996. Optimum protein to energy ratio for two size groups of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). *Aquacult. Nutr.*, 2, 229–233.
- Zambonino-Infante, J. L., Cahu, C. L., Peres, A., Quazugel, P., Le Gall, M. M., 1996. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed Artemia rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. *Aquaculture* 139, 129-138.
- Zar, J. H., 1996. *Biochemical Analysis*. 3rd ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA, 718p.