



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

INFLUENCIA DEL ALIMENTO VIVO SOBRE EL
CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DURANTE EL
DESARROLLO TEMPRANO DEL HUACHINANGO
DEL PACÍFICO (*Lutjanus peru*) Y DEL PARGO
AMARILLO (*Lutjanus argentiventris*).

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales

Presenta

LUZ MARÍA DEL PILAR RIVAS GARCÍA

(Orientación Acuicultura)

La Paz, Baja California Sur, Agosto de 2014

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 8:30 horas del día 7 del Mes de Julio del 2014, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

“Influencia del alimento vivo sobre el crecimiento y superviviencia durante el desarrollo temprano del huachinango del pácifico (*Lutjanus peru*) y del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*)”.

Presentada por el alumno:

Luz Maria del Pilar Rivas García

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **ACUICULTURA.**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



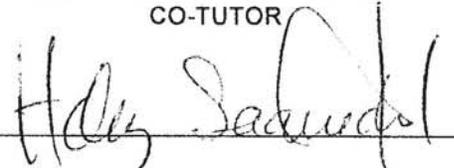
- DRA. MINERVA MALDONADO GARCÍA
DIRECTOR DE TESIS



DR. JUAN CARLOS PÉREZ URBIOLA
CO-TUTOR



DR. DARIEL TOVAR RAMÍREZ
CO-TUTOR



DRA. NORMA YOLANDA HERNÁNDEZ SAAVEDRA

ENCARGADA DEL DESPACHO DE LA DIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO Y FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS

COMITÉ TUTORIAL

Dra. Minerva Concepción Maldonado García
Director de tesis
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Co-Tutor
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

COMITÉ REVISOR

Dra. Minerva Concepción Maldonado García
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

JURADO DE EXAMEN DE GRADO

Dr. Francisco Javier Magallón Barajas
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Dariel Tovar Ramírez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dra. Laurence Stephanie Mercier
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.
(Suplente)

RESUMEN

Influencia del alimento vivo sobre el crecimiento y supervivencia durante el desarrollo temprano del huachinango del pacífico (*Lutjanus peru*) y del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*)

La nutrición de las larvas representa uno de los principales problemas en la producción de peces a gran escala; el objetivo principal de este estudio es analizar la influencia del alimento vivo y enriquecedores ricos en ácidos grasos en la primera alimentación, bajo distintos tratamientos, sobre la supervivencia y crecimiento de la larva. El insipiente desarrollo del tracto digestivo y la limitada maquinaria enzimática obliga a la búsqueda de alternativas alimenticias que garanticen un óptimo desarrollo de los cultivo. En las últimas décadas se ha prestado atención a los alimentos ricos en ácidos grasos altamente poliinsaturados por ser esenciales en la dieta de peces marinos, demostrando mayores tasas de supervivencia a concentraciones adecuadas según la especie. Los resultados de este estudio muestran en ambas especies (*L. peru* y *L. argentiventris*), una supervivencia alrededor del 50% al cuarto día de ser alimentadas con rotíferos enriquecidos en una proporción aproximada de 2:1.5 (DHA:EPA). Aunque el mayor crecimiento se presentó con proporciones mayores de EPA, se obtuvo una baja supervivencia < 12%. En cuanto a los aminoácidos se observa que la proporción entre ellos es constante en los distintos tratamientos, resaltando Lisina como el aminoácido esencial de mayor abundancia e Isoleucina como el de menor concentración. Se concluye que es posible modificar la composición bioquímica, crecimiento y supervivencia de las larvas mediante el alimento vivo, obteniendo resultados favorables dentro de los parámetros de calidad.

Palabras clave: alimento vivo, supervivencia larval, *Lutjanus sp.*

ABSTRACT

Live Food Influence on Growth and Survival during Early Development of the Pacific Red Snapper (*Lutjanus peru*) and Yellow Snapper (*Lutjanus argentiventris*)

Larval nutrition is one of the main problems in the production of large-scale fish; the main objective of this study was to analyze the influence of live food enriched with fatty acids on larval survival and growth on the first feeding under different treatments. The incipient development of the digestive tract and limited enzymatic mechanism require finding food choices to ensure optimal development of the culture. In recent decades, attention has focused on food rich in highly polyunsaturated fatty acids (HUFAS) because they are essential in the diet of marine fish, showing higher survival rates at appropriate levels depending on the species. The results showed increased survival in both species (*L. peru* and *L. argentiventris*) around 50% on the fourth day of being fed rotifers enriched in an approximate ratio of 2:1.5 (DHA:EPA); Although the highest growth was observed with higher EPA proportions, low survival resulted < 12%. As for amino acids, the ratio between them was observed constant in the different treatments, highlighting the essential amino acid lysine as the most abundant and isoleucine as the lowest concentration. We conclude that it is possible to modify the biochemical composition, growth, and survival of larvae by live food, obtaining favorable results within the quality parameters.

Key words: live food, larval survival, *Lutjanus sp.*

DEDICATORIA

A mis padres Luz María y Miguel Ángel

A mi hija Valentina...

fuentes de amor y alegría

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada (261422) durante la realización de la presente tesis. Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste por las facilidades otorgadas durante mi estancia. Así mismo, a la amabilidad y servicio del departamento de Posgrado, conformado por valiosas mujeres: Secretaria Tania Nuñez Valdéz, Lic. Claudia Olachea, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Lic. Leticia González Rubio y a la Dra. Elisa Serviere Zaragoza por su apoyo y facilitar mi estancia en el CIBNOR. A la Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra por la atención y revisión de la presente tesis. Por supuesto a Horacio Sandoval y Manuel Melero por el valioso soporte técnico durante este tiempo. También gracias al valioso apoyo documental, académico y de impresión a María Esther Ojeda Castro, Susana Luna García, Elizabeth G. Sánchez Vázquez y Ana María Talamantes Cota. A la Dra. Minerva C. Maldonado García, por aceptar dirigir esta tesis llena de experiencias. Por su amistad y experiencia. Mi profunda gratitud a los miembros de mi comité tutorial: Dr. Dariel Tovar Ramírez y Dr. Juan Carlos Pérez Urbiola por la paciencia, confianza y apoyo a lo largo de estos años. Gracias a Marcos F. Quiñones Arreola, Francisco Encarnación Ramírez, Jorge León Sandoval Soto y José G. Colado Durán; por el cuidado en la alimentación y salud de los reproductores, reflejándose en desoves saludables, por ser maestros y apoyo en mi desarrollo académico, así como Aldo Joaquín Vargas Mendieta y Gerardo Rafael Hernández García, del departamento de divulgación y diseño, por las fotografías presentadas en esta tesis.

El éxito del diseño experimental en laboratorio fue posible gracias al apoyo de Pablo Monsalvo Spencer, de Gabriel Robles Villegas y de los chicos de verano. Agradezco a la Dra. Carmen Rodríguez por su confianza, conocimiento y apoyo para el análisis de muestras dentro del laboratorio de histoquímica e histología, también a Roberto Hernández Herrera por el apoyo que me brindó en conservar y liofilizar las muestras en el laboratorio de Bioquímica fisiológica y asesoría en el procesamiento de las mismas. A la Dra. Maurilia Rojas Contreras por sus aportaciones y apoyo en el análisis de ácidos grasos en el laboratorio de Nutrición de la UABCS y a Juan Manuel Pacheco Vega de la unidad de Pichilingue; por la aportación de microalga. A René Rebollar por su gran dedicación en la enseñanza de los

métodos de cromatografía de gases y HPLC, siendo pieza importante para el enriquecimiento de este trabajo. Agradezco a Alejandro Ramos por el apoyo en los análisis estadísticos. Gracias a Salvador A. Meza Jiménez y Jesús M. Pérez Lizárraga, por auxiliarme más de una vez con soporte técnico. A Miguel Córdoba y Diego Casas por el valioso apoyo académico y amistad. Agradezco a la Dra. Martha C. Reyes Becerril, por brindarme apoyo técnico y académico, así como su amistad. También gracias a la “Teacher” Diana L. Dorantes Salas por su apoyo en la edición, es un ángel. Por sus atenciones al Dr. Felipe Ascencio y gracias a la Dra. Gracia López que me brindó amistad y apoyo en tiempos difíciles. A Laura M. Cruz Gómez y a Sergio S. González Peláez; les agradezco de corazón por el interés en mi superación y el bienestar de Valentina. Por supuesto a Elizabeth Sánchez “Chabelita” a quien admiro por su fortaleza y tenacidad. A la Dra. Paola Magallón por ser apoyo, amistad e inspiración en este camino que por momentos lo he sentido estrecho y sinuoso. A mis queridas amigas Julieta A. Elorriaga Verplancken y Mari Carmen Cronig Coss por su maravilloso trabajo con los niños y adultos que las rodeamos. Estaré infinitamente agradecida con la vida por tener la fortuna de una familia en expansión, si ya era afortunada con la que he heredado, me enorgullece ser parte de una familia tan maravillosa como lo son la Dra. Rosalía Servín Villegas, el Dr. Francisco Magallón, sus hijos, nietos y demás familiares a quienes estimo profundamente.

Especialmente agradezco al Dr. Francisco Magallón por el respaldo académico. Tiene mi profunda admiración y respeto, por ser un hombre de conocimiento.

A mi familia de sangre, especialmente a mis padres: Miguel Ángel Rivas Sepúlveda y Luz María García Romero; que a pesar de estar lejos se mantienen presentes, gracias por su amor y valioso apoyo. A mi hija Valentina Otero Rivas, por ser constante recordatorio de que vivir no se trata de sólo respirar y que la felicidad es una elección siempre presente; por iluminar el camino con su maravilloso ser y situarme constantemente en el ahora.

Doy gracias por pertenecer a una generación de estudiantes tan versátil y divertida, llena de respeto y amistad. Especialmente a mis compañeros, amigos y hermanos Eliza M. Martínez, Emmanuel J. Vidaña y Marco A. Salazar Bermudes, a quienes admiro y aprecio.

Por último, soy consciente que a lo largo del camino, decenas de seres humanos me tendieron la mano para llegar a esta meta... ¡Gracias universo y fuente de vida!

CONTENIDO

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	xi
I. INTRODUCCION.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Generalidades de las especies	6
2.2. Primera alimentación	9
2.3. Requerimientos Nutricionales.....	10
3. Alimento vivo	13
III. JUSTIFICACIÓN	22
IV. OBJETIVOS.....	23
4.1. Objetivo General.....	23
4.2. Objetivos Particulares	23
V. HIPÓTESIS.....	23
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
6.1. Manejo de reproductores y recolecta de huevos.....	24
6.2. Evaluación y siembra de huevos.....	26
6.3. Condiciones de incubación	27
6.4. Porcentaje de eclosión	28
6.5. Tratamientos experimentales	29
6.6. Cultivo y enriquecimiento del alimento vivo	29
6.7. Cálculo de la abertura bucal.....	31
6.8. Medidas para valorar el crecimiento y absorción de las reservas energéticas (saco vitelino y gota lipídica).....	31
6.9. Supervivencia larval	33
6.10. Análisis bioquímicos de larvas y alimento vivo.....	33
6.11. Análisis estadísticos.....	36
VII. RESULTADOS.....	37
7.1. Condiciones de cultivo larval de L. peru y L. argentiventris.....	37
7.2. Porcentajes de eclosión de L. peru y L. argentiventris	37
7.3. Cálculo de la abertura bucal de L. peru y L. argentiventris.....	38
7.3. Volumen del saco vitelino de L. peru	39
7.4. Volumen del saco vitelino de L. argentiventris	40
7.5. Volumen de gota lipídica de L. peru.....	40
7.5. Volumen de gota lipídica de L. argentiventris.....	41
7.5. Efecto de la alimentación sobre la longitud notocordal (LN) de L. peru y L. argentiventris.	42
7.6. Porcentajes de supervivencia de L. peru y L. argentiventris en los distintos tratamientos experimentales	49

7.8. Composición bioquímica de aminoácidos y ácidos grasos del alimento vivo, de huevos, larvas recién emergidas y larvas alimentadas al séptimo día post eclosión	50
VIII. DISCUSIÓN	60
8.1. Valoración cualitativa de huevos y larvas	60
8.1.1. Alimento vivo (copépodos, rotífero y artemia)	60
8.1.2. Enriquecedores para el alimento vivo (rotífero y artemia)	68
8.1.3. Variables cualitativas en larvas (eclosión, apertura bucal, longitud notocordal, volumen saco vitelino y gota lipídica)	70
8.2. Valoración cuantitativa de huevos y larvas	75
IX. CONCLUSIONES	81
X. LITERATURA CITADA	82

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Especímenes adultos de *L. peru* (izquierda) y *L. argentiventris* (derecha).....8
- Figura 2. Estanques supralitorales de 120 m³ con stocks de reproductores de *L. peru* y *L. argentiventris*. Instalaciones del CIBNOR en la Paz, B.C.S., México.....24
- Figura 3. Colector de huevos, adyacente a cada estanque de reproductores.....25
- Figura 4. Valoración del desove de *L. peru*, en una probeta de 100 ml.....26
- Figura 5. Se observan huevos fertilizados junto con la gota lipídica de *Lutjanus argentiventris* microscopio compuesto objetivo (10x).....27
- Figura 6. Laboratorio de Aclimatación y mantenimiento de organismos acuáticos.....28
- Figura 7. Mediciones biométricas realizadas a las larvas de *L. peru* y *L. argentiventris*....32
- Figura 8. Rampas de temperaturas del horno durante la cromatografía de gases.....35
- Figura 9. Longitud notocordal de las larvas de *L. peru* en los siete tratamientos, cada 24hpe. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos. (P<0.05).....43
- Figura 10. Longitud notocordal de larvas de *L. argentiventris* en los siete tratamientos, cada 24 hpe; las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).....44
- Figura 11. Longitud notocordal de larvas en ayuno hasta la inanición, las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe (P<0.05). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....45
- Figura 12. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 50. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe (P<0.05). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas)..46
- Figura 13. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 20. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe (P<0.05). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas)..46
- Figura 14. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 0. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe (P<0.05). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas)..47
- Figura 15. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe (P<0.05). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas)..47

- Figura 16. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp.). Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....48
- Figura 17. Longitud notocordal de larvas alimentadas con copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp.). Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....48
- Figura 18. Porcentaje de supervivencia de larvas de *L. peru* al 7mo día post eclosión, en los distintos tratamientos experimentales, junto con el respectivo número de huevos eclosionados. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).....49
- Figura 19. Porcentaje de supervivencia de larvas de *L. argentiventris* al 7mo día post eclosión, en los distintos tratamientos experimentales, junto con el respectivo número de huevos eclosionados. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).....50
- Figura 20. Presencia de Valina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....51
- Figura 21. Presencia de Isoleucina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....52
- Figura 22. Presencia de Leucina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....53
- Figura 23. Presencia de Lisina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....54
- Figura 24. Aminoácidos esenciales (Valina, Isoleucina, Leucina y Lisina) en los distintos alimentos vivos utilizados durante el experimento. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre alimento vivo ($P < 0.05$).....55
- Figura 25. Presencia de ácido eicosapentanoico (EPA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en

ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....56

Figura 26. Presencia de ácido docosahexaenoico (DHA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....57

Figura 27. Presencia de ácido araquidónico (ARA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).....58

Figura 28. Ácidos grasos esenciales EPA, DHA y ARA, presentes en los distintos alimentos vivos utilizados durante el experimento. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre alimentos vivos ($P < 0.05$).....59

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Alimento vivo empleado en cultivo larval de especies de <i>Lutjanus sp.</i>	5
Tabla II. Distribución y hábitat de Lutjánidos en el Océano Pacífico	6
Tabla III. Requerimientos lipídicos y de ácidos grasos para larvas de peces marinos (expresados como porcentaje de la dieta en base seca).	20
Tabla IV. Alimentos experimentales para larvas de <i>Lutjanus peru</i> y <i>L. argentiventris</i>	29
Tabla V. Composición de ácidos grasos de emulsiones ICES usadas para enriquecer alimento vivo.	30
Tabla VI. Parámetros fisicoquímicos del agua durante el diseño experimental.	37
Tabla VII. Porcentajes de eclosión de <i>L. peru</i> y <i>L. argentiventris</i> en los distintos tratamientos.....	38
Tabla VIII. Apertura bucal después de 48 hpe de <i>L. peru</i> y <i>L. argentiventris</i>	38
Tabla IX. Volumen de saco vitelino de <i>L. peru</i> cada 24 hpe hasta su completa absorción.	39
Tabla X. Volumen de saco vitelino de <i>L. argentiventris</i> cada 24 hpe hasta su completa absorción.....	40
Tabla XI. Volumen de la gota lipídica de <i>L. peru</i>	41
Tabla XII. Volumen de la gota lipídica de <i>L. argentiventris</i>	42

I. INTRODUCCION

Uno de los puntos críticos en el cultivo larval de peces marinos tropicales de interés comercial, es la primera alimentación; ya que las limitaciones morfológicas y fisiológicas que presentan las larvas conllevan a grandes dificultades en hallar el alimento óptimo que les garantice el sano desarrollo y una mayor supervivencia.

Durante los primeros días de vida la larva de la familia Lutjanidae carece de boca, así que cubre sus requerimientos nutricionales a través de las reservas contenidas en el saco vitelino y gota lipídica (alimentación endógena), destacando aminoácidos y ácidos grasos esenciales. La boca normalmente aparece entre el tercer y cuarto día de vida, esto varía en función de la temperatura y la especie. En el momento de iniciar el cambio de alimentación (alimentación exógena) es importante que las reservas vitelinas no se hayan reabsorbido por completo, así la larva contará con la energía necesaria para alimentarse a partir de presas vivas, lo que aumentará considerablemente la supervivencia larval.

Comúnmente se utilizan el rotífero *Brachionus plicatilis* y el crustáceo *Artemia salina* por su fácil producción masiva y la buena aceptabilidad por parte de las larvas, junto con microalgas de los géneros *Chaetoceros*, *Isochrysis*, etc., por los nutrientes y características que aportan para el sano desarrollo de la larva. Otras especies de presas preferidas son ciertos estadios de algunos copépodos, sin embargo en general son difíciles de cultivar a densidades lo suficientemente altas como para satisfacer las demandas del cultivo intensivo.

Por lo anterior, se ha optado por enriquecer los cultivos masivos de rotífero y *Artemia*, ya que una gran parte de las cepas existentes en el mercado son deficitarias en nutrientes esenciales. La cuestión de mayor interés en la calidad nutricional de las presas empleadas, es la presencia y niveles de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la serie w3 (20:5w3 y 22:6w3) por ser esenciales para el desarrollo y supervivencia larval. Los rotíferos puede mejorarse notablemente añadiendo al medio un sustituto comercial de algas, también es posible sumergir a los rotíferos en una emulsión rica en ácidos grasos poliinsaturados horas

antes de suministrarlos a las larvas, así los rotíferos capturan las gotas lipídicas que se forman y las ingieren, transportándolas. Esta emulsión puede hacerse mediante preparados comerciales o de aceite de hígado de bacalao. También, mejora notablemente el perfil de los rotíferos al introducirlos en cultivos de microalgas ricas en contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

Por lo tanto para superar exitosamente el cambio que implica la primera alimentación es necesario disponer de organismos apropiados, tanto cuantitativa como cualitativamente, que promuevan la adecuada digestión y asimilación por parte de la larva e identificar el momento oportuno de alimentación, ya que el pequeño tamaño de la boca, la carencia de glándulas digestivas, así como el incipiente desarrollo del tracto digestivo y las escasas reservas vitelinas; hacen de esta transición una etapa compleja y de baja supervivencia larval.

Aunque no se cuentan con estudios sobre la primera alimentación de *Lutjanus peru* y *Lutjanus argentiventris*, se cuenta con avances importantes en reproducción (Cruz *et al.*, 1991; Reyna, 1994; Dumas *et al.*, 2004), a demás, existe un estudio preliminar sobre el cultivo larval de *Lutjanus peru*, en el cual se reporta muy baja producción de juveniles (Duncan *et al.*, 2002). Además, se ha reportado que se adapta con facilidad a las condiciones de cultivo en jaulas flotantes y presenta una buena tasa de crecimiento (2.64 g día⁻¹) (Garduño-Dionate *et al.*, 2010).

En el CIBNOR se han realizado estudios de desoves naturales en estanquería supralitoral de *L. argentiventris* (Muhlia-Melo *et al.*, 2003), desoves inducidos con fotoperiodo y temperatura, lográndose el cultivo larvario hasta 30 días de vida con alimento vivo (Martínez-Lagos, 2003). También se han realizado estudios sobre la eficiencia de utilización del saco vitelino y la mortalidad, entre ellos el de Gracia-López *et al.* (2004), Barajas-Vega (2006) y Moreno-Figueroa (2011) quienes investigaron el efecto de la temperatura y salinidad sobre el crecimiento y sobrevivencia larvaria y el efecto de la temperatura en la tasa de eclosión y el desarrollo de *L. peru* y *L. argentiventris*.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar los efectos del alimento vivo sobre el crecimiento, supervivencia y composición de ácidos grasos y aminoácidos esenciales durante el desarrollo temprano de larvas de *L. peru* y *L. argentiventris*. con el fin de controlar mejor los procesos de cría larvaria de peces marinos y principalmente de ambas especies.

II. ANTECEDENTES

En cuanto a la práctica de cultivo de peces marinos, cabe señalar que su desarrollo comercial inició principalmente en países como Japón, Canadá, Francia, España y Noruega, hace ya más de 50 años (Tucker, 1998).

En las últimas décadas, el cultivo de peces marinos de importancia comercial del género *Lutjanus sp.*, ha cobrado un gran interés en consecuencia a la demanda cada vez mayor por tratarse de especies consideradas como productos de calidad, registrándose elevados volúmenes de captura (Allen, 1985; Fischer *et al.*, 1995; Allen y Robertson, 1994; Cruz-Romero *et al.*, 1996; Sargent, 2002; Martínez-Lagos, 2003; Santamaría-Miranda *et al.*, 2005; Herrera-Ulloa *et al.*, 2009; Vásquez-Hurtado *et al.*, 2010). Los lutjanidos son un importante recurso pesquero en el Golfo de California, principalmente a lo largo de la costa suroeste de Baja California Sur, México (Rodríguez *et al.*, 1998).

El cultivo de peces marinos se inició principalmente en países como Japón, Canadá, Francia, España y Noruega, hace ya más de 50 años (Tucker, 1998). En los años 60's se desarrollaron las técnicas para la producción de huevos, larvas y juveniles de *Pagrus major* en Japón (Ikenue y Kafuku, 1992). En México, por su parte el desarrollo de la acuicultura marina inicio en los 80's y en el año 2005 comenzó en Baja California Sur, cuando se realizaron los estudios para la engorda de pámpano *Trachinotus paitiensis* en jaulas flotantes (Avilés-Quevedo, 2005).

En las últimas décadas la evaluación de la pesca de peces marinos de interés comercial, indican que el esfuerzo pesquero recae principalmente durante los meses de puesta natural (Vásquez-Hurtado *et al.*, 2010) y sobre organismos que no han logrado reclutarse a los "stocks" reproductivos, es decir, no han alcanzado la edad para su reproducción; por lo que esta presión de pesca puede llevar al recurso a condiciones críticas (Díaz-Uribe *et al.*, 2004).

La demanda de este tipo de recursos va en aumento, tanto por el incremento de personas por alimentar, como por una mayor consciencia de estas en alimentarse de forma saludable. Por lo tanto, se ha tenido interés por superar los retos que conlleva el cultivar peces marinos, como lo ha sido la alta mortalidad larval observada durante la primera alimentación.

Se han realizado varios estudios al respecto en distintas especies. En Europa desde hace más de 40 años se viene trabajando la larvicultura de peces marinos, en casos como el de la Dorada (*Sparus aurata*) y la Lubina (*Dicentrarchus labrax*) se ha superando escasamente el 15% de supervivencia (Nash y Novotny, 1995).

En el caso de los Pargos (*Lutjanidae*), son pocas las especies del género *Lutjanus sp.* donde se ha logrado el cultivo larval, debido a lo complejo de su cultivo. Las pocas experiencias adelantadas reportan supervivencias que van desde 0% en la mayoría de los casos hasta un 12.5% en casos excepcionales (Ogle y Lotz, 2000) (Tabla I).

Tabla I. Alimento vivo empleado en cultivo larval de especies de *Lutjanus sp.*

Especie	Alimento	Resultados	Autor
<i>Lutjanus campechanus</i>	copepodos <i>Acartia sp.</i> y <i>Pseudodiaptomus sp.</i>	Supervivencia 12.5%.	Ogle y Lotz, 2000
<i>Lutjanus analis</i>	Agua clara, mesocosmos y <i>B. rotundiformis</i> enriquecidos (HUFAS).	Alta mortalidad.	Botero Arango, 2005.
<i>Lutjanus campechanus</i>	copepodos + protozooario (<i>Fabrea</i>)	Supervivencia 1.2%.	Rhodes y Phelps, 2006
<i>Lutjanus peru</i>	copepodos (<i>E. acutifrons</i>), rotíferos (<i>B. rotundiformi</i>)	Mayor eficiencia alimenticia a densidades de 10 y 15 nauplios/ml	Zavala-Leal, 2007
<i>Lutjanus guttatus</i>	Mesocosmos	Mort. 80% a los 3 dpe. A los 171 dpe sup. 1.5%	Boza Abarca <i>et al.</i> , 2008
<i>Lutjanus peru</i>	Nauplios de copépodos Mezcla entre nauplios de copépodos y neonatos de rotíferos	Incidencia alimenticia mayor con nauplios en estadio I-III dens. 10 y 15 nauplios ml ⁻¹ . con 3000 lux a 25° C	Zavala-Leal, 2011
<i>Lutjanus guttatus</i>	Mesocosmos	Sup. 2.82%.	Abdo-de la Parra <i>et al.</i> , 2012

2.1. Generalidades de las especies

El género *Lutjanus* se encuentra dentro de la familia Lutjanidae, la cual cuenta con 17 géneros y 103 especies. Dentro del género *Lutjanus* se encuentran 65 especies, de las cuales, 39 están distribuidas en el Indo Pacífico, 9 en el Pacífico Americano, 12 en el Atlántico Oriental y 5 en el Atlántico Americano (Anderson, 1987).

En México la pesca de pargos se compone de 13 especies; 6 en el litoral del Golfo de México y 7 en el Océano Pacífico (Tabla II), contando con un alto valor comercial debido a la demanda dentro del mercado nacional e internacional (Allen, 1985).

Tabla II. Distribución y hábitat de Lutjánidos en el Océano Pacífico.

Especie	Nombre común	Distribución	Autor
<i>Lutjanus peru</i>	Huachinango del Pacífico	Pacífico del Este desde México hasta Perú (Fig1).	Nichols y Murphy 1922
<i>Lutjanus argentiventris</i>	Pargo amarillo	Pacífico del este: California meridional a Perú, raro al norte de Baja California, en las islas Cocos y en las islas Galápagos (Fig 1).	Peters, 1869
<i>Lutjanus guttatus</i>	Pargo lunarejo	Pacífico del Este desde México hasta Perú.	Steindachner, 1869
<i>Lutjanus colorado</i>	Pargo colorado	Pacífico del este: California meridional, E.U.A. a Panamá; raro al norte de Baja California, México.	Jordan y Gilbert 1882
<i>Lutjanus aratus</i>	Mullet snapper	Pacífico del este: México a Ecuador.	Günther, 1864
<i>Lutjanus jordani</i>	Pargo colmillón	Pacífico del este: México meridional a Perú, incluidas las Islas de Mapelo, Cocos y Galápagos.	Gilbert, 1898
<i>Lutjanus novemfasciatus</i>	Pargo prieto	Pacífico del este: México septentrional a Perú septentrional.	Gill, 1862



Figura 1. Especímenes adultos de *L. peru* (izquierda) y *L. argentiventris* (derecha).

En cuanto al comportamiento de *L. peru* y *L. arengtiventris* (Fig. 1), a pesar de distribuirse en distintas profundidades dependiendo sus hábitos reproductivos y alimenticios, no distan mucho entre sí; se alimentan preferentemente de crustáceos, peces pequeños y en menor medida de moluscos (Santamaría-Miranda *et al.*, 2003; Maeda-Martínez, 1981; Santamaría-Miranda *et al.*, 2005). Se ha observado que ambas especies presentan dos picos reproductivos anuales y que interrumpen la alimentación antes de la puesta. (Áviles-Quevedo *et al.*, 1996).

La alimentación es un factor clave en la reproducción, porque determina la naturaleza de las reservas que se movilarán hacia las gónadas para su reabsorción por vitelogenesis, proceso donde el principal elemento de reserva captado por el ovocito es una proteína de origen hepático conocida como vitelogenina. De esta manera se originan las reservas endógenas: saco de vitelo y el (los) glóbulo(s) de aceite(s), que proveerán al embrión de la energía requerida para su desarrollo y crecimiento a través de glucógeno, aminoácidos libres y triglicéridos (Heming y Buddington, 1988; Fyhn y Govoni, 1995). La composición nutricional de las reservas varía según la especie y condición de la madre (Kamler, 1976).

Al periodo donde el embrión se nutre a través de la absorción de las reservas vitelinas, se le conoce como alimentación endógena; y una vez que se da prácticamente la absorción completa, finaliza el periodo embrionario y comienza la alimentación exógena de la nueva

larva; donde se verá forzada a adquirir del medio los nutrientes y energía que cubran sus necesidades. comenzando la fase larvaria en la que el animal tiene capacidad para ingerir alimento exógeno a pesar de existir restos de vitelo y gran parte de la gota lipídica (en caso de poseerla originalmente). Esta primera ingestión de alimento exógeno supone una de las etapas más críticas en la cría larvaria y ocasiona una mortandad importante. En el cultivo de la mayoría de especies marinas, el alimento administrado a las larvas como primera fuente. De aquí en adelante, se utilizará esta denominación en referencia al estadio embrionario que va de la eclosión del huevo hasta la apertura del esófago.

El éxito en esta etapa depende fuertemente de la calidad de las reservas, se ha logrado optimizar la eficiencia del consumo de estas a través de la dieta de la madre y mediante el control de los parámetros ambientales (Williams *et al.*, 2004).

2.2. Primera alimentación

Una vez que la larva abre la boca debe desarrollar la capacidad de cazar, engullir y digerir el alimento (Balon, 1985) (Tucker, 1998). La presencia de algunos órganos bien desarrollados como la boca y los ojos antes del completo agotamiento de las reservas, es una ventaja para la sobrevivencia y rápido crecimiento de la larva, ya que se alimenta por primera vez de organismos vivos (zooplancton y fitoplancton) (Fukuhara, 1990; Barajas-Vega, 2006). A partir de este momento, si no existiera alimento externo, la larva se mantendrá hasta alcanzar el punto sin retorno, momento a partir del cual la larva no es capaz de alimentarse aunque disponga de alimento adecuado. Este periodo puede variar según las condiciones ambientales; si la especie se desarrolla en su temperatura óptima, se prolongará el tiempo de estas reservas, lo que representa un aumento de supervivencia (Williams *et al.*, 2004) por una mayor probabilidad de comer y sobrevivir (Barajas-Vega, 2006) debido a que una vez que el saco de vitelo es absorbido puede observarse un pequeño remanente de la gota lipídica (Williams *et al.*, 2004; Suzuki y Hioki, 1979), esto ayuda a cubrir los gastos energéticos en la transición de la alimentación endógena a exógena (Zavala, 2011). Los componentes

principales de la gota de aceite son los lípidos neutrales (triglicéridos) que son el principal suministro de energía para los embriones y larvas en desarrollo (Martínez-Lagos, 2003; Guillaume *et al.*, 2004). Civera-Cerecedo *et al.* (2004) reportan que la fase más delicada y crítica en el cultivo se encuentra entre los 40 y 60 días sucesivos a la eclosión, con una mortalidad que a veces rebasa el 90%. La alta mortalidad reportada durante el cultivo larvario se ha relacionado principalmente a la inadecuada nutrición (Sorgeloos *et al.*, 1991), debido a que el tracto digestivo de la larva aún no está completamente desarrollado en el momento en que abre la boca (Govoni *et al.*, 1986).

2.3. Requerimientos Nutricionales

2.3.1. Proteínas y aminoácidos

De los nutrientes contenidos en el huevo, el glucógeno es el carbohidrato principal y se ha relacionado como fuente de energía en estadios embrionarios tempranos (Vetter *et al.*, 1983). Los carbohidratos son los nutrientes utilizados mayormente desde la fertilización hasta la eclosión y se le han atribuido roles nutricionales en el proceso inicial de la segmentación (Moroz y Luzhin, 1976).

La proteína, es el componente más abundante, residiendo en mayor cantidad en el vitelo como aminoácidos libres. El vitelo provee de estos aminoácidos para el crecimiento de tejidos y energía por medio de procesos catabólicos.

De manera cotidiana se ha establecido que la cantidad mínima de proteína dietaria para la alimentación de las larvas es mayor al 50% (Tuckey, 1998). Sin embargo, la cantidad de proteína deberá ser establecida para cada especie.

Una vez que las larvas completan su formación y se transforman a juveniles sus requerimientos en proteína disminuyen. No solamente un alto contenido en proteína debe ser considerado, sino también el perfil de aminoácidos adecuado, ya que el papel que juegan los aminoácidos en la fisiología durante las etapas tempranas de las larvas se da principalmente durante la maduración del ovocito y su subsiguiente caída en el desarrollo

desde embrión hasta la absorción total del vitelo. Se debe tener especial atención a las fuentes de aminoácidos derivadas del alimento vivo para su utilización en relación a su función en el canal alimentario. El “turnover” proteico es provocado por los flujos de aminoácidos entre los grupos de aminoácidos libres y los aminoácidos que forman las proteínas durante el crecimiento de las larvas (Houlihan *et al.*, 1995; Conceição *et al.*, 1997).

En el huevo, los aminoácidos libres más importantes son los neutros, como leucina, valina, isoleucina, alanina y serina. Este amplio grupo de aminoácidos, varían en concentración entre 150-200 mM, generalmente representan cerca del 50% de la osmolaridad del vitelo y en términos de composición relativa, es altamente conservativo en la mayoría de las especies estudiadas (Thorsen *et al.*, 1993; Rønnestad *et al.*, 1996). Empleando técnicas estequiométricas se ha logrado entender que la desaparición de aminoácidos libres provee la energía básica para el metabolismo aeróbico durante las fases tempranas de desarrollo (Fyhn *et al.*, 1993). Además, cuando los aminoácidos libres se han agotado, los aminoácidos polimerizados con proteínas son utilizados para sostener el metabolismo de la larva.

Se ha determinado, que las larvas de peces marinos regulan la absorción de aminoácidos de manera similar a los invertebrados marinos usando el alimento vivo. Cuando se enfrentan a condiciones de hiperósmosis, el contenido intracelular de aminoácidos libres se incrementa vía síntesis o transporte transmembrana. Mientras que en condiciones hiposmóticas, los aminoácidos libres son catabolizados o excretados (Hawkins y Hilbish, 1992). El porcentaje de proteína de los alimentos vivos, rotíferos y *Artemia*, utilizados tradicionalmente para la alimentación de larvas son muy altos (57 y 55.8% respectivamente) (Lie *et al.*, 1997), por lo que se considera que el requerimiento de proteína es cubierto totalmente con el uso de estas presas.

2.3.2. Lípidos y ácidos grasos

Los lípidos son usados principalmente como componentes estructurales en las membranas celulares o para la producción de energía. Los requerimientos energéticos se incrementan después de la eclosión y se mantienen por medio de triglicéridos y ésteres céricos. Aunque todos los ácidos grasos insaturados son importantes para las larvas de peces, es importante tener en cuenta que los requerimientos entre las especies dulceacuícolas y las especies marinas varían. De igual manera se debe tener en cuenta que la relación entre ácidos grasos varía de una especie a otra, y se hace indispensable determinar el valor adecuado para cada especie, ya que un desequilibrio entre estos puede provocar efectos adversos en las larvas alimentadas.

El aporte por parte del alimento de los requerimientos lipídicos son sustanciales ya que estas especies son marinas y no tienen capacidad de elongar y desaturar ácidos grasos de 18 carbonos a ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (HUFAS).

Los lípidos son indispensables en los estadios tempranos de los peces ya que son la fuente principal de energía desde la formación de la gástrula hasta la eclosión del embrión (Vetter *et al.*, 1983). El primer proceso que se ha observado durante la privación de alimento es la pérdida exponencial de las reservas lipídicas en las larvas de peces (Ehrlich, 1974; Tandler *et al.*, 1989). Muchos huevos presentan glóbulos de aceite característicos constituidos principalmente por triacilglicéridos (Nakagawa y Tsuchiya, 1971), por lo que el rol de los lípidos permite mantener muchas de las funciones esenciales en la nutrición larval de los peces (Cowey y Sargent, 1979; Watanabe y Kiron, 1995; Kanazawa, 1985). De esta manera, de todos los lípidos presentes en los organismos, los ácidos grasos son los más importantes al cubrir diversas e importantes funciones corporales, en particular los altamente insaturados (HUFA) como el ácido araquidónico (ARA, 20:4 n-6), el ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) (Sargent *et al.*, 1989).

El DHA es especialmente importante para ojos y otros tejidos, por lo que su concentración debe ser elevada y las proporciones adecuadas de ARA/EPA/DHA deben calcularse

(Mourente y Tocher, 1992, Bell *et al.*, 1996; Tocher *et al.*, 1997). Al parecer el DHA es más importante en larvas que en peces adultos. Larvas en inanición de la *Sparus aurata* retienen relativamente más n-3 HUFA que otros ácidos grasos (en particular DHA).

La deficiencia de n-3 HUFA retrasa el crecimiento, induce altas mortalidades y reduce la resistencia al manejo en larvas (Izquierdo, 1996) así como en juveniles (Montero *et al.*, 1998). Adicionalmente, las deficiencias se han asociado con alteraciones anatómicas como la hipomelanosis en el lado ocular de *Pleuronectes platessa* (Kanazawa, 1993).

3. Alimento vivo

En la acuicultura, el alimento vivo es el grupo de organismos que componen el placton (fitoplacton y zooplacton), el cual constituye la unidad básica de producción del material orgánico en los sistemas acuáticos.

La totalidad de larvas de peces marinos son zooplantófagas y las principales presas, en condiciones naturales, son copépodos y copepoditos, aunque también ingieren rotíferos, ciliados y larvas de moluscos. En general, las larvas buscan su alimento en la columna de agua, ignorando completamente las presas bentónicas o hipobentónicas (Jomori, 2001).

La importancia del placton es mayor durante las fases de larvicultura y alevinaje, independientemente de la estrategia alimenticia del pez durante su vida adulta. Por regla general, después de la absorción del saco vitelino, el inicio de la alimentación exógena de la larva estará constituida de organismos planctónicos (Lavens y Sorgeloos, 1996; Cestaroli y Portella, 1997; Lavens y Sorgeloos, 1998), siendo demostrada la esencialidad de organismos vivos como alimento inicial para post-larvas de peces (Jomori, 2001), ya que prácticamente todas las especies se alimentan de éstos durante su fase postlarval (Logato, 2000; Sipaúba-Tavares y Rocha, 2003). A partir de estudios sobre ontogenia temprana de enzimas digestivas de los peces marinos, se han generado la hipótesis de que los alimentos vivos son

la única fuente de estas enzimas, por lo cual sin estos alimentos las larvas no sobrevivirían (Kolkovski, 2001; Sipaúba-Tavares y Rocha, 2003), estos alimentos mejoran la microflora tanto en el tanque como en el tracto digestivo (Reitan *et al.*, 1994). Además, el alimento vivo en concentraciones adecuadas tiene un bajo efecto sobre la calidad del agua y estimula el comportamiento predatorio de la larva por la movilidad natural de las presas (Portella *et al.*, 2002).

La selección del alimento vivo utilizado en la acuicultura ha sido con base a características como el alto contenido proteico, abundancia, disponibilidad, alta densidad de cultivo, ciclo de vida corto, morfología, comportamiento, movimiento y tamaño aceptable para las etapas tempranas del cultivo (Sipaúba-Tavares y Rocha, 2003). La composición bioquímica del alimento vivo es importante para los peces, ya que contienen la mayoría de los elementos nutritivos que garantizan la sobrevivencia y el óptimo desarrollo de las postlarvas, además de servir como base para la formulación de dietas experimentales para peces. Otras características que justifican su empleo en la larvicultura de peces, son sus bajos efectos sobre la calidad del agua utilizándose en concentraciones adecuadas y el gran estímulo del comportamiento predatorio que despierta en la larva por su movilidad natural. Durante los primeros estadios de vida, algunas larvas son capaces de ingerir directamente las microalgas; esta alimentación natural incrementa el apetito de los organismos y mejora la microflora tanto en el tanque como en el tracto digestivo (Reitan *et al.*, 1994). Los principales factores que se consideran decisivos para la elección de una o varias cepas de microalgas, son el tamaño celular, el grado de valor nutricional, la digestibilidad y que no contengan sustancias tóxicas.

Las microalgas más empleadas para la alimentación de las presas y para el control de la calidad de agua en los sistemas de cultivo son: *Chlorella vulgaris*, *Tetraselmis spp.*, *Isochrysis galvana*, *Monochrysis lutheri*, *Nannochloropsis spp.*, *C. variegata*, *Spirulina sp.*, entre otras, por el gran potencial para formar cultivos de abundante biomasa, el tamaño (2-20 μm), la digestibilidad y el valor nutricional (Muller-Feuga, 2000).

Las presas comúnmente utilizadas son: protozoarios (*Paramecium sp.*), rotíferos (*Brachionus sp.*), crustáceos (*Streptocephalus mackini*, *Daphnia pulex*, *Artemia franciscana*) y nemátodos (*Panagrellus redivivus*), entre otros. Los copépodos calanoideos y algunos harpacoideos (*Trgriopus japonicus*, *Tisbe furcata*, *Acartia sp.* y *Euterpina acutifrons*) son cultivados por el perfil nutricional que aportan a las larvas, sin embargo, su cultivo masivo es complicado lo que ha limitado su uso como alimento vivo (Støttrup y Norsker, 1999; Nanton y Castell, 1998; Schipp *et al.*, 1999).

Por lo anterior, el grupo de interés lo constituyen los rotíferos, por ser fáciles de cultivar (Fukusho, 1980) y por ser muy lentos al nadar, lo que facilita que sean atrapados por las larvas que comienzan a desarrollar sus habilidades depredadoras en la columna de agua (Castell *et al.*, 2003).

Los aspectos nutricionales de los rotíferos han recibido una atención creciente en los últimos 20 años (Rainuzzo *et al.*, 1989; Rodríguez *et al.*, 1998; Lubzens *et al.*, 1997; Lie *et al.*, 1997; Dhert *et al.*, 2001). Otra ventaja de los rotíferos es que son filtradores no selectivos, es decir, gran parte de la materia orgánica en el agua puede servirles de alimento y consumen grandes cantidades de microalgas, levaduras y bacterias, por lo que los acuicultores los usan como si fueran cápsulas naturales para complementar el alimento según las necesidades de las larvas en cultivo, de esta forma se pueden incluir proteínas, vitaminas, probióticos, antibióticos y emulsiones lipídicas, entre otros compuestos (Léger *et al.*, 1986; Coutteau y Sorgeloos, 1997; Dhert *et al.*, 2001; Sorgeloos *et al.*, 1991).

En comparación a los copépodos, que son el principal alimento en la dieta natural de larvas marinas, los rotíferos presentan niveles bajos en ácidos grasos altamente poliinsaturados (HUFA) (Sargent *et al.*, 1999; Bell *et al.*, 1996). Por tal motivo, es necesario que sean enriquecidos por medio de emulsiones lipídicas comerciales para mejorar su calidad (proporcionado el contenido de lípidos y la composición de ácidos grasos adecuados (Srivastava *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2010). Otros estudios han demostrado que el enriquecimiento del alimento vivo influye en las tasas de supervivencia y crecimiento

larval, en la pigmentación y en la resistencia al estrés (Kanazawa, 1997; Rodríguez *et al.*, 1998; Ishizaki *et al.*, 2001; Copeman *et al.*, 2002; Koven *et al.*, 2003). Por lo tanto, para asegurar la supervivencia del cultivo durante la primera alimentación, se debiera seleccionar aquel alimento vivo adecuado que cubra los requerimientos nutricionales mínimos de las larvas. El uso de cladóceros como alternativa alimenticia en la larvicultura de silúridos se han utilizado, algunos estudios muestran un aumento en el crecimiento de larvas alimentadas con *Moina* sp., como es el caso del bagre africano *Clarias gariepinus* y *Heterobranchus bidorsalis* (Balcazar *et al.*, 2006).

La supervivencia de larvas de lenguado (*Psetta máxima*) aumentó de un 14% cuando se utilizaron rotíferos en la forma tradicional, a un 45% cuando se utilizaron copépodos de la especie *Tisbe holothuriae* junto con microalgas y rotíferos (Strøttrup y Norsker, 1997). En Australia se logró producir por primera vez 5000 alevinos del Pargo dorado (*Lutjanus johnii*), utilizando el copépodo *Acartia* sp. en su larvicultura (Schippe *et al.*, 1999).

Figuroa-Lucero *et al.* (2004b) evaluaron el crecimiento, la sobrevivencia y el desarrollo de mandíbulas de larvas de *C. humboldtianum*, reportan mortalidades de 20% en larvas de cuatro semanas de edad alimentadas con rotíferos. García de la Banda *et al.* (1992) enriquecieron rotíferos y metanauplios de *Artemia* con *S. lactus* y *L. bulgaricus* para alimentar larvas de rodaballo (*Scophthalmus maximus*), cuya sobrevivencia fue seis veces mayor que la del grupo control. A pesar de que no registraron diferencias significativas en el crecimiento. Así mismo, se observaron incrementos en la sobrevivencia y la producción del bagre de canal (*Ictalurus punctatus*) al incorporar al medio una mezcla comercial de *Bacillus* spp. (Balcazar *et al.*, 2006).

Hernández-Martínez *et al.* (2009), alimentaron a larvas y juveniles de *Chirostoma estor* con *B. plicatilis* y *A. franciscana* enriquecidos con *Lactobacillus casei* Shirota. Obteniendo beneficios expresados en ganancia de peso, tasa de crecimiento específico, factor de condición y sobrevivencia de los peces alimentados con la dieta enriquecida, mostrando 76.66% de supervivencia, una tasa de crecimiento específico del 2.68% g.día⁻¹, siendo mayor

el factor de condición a partir de los 60 y 90 días. Concluyen que el incremento en la robustez pudo contribuir a la mayor resistencia de los organismos al manejo y reflejarse en mayor sobrevivencia, como ha ocurrido en tilapia sometida a dietas con bacterias ácido lácticas.

Se han programado desoves espontáneos, utilizando en el cultivo larvario la técnica de agua verde, esta técnica consiste en la crianza de larvas utilizando zooplancton silvestre como alimento, el cual se mantiene con microalgas en conjunto con las larvas (Hearn, 1996). En Asia, se ha establecido una metodología exitosa para la reproducción del pargo moteado (*Lutjanus analis*) mediante la técnica agua verde (Watanabe *et al.*, 1998).

Respecto al enriquecimiento del alimento vivo, Izquierdo-Córser *et al.* (1999) menciona que a finales de 1980 y principios de 1990, se prestó más atención al nivel de ácido docosahexaenoico (22:6 n-3, DHA), observándose que en correlación con el EPA se obtiene una buena supervivencia, además de promover la calidad y desarrollo de las larvas. También, en relación con el EPA, se demostró la importancia del DHA en la resistencia al estrés y la pigmentación (Sorgeloos *et al.*, 1991)

Estudios han mostrado que el ácido araquidónico (20:4 n-6, ARA) también puede desempeñar un papel significativo mejorando el desarrollo de las larvas y la pigmentación en varias especies de peces marinos, lo cual promueve la formación de precursores para la producción de eicosanoides (Castell *et al.*, 2003).

Scout y Middlton (1979) reportaron que el crecimiento y supervivencia de las larvas de *Scophthalmus maximus* cultivadas con rotíferos alimentados con *Dunaliella tertiolecta* y agregados en los tanques de las larvas fue muy bajo comparado con aquellas cultivadas con *Phaeodactylum tricornutum*, *Pavlova lutheri* ó *Isochrysis galbana*. Los autores presentaron evidencia de que los rotíferos alimentados con *D. tertiolecta* no cubrieron los requerimientos nutricionales para las larvas debido a la carencia de EPA y DHA. Experimentos con nauplios de *Artemia* indicaron que las larvas del turbot no pueden sintetizar EPA y DHA, ellos sugieren que se usen dinoflagelados (los cuales contienen de 15 a 34% de DHA), ya que se consideran un alimento fácil de digerir, mientras que el uso de microalgas probablemente no

sea adecuado ya que no son fáciles de digerir. Moffat (1981), reportó que las larvas de *Engraulis mordax* obtuvieron beneficios nutricionales al ingerir células de *Chlorella sp.*, posiblemente obteniendo energía extra y elementos traza adicionales. Retain *et al.* (1991 y 1994) reportaron que las larvas de *Paralichthys alivaceus* ingirieron un gran número de células de *Tetraselmis sp.*, aunque la eficiencia de absorción fue insignificante (1-5%).

Algunas larvas de peces marinos requieren EPA y DHA, mientras otras parecen requerir uno u otro. Las larvas de *Scophthalmus maximus* requieren ambos, pero las larvas de *Clupea harengus* y *Pleuronectes platessa* solamente necesitan EPA (Lubzens *et al.*, 1989). Para las larvas de *Solea solea* ambos son esenciales (Dendrinos y Thorpe, 1987; Gatesoupe *et al.*, 1977).

El DHA parece ser más importante que el EPA para algunas especies como *Clupea harengus*, *Gadus morhua*, *Caranx sp.*, *Seriola dumerili*, *Sparus aurata*, *Oplegnathus fasciatus*, *Paralichthys alivaceus*, *Scophthalmus maximus* y *Pseudopleuronectes yokohamae* (Takeuchi *et al.*, 1996; Sargent *et al.*, 1999). Takeuchi *et al.* (1996), encontró que enriqueciendo *Artemia* con 1.6 a 2.2% de DHA (0.9-1.1% EPA en 3.3 a 5% de n-3 HUFA) incrementó la supervivencia y vitalidad de larvas de *Caranax sp.* Furuita *et al.* (1996), reportaron supervivencias similares en larvas del *Seriola dumerili* alimentadas con *Artemia* conteniendo 2.9% n-3 HUFA con concentraciones de 1% de EPA y 1.8% de DHA; así como, 5.2% n-3 HUFA conteniendo 1.6% de EPA y 3.3% de DHA, aunque sugieren que porcentajes mayores mejorarán la vitalidad y el crecimiento.

Izquierdo *et al.* (1996), reportan que para mejorar el crecimiento de larvas de brema roja *P. major* se necesitan 3.3 a 3.5% de n-3 HUFA en los rotíferos. Para las dietas Watanabe y Kiron, (1995) demostraron que es necesario que contengan 6.8% de EPA y 3.6 de DHA en la *Artemia* y que las larvas de *Opleognathus sp.*, requieren más del 3% de n-3 HUFA en los rotíferos. Tamaru *et al.* (1998) sugiere un contenido mínimo de 0.7% de EPA y 0.5% de DHA en los rotíferos para las larvas de lisa *Mugil cephalus*. Los niveles óptimos de n-3

HUFA han sido determinados para muchas larvas de peces marinos entre 0.3 y 39g/kg (dieta formulada o alimento vivo) en base seca (Izquierdo *et al.*, 1996).

La suplementación de ácidos grasos esenciales a través de la comida viva, principalmente rotíferos (Olsen *et al.*, 2004 ; Dhert *et al.*, 2001) y *Artemia* (Watanabe, 1982; Sorgeloos *et al.*, 1991), se ha llevado a cabo en algunas especies como en la lubina *D. labrax*, Flounder *Paralichthys olivaceus*, gato dentón rayado *Pseudocaranx*, dorada *Sparus aurata*, dorada rojo *Pagrus major*, rodaballo *Scophthalmus maximus* (Sargent *et al.*, 1997) y se ha demostrado el requisito de ácidos grasos en varias especies (Tabla III).

Tabla III. Requerimientos lipídicos y de ácidos grasos para larvas de peces marinos (expresados como porcentaje de la dieta en base seca).

Especie/lípidos	Requerimiento	Tipo de dieta	Referencia
<i>Sparus aurata</i>	18%	Micropartícula	Salhi <i>et al.</i> , 1999.
<i>Sparus aurata</i>	29-37%	Artemia	Koven <i>et al.</i> , 1992
<i>Paralichthys olivaceus</i>	25%	Artemia	Furuita, 2000.
<i>Scienops ocellatus</i>	18%	Alimentos vivo	Brinkmeyer y Holt, 1995.
<i>Dicentrarchus labrax</i>	12%, 7% fosfolípidos	Alimento vivo	Geurden <i>et al.</i> , 1997.
<i>Dicentrarchus labrax</i>	30%, 6.6% fosfolípidos	Micropartícula	Zambonino-Infante y Cahu, 1999.
<i>Scophthalmus maximus</i>	10%	Artemia	Sargent <i>et al.</i> , 1999
<i>Rhombosolea tapirina</i>	14.5-17.5 %	Micropartícula	Hart y Puser, 1996.
<i>Gadus morhua</i>	20%	Micropartícula	Baskerville-Bridges y Kling, 2000.
<i>Dicentrarchus labrax</i>	10%, 25% fosfolípidos	Micropartícula	Coutteau <i>et al.</i> , 1996.
<i>Paralichthys olivaceus</i>	1% DHA	Alimento vivo	Watanabe y Kirón, 1994
<i>Seriola quinqueradiata</i>	1% DHA	Alimento vivo	Watanabe y Kirón, 1994
<i>Sparus aurata</i>	2.2-4.4 % DHA/EPA, 1% HUFA	Alimento vivo	Coutteau, 1996.
<i>Dicentrarchus labrax</i>	2.2-4.4 % DHA/EPA 1% HUFA	Alimento vivo	Coutteau, 1996.
<i>Dicentrarchus labrax</i>	4.4 % ARA, 1% HUFA	Alimento vivo	Geurden <i>et al.</i> , 1997.
<i>Sparus aurata</i>	1.4 % DHA/EPA	Micropartícula	Rodríguez <i>et al.</i> , 1998.
<i>Sparus aurata</i>	1.5 % HUFA	Rotíferos enriquecidos	Rodríguez <i>et al.</i> , 1998.

Dicentrarchus labrax 3% EPA/DHA Micropartícula Cahu *et al.*, 1999.

En diferentes estudios, el crecimiento y la supervivencia de organismos marinos, ha sido exitoso cuando se utiliza *Artemia* como alimento con niveles por arriba del 4% de EPA y malo cuando tiene menos del 3% (Léger *et al.*, 1986; Izquierdo *et al.*, 1999).

Hamasaki *et al.* (2002) informaron que los niveles elevados de EPA en el alimento vivo tienen como consecuencia un desarrollo anormal y alta mortalidad de las larvas en metamorfosis. Sin embargo, el contenido de EPA (base seca) también depende del porcentaje total de lípidos, por lo que un enriquecimiento con DHA puede compensar la falta de EPA en la dieta.

En larvas de *S. aurata* el ARA parece ser importante para su supervivencia, pero no es eficiente para promover un incremento en el crecimiento como el DHA o EPA, los niveles óptimos de ARA deben estar entre 0.1 a 1.0% (Salhi *et al.*, 1995).

En *Scophthalmus maximus*, el alto crecimiento obtenido se ha relacionado con los fosfolípidos (PL) de la yema del huevo de gallina, en especial con el contenido de ARA (Castell *et al.*, 2003). Sólo unos pocos estudios han comparado y evaluado los procedimientos de enriquecimiento de rotíferos óptimos en algunas especies, como para el bacalao del Atlántico (Park *et al.*, 2006). Los resultados de estos estudios sugieren que durante la fase de rotíferos, las larvas requieren una dieta con altos niveles de energía, de fosfolípidos (PL), y sobre todo, una alta proporción de DHA / EPA.

III. JUSTIFICACIÓN

Las limitaciones morfológicas y fisiológicas que presentan las larvas de peces marinos en el momento de su primera alimentación traen como consecuencia altas mortalidades debido al desconocimiento de los requerimientos nutricionales, que permitan protocolos y técnicas de alimentación adecuados según la especie (Blaxter y Hunter, 1982; Figueroa-Lucero *et al.*, 2004a; Martínez-Palacios *et al.*, 2006).

Por el perfil de nutrientes, los alimentos vivos hasta el momento son la mejor opción en la primera alimentación, ya que pueden aportar lo necesario para el sano desarrollo de la larva. Sin embargo, se ha demostrado que se debe disponer de organismos apropiados a la especie, tanto cualitativa como cuantitativamente para promover el sano desarrollo y una mayor supervivencia larval. (Tucker, 1998; Alvarez-Lajonchère y Hernández, 2011; Williams *et al.*, 2004).

Una buena nutrición dará las bases para un desarrollo temprano y evitará deficiencias que conlleven a la mortalidad en etapas posteriores. Por lo tanto, se pretende con este estudio contribuir en identificar aquellos alimentos que favorezcan el crecimiento y supervivencia durante la primer alimentación de *L. peru* y *L. argentiventris* con el fin de controlar mejor los procesos de cría larvaria de peces marinos, principalmente de las especies en mención.

IV. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

Evaluar la influencia de distintas composiciones de alimento vivo sobre el crecimiento y supervivencia del huachinango del pacífico (*L. peru*) y del pargo amarillo (*L. argentiventris*) durante su desarrollo temprano, bajo condiciones fisicoquímicas óptimas.

4.2. Objetivos Particulares

1. Valorar el efecto del alimento vivo sobre la eclosión, supervivencia, crecimiento y absorción de las reservas energéticas (saco vitelino y gota lipídica) en los distintos tratamientos.
2. Analizar la influencia de nutrientes esenciales dentro del alimento vivo sobre la composición bioquímica (aminoácidos y ácidos grasos esenciales) de las larvas en los distintos tratamientos de alimentación.

V. HIPÓTESIS

Si se utiliza alimento vivo enriquecido para alimentar larvas de *L. peru* y *L. argentiventris* durante la primera alimentación, entonces aumentará la supervivencia larval bajo condiciones de cultivo.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Manejo de reproductores y recolecta de huevos

Se obtuvieron huevos y larvas a partir de desoves naturales de reproductores confinados en estanques supralitorales de 120 m³ (Fig. 2) bajo condiciones naturales de fotoperiodo y temperatura, con un recambio de agua del 10%.

Con el fin de obtener un alto porcentaje de huevos viables, tres meses antes del periodo reproductivo (Junio a Octubre) fueron alimentados los reproductores de ambas especies a saciedad con alimento fresco (sardina, lisas, macarela, calamar grande, calamar chico y cabeza de camarón).



Figura 2. Estanques supralitorales de 120 m³ con stocks de reproductores de *L. peru* y *L. argentiventris*. Instalaciones del CIBNOR en la Paz, B.C.S., México.

Los desoves se recolectaron a mitad del periodo de puesta, por medio de un colector de huevos que se ubicó adyacente al estanque (Fig. 3) y los huevos fueron depositándose por gravedad. El colector consistió en una malla cónica de 500 micras, sumergida dentro de un rotoplas. Así mismo se llevó a cabo el muestreo del agua del estanque al momento de recolectar el desove, para analizar: concentración de oxígeno, pH, amonio, nitritos, nitratos, alcalinidad, dureza, salinidad y sólidos sedimentables en el laboratorio de “Análisis químico del agua” de la misma institución.



Figura 3. Colector de huevos, adyacente a cada estanque de reproductores.

El trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de “Aclimatación y mantenimiento de organismos acuáticos” y se tomaron las fotografías en el de “Histología e histoquímica”, ambos laboratorios ubicados dentro de las instalaciones del CIBNOR.

6.2. Evaluación y siembra de huevos

Con el propósito de elegir aquellos desoves con un alto porcentaje de viabilidad para el diseño experimental, se evaluó la viabilidad de los huevos, los que flotaban fueron considerados como huevos viables, y los que se fueron al fondo se consideraron huevos inviables (Fig. 4), se valoró el diámetro del huevo y volumen de la gota lipídica (Fig. 5) (Álvarez-Lajonchere, 2006). Debido al método de recolección aplicado se desconoce el total de huevos desovados ya que se recolectaron aquellos huevos que se mantuvieron en la superficie del estanque, así que se eligieron los desoves según el volumen de flotabilidad observado. Utilizándose desoves ocurridos a finales de Julio y principios de Agosto del 2012.



Figura 4. Valoración del desove de *L. peru*, en una probeta de 100 ml.

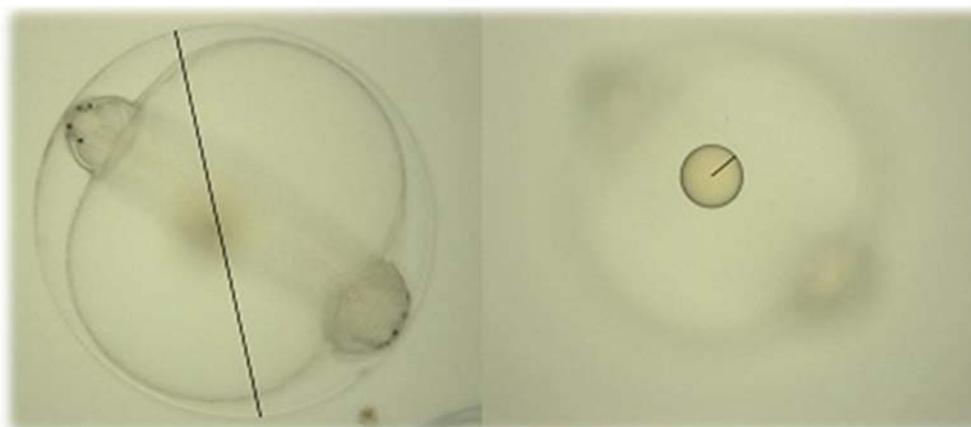


Figura 5. Se observan huevos fertilizados junto con la gota lipídica de *Lutjanus argentiventris* microscopio compuesto objetivo (10x).

Parte del desove se utilizó para medir el diámetro y gota lipídica; tomando un total de 200 y 347 huevos de *L. peru* y *L. argentiventris*, respectivamente. Las mediciones se obtuvieron por medio de un equipo de análisis e imágenes que consta de un microscopio (Olympus Bx-41); a una ampliación de 4x y 10x y de una cámara digital (cool SNAP-Pro color MediaCybernetics ®). Las imágenes fueron procesadas con el programa Image-Pro Plus versión 5.0 (MediaCybernetics ®).

Una vez evaluado el desove, se aclimató la fracción viable a la temperatura de los tanques de siembra (25 °C). En cada tanque de 35 L de agua marina previamente tratada, se sembró 1.5 ml de huevos. Lo que aproximadamente correspondió a una densidad de 3,750 huevos de *L. argentiventris* y 3,600 de *L. peru*.

6.3. Condiciones de incubación

El experimento tuvo una duración de siete días, el agua marina usada en los acuarios fue mantenida bajo un sistema de cultivo estático con aireación suave. Se llevó a cabo en el laboratorio de “Aclimatación y mantenimiento de organismos acuáticos”, climatizado a 25 °C, con un fotoperiodo 12 horas luz. El sistema de filtración del agua marina consistió en pasar el agua através de un filtro de arena, que impidió el paso de partículas mayores a 20

μm , seguido de otros dos filtros de $10\ \mu\text{m}$ y $5\ \mu\text{m}$, posteriormente se irradió el agua filtrada a través de lámparas UV (40 watts c/u) y por último el agua pasó por dos bolsas gaf de $1\ \mu\text{m}$. Después del proceso de filtración y esterilización, los tanques se llenaron a 35 L y se realizó diariamente los recambios de agua para mantener óptimas las condiciones ambientales (Fig. 6).



Figura 6. Laboratorio de Aclimatación y mantenimiento de organismos acuáticos.

6.4. Porcentaje de eclosión

El porcentaje de eclosión larval se obtuvo por sifoneo del fondo de los tanques para recuperar y contabilizar los huevos no eclosionados. Estimando el porcentaje respecto al total de siembra.

6.5. Tratamientos experimentales

Durante cinco días consecutivos después de la apertura bucal, las larvas de huachinango y pargo amarillo, fueron alimentadas con seis distintos alimentos, seis réplicas para cada tratamiento, de las cuales tres se destinaron para calcular la supervivencia larval una vez que la totalidad de larvas en ayuno murieron por inanición.

La primer alimentación consistió en rotíferos (*B. plicatilis*) y nauplios de copépodos (*P. euryhalinus*) no mayores a 100µm, manteniendo una densidad de 15 individuos por ml a partir de las 48 hpe (horas post eclosión). Estos organismos fueron alimentados con microalgas (*Nannochloropsis oculata* y *Navicula sp.*) y tres tratamientos fueron enriquecidos a distintos niveles de HUFA, acompañados de un tratamiento en ayuno (Tabla IV).

Tabla IV. Alimentos experimentales para larvas de *Lutjanus peru* y *L. argentiventris*.

Tratamiento	Presa < 80µm	Alimento
Rot+msp1	<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Navicula sp.</i>
Cop+msp1	<i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i>	<i>Navicula sp.</i>
Rot+Nanno	<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>
Rot+Ice 0	<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i> + Emulsión de AGS (libre de HUFA) (Nghia, 2008).
Rot+Ice 20	<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i> + Emulsión al 20% de n-3 HUFA total (relación de 0,73 DHA/EPA) (Boersma y Stelzer, 2000).
Rot+Ice 50	<i>Brachionus plicatilis</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i> + Emulsión al 50% de n-3 HUFA total (relación de 0,84 DHA/EPA) (Han <i>et al.</i> , 2005).

6.6. Cultivo y enriquecimiento del alimento vivo

El cultivo de zooplancton se llevó a cabo a un lado de los tanques del bioensayo, bajo las mismas condiciones de laboratorio. El cultivo de copépodos se realizó en un tanque de 250 L y fueron alimentados con a una densidad de 1000 células por ml. Los rotíferos se cultivaron en columnas de 250 L y fueron alimentados con *N. oculata* y en otra con *Navicula* sp. a una densidad de 1000 células por ml. *N. oculata* fue proporcionada por el Laboratorio de microalgas marinas del CIBNOR y la *Navicula* sp. por parte de la Unidad Pichilingue de la Universidad Autónoma de Baja california Sur (UABCS).

El diario enriquecimiento del rotífero se llevó a cabo en un volumen de 20 litros, con base a lo descrito por Nghia (2007); considerando el volumen y densidad de rotíferos en este trabajo, se suministró diariamente 0.026 g de cada emulsión (Tabla V). Considerando solamente el volumen a enriquecer, en 20 litros se usaron 4 gramos por día de cada tratamiento.

Tabla V. Composición de ácidos grasos de emulsiones ICES usadas para enriquecer alimento vivo.

ICES*	0	50/0.6
ARA (m g g ⁻¹)	0.00	10.4
EPA (m g g ⁻¹)	0.00	261.4
DHA (m g g ⁻¹)	0.00	163.6
Σ N-3 (m g g ⁻¹)	0.00	499.8
Σ N-6 (m g g ⁻¹)	2.88	59.5
Σ HUFA (m g g ⁻¹)	0.00	524.4
DHA/EPA	–	0.63
ARA/EPA	–	0.04
Σ N-3/ Σ N-6	0.00	8.4
Σ N-3/FAMES (%)	0.00	51.41

*Contenido emulsificado de ácidos grasos

La emulsión ICE 20 esta compuesa por la mezcla de ambas emulsiones de ICE 50 y ICE 0, en proporción de 1:4 respectivamente.

6.7. Cálculo de la abertura bucal

Como parte de la metodología para alimentar a las larvas fue conocer el tamaño de su boca para seleccionar el adecuado tamaño de la presa. La abertura bucal máxima para la primera alimentación, se determinó con la siguiente ecuación:

$$(1) ABM=Lms \times \sqrt{2}$$

Donde, Lms, es longitud maxilar superior, que se multiplica por la constante raíz cuadrada de dos, con el fin de proporcionar el tamaño de alimento adecuado (Atencio *et al.*, 2010).

6.8. Medidas para valorar el crecimiento y absorción de las reservas energéticas (saco vitelino y gota lipídica).

De tres réplicas de cada tratamiento, se tomaron 30 larvas cada 24 horas post-eclosión (hpe) hasta las 168 hpe. En cada muestreo se midió la longitud notocordal (LN), el volumen del saco vitelino (VSV) y de la gota lipídica (VGL) de las larvas (Fig. 7). Las imágenes se procesaron a través de un microscopio (Olympus Bx-41); a una ampliación de 4x y 10x, y de una cámara digital (cool SNAP-Pro color MediaCybernetics ®). Las imágenes fueron procesadas con el programa Image-Pro Plus versión 5.0 (MediaCybernetics ®), por medio de fotografías tomadas con una cámara digital (cool SNAP-Pro color MediaCybernetics ®). Las imágenes fueron procesadas con el programa Image-Pro Plus versión 5.0 (MediaCybernetics ®).

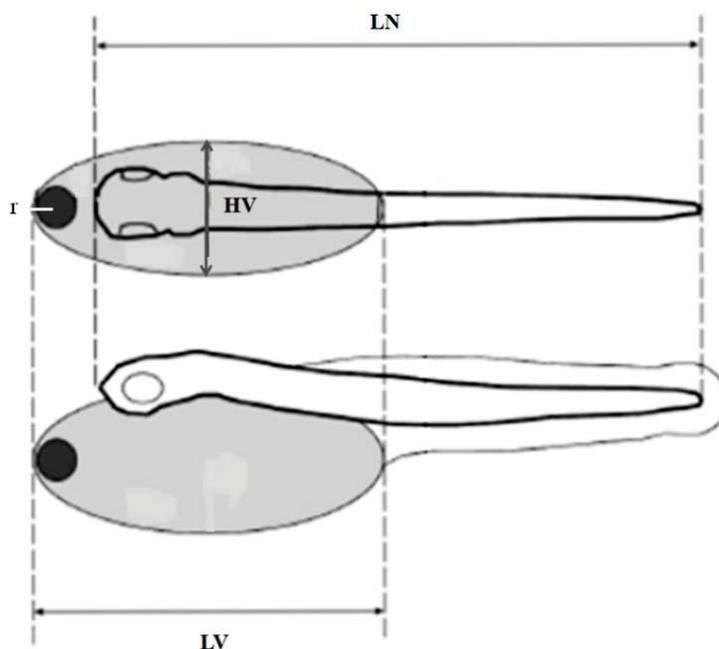


Figura 7. Mediciones biométricas realizadas a las larvas de *L. peru* y *L. argentiventris*

Se calculó la tasa de crecimiento (TC) mediante la siguiente fórmula:

$$(2) \quad TC \text{ (mm/día)} = \frac{Lf - Li}{t}$$

Donde: Lf es la longitud final de las larvas (mm) y Li es la longitud de las larvas al momento de la eclosión (mm).

La fórmula propuesta por Blaxter y Hunter (1982) fue usada para calcular el volumen del saco vitelino (VSV):

$$(3) \quad VSV \text{ (mm}^3\text{)} = \frac{\pi}{6LH^2}$$

Dónde: L es la longitud del saco vitelino (mm) y H es la anchura del saco vitelino (mm).

Para calcular el volumen de la gota lipídica (VGL) se utilizó la fórmula de Williams *et al.* (2004):

$$(4) \quad VGL \text{ (mm}^3\text{)} = \frac{4}{3} \pi r^3$$

Donde: r es el radio de la gota lipídica (mm)

6.9. Supervivencia larval

Tres réplicas por tratamiento se usaron para calcular el porcentaje de supervivencia. Por medio de sifonéo se contabilizó el número de larvas vivas una vez que murió por inanición el tratamiento en ayuno.

6.10. Análisis bioquímicos de larvas y alimento vivo.

Se analizó el perfil de ácidos grasos y aminoácidos de huevos, larvas recién emergidas, larvas a las 144 hpe, y del alimento vivo utilizado.

6.10.1. Lípidos

El contenido en lípidos totales se determinó por medio de la técnica Folch *et al.* (1957), la cual consiste en una mezcla de cloroformo-metanol. Se pesaron aproximadamente 5mg de cada muestra liofilizada, a las cuales se les adicionó 3ml de la mezcla Folch más agua, se agregó BHT (2,6-Di-terbutyl-4-methylphenol) al 1%, para evitar la oxidación. Posteriormente las muestras fueron sonicadas en ciclos de 15 minutos por tres veces, manteniéndolas en un baño de agua con hielo para evitar su descomposición, al finalizar los tubos se incubaron en oscuridad por 24 horas a 5°C.

Posteriormente se volvieron a sonicar en frío durante 15 minutos y se centrifugaron a 1,600 g durante cinco minutos a 5°C para recuperar el extracto en otro tubo. Se agregó a la masa residual 2 ml de CHCl₃:CH₃-O₂H, se centrifugó una vez más bajo las mismas condiciones y se recupero el extracto restante.

Se adicionó 1ml de agua destilada al extracto recuperado, se agitó y centrifugó; para ser separado en dos fases; la fase lipídica se recuperó (CHCl_3 : lípido) en otro tubo y se agregó a la fase acuosa 1ml de CHCl_3 , repitiendo el procedimiento hasta que la mayor parte de la fase lipídica fue recuperada, la cual posteriormente fue secada con nitrógeno gaseoso y se procedió a la cuantificación de lípidos totales por método gravimetría (Marsh y Weinstein, 1966).

6.10.2. Extracción y cuantificación de ácidos grasos

Una vez pesada la muestra para el cálculo de lípidos, a esta se le agregó 2.5ml de la mezcla $\text{HCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ (5%, v/v), a 85°C por 2.5 horas (Sato y Murata, 1988). Se extrajeron los ácidos grasos metil-ésteres (FAME, por sus siglas en inglés) con 1ml de hexano (C_6H_{12}), repitiendo hasta su total extracción. El extracto de hexano que contenía los FAME, se secó con nitrógeno gaseoso y se resuspendió cada muestra a un volumen conocido de hexano.

La determinación del perfil de los FAME se realizó en un cromatógrafo de gases GC HP 5890 series II Agilent Technologies, con detector de ionización de flama (FID), utilizando una columna capilar DB-23 (50% Cianopropil-50% metilpolisiloxano) de 60 m de longitud x $0.25\ \mu\text{m}$ de espesor de película (Supelco OmegamaxTM 250) y 0.25 mm de diámetro interno. Se inyectó $1\ \mu\text{L}$ de la muestra, sin división (splitless). Se usó Helio de alta pureza como gas portador, con flujo de: 9.5 ml/min; Hidrógeno a un flujo de 55ml/min y aire a 230 ml/min de flujo. Dentro de la columna, el flujo de Helio fue de 2.9ml/min. La temperatura del inyector y del detector fue de 250°C y para el caso del horno se muestra en la Figura 8.

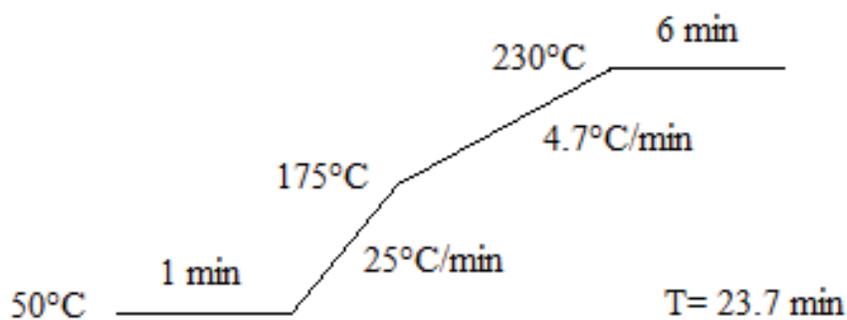


Figura 8. Rampas de temperaturas del horno durante la cromatografía de gases.

Se llevó a cabo la identificación de los FAME comparando los tiempos de retención entre las muestras y una mezcla de 37 estándares de metil esterificados de ácidos grasos (catálogo Supelco 47885-U). Para la curva de calibración, se tomó en cuenta la pureza de cada ácido graso, los cuales fueron de 2, 4 y 6%. Se obtuvo el Factor de Corrección (FC) calculando la pendiente del área vs concentración, para cada uno de los ácidos grasos. Finalmente, se cuantificó la concentración ($\mu\text{g}/\text{mg}$) considerando el área entre el Factor de Corrección por el volumen de resuspensión entre el peso de la muestra.

6.10.3. Aminoácidos

Las muestras fueron liofilizadas, desgrasadas, pesadas y posteriormente hidrolizadas por 24 horas adicionándoles 3 mL de la solución HCl 6N/fenol; cada vial fue sellado con una tapa de aluminio con septa, se engargolaron e incubaron a 110°C. Después del tiempo de incubación se dejaron enfriar, se destaparon y la muestra se transfirió a un matraz redondo de 50 mL lavando el vial tres veces con un 1 mL de agua desionizada y se evaporó con ayuda de un rotaevaporador. Con el fin de eliminar el exceso de ácido clorhídrico se agregó 3 mL de agua desionizada y se realizó una segunda evaporación. La muestra fue recuperada con tres lavados de 1 mL de agua desionizada, filtrada con una membrana de nylon de 0.45 μm y colocada en un vial ámbar; finalmente se guardaron en refrigeración hasta su análisis.

El análisis cromatográfico se llevó a cabo en un HPLC (High-performance liquid chromatographie) modelo 1100 de Agilent technologies, con la metodología descrita por (Gratzfeld-Huesgen, 1999). Se usó como fase móvil A: acetato de sodio trihidratado 1.36 g en 500 ml de agua desionizada adicionada con 90 μ l de Trietilamina más 1.5 ml de Tetrahidrofurano y ajustado a un pH de 7.2 con ácido acético 1-2%. La fase móvil B se preparo con: 1.36 gr de acetato de sodio trihidratado en 100 ml de agua desionizada a un pH 7.2 ajustándolo con ácido acético 1-2%, más 200 ml de acetonitrilo y 200 ml de metanol. La derivatizacion de la muestra se llevó a cabo en línea usando OPA (ortho-phthalaldehyde) para los aminoácidos primarios y para los aminoácidos secundarios FMOC (9-fluorenylmethyl chloroformate) más un buffer de borato 0.4N, pH 10.4. Para evaluar los tiempos de retención y las áreas de los aminoácidos primarios y secundarios, se preparó una curva con cinco niveles de concentración, los cuales fueron de: 10, 25, 100, 250 y 1000 μ mol / μ l.

6.11. Análisis estadísticos

Para los análisis estadísticos se empleó el programa Statistica 8.0 y SPSS Versión 20. Se probó la homogeneidad de las varianzas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov ($P < 0.05$). Los resultados de la eclosión y supervivencia para los distintos tratamientos se expresaron como porcentajes, por lo tanto fueron transformados mediante la raíz cuadrada del arco-seno para poder ser analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza de una vía. Los demás resultados se expresaron como media \pm intervalo de confianza. Los datos del volumen del saco vitelino, gota lipídica y longitud notocordal, fueron comparados por análisis de varianza de una vía (ANOVA) ($P < 0.05$). En caso de los valores de longitud notocordal se aplico una prueba de valores extremos de Moore y McCabe (1999). Por último, se evaluó la significancia de las diferencias observadas entre los tratamientos con la prueba de agrupamiento de Tukey al 95% de confianza.

VII. RESULTADOS

7.1. Condiciones de cultivo larval de *L. peru* y *L. argentiventris*

A lo largo del experimento de 168 horas post eclosión, los parámetros físico-químicos se mantuvieron dentro de los rangos óptimos (Tabla VI).

Tabla VI. Parámetros físicoquímicos del agua durante el diseño experimental.

Parámetros	<i>Lutjanus peru</i>	<i>Lutjanus argentiventris</i>
Temperatura (°C)	25 ± 0.40	25 ± 0.91
Salinidad (ups)	35.1 ± 0.83	34.9 ± 0.80
Oxígeno disuelto (mg L ⁻¹)	5.4 ± 0.29	5.6 ± 0.21
pH	6.16 ± 0.55	6.1 ± 0.35
Fotoperiodo (horas luz)	12	12

7.2. Porcentajes de eclosión de *L. peru* y *L. argentiventris*

Se obtuvo la media del diámetro de los huevos de *Lutjanus peru* fue de 808 ± 1.3 µm y 145.4 ± 0.4 µm de la gota lipídica, de porcentaje de eclosión, 95.76%. El diámetro de los huevos y gota lipídica de *L. argentivenris* fue de 786 ± 1.8 µm y 149 ± 0.6 µm, respectivamente, con un porcentaje de eclosión de 97.02%. Los resultados en ambas especies no mostraron diferencias significativas (P<0.05) entre tratamientos (Tabla VII).

Tabla VII. Porcentajes de eclosión de *L. peru* y *L. argentiventris* en los distintos tratamientos.

Tratamiento	<i>L. peru</i>	<i>L. argentiventris</i>
Inanición	96.4±2.4 ^a	97±1.1 ^a
ICE 50	95.9±1.9 ^a	96.8±1.8 ^a
ICE 20	95.3±1.9 ^a	97.4±0.4 ^a
ICE 0	96.5±1.7 ^a	96.6±1 ^a
Rot + nanno	94.6±3.4 ^a	96.9±1 ^a
Rot + msp1	96.2±1.3 ^a	97.5±0.6 ^a
Cop + msp1	95.4±2.8 ^a	97±0.9 ^a

*Medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas (P<0.05)

7.3. Cálculo de la abertura bucal de *L. peru* y *L. argentiventris*

La apertura bucal de *L. peru* y *L. argentiventris* se observó después de las 48 hpe. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla VIII.

Tabla VIII. Apertura bucal después de 48 hpe de *L. peru* y *L. argentiventris*

<i>Lutjanus peru</i>		<i>L. argentiventris</i>	
ABM (µm)	LN (mm)	ABM (µm)	LN (mm)
237.6 ± 0.43	3. 127± 0.084	216.4 ± 0.28	2.93± 0.993

AMB=Apertura Bucal Máxima
LN= Longitud Notocordal.

7.3. Volumen del saco vitelino de *L. peru*

Los resultados de las medidas del volumen de saco vitelino en larvas de *L. peru* (Tabla IX) muestran diferencias significativas a las 24 hpe, sin embargo a las 48 hpe no se observan diferencias significativas entre tratamientos. A las 48 hpe, se reduce cerca de la mitad del volumen, en comparación de los valores en larvas recién eclosionadas.

Tabla IX. Volumen de saco vitelino de *L. peru* cada 24 hpe hasta su completa absorción.

Tratamiento	0 hpe	24 hpe	48 hpe
Inanición	0.160 ± 0.0009 ^a	0.042 ± 0.0016 ^a	0.0136 ± 0.0007 ^a
ICE 50	0.163 ± 0.001 ^a	0.046 ± 0.0013 ^a	0.0076 ± 0.0008 ^a
ICE 20	0.164 ± 0.001 ^a	0.055 ± 0.0015 ^c	0.0125 ± 0.0010 ^a
ICE 0	0.164 ± 0.0009 ^a	0.044 ± 0.0018 ^a	0.0085 ± 0.0008 ^a
Rot + Nanno	0.163 ± 0.001 ^a	0.045 ± 0.0014 ^a	0.0115 ± 0.0011 ^a
Rot + msp1	0.163 ± 0.0012 ^a	0.052 ± 0.0016 ^{bc}	0.0089 ± 0.0007 ^a
Cop + msp1	0.164 ± 0.0009 ^a	0.047 ± 0.0019 ^{ab}	0.0082 ± 0.0010 ^a

*Medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas (P<0.05)

7.4. Volumen del saco vitelino de *L. argentiventris*

La Tabla X, muestra las medidas de volumen del saco vitelino en larvas de *L. argentiventris*, tomadas cada 24 hpe. No encontrando diferencias significativas entre tratamientos. En comparación a los resultados mostrados a las 0 hpe, a las 48 hpe se observa un decremento de un poco más de dos terceras partes del volumen del saco vitelino.

Tabla X. Volumen de saco vitelino de *L. argentiventris* cada 24 hpe hasta su completa absorción.

Tratamiento	0 hpe	24 hpe	48 hpe
Inanición	0.150 ± 0.002 ^a	0.054 ± 0.002 ^a	6.44E-04 ± 2.86E-05 ^a
ICE 50	0.148 ± 0.001 ^a	0.056 ± 0.001 ^a	5.86E-04 ± 2.81E-05 ^a
ICE 20	0.150 ± 0.001 ^a	0.053 ± 0.001 ^a	6.05E-04 ± 2.14E-05 ^a
ICE 0	0.149 ± 0.002 ^a	0.055 ± 0.001 ^a	6.10E-04 ± 2.37E-05 ^a
Rot + Nanno	0.151 ± 0.002 ^a	0.054 ± 0.001 ^a	5.78E-04 ± 2.38E-05 ^a
Rot + msp1	0.149 ± 0.002 ^a	0.054 ± 0.002 ^a	6.47E-04 ± 2.94E-05 ^a
Cop + msp1	0.154 ± 0.001 ^a	0.055 ± 0.001 ^a	5.93E-04 ± 2.73E-05 ^a

Medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas (P<0.05)

7.5. Volumen de gota lipídica de *L. peru*

En la Tabla XI se muestran las medidas obtenidas del volumen de gota lipídica en larvas de *L. peru* cada 24 hpe en los distintos tratamientos de alimentación. No encontrando diferencias significativas de las 0 a las 48 hpe, no obstante a las a las 72 hpe sólo en cuatro tratamientos (Rot + ICE 50, Rot + ICE 20, Rot + Nanno, Cop + msp1) aún fue posible medir el volumen de gota lipídica. Con mayor valor de volumen en el tratamiento de rotíferos enriquecidos con la emulsión ICE 20, sin embargo estadísticamente no se reporta diferencia significativa entre tratamientos.

Tabla XI. Volumen de la gota lipídica de *L. peru*.

Tratamiento	0 hpe	24 hpe	48 hpe	72 hpe
Inanición	1.56E-03 ± 1.80E-05 ^a	1.28E-03 ± 2.44E-05 ^a	4.49E-04 ± 1.47E-05 ^a	0 ^a
ICE 50	1.53E-03 ± 1.46E-05 ^a	1.32E-03 ± 2.29E-05 ^a	4.58E-04 ± 1.20E-05 ^a	3.94E-06 ± 8.71E-07 ^b
ICE 20	1.54E-03 ± 1.90E-05 ^a	1.34E-03 ± 2.57E-05 ^a	4.53E-04 ± 1.51E-05 ^a	6.70E-06 ± 3.42E-06 ^b
ICE 0	1.50E-03 ± 1.34E-05 ^a	1.27E-03 ± 2.16E-05 ^a	4.78E-04 ± 1.08E-05 ^a	0 ^a
Rot + Nanno	1.53E-03 ± 1.62E-05 ^a	1.36E-03 ± 2.38E-05 ^a	4.44E-04 ± 1.39E-05 ^a	2.31E-06 ± 7.45E-07 ^b
Rot + msp1	1.49E-03 ± 1.57E-05 ^a	1.36E-03 ± 2.43E-05 ^a	4.56E-04 ± 9.62E-05 ^a	0 ^a
Cop + msp1	1.52E-03 ± 1.53E-05 ^a	1.30E-03 ± 2.36E-05 ^a	4.52E-04 ± 1.22E-05 ^a	3.88E-07 ± 1.95E-07 ^b

*Medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas (P<0.05)

7.5. Volumen de gota lipídica de *L. argenteiventris*

En larvas de *L. argenteiventris* (Tabla XII) no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, al igual que en *L. peru*, a las 72 hpe aun fue posible medir la gota lipídica en cuatro tratamientos (Rot + ICE 50, Rot + ICE 20, Rot + Nanno, Cop + msp1). También el tratamiento de rotíferos enriquecidos con emulsión ICE 20 mostró el valor más alto.

Tabla XII. Volumen de la gota lipídica de *L. argentiventris*.

Tratamiento	0 hpe	24 hpe	48 hpe	72 hpe
Inanición	1.51E-03 ± 3.68E-05 ^a	1.41E-03 ± 2.02E-05 ^a	5.93E-04 ± 1.19E-05 ^a	0 ^a
ICE 50	1.48E-03 ± 1.28E-05 ^a	1.50E-03 ± 2.99E-05 ^a	5.83E-04 ± 1.57E-05 ^a	3.32E-05 ± 3.71E-06 ^b
ICE 20	1.58E-03 ± 2.45E-05 ^a	1.37E-03 ± 2.41E-05 ^a	5.31E-04 ± 1.41E-05 ^a	1.54E-04 ± 2.16E-05 ^b
ICE 0	1.53E-03 ± 2.31E-05 ^a	1.47E-03 ± 3.70E-05 ^a	5.85E-04 ± 1.07E-05 ^a	0 ^a
Rot + Nanno	1.53E-03 ± 1.92E-05 ^a	1.49E-03 ± 2.41E-05 ^a	5.71E-04 ± 1.02E-05 ^a	2.42E-05 ± 3.34E-06 ^b
Rot + msp1	1.54E-03 ± 2.72E-05 ^a	1.41E-03 ± 2.76E-05 ^a	6.08E-04 ± 1.27E-05 ^a	0 ^a
Cop + msp1	1.58E-03 ± 1.82E-05 ^a	1.39E-03 ± 2.77E-05 ^a	5.85E-04 ± 1.58E-05 ^a	1.01E-05 ± 2.78E-06 ^b

*Medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas (P<0.05)

7.5. Efecto de la alimentación sobre la longitud notocordal (LN) de *L. peru* y *L. argentiventris*.

En la Figura 9 se muestran los resultados obtenidos de las mediciones de longitud notocordal de larvas de *L. peru* en los 7 tratamientos a partir de las 0 hpe (recién eclosionadas) hasta las 168 post eclosión (hpe), cada 24 horas. En general los tratamientos muestran el mayor incremento de talla a las 48 hpe, a excepción del tratamiento de rotíferos enriquecidos con emulsión ICE 50, donde la mayor talla entre tratamientos y horas post eclosión se observa a las 72 hpe.

Se observan diferencias significativas entre larvas recién eclosionadas, homogeneizándose las tallas a las 24 y 48 hpe. A partir de las 72 hpe las diferencias son evidentes entre tratamientos, presentando larvas alimentadas con Rotíferos enriquecidos con emulsión ICE 50 los valores más altos durante el experimento, seguido por el tratamiento de rotíferos alimentados con msp1. El tratamiento que se mantuvo en ayuno (inanición) no sobrevivió a las 168 hpe.

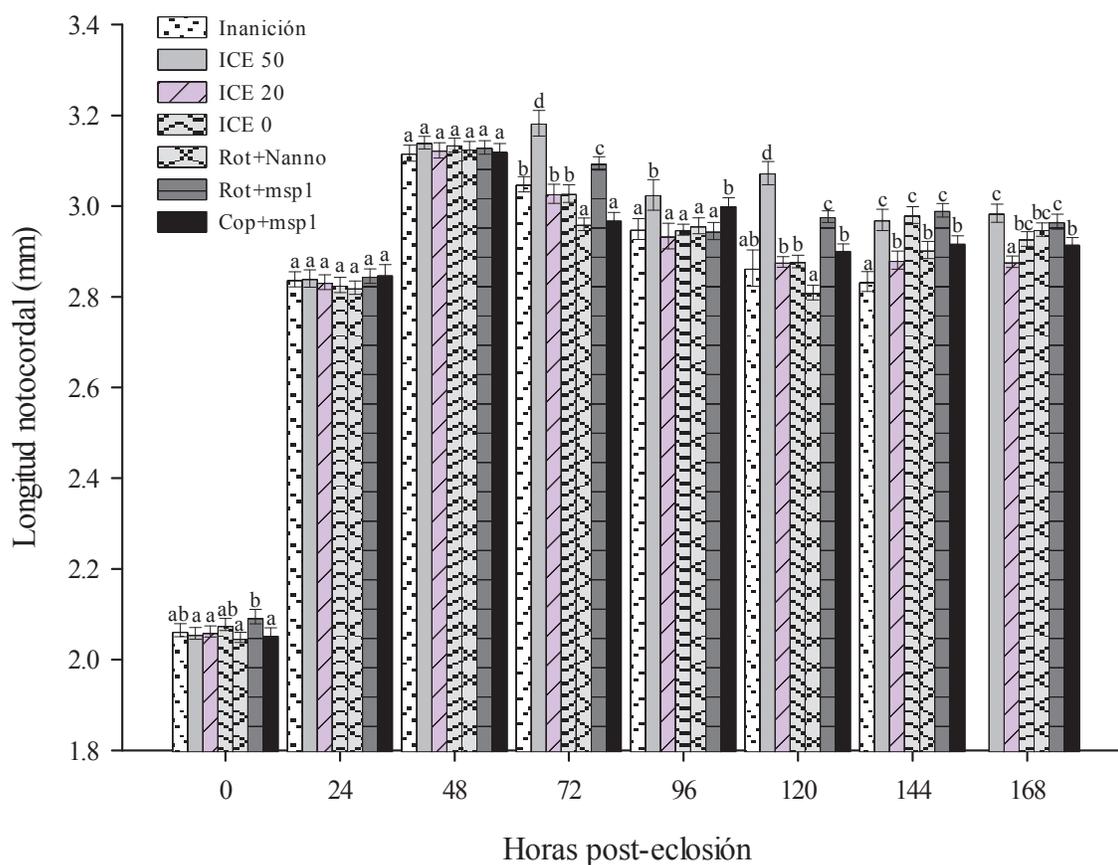


Figura 9. Longitud notocordl de las larvas de *L. peru* en los siete tratamientos, cada 24hpe. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos. ($P < 0.05$).

En el caso de *L. argentiventris* se observan diferencias significativas a partir de las 0 hpe, con tendencia a homogeneizarse a las 24 hpe, sin embargo aún se aprecian diferencias significativas, al igual que alas 48 hpe. El trataiemento de inanición disminuye significativamente a partir de las 72 hpe, no sobreviviendo más de 144 hpe. Las larvas que mostraron mayor talla durante el experimento fueron las alimentadas con rotíferos enriquecidos con ICE 0, rotíferos y copépodos alimentados con msp1 (Fig. 10).

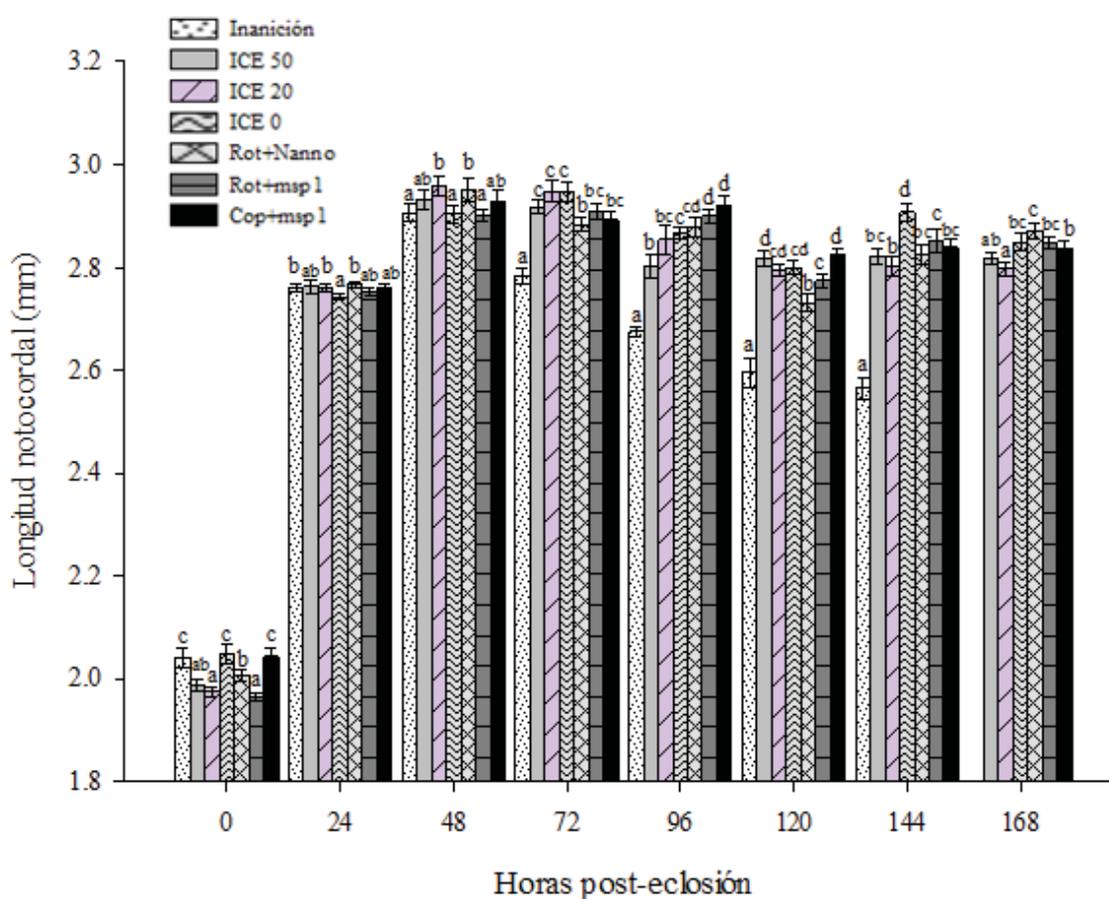


Figura 10. Longitud notocordal de larvas de *L. argentiventris* en los siete tratamientos, cada 24 hpe; las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

A continuación se muestran las gráficas (Figs. 11-17) de los resultados obtenidos por mediciones de longitud notocordal por tratamiento experimental; tomando en cuenta a ambas especies. Cabe resaltar que en todas las gráficas que *L. peru*, sin excepción, se mantiene en tallas mayores que *L. argentiventris*. Los valores máximos se observan a las 48 hpe, a excepción de ICE 50, donde su máximo se expresa a las 120 hpe.

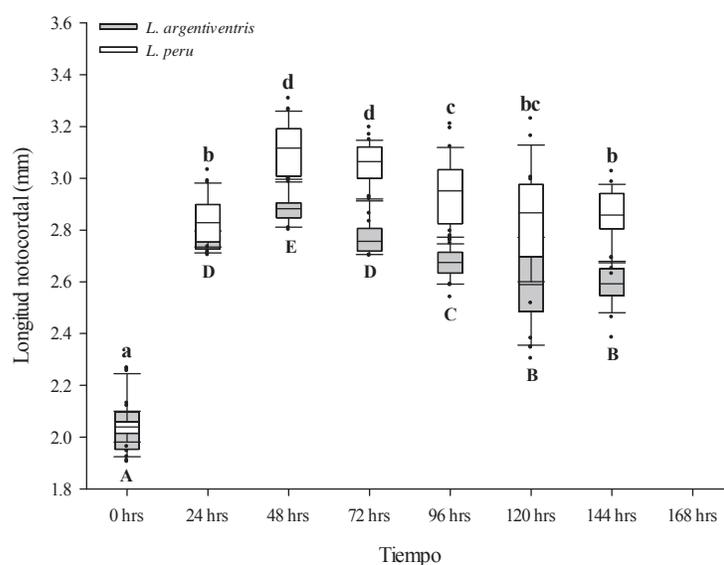


Figura 11. Longitud notocordal de larvas en ayuno hasta la inanición, las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

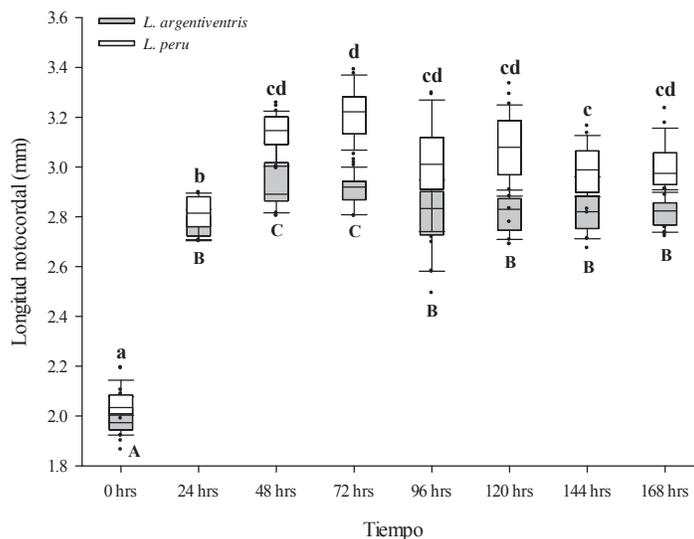


Figura 12. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 50. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argenteiventris* (mayúsculas).

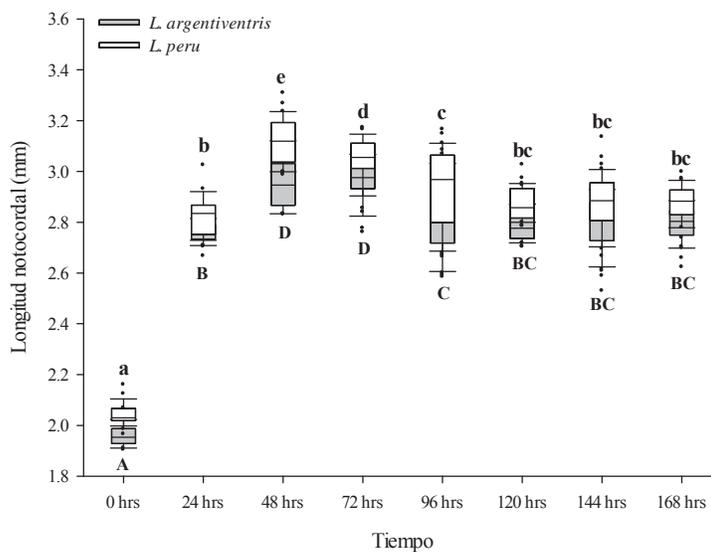


Figura 13. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 20. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argenteiventris* (mayúsculas).

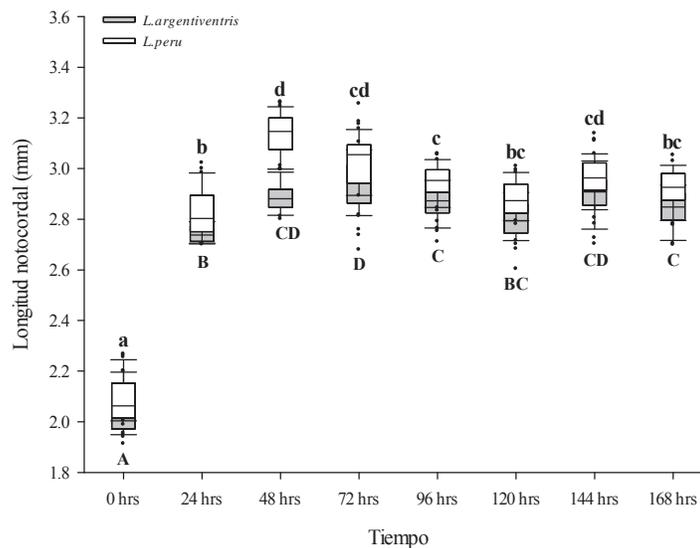


Figura 14. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 0. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argenteiventris* (mayúsculas).

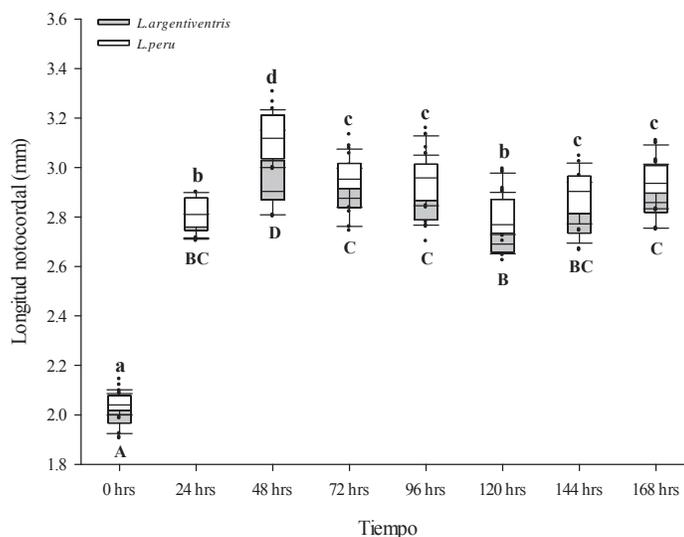


Figura 15. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argenteiventris* (mayúsculas).

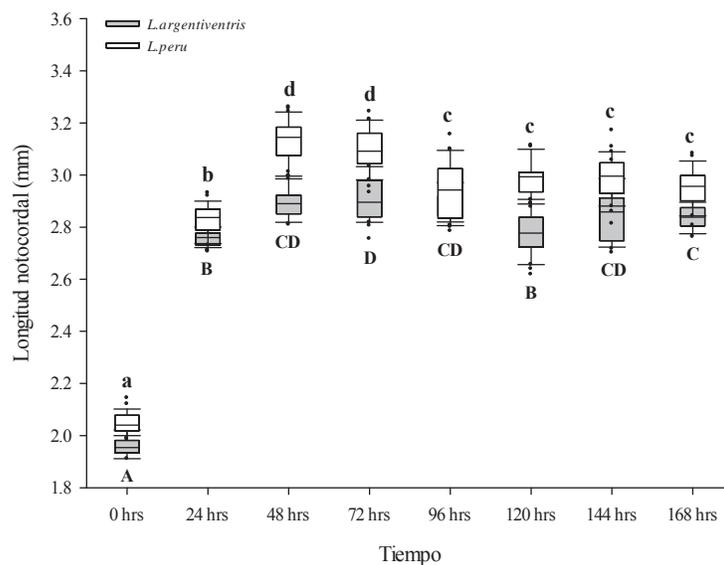


Figura 16. Longitud notocordal de larvas alimentadas con rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp). Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argenteiventris* (mayúsculas).

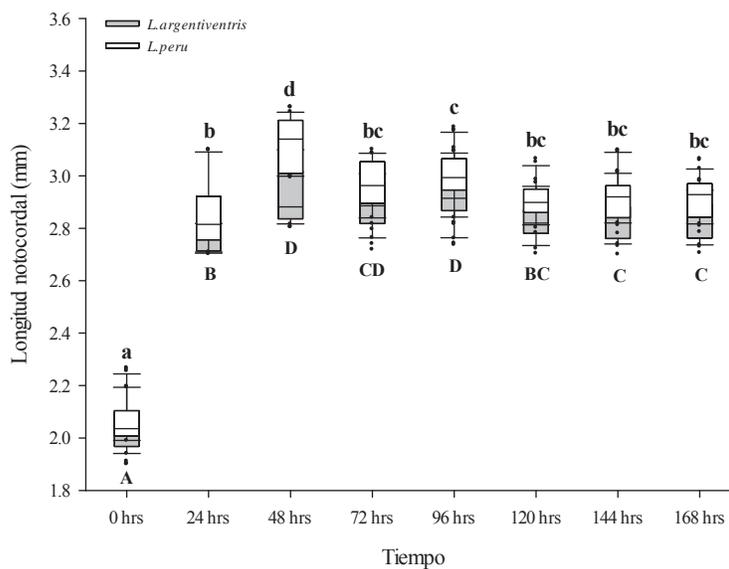


Figura 17. Longitud notocordal de larvas alimentadas con copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp). Las medias seguidas por una letra diferente indican

diferencias significativas entre hpe ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

7.6. Porcentajes de supervivencia de *L. peru* y *L. argentiventris* en los distintos tratamientos experimentales

En ambas especies, los tratamientos de rotíferos enriquecidos al 20% de HUFAS mostraron una supervivencia cerca del 50%. Las menores supervivencias las muestran ICE 50 y 0 con un porcentaje entre 8 y 10%, y porcentajes entre el 20 y 30% con rotíferos (*B. plicatilis*) y Copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp.) y *N. oculata* (Figs. 18 y 19).

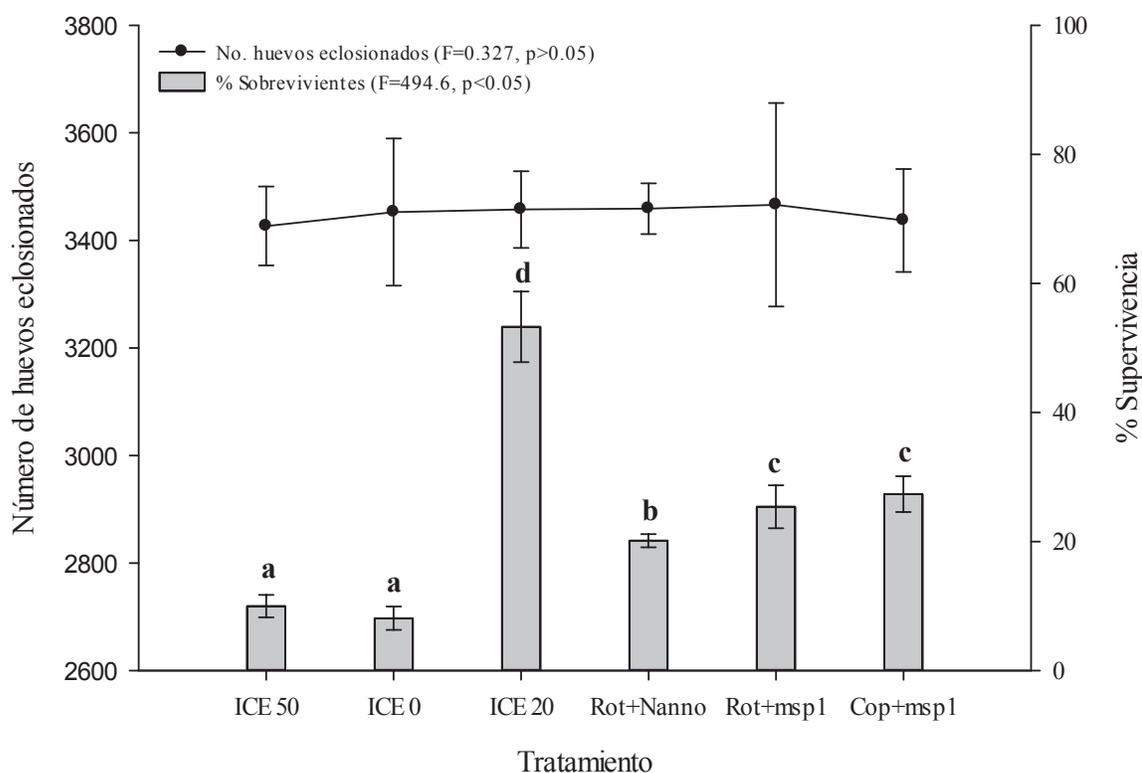


Figura 18. Porcentaje de supervivencia de larvas de *L. peru* al 7mo día post eclosión, en los distintos tratamientos experimentales, junto con el respectivo número de huevos eclosionados. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

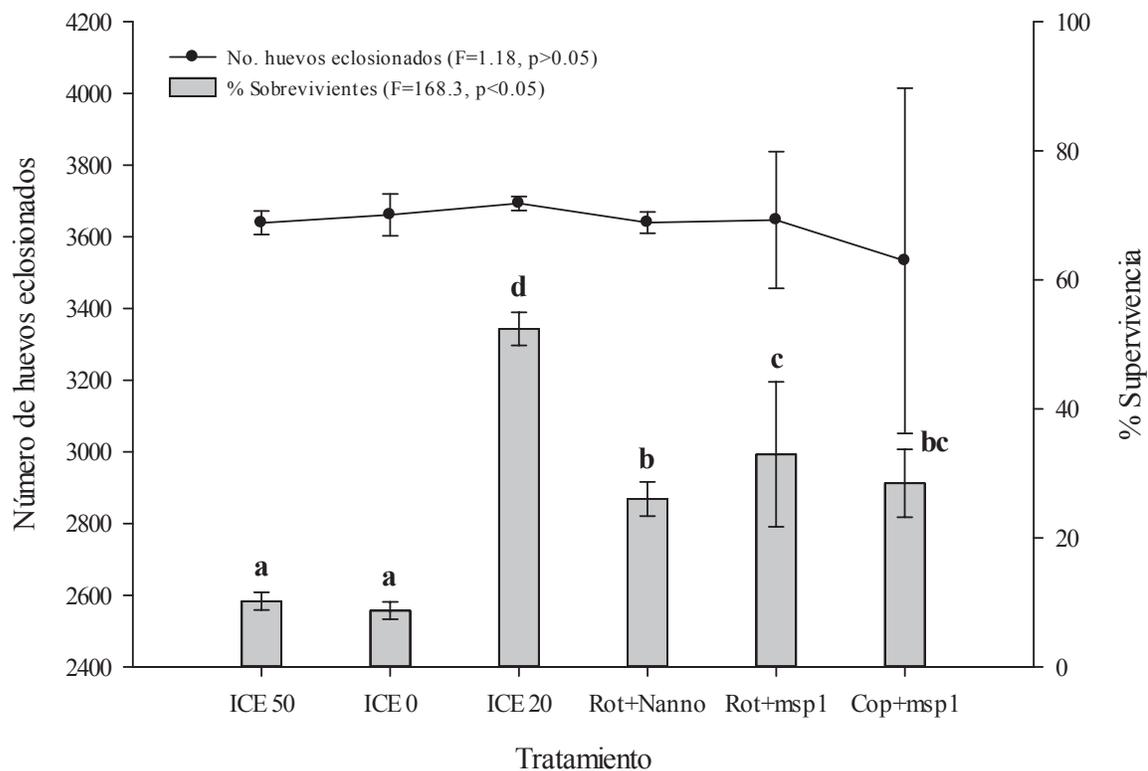


Figura 19. Porcentaje de supervivencia de larvas de *L. argentiventris* al 7mo día post eclosión, en los distintos tratamientos experimentales, junto con el respectivo número de huevos eclosionados. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

7.8. Composición bioquímica de aminoácidos y ácidos grasos del alimento vivo, de huevos, larvas recién emergidas y larvas alimentadas al séptimo día post eclosión

7.8.1. Aminoácidos esenciales

En cuanto a la composición de aminoácidos en las larvas alimentadas con los distintos alimentos vivos, se reportan la Valina, Isoleucina, Leucina y Lisina por ser esenciales y determinantes en el desarrollo temprano de larvas de peces marinos.

Referente a la Valina, se observa en la Fig. 20, que en las larvas de *L. peru* existe una mayor presencia de este aminoácido en los tratamientos de rotíferos (*B. plicatilis*) y copéodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula* sp), seguidos por el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En caso de *L. argentiventris* no se observa diferencia significativa entre tratamientos.

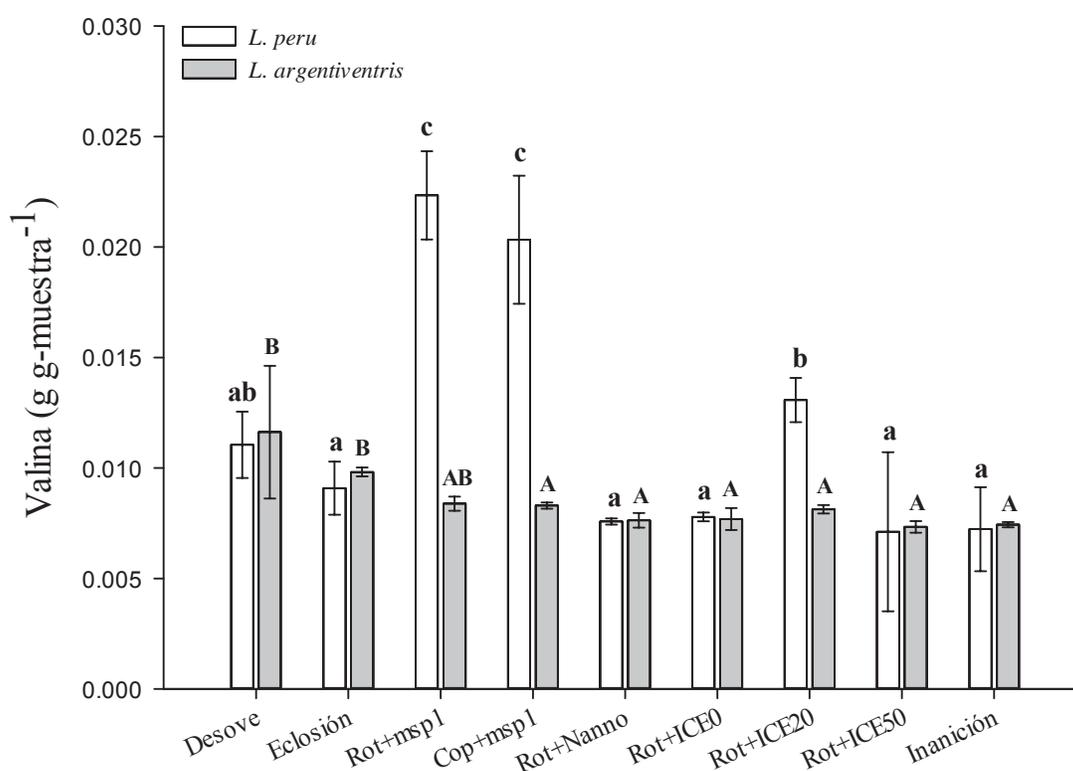


Figura 20. Presencia de Valina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

Se observa que en las larvas de *L. peru* existe una mayor presencia de Isoleucina (Fig. 21) en los tratamientos de rotíferos (*B. plicatilis*) y copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula sp.*), seguidos por el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En caso de *L. argentiventris* no se observa diferencia significativa entre tratamientos.

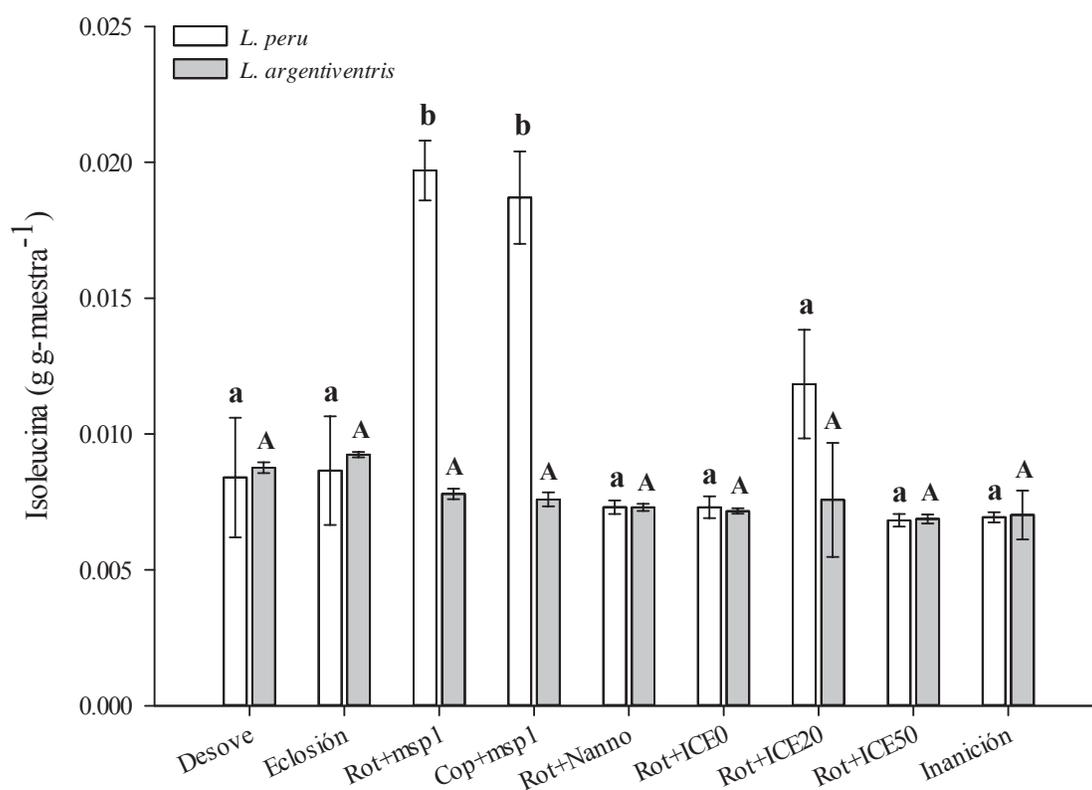


Figura 21. Presencia de Isoleucina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

En la Figura 22, también se observa en los tratamientos de rotíferos (*B. plicatilis*) y copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula sp.*), una mayor presencia de Leucina en las larvas de *L. peru*, seguidos por el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En caso de *L. argentiventris* no se observa diferencia significativa entre tratamientos.

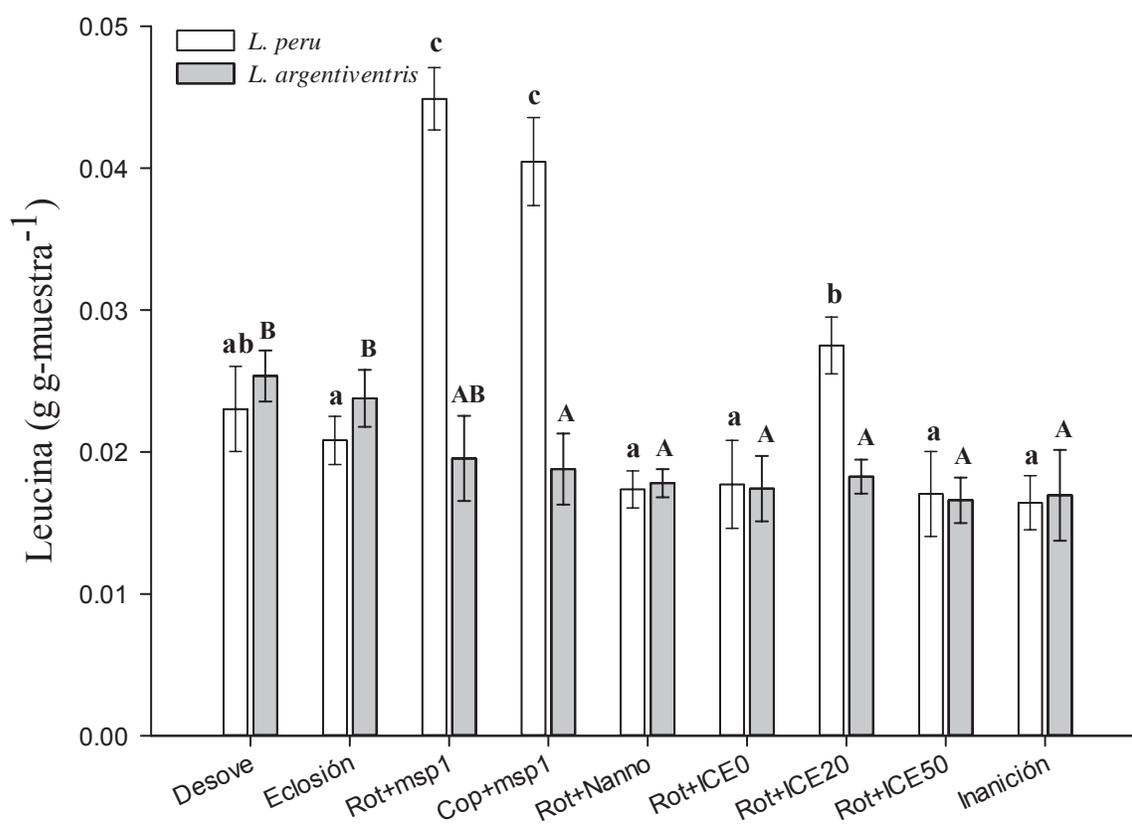


Figura 22. Presencia de Leucina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

En la Figura 23, en las larvas de *L. peru* se observa una mayor presencia de Lisina en los tratamientos de rotíferos (*B. plicatilis*) y copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con msp1 (*Navicula sp.*), seguidos por el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En caso de

L. argentiventris se observa una mayor concentración de Lisina en el tratamiento de rotíferos alimentados con *Navicula sp.*

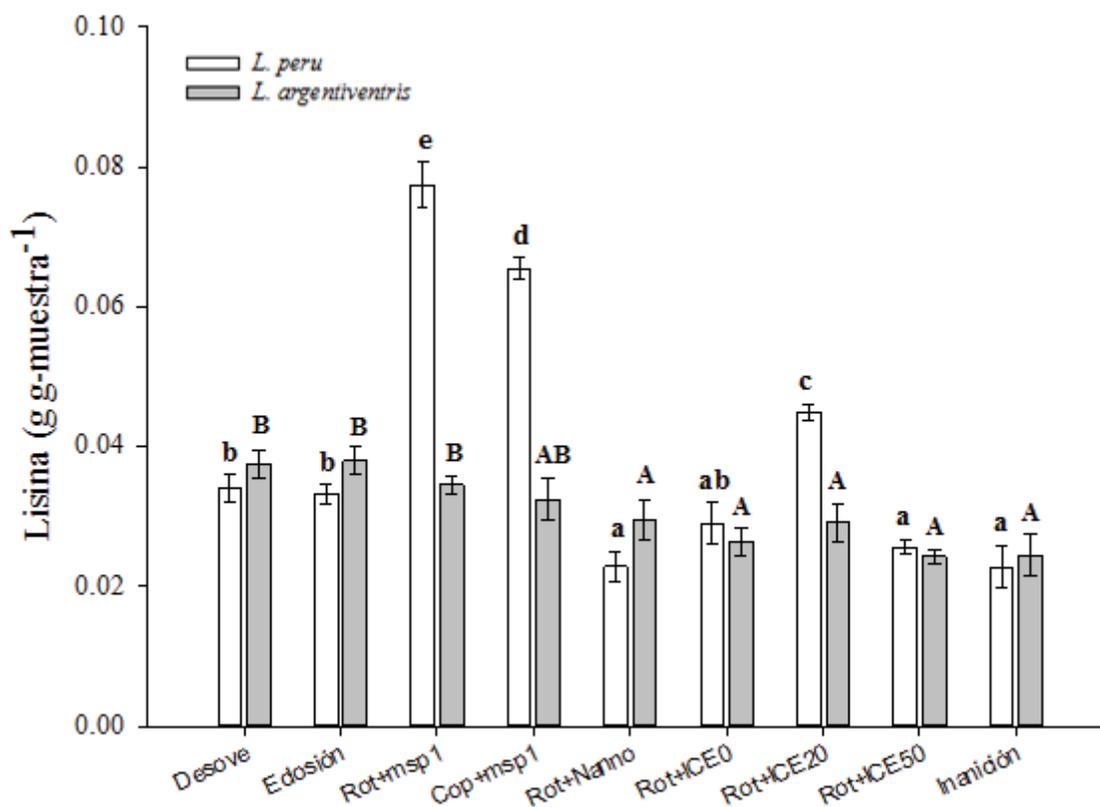


Figura 23. Presencia de Lisina en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

En relación al contenido de estos cuatro aminoácidos esenciales presentes en el alimento vivo utilizado para los distintos tratamientos; en la Figura 24 se puede observar que de estos aminoácidos, la Lisina es el aminoácido más abundante en los seis tipos de alimento, seguido por la Leucina y en menor y similar proporción la Valina e Isoleucina. Resaltando una mayor cantidad de Lisina en los Rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con ICE 0 y en los que fueron

alimentados solamente con *N. oculata*. El tratamiento con mayor concentración de Valina fue el de Rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *Navicula sp.*

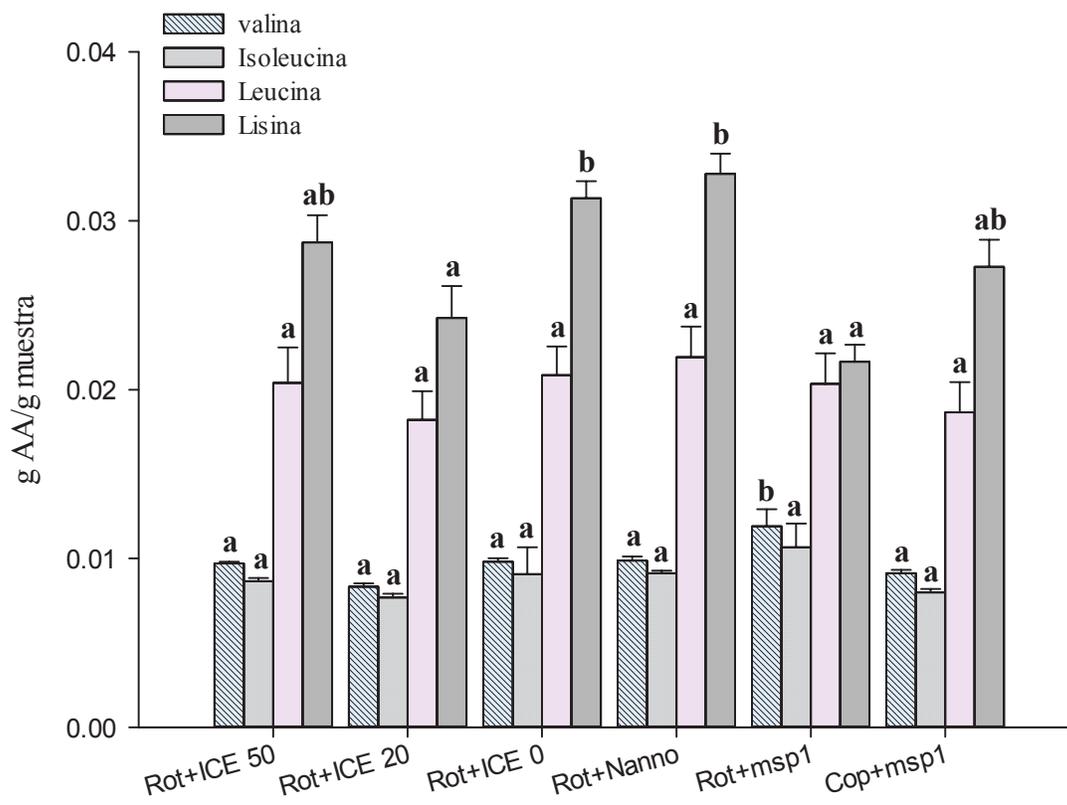


Figura 24. Aminoácidos esenciales (Valina, Isoleucina, Leucina y Lisina) en los distintos alimentos vivos utilizados durante el experimento. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre alimento vivo ($P < 0.05$).

7.8.2. Ácidos grasos esenciales

En caso del ácido eicosapentanoico (20:5 n-3, EPA) en larvas de *L. peru*, el mayor nivel se observa en el tratamiento de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*, seguido por el de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En larvas de *L. argentiventris* los mayores niveles se observan en rotíferos enriquecidos con ICE 0 y ICE 20 (Fig. 25).

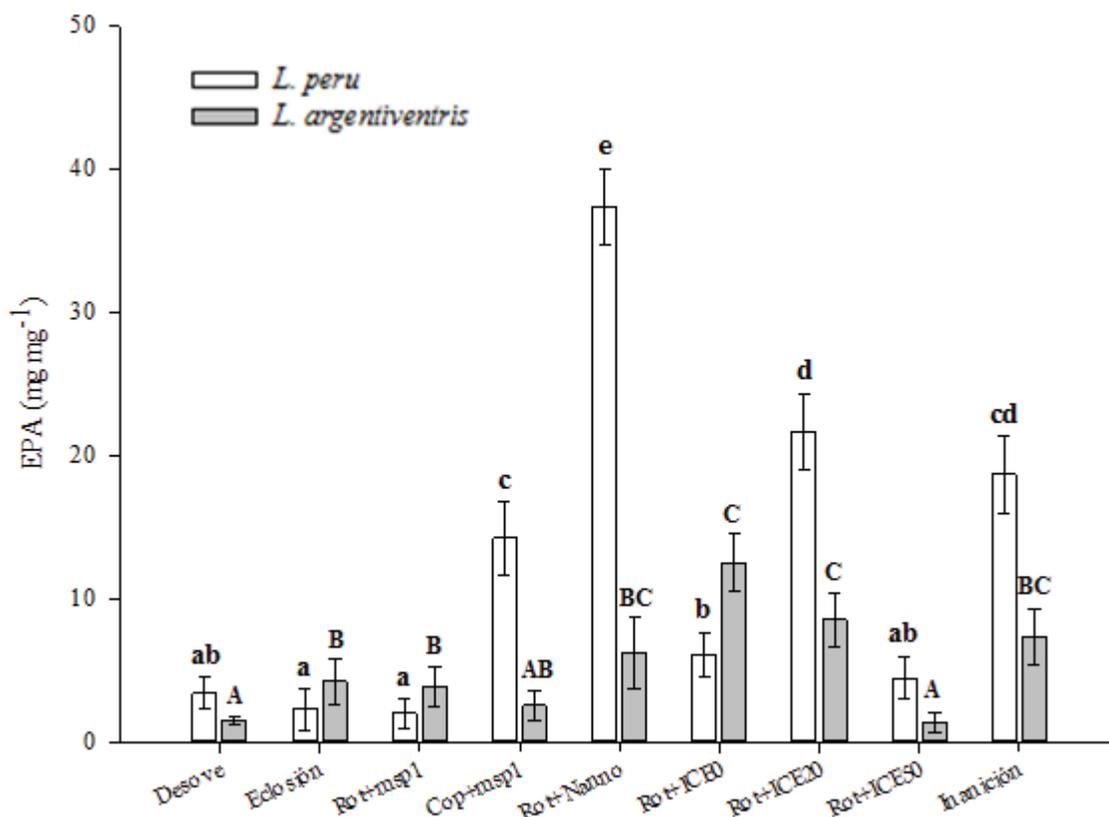


Figura 25. Presencia de ácido eicosapentanoico (EPA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

En la Figura 26, en larvas de *L. peru*, se observa una mayor presencia de ácido docosahexaenoico (DHA) en el tratamiento de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*, seguido por el de rotíferos enriquecidos con ICE 20. En larvas de *L. argentiventris* los mayores valores se encuentran en los tratamientos de rotíferos enriquecidos con ICE 0 y en segundo lugar en el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20.

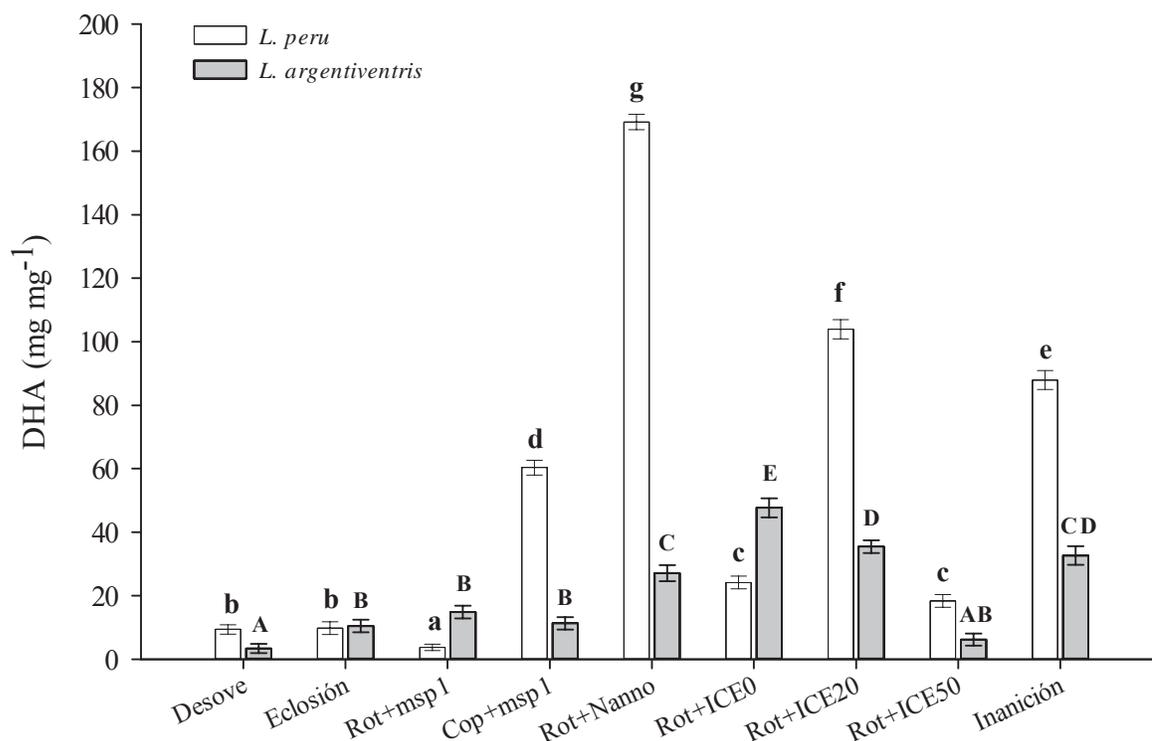


Figura 26. Presencia de ácido docosahexaenoico (DHA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

La presencia del ácido araquidónico (ARA) en larvas de *L. peru* es mayor en el tratamiento de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*, seguido por el de rotíferos enriquecidos con ICE 20. Y en larvas de *L. argentiventris* el mayor valor se observa en el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 0 (Fig. 27).

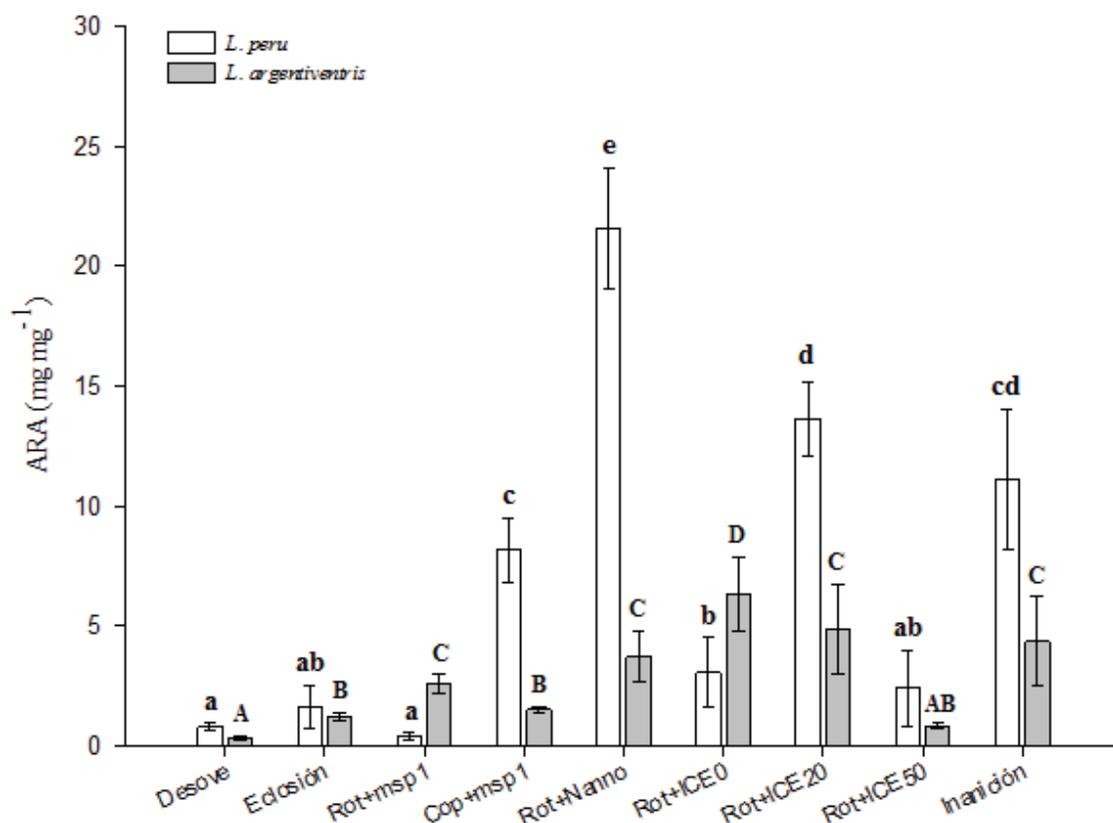


Figura 27. Presencia de ácido araquidónico (ARA) en el desove, larvas recién eclosionadas y al 4to día de alimentación con los distintos tratamientos de alimentación en ambas especies. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$). *L. peru* (minúsculas) y *L. argentiventris* (mayúsculas).

La composición de ácidos grasos altamente poliinsaturados (HUFAS) en el alimento vivo se muestra en la Figura 28. Observándose la mayor concentración de DHA en el tratamiento de rotíferos (*B. plicatilis*) alimentados con *N. oculata*. El tratamiento con mayor concentración de EPA fue el de copépodos (*P. euryhalinus*) alimentados con *Navicula sp*, también estos dos tratamientos, presentan el mayor contenido de ARA.

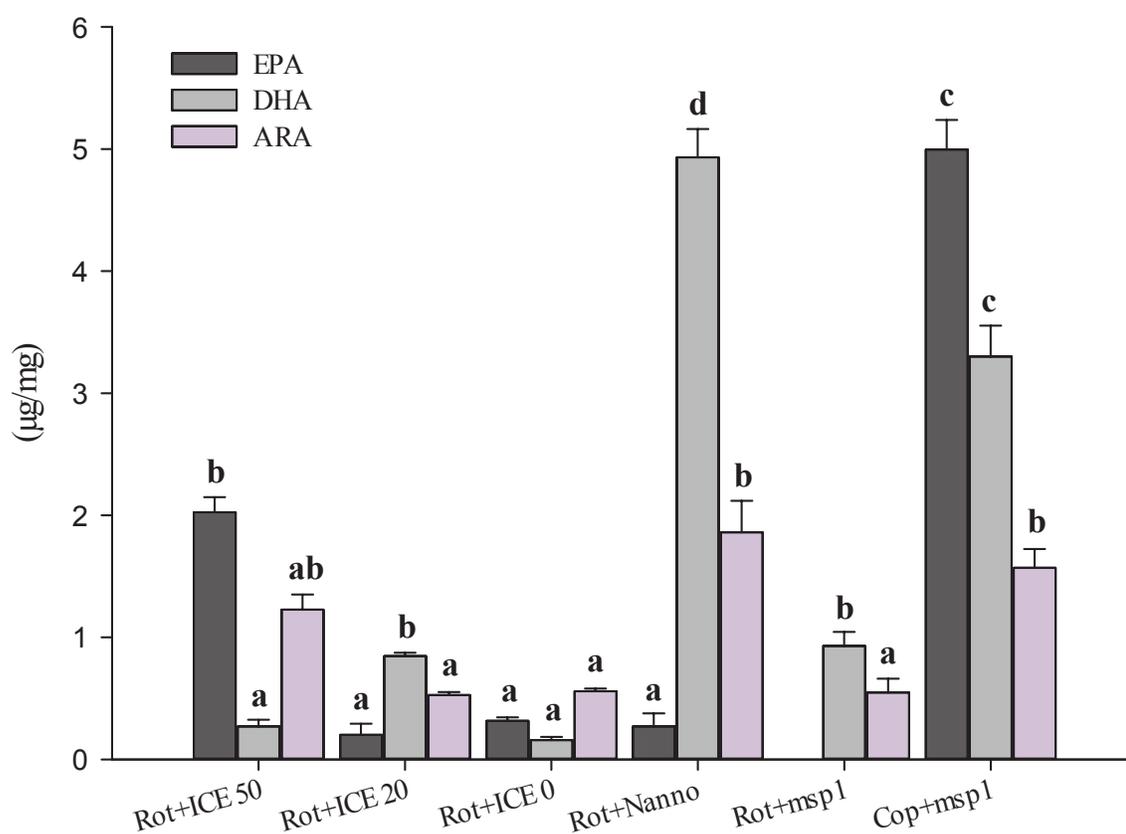


Figura 28. Ácidos grasos esenciales EPA, DHA y ARA, presentes en los distintos alimentos vivos utilizados durante el experimento. Las medias seguidas por una letra diferente indican diferencias significativas entre alimentos vivos ($P < 0.05$).

VIII. DISCUSIÓN

8.1. Valoración cualitativa de huevos y larvas

Para evaluar la influencia de distintas composiciones de alimento vivo sobre el crecimiento y supervivencia larval de ambas especies *L. peru* y *L. argentiventris*, durante su desarrollo temprano, fue necesario evaluar la absorción de las reservas energéticas (saco vitelino y gota lipídica), longitud notocordal, porcentaje de supervivencia. Así como el análisis de la composición bioquímica de ácidos grasos y aminoácidos esenciales en el alimento y en las larvas antes y después de ser alimentadas con los distintos tratamientos de alimentación.

8.1.1. Alimento vivo (copépodos, rotífero y artemia)

Las ventajas que se obtienen al utilizar alimento vivo son diversas: rápido crecimiento, asimilación directa, alto valor nutricional, la posibilidad de enriquecimiento con complementos, mayor tolerancia a enfermedades, entre otros. Aunque la tendencia general de la producción masiva es hacia la formulación y elaboración de alimentos balanceados, el alimento vivo sigue siendo indispensable, al menos en las fases críticas (larvas y juveniles) del desarrollo de las especies de interés comercial. Incluso estos organismos son un apoyo ideal en la producción acuícola conforme un esquema de armonía con el ambiente, reduciendo las malas prácticas del uso de sustancias químicas y antibióticos (Gatesoupe, 1977). Existen varias experiencias y ensayos respecto a diferentes tipos de alimento vivo empleado, con resultados similares y/o antagónicos (Anguas *et al.*, 2000; O'Brien-MacDonald *et al.*, 2006), lo cual revela la dificultad de estandarizar las dietas basadas en el alimento, ya que son varios los aspectos adicionales que inciden en la especie a alimentar y la(s) especie(s) a emplear, encontrándose algunos reportes importantes de resaltar tales como; en un estudio realizado en cabrilla arenera (*P. maculatofasciatus*) para determinar el momento adecuado para realizar la transición a una dieta seca, y su sobrevivencia sin el suministro de alimento vivo se observaron mejor sobrevivencia y crecimiento en larvas alimentadas con alimento vivo e iniciadas con pescado crudo que en las larvas iniciadas con

alimento inerte (Anguas *et al.*, 2000). Un estudio realizado por Lozano *et al.* (Lozano *et al.*, 2004) evaluaron el crecimiento de larvas de hurta (*Pagrus auriga*) alimentadas con artemia y con alimento inerte, a partir del día 20 después de la eclosión hasta el día 30 pos-eclosión, encontrando diferencias significativas en ganancia de peso entre las larvas alimentadas con artemia y las alimentadas con dieta inerte. O'Brien-MacDonald *et al.* (2006), reportaron una cantidad significativamente alta en los niveles de enzimas digestivas para larvas de bacalao común (*Gadus morhua*) alimentadas con rotíferos enriquecidos con lípidos. Esto describe los niveles de actividad enzimática en el alimento vivo (rotíferos) y su potencial contribución a la funcionalidad digestiva de la larva de bacalao (Kurokawa *et al.*, 1998).

Se ha sugerido que las enzimas exógenas (presentes en el alimento vivo) compensan la deficiencia digestiva de las larvas, ya sea digiriendo los nutrientes directamente o activando los zimógenos producidos por las larvas. Kurokawa *et al.* (1998) sugieren que las larvas no dependen de las enzimas exógenas para la digestión, pero indican que el alimento vivo estimula la secreción de enzimas digestivas desde el páncreas.

Para asegurar el crecimiento de las larvas, la presa deberá cumplir con determinadas características como son: tamaño adecuado, movimiento lento, alta disponibilidad, apariencia y estímulo químico, lo que varía en función de la especie (Civera *et al.*, 2004); además deberá cubrir los requerimientos nutricionales mínimos y ser de fácil digestión. La mayoría de las larvas de peces son cazadoras planctónicas sin importar los hábitos alimenticios que tendrán cuando sean adultas (Blaxter y Hunter, 1982). Las larvas se caracterizan por tener una tasa de crecimiento muy alta. A medida que la larva crece, el tamaño de la comida debe crecer y es necesario adaptar rápidamente el tamaño del alimento al tamaño de la boca. El alimento natural presenta una alta diversidad, lo que da la oportunidad a las larvas para que puedan satisfacer sus requerimientos nutricionales y especialmente para que puedan escoger lo que necesitan (Verreth, 1999). Para algunas especies la desventaja de una talla pequeña, puede ser compensada con el tamaño de la boca, el tipo de dentición o que las larvas se desarrollen donde exista una gran abundancia y diversidad de presas (Civera *et al.*, 2004). En cultivo, la ingestión de plancton se ha reducido a un pequeño número de presas como microalgas (2-20

μm), rotíferos (50-250 μm), nemátodos (*Panagrellus redivivus*; 0.2-2mm), crustáceos (*Artemia spp.*; 200-500 μm), copépodos (Civera *et al.*, 2004). Las microalgas constituyen el primer eslabón de la cadena trófica. Algunas de las ventajas que aporta la adición de microalgas en los tanques de cría larvaria se relacionan con el aporte nutritivo que proporcionan al ser ingeridas por las larvas o al enriquecer los rotíferos con los que suele combinarse su administración. Además, se cree que la adición de microalgas mejora las condiciones lumínicas del medio de cultivo y el comportamiento predador de las larvas (Olsen *et al.*, 1993).

A partir de la evidencia de la presencia de determinados ácidos grasos en las algas, los cuales estaban ausentes en las levaduras y en las presas, los estudios sobre nutrición larvaria en especies marinas han focalizado su atención en los ácidos grasos esenciales (EFAs) (Rønnestad *et al.*, 2003; Roo *et al.*, 2009). La mayoría de las microalgas acumulan muy pocos triglicéridos durante el crecimiento exponencial pero durante la fase estacionaria pueden acumular una importante cantidad de estos. La composición de ácidos grasos (AG) puede ser diferente entre las clases de lípidos. La fracción de almacenamiento, predominantemente, está compuesta por los ácidos grasos saturados (AGS) y por los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, por sus siglas en inglés), mientras que los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) comprenden en gran medida la fracción estructural (Freund-Levi *et al.*, 2008). Los rotíferos fueron alimentados con el alga *N. oculata*, la cual es una microalga marina de 6 especies dentro del género *Nannochloropsis* perteneciente a la clase de Eustigmatophyceae. El género es ampliamente utilizado en la acuicultura, debido a su relativamente alta tasa de crecimiento, resistencia, alto valor nutricional y por su alto contenido de lípidos. En *Nannochloropsis sp.*, se encontró que los lípidos de almacenamiento consistían en gran parte del ácido palmítico (C16: 0) y el ácido palmitoleico (C16: 1), ácidos grasos monoinsaturados (Sargent *et al.*, 1997). Sin embargo, Tocher *et al.* (1997) encontraron que al final de la fase estacionaria, el 68% de los triglicéridos en *Nannochloropsis oculata* consistieron en el ácido eicosapentaenoico (20:5 ω 3, EPA); en comparación con el 8% durante la fase exponencial. La composición de los perfiles puede variar enormemente de una especie de alga a otra y depende de las condiciones de crecimiento. La proporción de

HUFA de cada cepa puede ser la más diversa, debido a la inestabilidad oxidativa de los ácidos grasos altamente poliinsaturados. La mayor parte de la fracción de HUFA está representada por C20: 4 ω 6 y C20: 5 ω 3 en cultivo y al aire libre, variando de 15% - 20% a 35% -40% del total de ácidos grasos. También fue utilizada la microalga *Navicula sp.*, algunos dueños de laboratorios de cría de larvas de Ecuador han comentado la aparente mejoría en el crecimiento de las postlarvas y su aspecto general cuando se hace "bloom" de diatomeas bentónicas para alimentar este estadio y aunque son observaciones subjetivas no se han hecho esfuerzos por usar activamente y de forma generalizada estos cultivos de *Navicula*, *Cymbella* y *Amphora* sustituyendo el uso de alimento artificial (Griffith *et al.*, 1992). Se conoce que en los Laboratorios de Producción de Postlarvas de Camarón de Ecuador y de Brasil han sido usadas con éxito diatomeas bentónicas de los géneros *Navicula* y *Amphora* para *Litopenaeus vannamei*. Las diatomeas bentónicas en cultivo tienen la capacidad de colonizar toda la superficie del reservorio donde habite y de formar pequeños grumos o colonias de células suspendidas en el agua, formando así partículas de diferentes tamaños para la alimentación de estos estadios postlarvales de camarón. Además, según Griffith *et al.* (1992), el valor nutricional más importante de estas diatomeas, es el alto contenido de lípidos.

Los copépodos cultivados en conjunto con diferentes especies de microalgas, rotíferos y otros microorganismos en sistemas de mesocosmos, son importantes porque ellos son una de las fuentes de alimento vivo más importantes para la acuicultura marina, habiéndose demostrado que incrementan la supervivencia y la calidad de las larvas y alevinos que los consumen directamente. El mesocosmos representa una excelente alternativa para incrementar la calidad y supervivencia de las larvas, dado que proporciona a estas, gran cantidad y variedad de presas pequeñas (nauplios) de excelente perfil bromatológico en cuanto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados y aminoácidos se refiere. En países en donde se practica con éxito la acuicultura, la producción de artémia, microalgas, rotíferos, copépodos y cladóceros, son rutina en sistemas de cultivo semi intensivos e intensivos con alta sobrevivencia de organismos (Hagiwara *et al.*, 2001; Álvarez-Lajonchère y Hernández, 2011). El valor nutricional del alimento vivo varía en función del tamaño, alimento usado en su cultivo, digestibilidad y composición bioquímica de las diferentes especies (Hagiwara *et al.*, 2001).

La mayor desventaja que presenta el uso de alimento vivo en larvicultura es el elevado costo que representa mantener los cultivos de apoyo. Por ejemplo, el cultivo y mantenimiento de microalgas frescas es costoso en términos de trabajo e infraestructura, por lo cual, la industria ha considerado necesario generar alimentos alternativos que puedan ser almacenados sin tener pérdida de sus características nutritivas (García-Ortega, 2000; Copeman *et al.*, 2002; Zambonino y Cahu, 2010).

Por otra parte, en la última década se ha tratado de sustituir los alimentos vivos por dietas microencapsuladas o por técnicas que permitan el almacenamiento por congelado o liofilización por tiempo indefinido de estos alimentos y en términos generales no resuelven el problema real que es la demanda constante de alimento vivo y resultan incosteables.

Un incipiente desarrollo del tracto digestivo, lo cual no permite a las larvas de los peces la adecuada digestión y asimilación de nutrientes ni la transición del alimento vivo al inerte (Figueroa-Lucero *et al.*, 2004a; Martínez-Palacios *et al.*, 2006).

Si bien la dieta “ideal” no ha sido plenamente definida, los recientes avances sobre el conocimiento de las capacidades digestivas y los requerimientos nutricionales de las larvas indican que no se está muy lejos de lograr una dieta que permita reemplazar la utilización de alimento vivo. Sin embargo, existen algunos aspectos nutricionales que aún quedan por determinar para facilitar su desarrollo para que sean aptas para el cultivo larvario de peces. Tomando en cuenta lo anterior. Lazo (2000) nos plantea que los principales objetivos de la investigación y desarrollo hacia los cuales deberían apuntar las futuras investigaciones, así como la determinación de los niveles de inclusión y proporciones entre aminoácidos libres, péptidos y proteínas. Se debe tomar en cuenta, que estos valores son susceptibles de variar durante el desarrollo larvario. Por ejemplo, es probable que las larvas exhiban un requerimiento alto de aminoácidos libres durante los primeros días de alimentación exógena, seguido por una mayor utilización de péptidos y finalmente la digestión eficiente de proteínas intactas.

En el caso de los lípidos (ej., HUFAs w-3, DHA: EPA: ARA, fosfolípidos en relación con triglicéridos), la identificación de los niveles y proporciones adecuados han sido determinados casi en su totalidad. Por lo tanto, el reto actual es más técnico que académico, ya que es necesario encontrar ingredientes comerciales que sirvan como fuente de estos nutrientes y que puedan ser incluidos en las dietas sin elevar en demasía el costo de producción (Lazo, 2000).

Tradicionalmente a las larvas de los peces marinos se les da de comer inicialmente rotíferos (*B. plicatilis*) de tamaño pequeño (cepa S, 100-240 μm) y en general son demasiado grandes para el tamaño de la boca de las larvas ($\pm 100 \mu\text{m}$), lo cual dificulta su captura e ingestión. Para algunos autores, los rotíferos del género *Brachionus* no siempre son eficientes como alimento vivo, debido a factores como la composición bioquímica, el comportamiento natatorio y su tamaño, factores que se han identificado como los principales responsables de que en la larvicultura de los peces marinos las supervivencias obtenidas sean bajas (Srivastava *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2010). Incluso, tanto los microorganismos recién nacidos como los machos del rotífero no se alimentan, por lo tanto su cantidad y composición de nutrientes es baja (Léger *et al.*, 1986; Rainuzzo *et al.*, 1989; Mims *et al.*, 1991). Debido a que el cultivo masivo de rotíferos está estandarizado desde hace décadas, se ha optado por enriquecerlo. Esta enorme tasa reproductiva desarrollada por estos organismos ocurre en la fase partenogénica de su ciclo vital (Levens y Sorgeloos, 1996), favorecida por un abundante aporte de alimento, habitualmente formado por microalgas, levaduras de panificación o productos comerciales basados en microalgas secas pulverizadas ricas en nutrientes esenciales. Con estos últimos, se han conseguido cultivos con densidades que superan, en ocasiones, los 1000 individuos ml⁻¹ (Moretti *et al.*, 1999).

Sin embargo, se considera como buena alternativa de alimento vivo para larvas de peces algunas especies de copépodos (Drillt *et al.*, 2011), debido a su abundancia en las aguas superficiales de las costas donde generalmente representan una fuente de alimento natural para fases larvianas de peces e igualmente porque tienen en su ciclo de vida una fase de latencia o desarrollo suprimido, la cual puede presentarse dependiendo de la especie en el embrión, nauplio, copepodito o fase adulta (Marcus, 2005). Para el caso de algunas especies

de peces como pargos (Familia Lutjanidae) y meros (Familia Serranidae), cuando sus larvas son alimentadas con una dieta a base de nauplios de rotíferos y *artemia* se obtienen bajas supervivencias de las mismas (Nellen, 1986). Por otra parte, se ha demostrado que al alimentar las larvas del lenguado *Paralichthys olivaceus* con una dieta a base de nauplios de copépodos Calanidos como *Schmackeria poplesia* se produce incremento en su supervivencia, así como en el crecimiento y composición de los nutrientes de estos peces, en comparación con aquellos alimentados con el rotífero *B. plicatilis* y con *Artemia sp.* (Guangxing y Donghui, 2009).

A pesar de presentar movimientos rápidos, por saltos y consecuentemente buen escape del predador, su nauplio de copépodo es considerado buen alimento para postlarvas de peces, debido a sus movimientos más lentos, siendo fácilmente capturados por las postlarvas (Young, 1994; Mujica *et al.*, 1995). El contenido de ácidos grasos esenciales (20:5 y 22:6) en copépodos contrariamente a *Brachionus* y *Artemia*, es independientemente del alimento recibido y suficientemente elevado para mantener los requerimientos nutritivos de las fases larvarias (Watanabe *et al.*, 1983). Esta característica junto con el intervalo de tamaños de presa que puede suministrar, apoya la importancia potencial de este tipo de organismos en la producción de alevines de especies marinas. (Fukusho *et al.*, 1980).

Sin embargo, el inconveniente de estos es que presentan ciclos de vida largos, comparados con las demás especies usadas como alimento vivo (Civera *et al.*, 2004; Shields *et al.*, 1999). Mientras tanto el cultivo de copépodos presenta limitaciones, ya que estos organismos presentan ciclos de vida largos, comparados con los otros alimentos vivos, además se debe tener cuidado con la selección de especie del copépodo, ya que una selección errónea llevaría a disminuir la posibilidad de su captura por parte de la larva. Los copépodos marinos han sido objeto de estudio debido a su alta calidad nutricional (McEvoy y *et al.*, 1998; Shields y *et al.*, 1999; Helland y *et al.*, 2003) y a la idoneidad de tamaño que sus fases larvarias representan para larvas de especies con tamaño de boca especialmente pequeño (Doi y *et al.*, 1997a, b; Toledo y *et al.*, 1997; Lee, 2003). A pesar de todo esto, su utilización

en sistemas intensivos de producción larvaria es esporádica ya que su cultivo, en el caso de estar estandarizado, ofrece un rendimiento productivo que puede ser insuficiente para satisfacer la enorme demanda de presas que tiene una planta de cría larvaria (Støttrup, 2000).

Asimismo, constituyen un eslabón muy importante en la cadena trófica, pues además de ser el alimento fundamental de las larvas de peces marinos y estuarinos en el medio natural (Zismann *et al.*, 1975; Chekley, 1982; Mcmichel y Peten, 1989), los copépodos son el principal puente entre el fitoplancton y los niveles superiores de muchas de las cadenas tróficas marinas (Barnes, 1989; Young, 1994; Hopp *et al.*, 1997). Por otra parte, su típico movimiento en zigzag es un importante estímulo visual para muchos peces que los prefieren sobre los rotíferos (Payne *et al.*, 2001).

Los copépodos son probablemente las presas principales, y al aparecer, los de mejor calidad nutricional. Aun así, en el cultivo existe un grupo reducido de presas, con las que se trata de cubrir los requerimientos nutricionales de las larvas (May, 1974). De todas las especies de copépodos, las utilizadas actualmente son los calanoideos y algunos harpacoideos (*Trgriopus japonicus*, *Tisbe furcata*, *Acartia sp.* y *Euterpina acutifrons*), los cuales están siendo cultivados (Støttrup y Norsker, 1997; Nanton y Castell, 1998; Schipp *et al.*, 1999). Algunos estudios han demostrado que los copépodos tienen un perfil nutricional mayor que la artemia (Delbare *et al.*, 1996; Nanton y Castell, 1998; Payme y Rippingale, 2000; Payne *et al.*, 2001).

A pesar de que los copépodos son probablemente las presas principales, y al aparecer, los de mejor calidad nutricional; en el cultivo existe un grupo reducido de presas, con las que se trata de cubrir los requerimientos nutricionales de las larvas (May, 1974). De todas las especies de copépodos, las utilizadas actualmente son los calanoideos y algunos harpacoideos (*Trgriopus japonicus*, *Tisbe furcata*, *Acartia sp.* y *Euterpina acutifrons*) (Støttrup y Norsker, 1997; Nanton y Castell, 1998; Schipp *et al.*, 1999).

La calidad nutricional de los copépodos se caracteriza por los altos niveles de proteína (44-52%) y buen perfil de aminoácidos (Strøttrup, 2000), lo cual promueve una normal pigmentación y un buen desarrollo en las larvas de los peces. La composición de ácidos grasos varía considerablemente de acuerdo con el alimento usado en su producción (Coutteau *et al.*, 1997; Nanton y Castell, 1998, Lira, 2002). Sin embargo, son considerados una fuente rica en EPA (Nanton y Castell, 1998, Nanton y Castell, 1999; Payme *et al.*, 1998) y como fuente exógena de importantes enzimas digestivas que mejoran la digestibilidad de las presas cuando el intestino de las larvas no es completamente funcional y favorecen el cambio del consumo de alimento vivo al concentrado artificial, mejorando su condición general y elevando los niveles de resistencia a enfermedades (Strøttrup, 2000). Otros organismos usados como presas vivas han sido los cladóceros del género *Moina* (He *et al.*, 2001) y larvas trocóforas de moluscos bivalvos, muy comunes en los criaderos de Asia (Liao *et al.*, 2001).

8.1.2. Enriquecedores para el alimento vivo (rotífero y artemia)

La gran cantidad de ácidos grasos esenciales requeridos durante los estadios larvales y postlarvales, difícilmente son obtenidos únicamente por síntesis endógena, por lo cual el déficit debe ser suministrado adicionalmente junto con la dieta, enriqueciéndola a conveniencia (Prieto y Atencio, 2008). Sin embargo, el enriquecimiento de la dieta no implica necesariamente un aumento en la talla y peso de las larvas, ya que estas variables pueden verse afectadas por factores ambientales como la temperatura, el fotoperiodo, intensidad de la luz y factores relacionados con la alimentación, tales como la densidad de siembra, disponibilidad y composición de alimento en lo que puede reflejarse como una descompensación en el crecimiento, que consiste en un incremento en la heterogeneidad en la talla a lo largo del tiempo (Kestemont *et al.*, 2003).

Izquierdo *et al.* (2000) menciona que es preciso observar que el tiempo de enriquecimiento no sea prolongado, ya que las tallas de las presas podría aumentar (Van Stappen, 1996). También se menciona su oxidación. En este trabajo se utilizó como uno de los enriquecedores principales la Emulsiones ICES (International Council Exploration of the Sea), la cual es

una emulsión de coco, libre de HUFA, que consiste principalmente de los ácidos grasos saturados); emulsión 50/0.6 (que contiene aproximadamente 50% de n-3 HUFA en los ácidos grasos totales, con una relación de DHA / EPA de 0,6); emulsión 30/0.6 (30% de n-3 HUFA con una relación de DHA / EPA de 0,6); emulsión al 30/4 (30% de n-3 HUFA con una relación de DHA / EPA de 4); y 30/4/ARA emulsión (una mezcla de 75% de la 30/4 de la emulsión y 25% de una emulsión que contiene un 40% de ARA). La cuál fue la que mejor dio resultado para el crecimiento de las larvas.

En este trabajo se observó menor supervivencia en ICE 0 así como el ICE 50, debido a que el exceso, como la deficiencia en la proporción entre niveles de ácidos grasos, provocó crecimiento tardío, y este crecimiento mencionan otros autores que está relacionado con la mortalidad, erosión de la aleta dorsal, degeneración del hígado, daño en las branquias combinado con sangrado y oscurecimiento de la superficie dorsal (Bell *et al.*, 1996). Lo cual logramos observar en algunos tratamientos.

Algunos autores mencionan que el DHA es encontrado mayoritariamente en tejidos neurales de peces con pigmentación normal que en aquellos peces no pigmentados, bajos niveles en la dieta de DHA puede interferir en la síntesis de rodopsina en la retina (Bell *et al.*, 1996; Copeman *et al.*, 2002; Watanabe, 1993). Esta deficiencia puede interrumpir la transmisión desde la retina al sistema nervioso central de la señal requerida para accionar la producción de la hormona estimuladora de los melanóforos (MSH). Sin esta señal endocrina, la síntesis de melanina no puede continuar, dando como resultado deficiencias en la pigmentación (Estevez y Kanazawa, 1996). También es importante considerar que un desequilibrio en las proporciones EPA/AA, puede ocasionar estados de estrés generalizados en los peces, debido a la alta concentración de eicosanoides. Estos estados de estrés pueden influenciar deficiencias en el proceso de pigmentación y afectar funciones neurales (Lochman y Gatlin, 1993; Sargent *et al.*, 1999), como en el caso del puye (*Galaxias maculatus*) un adelantamiento de este proceso, provoca una pigmentación deficiente (Copeman *et al.*, 2002; Sánchez, 2005).

Es importante considerar que al manipular las proporciones EPA/DHA, indirectamente se estará modificando la proporción EPA/AA.

Altos niveles de EPA pueden inhibir la producción de prostaglandinas a partir del AA por inhibición enzimática competitiva afectando el proceso de pigmentación, dado que EPA y AA compiten por la enzima ciclooxigenasa, involucrada en la síntesis de prostaglandinas (Lauff y Hoffer, 1984; Sargent *et al.*, 1999). Estevez *et al.* (2001) concluye una relación negativa entre la cantidad de AA y la pigmentación (Bell *et al.*, 2003), probablemente porque los eicosanoides metabolizados del ácido araquidónico (prostaglandinas E2 y F2), afecte la actividad de la tirosinasa, enzima esencial involucrada en la producción de melanina a partir de L-tirosina. (Slominski *et al.*, 2004).

8.1.3. Variables cualitativas en larvas (eclosión, apertura bucal, longitud notocordal, volumen saco vitelino y gota lipídica)

Respecto a los porcentajes de eclosión los resultados sugieren que las condiciones de cultivo en ambas especies fueron adecuadas; ya que si el cultivo se desarrolla estado fuera de los rangos óptimos de las especies, se presentan efectos negativos sobre la capacidad de eclosión y supervivencia (Portella *et al.*, 2002; Alvarez-Lajonchère y Hernández, 2011). *Lutjanus peru* presentó una media del 95.7%, fluctuando entre el 94.6 y 96.4%. El porcentaje que mostró *L. argentiventris* fluctuó entre 95 y 97%, con una media del 97%, sin diferencias significativas entre tratamientos en ambas especies. Álvarez (2006) menciona que uno de los métodos más aplicados para conocer la viabilidad del desove en especies de huevos pelágicos, es considerar viables solamente los huevos que floten, ya que de ocurrir el proceso de fertilización adecuadamente, los fertilizados serán fundamentalmente los flotantes en un porcentaje muy alto (>90%), en cambio los no viables son prácticamente los no fecundados y estos tienden a hundirse. También menciona que los huevos de buena calidad usualmente tienen altos porcentajes de fertilización (>90%) y bajos porcentajes de malformaciones (5%). En cambio, un porcentaje bajo de fertilización generalmente indica una baja calidad de

huevos, lo que produce subsecuentemente una pobre eclosión y larvas de baja calidad (Álvarez y Hernández, 2001). Según este criterio, porcentajes de eclosión arriba del 94% indican altos porcentajes de fertilización y la buena calidad del desove.

En relación a la apertura bucal, podemos decir que la formación de la boca y tracto digestivo durante el desarrollo temprano del huachinango y del pargo amarillo, fue similar a lo descrito por otros autores (Barajas-Vega, 2006; Moreno-Figueroa, 2011), concordando también con resultados encontrados en otras especies de lutjánidos (Lim *et al.*, 1985; Doi *et al.*, 1994; Ming-Yih *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2004; Micale *et al.*, 2006).

En relación a la apertura bucal y tamaño de presa los resultados infieren que para ambas especies de peces, el rotífero (*Brachionus plicatilis*) y el copépodo (*Pseudodiaptomus euryhalinus*) son presas que la larva es capaz de capturar como primer alimento. Esto se explica con estudios pasados en varias especies sobre el tamaño de presa adecuado, donde se recomienda desde un 40 a un 60% de tamaño de presa en relación a la apertura bucal de la larva (Shirota, 1970; Shirota, 1978; Hunter, 1981; Iizawa, 1983; Fernández-Díaz *et al.*, 1994; Munk, 199; Cuhna y Planas, 1999; Ostergaard, *et al.*, 2005).

Las larvas de huachinango mostraron una abertura bucal de $237.6 \pm 0.43 \mu\text{m}$. Por lo tanto, según la bibliografía, *L. peru* requiere de presas con un tamaño máximo de $140 \mu\text{m}$ y las presas ofrecidas menores de $100 \mu\text{m}$ no sobrepasaron el 42.19% de la abertura total. La máxima abertura bucal del pargo amarillo resultó de $216.4 \pm 0.28 \mu\text{m}$, se entiende entonces que un tamaño de presa con un tamaño máximo de $129 \mu\text{m}$ es adecuado; las presas suministradas representaron el 46.29% al ser menores de $100 \mu\text{m}$. este porcentaje puede considerarse dentro del recomendado, que varía entre 40 y 60% en relación al tamaño de boca.

En cuanto a la longitud notocordal, Watanabe *et al.* (1998) reportaron que durante la alimentación endógena, la longitud estándar o notocordal (LN), es utilizada como una medida relativa de la eficiencia de conversión de vitelo. Moreno-Figueroa (2011),

demuestra que las correlaciones encontradas entre el consumo del saco vitelino y el incremento de la longitud notocordal siguen un patrón directo entre ambas variables. También observó que el máximo crecimiento de *L. peru* ocurre mientras se da la absorción del vitelo y hasta la completa absorción de este.

Los resultados obtenidos de las mediciones de longitud notocordal de larvas de *L. peru* en los 7 tratamientos muestran el mayor incremento de talla a las 48 hpe, a excepción del tratamiento de Rotíferos enriquecidos con emulsión ICE 50, donde la mayor talla entre tratamientos y horas post eclosión se observa a las 72 hpe (24 horas después). Así mismo se observan diferencias significativas entre larvas recién eclosionadas, homogeneizándose las tallas a las 24 y 48 hpe. A partir de las 72 hpe las diferencias son evidentes entre tratamientos, presentando larvas alimentadas con Rotíferos enriquecidos con emulsión ICE 50 los valores más altos durante el experimento, seguido por el tratamiento de Rotíferos alimentados con msp1. Las tallas registradas para el tratamiento en ayuno, coinciden con lo reportado por Barajas-Vega (2006) y Moreno-Figueroa (2011). Este tratamiento murió de inanición al séptimo día post eclosión.

Tanto en larvas de *L. peru* como de *L. argentiventris* se observa un decremento de talla posterior al momento de la apertura bucal. Se sabe que el crecimiento durante la absorción del vitelo puede ser reducido por el costo de mantenimiento bajo condiciones sub o supra óptimas de temperatura, pH, salinidad, luz, bajas concentraciones de O² disuelto, entre otros (Gracia-López *et al.*, 2004). En este caso Williams *et al.* (2004) explican que la reducción en tamaño al término de la absorción del saco vitelino se debe a un proceso sintomático de absorción de tejido y es considerado un proceso normal dentro del desarrollo larval de peces marinos (Jaworski y Kamler, 2002), por tal motivo mientras más temprano la larva pueda alimentarse una vez formada su boca y tracto digestivo, mayor será su posibilidad de completar su desarrollo y sobrevivir.

En relación al saco vitelino, la longitud y altura del saco vitelino (SV), son medidas utilizadas para determinar el volumen del saco vitelino desde la eclosión hasta el agotamiento del

mismo; con el objetivo de determinar la tasa de consumo y eficiencia de conversión del vitelo en crecimiento larvario (Williams *et al.*, 2004).

Se reporta para larvas de *L. peru* a las 0 hpe, un volumen promedio de saco vitelino de $0.163 \pm 0.0009 \mu\text{m}$, a las 24 hpe de $0.0472 \pm 0.0016 \mu\text{m}$ y a las 48 hpe de $0.0101 \pm 0.0009 \mu\text{m}$. En *L. argentiventris* las medidas correspondientes fueron de $0.1501 \pm 0.0016 \mu\text{m}$, $0.0543 \pm 0.0014 \mu\text{m}$ y $0.006 \pm 0.000 \mu\text{m}$ a las 0, 24 y 48 hpe, respectivamente. A grosso modo, en ambas especies se observa un decremento entre la mitad y tres cuartas partes del volumen del saco vitelino a partir de las 0 a las 48 hpe.

Los resultados no sugieren que la alimentación haya ejercido influencia directa sobre el consumo del volumen del saco vitelino ya que las medidas obtenidas en el presente estudio en el tratamiento de ayuno, coinciden con lo reportado por Barajas-Vega (2006) y Moreno Figueroa (2011), donde el objeto de estudio fueron los parámetros físico-químicos y no la alimentación.

En estudios pasados, se han obtenido resultados similares en algunas especies de pargos; como para larvas de pargo rojo *Lutjanus campechanus* (Williams *et al.*, 2004) y en larvas del caballero *Lutjanus griseus* (Damas *et al.*, 1978).

Por último, cabe señalar que las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos durante las primeras 48hpe se atribuye más que a la alimentación, al manejo en el momento de la siembra, debido a que en este tiempo las larvas aún no son capaces de alimentarse o recién han abierto la boca, es posible que la aclimatación de unas condiciones físico-químicas a otras haya repercutido en una desincronización de la eclosión y por ende en la absorción del saco vitelino. Brown (2011) reporta que la eficiencia del uso de las reservas energéticas perfecta no existe debido a la pérdida de energía por el metabolismo de mantenimiento; aunado a la tasa de crecimiento, existe una mayor eficiencia en el uso de las reservas energéticas para ser convertidas en tejido somático Tucker (1998), esto puede explicar que a las 48hpe se tienden a una homogeneización en la absorción del saco vitelino.

En el caso de la gota lipídica, Barajas-Vega (2006) reporta que el consumo de la gota de aceite a 24°C ocurre en aproximadamente 90 horas después de la eclosión. En las larvas de ambas especies, al momento de iniciar la alimentación exógena, un remanente de gota lipídica aún fue visible, aunque no medible en todos los tratamientos. Este remanente ha sido reportado para *Lutjanus campechanus* y *Lutjanus Kasmira* (Williams *et al.*, 2004; Suzuki y Hioki, 1979) y en larvas del caballero *Lutjanus griseus* (Damas *et al.*, 1978); lo cual se atribuye como ayuda para solventar los gastos energéticos en la transición de la alimentación endógena a exógena (Zavala, 2011). Cabe señalar que en ambas especies en cuatro tratamientos fue posible la medición de la gota lipídica a las 72 hpe (Rot + ICE 50, Rot + ICE 20, Rot + Nanno, Cop + msp1). Mostrando el mayor volumen de gota lipídica aquellas larvas alimentadas con Rotíferos (*B. plicatilis*) enriquecidos con la emulsión ICE 20 ($6.70E-06 \pm 3.42E-06$ μm para *L. peru* y $1.54E-04 \pm 2.16E-05$ μm para *L. argentiventris*), sin embargo, estadísticamente no se reporta diferencia significativa entre estos tratamientos. No hay estudios referentes sobre un efecto directo de la alimentación sobre el volumen de gota lipídica, no obstante el hecho de presentar el mismo patrón de consumo en ambas especies, sugiere una posible influencia del alimento sobre la gota lipídica.

En relación a los parámetros físico químicos, podemos decir que el sano desarrollo de aspectos productivos y reproductivos del cultivo acuícola depende fuertemente de los parámetros fisicoquímicos del agua, estos deben mantenerse dentro de los rangos óptimos de acuerdo a la especie. Para evaluar la calidad del agua principalmente se toma en cuenta: temperatura, oxígeno, pH, amonio, nitritos, alcalinidad y dureza (Sivira-Sánchez, 2008).

Durante el experimento, el cultivo larval de ambas especies se mantuvo dentro de los parámetros óptimos descritos por Barajas-Vega (2006) y Moreno-Figueroa (2011). La temperatura se estipuló a 25°C para ambas especies, ya que estudios anteriores demuestran tener mayor porcentaje de eclosión entre 24 y 26°C (Lim *et al.*, 1985; Doi *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 2004; Barajas-Vega, 2006; Moreno-Figueroa, 2011), este rango de temperatura se ha reportado en vida silvestre durante los meses de abril a junio (24-28°C)

en las costas del Mar de Cortés en B.C.S., México, donde ambas especies *L. peru* y *L. argentiventris* se distribuyen (Díaz-Uribe *et al.*, 2004).

8.2. Valoración cuantitativa de huevos y larvas

8.2.1. Análisis bioquímicos, ácidos grasos y aminoácidos.

Los alimentos vivos, tal como el fitoplancton, rotíferos, *Artemia* y tipos variados de zooplancton, contienen una cantidad significativa de aminoácidos libres (Frolov *et al.*, 1991; Fyhn *et al.*, 1993; Helland, 1995). Por ejemplo, algunos copépodos calanoideos contienen más del doble de concentración de aminoácidos libres por gramo en base húmeda que la *Artemia* (Naess *et al.*, 1995). Consecuentemente, los aminoácidos libres pueden variar y modularse dependiendo del estadio de desarrollo y las condiciones de cultivo (Fyhn y Govoni, 1995).

Los estudios han demostrado que los lípidos y los aminoácidos son las principales fuentes de energía metabólica durante las etapas larvales embrionarias de peces marinos. Al nacimiento, las larvas tienen altos niveles de estas fuentes de energía, pero se reducen drásticamente durante la fase de alimentación endógena (Evans *et al.*, 2000). En este sentido, el contenido de lípidos polares (Coutteau *et al.*, 1997; Izquierdo *et al.*, 2001), vitaminas (Sandnes, 1991; Merchie) y Aminoácidos (Cowey, 1994; Rønnestad y *et al.*, 1998; Furuita *et al.*, 2003; Rønnestad *et al.*, 2003); han sido motivo de estudio como compuestos de gran relevancia para asegurar el crecimiento normal de las larvas en cultivo y para garantizar el éxito del cultivo.

Estudios han demostrado que la formulación basada en el contenido bioquímico de los huevos ha cumplido satisfactoriamente con los requerimientos nutricionales de las larvas de otras especies (Avila y Juario, 1987; Rønnestad, *et al.*, 1992; 1994; Fyhn y Govoni, 1995; Williams *et al.*, 2004; Aristizabal, 2006; Zavala, 2007).

En cuanto a los ácidos grasos, son componentes que se encuentran en cantidades menores en peces marinos, excepto los de la serie w-3, que son ácidos grasos predominantes en el ambiente marino.

Los lípidos son particularmente importantes en la nutrición del pez, no sólo por la energía calórica proporcionada, ya que excede el valor proporcionado por el catabolismo de las proteínas (Verreth, 1999), sino por proveer ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) y altamente insaturados (HUFAS) requeridos para el normal funcionamiento de la membrana celular (Izquierdo *et al.*, 1989; Sargent *et al.*, 1995).

Así mismo, son indispensables en los estadios tempranos de los peces ya que son la fuente principal de energía desde la formación de la gástrula hasta la eclosión del embrión (Vetter *et al.*, 1983). Los PUFAS de la serie 3 (w-3) mejoran el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas de peces marinos (Izquierdo *et al.*, 1992; Watanabe *et al.*, 1989). La cantidad de ácidos grasos requeridos difieren de especie a especie (Díaz, 2004). Los ácidos grasos de mayor importancia a considerar en un estudio de requerimiento nutricional en larvas de peces son: ácidos grasos esenciales w-3 y w-6, ácido docosahexaenóico (DHA, 22:6 w-3), ácido eicosapentaenóico (EPA, 20:5 w-3) y ácido araquidónico (AA 20:4 w-6). Estos ácidos grasos son esenciales ya que no pueden ser sintetizados por el organismo (Farndale B *et al.*, 1999), aunque se ha detectado que una buena cantidad de peces tiene la capacidad de transformar el ácido linolénico en DHA y EPA; sin embargo, la velocidad a la cual convierten es demasiado baja para satisfacer los requerimientos durante el desarrollo larval (Sargent *et al.*, 1995; Verreth, 1999).

El ADH tiene un alto valor biológico durante el desarrollo larval y es selectivamente incorporado dentro del tejido neural contribuyendo a la pigmentación, agudeza visual y órganos reproductivos (Takeuchi *et al.*, 1996; Watanabe, 1993).

El EPA juega un papel esencial en ciertas respuestas inmunológicas ya que está involucrado en la producción de eicosanoides, que a su vez permiten la proliferación de células T y B. Las células T son las responsables de controlar la respuesta inmunológica, secreción de citocinas, necesarias para la liberación de anticuerpos (inmunoglobulinas) por parte de las células B, así como de reconocer y destruir patógenos (Fast *et al.*, 2006; Secombes *et al.*, 1994).

Por lo mismo, la biomembrana de las células en peces contiene principalmente ácidos grasos de cadena larga (mayor o igual a 20 carbonos), tal es el caso de los HUFAS, principalmente el DHA y EPA (Díaz, 2004).

Los requerimientos de AGAI w-3 son mayores en estados larvarios por el rápido crecimiento y el desarrollo temprano de células especializadas y tejidos, Algunos autores han reportado los requerimientos de AGAI w-3 para 5 especies de larvas de peces marinos desde 1.2 - 3.9% de peso seco. (Estevez y Kanazawa, 1996; Izquierdo *et al.*, 1989; Watanabe y Kiron, 1995).

Takeuchi *et al.* (1994), estudiaron los requerimientos de HUFAS en peces marinos y sugieren que el DHA es más eficaz que el EPA como promotor del desarrollo y sobrevivencia larval. Otros estudios han demostrado que una relación de 1.13 es suficiente para aumentar la sobrevivencia de las larvas (Watanabe *et al.*, 1989). También se ha demostrado una mayor sobrevivencia y vitalidad en larvas de besugo (*Pagellus bogaraveo*) alimentadas con artemia enriquecidas con DHA (relación DHA/EPA=3,8) vs aquellas alimentadas con artemia enriquecida con EPA. (Takeuchi *et al.*, 1991)

El AA tiene un efecto en la sobrevivencia, siendo un importante promotor del crecimiento de larvas y post-larvas marinas, mejora la resistencia al estrés y aplicado en las proporciones óptimas junto al EPA y DHA se logra una normal metamorfosis y pigmentación de la piel (Estévez *et al.*, 1997).

En experimentos realizados con larvas de dorada (*Sparus aurata*) se observó una mayor sobrevivencia en larvas alimentadas con rotíferos enriquecidos con AA que con los rotíferos enriquecidos con DHA (Koven *et al.*, 2001; Sargent *et al.*, 1999), esto probablemente se deba a que el AA está involucrado en la síntesis de eicosanóides con alta actividad biológica denominados serie-2 prostanoïdes y serie 4 leucotrienos y tromboxanos (Copeman *et al.*, 2002; Estévez *et al.*, 1997; Koven *et al.*, 2001). Estos metabolitos están involucrados en varios procesos de regulación celular incluyendo el control de fluidos y el flujo de electrolitos, procesos de coagulación, anti-inflamación, sistema cardiovascular, funciones reproductivas, en la modulación de la transmisión en el sistema neural, el funcionamiento del hipotálamo y regulación del flujo sanguíneo cerebral (Bell *et al.*, 1994; Sargent *et al.*, 1997), así como la producción de hormonas involucradas en la metamorfosis y la pigmentación (Estévez *et al.*, 1997).

El mayor porcentaje de supervivencia en ambas especies se observó en el tratamiento de rotíferos enriquecidos con ICE 20, seguido de los tratamientos de Rotíferos y Copépodos alimentados con *Navicula* sp. En diferentes estudios, el crecimiento y la supervivencia de organismos marinos, ha sido exitoso cuando se utiliza niveles por arriba del 4% de EPA y malo cuando tiene menos del 3% (Léger *et al.*, 1986; Izquierdo *et al.*, 2000). Sin embargo, el contenido de EPA (base seca) también depende del porcentaje total de lípidos, por lo que un enriquecimiento con DHA puede compensar la falta de EPA en la dieta.

Aun cuando la supervivencia fue mayor para ICE 20, cabe mencionar que el segundo en mayor supervivencia fue el tratamiento de copépodos alimentados con *Navicula* sp. Izquierdo *et al.* (2000) mencionan los resultados favorables en supervivencia larval al utilizar presas naturales.

El tiempo de supervivencia de las larvas, independientemente de la alimentación, está directamente relacionado con la calidad de las reservas vitelinas. Álvares-Lajonchere (2006) menciona que un alto porcentaje de supervivencia larval es resultado de de la alimentación de los reproductores. Izquierdo *et al.* (2001) y Watanabe y Vassallo- Agius (2003) ponen de

manifiesto la importancia de nutrientes de naturaleza muy diversa presentes en la dieta de reproductores de varias especies de peces teleósteos. Así, los contenidos de lípidos y proteínas (Tandler *et al.*, 1995; Fernández-Palacios *et al.*, 1997), las vitaminas A, C y E (Blom y Dabrowski, 1995; Fernández-Palacios *et al.*, 1998; Furuita *et al.*, 2003) y algunos carotenoides (Harris, 1984) han demostrado jugar un papel decisivo en la calidad de las puestas. El haber obtenido una supervivencia de siete días post eclosión y que el saco de vitelo durara más de 24hpe, nos indica una buena calidad del desove (Álvarez-Lajonchere, 2006; Barajas-Vega, 2006).

Los lutjánidos, por tratarse de peces de ontogenia indirecta, presentan una problemática más compleja al momento de la primera alimentación, debido a la necesidad de aprender a cazar con rapidez una vez que las reservas de aminoácidos libres se han agotado totalmente; problemática que se agudiza por requerir como primer alimento presas vivas de tamaño muy pequeño. Por ello la importancia de garantizar desoves de calidad para que las futuras larvas enfrenten aquellos cambios radicales durante su desarrollo, con mayores probabilidades de supervivencia (Falk- Petersen, 2001).

En el género *Lutjanus*, se reconocen principalmente dos periodos de alta mortalidad larvaria durante su cultivo, el primero corresponde al agotamiento del saco vitelino y gota de aceite, marcando el comienzo de la primera alimentación (alimentación exógena), de 3 a 8 días posteriores a la eclosión, el segundo periodo toma lugar alrededor del día 20 posterior a la eclosión, causado por cambios fisiológicos al comienzo de la metamorfosis (Lim *et al.* 1985; Emata *et al.*, 1994).

En el cultivo de peces marinos se ha buscado que el alimento no solamente garantice la supervivencia larval sino que también promueva su rápido crecimiento. Sin embargo, es primordial atender durante esta etapa de desarrollo temprano la supervivencia larval y formación de órganos que le permitan una adaptación a su ambiente, facilitando la adquisición de alimento que les permita desarrollarse sanamente. En este trabajo observamos que los nauplios que contengan concentraciones de 9.3 a 10.4 % de EPA, mejoran el

crecimiento y la supervivencia de larvas, esto mismo se reporta para la especie de *Monrone saxatilis*, en un estudio que utilizaron diferentes concentraciones de EPA (Civera, 2004).

IX. CONCLUSIONES

- Bajo condiciones optimas de parámetros fisicoquímicas se observarán tasas de eclosión mayores al 94% y una supervivencia larval en ambas especies de aproximadamente 144hpe.
- Según la bibliografía, la apertura bucal máxima que muestran ambas especies, les permite capturar presas menores de 100 μm durante su primera alimentación. Por lo tanto en el presente estudio se descarta al tamaño de presa como causa de mortalidad.
- La mortalidad posiblemente este asociada a la carente composición nutricional.
- No se observó evidencia que el alimento vivo influya directamente en la absorción del saco vitelino, este fue completamente absorbido antes de la primer alimentación.
- Por el contrario, las observaciones de la gota lipídica en algunos tratamientos (Rot + ICE 50, Rot + ICE 20, Rot + Nanno, Cop + msp1), indica el posible efecto directo que tiene el alimento sobre la absorción de ésta.
- En cuanto a la composición bioquímica del alimento, se concluye que no necesariamente se verá reflejada en la composición de las larvas, sobre todo tratándose de alimentos enriquecidos como los utilizados en este estudio, posiblemente por oxidación o descuido del protocolo de enriquecimiento estas propiedades se ven alteradas.
- Un alimento enriquecido aunque favorezca la supervivencia larval, no se observo mayores tasas de crecimiento del cultivo.
- Si bien el ICE 20 presenta el mayor porcentaje de supervivencia, cabe señalar que presas naturales como el copépodo, también muestra porcentajes aceptables de supervivencia. Por lo cual es necesario prestar mayor atención en el estudio y producción de presas naturales como fuente de primera alimentación.
- Por medio del alimento vivo se puede garantizar cumplir con el requerimiento de ácidos grasos y aminoácidos esenciales de la larva, ya sea con enriquecedores comerciales o naturales.

X. LITERATURA CITADA

Allen, G.R. 1985. FAO species catalogue. Snappers of the world. An annotated and illustrated catalogue of lutjanid species known to date. FAO *Fish Synop.* (125) 6:208p.

Allen, G.R., D.R. Robertson. 1994. Fishes of the tropical Eastern Pacific. Univ. Hawaii Press, Honolulu. 332p.

Alvarez-Lajonchère L., O. Hernández. 2011. Producción de peces estuarinos para un Centro en America Latina y el Caribe: diseño, operación y tecnologías. World Aquaculture Society Baton Rouge. E.U.A. 424p.

Atencio, V.J., V.M. Pertuz Buelvas, F. Pérez Espitia, R. Ortiz, S.C. Pardo Carrasco. 2010. Manejo de la primera alimentación de dorada *Brycon sinuensis* ofreciendo larvas de bocachico *Prohilodus magdalenae*. *RCCP*. 23(3):317–324.

Avilés-Quevedo, A. 2005. Calidad de huevos y larvas según el manejo de los reproductores de la cabrilla arenera (*Palabrax maculatofasciatus*, Pisces: Serranidae). Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, España. 187p.

Balcazar J.L., I. de Blas, I. Ruíz-Zarzuela, D. Cunningham, D. Vendrell, J.L. Múzquiz. 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Vet Microbio*. 114(3-4):173-186.

Balon, E.K. 1985. Early life histories of fishes: New developmental, ecological and evolutionary perspectives. Dr W. Junk Publishers, Dordrecht. 280p.

Barajas-Vega, O.R. 2006. Desarrollo larvario del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) con énfasis en la temperatura. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guadalajara. Guadalajara Jalisco, México.

Bell, J.G., D.R. Tocher, F.M. Macdonald, J.R. Sargent. 1994. Effects of diets rich in linoleic (18:2n - 6) and alpha-linolenic (18:3n - 3) acids on the growth, lipid class and fatty acid compositions and eicosanoid production in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiol Biochem*. 13(2):105-118.

Bell, J.G., L. McEvoy, A. Estevez, R.J. Shields, J.R. Sargent. 2003. Optimising lipid nutrition in first-feeding flatfish larvae. *Aquaculture*. 227 (1-4):211–220.

Bell, M.V., L.A. McEvoy, J.R. Navarro. 1996. Deficit of dicosahexanoyl phospholipid in eyes of larval sea bass fed an essential fatty acid deficient diet. *J Fish Biol.* 49: 941-952.

Blaxter, J.H.S., J.R. Hunter. 1982. The biology of the clupeoid fishes. En: Blaxter (ed.) *Mortality advances in marine biology*. Academic Press, London. 223p.

Castell, J., T. Blair, S. Neil, K. Howes, S. Mercer, J. Reid, W. Young-Lai, B. Gullison, P. Dhert, S. Patrick. 2003. The effect of different HUFA enrichment emulsions on the nutritional value of rotifers (*Brachionus plicatilis*) fed to larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquacult Int.* 11(1-2):109–117.

Cestarolli, M., M. Portella. 1997. Determinação do “ponto de não retorno” alimentar em larvas de curimatá *Prochilodus scrofa* (Pisces, Teleostei). En: VIII Simposio Brasileiro de Aquicultura. Memorias: *ABRAQ* 71p.

Civera–Cerecedo, R., C.A. Álvarez–González, F.J. Moyano–López. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. En: Cruz–Suárez, LE, D. Ricque–Marie, M.G. Nieto–López, D. Villarreal, U. Scholz, M. González. 2004. Avances en nutrición acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de nutrición Acuícola, Hermosillo, Sonora, México. 87 p.

Conceição, L.E.C., D.F. Houlihan, J.A.J. Verreth. 1997. Fast growth, protein turnover and costs of protein metabolism in yolk-sac larvae of the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Fish Physiol Biochem.* 16:291-302.

Coutteau, P. 1996. Determination of Fatty Acid Requirements During Weaning and First Ongrowing of Marine Fish Using a Standard Diet. En: Gajardo, G., Coutteau, P. (eds.) *Improvements of the Commercial Production of Marine Aquaculture Species:*

Proceedings of a Workshop on Fish and Mollusc Larvi culture. Editorial Creces. Santiago, Chile. 45p.

Coutteau, P., P. Sorgeloos. 1997. Manipulation of dietary lipids, fatty acids and vitamins in zooplankton cultures. *Freshwater Biol.* 37:501–512.

Cowey, C.B. 1994. Amino acids requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture.* 124: 1-11.

Cowey, C.B., J.R. Sargent. 1979. Nutrition. En: Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (eds.) *Fish Physiology Academic Press Vol. III. E.U.A.* 1p.

Cruz-Romero, M., E.A. Chávez, E. Espino, A. García. 1996. Stock assessment of a snapper complex (*Lutjanus spp.*) of the Eastern Pacific. En: Arreguin-Sánchez, S., Munroe, J.L., Balgos, M.C., Pauly. (eds.) *Biology, Fisheries and Culture of Tropical Groupers and Snappers.* Universidad Autónoma de Campeche. 48p.

Cruz-Romero, M., J.Espino-Bar, A. Mimbela-López, L. García-Boa, L. Obregón-Alcaraz, E. Girón-Botello. 1991. *Biología reproductiva de tres especies de Lutjánidos en Colima.* C.R.I.P. Manzanillo, Colima. I.N.P., México. 118p.

Dendrinis, P., J.P. Thorpe. 1987. Experiments on the artificial regulation of the amino acid and fatty acid content in food organism to meet the assessed nutritional requirements of larval, post-larval and juvenile dover sole (*Solea solea*). *Aquaculture.* 61:121-154.

Dhert, P., G. Rombaut, G. Suantika, P. Sorgeloos. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture.* 200:129-146.

Díaz-Uribe, J. G., E.A. Chávez, J.F. Elorduy. 2004. Assessment of the Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) fishery of the Southern Gulf of California. *Cienc Mar.* 30(4):561:574.

Dumas, S., M.O. Rosales-Velásquez, M. Contreras-Olguín, D.E. Hernández-Ceballos, N. Silverberg. 2004. Gonadal maturation in captivity and hormone induced spawning of the Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Aquaculture*. 234:614-623.

Duncan, N., Z. Ibarra-Zatarain, I. Abdo-de la Parra, G. Velasco, A. García-Ortega, R. Peña, P. Pintos, H. Skyol, M. Rosales, D. Hernández, S. Dumas. 2002. Larval culture of the Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) a preliminary study. VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, México.

Ehrlich, K.F. 1974. Chemical changes during growth and starvation of herring larvae. En: Blaxter, J.H.S. (ed.) The early life history of fish. Springer-Verlag, New York. 301p.

Figuroa-Lucero, G., M.C. Hernández-Rubio, G. Ríos-Becerril, O.R. Meza-Gonzáles, J.L. Arredondo-Figuroa, T. Castro-Barrera, I.A. Barriga-Sosa, A. Rodríguez-Canto. 2004a. Effect of food type on growth and survival of *Chirostoma riojai* (Solórzano y López, 1965) (Atheriniformes: Atherinopsidae) during early development. *J Biol Res*. 2:93-99.

Figuroa-Lucero, G., O.R. Meza-Gonzáles, M.C. Hernández-Rubio, I.A. Barriga-Sosa, J.L. Rodríguez-Canto, J.L. Arredondo-Figuroa. 2004b. Growth, survival and mandible development in the larvae of the schrotfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Atheriniformes: Atherinopsidae) under laboratory conditions. *Aquaculture*. 242:689-696.

Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter, V. A. Niem. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: Pacífico-Oriental. FAO, Roma. 2390p

Folch J., M. Lee, G.H. Sloane Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem*. 226(1):497-509.

Fukuhara, O. 1990. Effects of temperature on yolk utilization, initial growth and behaviour of unfed marine fish-larvae. *Mar Biol.* 106(2):169-174.

Fukusho, K. 1980. Mass production of copepod, *Tigriopus japonicus* in combination culture with a rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed ω -yeast as food source. *Bull Jap Soc Sci Fish.* 46:625-629.

Furuita, H., K. Konishi, T. Takeuchi. 1999. Effect of different levels of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in *Artemia* nauplii on growth, survival and salinity tolerance of larvae of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture.* 170:59–71.

Furuita, H., H. Tanaka, T. Yamamoto, N. Suzuki, T. Takeuchi. 2003. Supplemental effect of vitamin A in diet on the reproductive performance and egg quality of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquacult Res.* 34:461–468.

Furuita, H., T. Takeuchi, T. Watanabe, H. Fujimoto, S. Sekiya, K. Imaizumi. 1996. Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Sci.* 62(3): 372–379.

Furuita, H., T. Yamamoto, T. Shima, N. Suzuki, T. Takeuchi, 2003. Effect of arachidonic acid levels in broodstock diet on larval and egg quality of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture.* 220: 725-735.

Fyhn, H.J., J.J. Govoni. 1995. Endogenous nutrient mobilization during egg and larval development in two marine fishes. *Sci Symp.* 201:64-69.

Fyhn, H.J., R.N. Finn, S. Helland, I. Rønnestad, E.R. Lomslund. 1993. Nutritional value of phyto and zooplankton as live food for marine fish. En: Reinersten, H., Dahle, L.A., Jorgensen, L., Tvinnereim, K. (eds.) *Fish Farming Technology.* Balkema, Rotterdam. 121p.

García de la Banda, I., O. Chereguini, I. Rasines. 1992. Influencia de la adición de bacterias lácticas en el cultivo larvario de rodaballo (*Scophthalmus maximus*). *Boletín Instituto Español de Oceanografía*. 8:247-254.

Garduño-Dionate, M., M.L. Unzueta-Bustamante, M. Hernández-Martínez, R.M. Lorán-Nuñez, F.R. Martínez-Insunza. 2010. Crecimiento de huachinangos juveniles silvestres (*Lutjanus peru*) en un encierro de engorda en Puerto Vicente Guerrero, Guerrero, México. *Ciencia Pesquera*. 1(18):93-96.

Gatesoupe, F.J., C. Léger, M. Boudon, R. Metailler, P. Luquet. 1977. Alimentation lipidique du rodaballo (*Scophthalmus maximus*, L.). II. Influence de la supplementation en esters methyliques de l'acide lenolenique es de la complementation en acides gras de la serie n-3 sur la croissance. *Ann Hydrobiol*. 8:247-254.

Govoni, J.J., G.W. Boehlert, Y. Watanabe. 1986. The physiology of digestion in fish larvae. *Environ Biol Fishes*. 16:59-77.

Gracia-López, V., M. Kiewek-Martínez, M. Maldonado-García. 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture*. 237(1-4):485-495.

Gratzfeld-Huesgen, A. 1999. Sensitive and Reliable Amino Acid Analysis in Protein Hydrolysates using the Agilent 1100 Series HPLC. Pharmaceutical Technical Note Agilent Technologies. Publication Number 5968-5658E. 12p.

Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot, R. Metailler. 2004. Nutrición y alimentación de peces y crustaceos. Editorial Mundi-Prensa. INRA. 475p.

Hamasaki K., M.A. Suprayudi, T. Takeuchi. 2002. Mass mortality during metamorphosis to megalops in the seed production of mud crab *Scylla serrata* (Crustacea, Decapoda, Portunidae). *Fisheries Sci*. 68(6):1226-1231.

- Hawkins, A.J.S., T.J. Hilbish. 1992. The cost of cell volume regulation: protein metabolism during hyperosmotic adjustment. *J Mar Biol Assoc.* 72(3): 569-578.
- Hearn, R. 1996. Researchers take critical step in protecting, producing red snappers. *Aquac Mag.* 22(6):6-9
- Heming, T. A., R.K. Buddington. 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. *Fish Physiol.* 11(A):407-446p.
- Hernández-Martínez, M., T. Castro-Barrera, M. Garduño-Dionate, G. Castro-Maejía, J.L. Baltierra-Rodríguez. 2009. Efecto del alimento vivo enriquecido con *Lactobacillus casei* en la sobrevivencia y crecimiento de larvas y juveniles de *Chirostoma estor* (Pisces: Atherinopsidae). *Cienc Pesq.* 17(2):6-11.
- Herrera-Ulloa, Á., J. Chacón-Guzmán, G. Zúñiga-Calero, Ó. Fajardo, y J.-M. Ricardo 2009. Acuicultura de pargo la mancha *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en Costa Rica dentro de un enfoque ecosistémico. *Rev Mar.* 1:197–213.
- Houlihan, D.F., C.G. Carter, I.D. McCarthy. 1995. Protein synthesis in fish. En: Mommsen, T., Hochachka, P. (eds.) *Biochemistry and molecular biology of fishes.* Elsevier Press. 191p.
- Ishizaki, Y., R. Masuda, K. Uematsu, K. Shimizu, M. Arimoto, T. Takeuchi. 2001. The effect of dietary docosahexaenoic acid on schooling behavior and brain development in larval yellowtail. *J Fish Biol.* 58(6):1691-1713.
- Izquierdo, M. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult Nutr.* 2:183-191.
- Izquierdo, M. S., H. Fernandez-Palacios, A. G. J. Tacon. 2001. Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture.* 197(1-4): 25-42.
- Izquierdo, M.S. 1996. Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquacult Nutr.* 2(4):183-191.

Izquierdo, M.S., J. Socorro, L. Arantzamendi, C.M. Hernandez-Cruz. 2000. Recent advances in lipid nutrition in fish larvae. *Fish Physiol Biochem.* 22:97-107.

Izquierdo, M.S., T. Arakawa, T. Takeuchi, R. Haroun, T. Watanabe. 1992. Effect of n-3 HUFA levels in *Artemia* on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture.* 105:73-82.

Izquierdo, M.S., T. Watanabe, T. Takeuchi, T. Arakawa, C. Kitajima. 1989. Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids. *Bull Japan Soc Scien Fish.* 55(5): 859-867.

Izquierdo-Córser, P., G. Torres Ferrari, E. González Díaz, Y. Barboza-Martínez, E. Márquez Salas, M. Allara Cagnasso. 1999. Composición de ácidos grasos y contenido de humedad en doce especies de pescado de importancia comercial en Venezuela. *Rev Cient-Fac Cien V.* 11(6):463-468.

Jomori, R. 2001. Desenvolvimento, sobrevivência e aspectos econômicos de produção de alevinos de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) directamente em viveiros ou com diferentes períodos de cultivo inicial de larvas em laboratório. Tesis de Maestría. Universidad e Estadual Paulista. Centro de Aquicultura. 69p.

Kamler, E. 1976. Variability of respiration and body composition during early developmental stages of carp. *Pol Arch Hydrobiol.* 23:431-485.

Kanazawa, A. 1985. Essential fatty acid and lipid requirement of fish. En: Cowey, C.B., Mackie, A.M., Bell, J.G. (eds.) Nutrition and feeding in fish. Academic Press, London. 281p.

Kanazawa, A. 1993. Nutritional mechanisms involved in the occurrence of abnormal pigmentation in hatchery reared flatfish. *J. World Aquaculture Soc.* 24:162-166.

Kanazawa, A., S. Teshima, M. Sakamoto. 1985. Effects of dietary bonito-egg phospholipids and some phospholipids on growth and survival of the larval ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Appl. Ichthyol.* 4:165–170.

Kanazawa, A. 1997. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish. *Aquaculture.* 155: 129-134.

Koven, W., R. van Anholt, S. Lutzky, I. Ben Atia, O. Nixon, B. Ron, A. Tandler. 2003. The effect of dietary arachidonic acid on growth, survival and cortisol levels in different age gilthead seabream larvae (*Sparus aurata*) exposed to handling or daily salinity change. *Aquaculture.* 228:307-320.

Koven, W., Y. Barr, S. Lutzky, I. Ben-Atia, R. Weiss, M. Harel, P. Behrens, A. Tandler. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20: 4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture.* 193:107–122.

Koven, W.M., A. Tandler, W. Kissil, D. Sklan. 1992. The importance of n-3 highly unsaturated fatty acids for growth in larval *Sparus aurata* and their effect on survival, lipid composition and size distribution. *Aquaculture.* 104:91–104.

Lavens P., P. Sorgeloos. 1998. Present status and prospects of the use of Artemia cysts and biomass in shrimp farming. En: Ruas de Moraes, F., Fernandes de Castro, P., Souza E. (eds.) Congresso Sul-Americano de Aquicultura I. Memorias del X Simposio Brasileiro de Aquicultura. Brasil. 147p.

Lavens, P., P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. Roma. 295p.

Léger P., D.A. Bengtson, K.L. Simpson, P. Sorgeloos. 1986. The use and nutritional value of artemia as a food source. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev.* 24:521-623.

Lie, Ø, Haaland, H. Hemre, H.I. Maage, A. Lied, E. Rosenlund, G. Sandnes, K., Olsen, Y. 1997. Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast and emulsified oil to microalgae. *Aquacult Int.* 5:427-438.

Logato, P. 2000. Nutrição e alimentação de peixes de agua doce. Universidade Federal de Lavras-UFLA. Minas Gerais.128p.

Lubzens, E., Tandler, A., Minkoff, G. 1997. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia.* 186/187: 387-400.

Maeda-Martínez, A. 1981. Composición, abundancia, diversidad y alimentación de la ictiofauna, en tres lagunas costeras del Golfo de California. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Nuevo León. 140p.

Marsh, J., D. Weinstein. 1966. Simple charring method for determination of lipids. *J Lipids Res.* 7:574-592.

Martínez-Lagos, R.A. 2003. Maduración y desove del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) en condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S. México.117p.

Martínez-Palacios, C.A., M. Toledo-Cuevas, E. Racotta-Dimitrov, M.G. Ríos-Duran, E. Palacios-Metchenoc, J. Fonseca-Madrigal, A. Campos-Mendoza, L.G. Ross. 2006. Aspectos nutricionales del pescado blanco de Pátzcuaro (*Chirostoma estor estor* Jordan 1879). En: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villareal-Cavazos, D.A., Puello-Cruz, A.C., García-Ortega, A. (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VIII Simposium Internacional Acuícola. Monterrey, Nuevo León, México. 524p.

Moffat, N.M. 1981. Survival and growth of northern anchovy larvae on the low zooplankton densities as affected by the presence of a *Chlorella* bloom. *Réun Cons Int Explor Mer.* 178:475-480.

- Montero, D., L. Tort, M.S. Izquierdo, L. Robaina, J.M. Vergara. 1998. Depletion of serum alternative complement pathway activity in gilthead seabream caused by alpha-tocopherol and n-3 HUFA dietary deficiencies. *Fish Physiol Biochem.* 18:399–407.
- Moore, D.S., G.P. McCabe. 1999 Introduction to the Practice of Statistics. W. H. Freeman. E.U.A. 709p.
- Moroz, I.Y., B.P. Luzhin. 1976. Dynamics of metabolism in the embryonic and early post-embryonic development of the carp *Cyprinus carpio*. *J Ichthyol.* 16: 964-970.
- Mourente, G., D.R. Tocher. 1992. Effect of weaning onto a pelleted diet on docosahexaenoic acid (22:6n-3) levels in brain of developing rodaballo (*Scophthalmus maximus L.*). *Aquaculture.* 105:363-377.
- Muhlia-Melo, A. Guerrero-Tortolero, D.A. Pérez-Urbiola, J.C., R. Campos-Ramos. 2003. Results of spontaneous spawning of yellow snapper (*lutjanus argentiventris* Peters, 1869) reared in inland ponds in La Paz, Baja California Sur, México. *Fish Physiol Biochem.* 28:511-512.
- Muller-Feuga, A. 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Jour Appl Ichthyol.* 12(3-5):527-534.
- Nakagawa, H., Y. Tsuchiya. 1971. Studies on the rainbow trout eggs *Salmo gairdneri irideus*. III. Determination of lipid composition of oil globule and lipoprotein. *J Fac Fish Anim Husb Hiroshima Univ.* 10: 11-19.
- Nanton D, Castell J. 1998. The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of the harpacticoid copepod, *Tisbe sp.*, for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture* 163:251-261.
- Nanton, D.A., J.D. Castell. 1999. The effects of temperature and dietary fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture.* 175:167-181.

- Nash, C.E., A.J. Novotny. 1995. Production of aquatic animals: fishes. Elsevier Science BV Amsterdam. 405p.
- Ogle, J., J. Lotz. 2000. Culture of Red Snapper. *GAA*. 3: 23-26.
- Olsen, Y., T. van der Meeren, K.Y. Reitan. 2004. First feeding technology. En: Moksness, E., Kjorsvik, E. (eds.) Culture of Cold-water Marine Fish. Backwell Publishing Ltd, Oxford. 291p.
- Olsen, Y., J.R. Rainuzzo, K.I. Reitan, O. Vadstein. 1993. Manipulation of lipids and ω 3 fatty acids in *Brachionus plicatilis*. En: Reinertsen, H., Dahle, L.A., Jørgensen, L., Tvinnereim, K. (eds.) Proceedings of the First International Conference on Fish Farming Technology, Trondheim, Norway. 101p.
- Park, H., V. Puvanendran, A. Kellett, C. Parrish, J. Brown. 2006. Effect of enriched rotifers on growth, survival, and composition of larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Ices J Mar Sci*. 63(2):285–295.
- Portella, M., M. Tasser, R. Jomori, D. Carneiro. 2002. Substituição do alimento vivo na larvicultura. Congresso Sul-Americano de Aquicultura I. Memorias del XII. Simposio Brasileiro de Aquicultura. Brasil. 190p
- Rainuzzo, J.R., Olsen, G. Rosenlund. 1989. The effect of enrichment diets on the fatty acid composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*. 79(1-4):157-161.
- Retain, K.I., Bolla, S., Y. Olsen. 1991. Ingestion and assimilation of microalgae in yolk sac larvae of halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.). *Eur Aquac Soc Spec Pub*. 15:332-334.
- Retain, K.I., S. Bolla, Y. Olsen. 1994. A study of the mechanism of algal uptake in yolk sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *J Fish Biol*. 44:303-310.

Reyna-Trujillo, M.M. 1994. Desarrollo gonádico y época de desove del "huachinango" (*Lutjanus peru*) Nichols y Murphy 1922 (Pisces: Lutjanidae) en la bahía de La Paz, B.C.S., México. Tesis de Licenciatura, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco. 73p.

Rodríguez, C., J. Cejas, M. Martín, P. Badía, M. Samper, A. Lorenzo. 1998. Influence of n-3 highly unsaturated fatty acid deficiency on the lipid composition of broodstock gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) and on egg quality. *Fish Physiol Biochem.* (18):177–187.

Rønnestad, I., H.J. Fyhn, K. Gravningen. 1992. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar Biol.* 114: 517-525.

Rønnestad, I., R.R. Robertson, H.J. Fyhn. 1996. Free amino acids and protein content in pelagic and demersal eggs of tropical marine fishes. En: MacKinlay, D.D., Eldridge, M. The Fish Egg. American Fisheries Society, Physiology Section, Bethesda. 81.

Rønnestad, I., S. Tonheim, H. Fyhn, C.R. Rojas-García, Y. Kamisaka, R.N. Koven, B.F. Finna, Y. Terjesend, Y.. Barrd, L.E.C. Conceicao. 2003. The supply of amino acids during early feeding stages of marine fish larvae: a review of recent findings. *Aquaculture.* 227:147–164.

Rønnestad, I., W.M. Koven, A. Tandler, M. Harel, H.J. Fyhn. 1998. Utilization of yolk fuels in developing eggs and larvae of european sea bass (*Dincentrarchus labrax*). *Aquaculture.* 162: 157-170.

Salhi, M., S. Kolkovski, M.S. Izquierdo, A. Tandler. 1995. Inclusion of lecithin and polar or neutral lipids high in n-3 HUFA in microdiets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *EAS Special Publication* (24):184–187.

Salhi, M., C.M. Hernandez-Cruz, M. Bessonart, M.S. Izquierdo, H. Fernandez-Palacios. 1991. Effect of different dietary polar lipid levels and different n-3 HUFA

content in polar lipids on gut and liver histological structure of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*. 179: 253-263.

Santamaría-Miranda, A., J.F. Elorduy-Garay, M. Villalejo-Fuerte, A.A. Rojas-Herrera. 2003. Desarrollo gonadal y ciclo reproductivo de *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) en Guerrero, México. *Rev Biol Trop*. 51: 489-502.

Santamaría-Miranda, A., M. Saucedo-Lozano, M.N. Herrera-Moreno, J.P. Apún-Molina. 2005. Hábitos alimenticios del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* y del pargo rojo *Lutjanus colorado* (Pisces: Lutjanidae) en el norte de Sinaloa, México. *Rev Biol Mar Oceanogr*. 40(1):33–44.

Sargent, J. R., D.R. Tocher, J.G. Bell. 2002. The Lipids. En: Sargent, J. R., Tocher D.R. (eds.) *Fish Nutrition*. Elsevier Science. Tercera edición. UK. 181p.

Sargent, J.R., J.G. Bell, M.V. Bell, R.J. Henderson, D.R. Tocher. 1995. Requirement criteria for essential fatty acids. *J Appl Ichthyol*. 11:183-198.

Sargent, J.R., L.A. McEvoy, A. Estevez, G. Bell, M. Bell, J. Henderson, D. Tocher. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: Current status and future directions. *Aquaculture*. 179:217–229.

Sargent, J.R., L.A. McEvoy, J.G Bell. 1997. Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*. 155:117-127.

Sargent, J.R., R.J. Henderson, D.R. Trocher. 1989. The lipids. En: Halver, J. (ed.) *Fish nutrition*. Academic Press, Segunda edición. UK.153p.

Sato, N., Murata, N. 1988. Membrane lipids. *Meth. Enzymol*. 167-237.

Schipp, G., J. Bosman, A. Marshall. 1999. A method for hatchery culture of tropical calnoid copepods *Acartia sp.* *Aquaculture*. 174: 81-88.

Scout, A.P., C. Middlton. 1979. Unicellular algae as a food for turbot (*Scophthalmus maximus L.*) larvae- the importance of dietary long chain polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*. 18:227-240.

Sipaúba-Tavares, L., O. Rocha. 2003. Produção de plancton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. RiMa. San Carlos, Brasil. 106p.

Sorgeloos, P., P. Lavens, P. Léger, W. Tackaert. 1991. State of the art in larviculture of fish and shellfish. En: Lavens, P. Sorgeloos, P. Jaspers, E. Ollevier, F. (eds.) Fish and Crustacean Larviculture Symposium, Vol. 15. European Aquaculture Society, Gent, Belgium. 3p.

Srivastava, A., K. Hamre, J. Stoss, R. Chakrabarti, S.K. Tonheim. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*. 254(1-4):534–543.

Støttrup, J.G. 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquacult Res*. 31:703-711.

Strøttrup, J., N. Norsker. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 155: 231-247.

Suzuki, K., S. Hioki. 1979. Spawning behavior, eggs and larvae of the Lutjanid fish *Lutjanus kasmira* in an aquarium. *Jpn J Ichthyol*. 2(26):161- 166.

Takeuchi, T., K. Zheng, K. Yoseda, J. Hirokawa, T. Watanabe. 1994. Nutritive value of DHA-enriched rotifer for larval cod. *Nippon Suisan Gakk*. 60:641–652.

Takeuchi, T., M. Toyota, T. Watanabe. 1991. Dietary value to red sea bream of *Artemia nauplii* enriched with EPA and DHA: Abstracts of the Annual Meeting of Japanese Society of Scientific Fisheries, Tokyo. 243p.

- Takeuchi, T., R. Masuda, Y. Ishizaki, T. Watanabe, M. Kanematsu, K. Imaizumi, K. Tsukamoto. 1996. Determination of the requirement of larval striped jack for eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid using enriched *Artemia* nauplii. *Fish Sci.* 62:760-765.
- Tamaru, C., H. Ako, L. Pang. 1998. Enrichment of artemia for use in freshwater ornamental fish production. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture. 21p.
- Tandler, A., M. Harel, W.M. Koven, S. Kolkovski. 1995. Broodstock and larvae nutrition in gilthead seabream *Sparus aurata*: New findings on its mode involvement in improving growth, survival and swimbladder inflation. *Is J Aquacult Bamidgeh.* 47:95-111.
- Tandler, A., T. Watanabe, S. Satoh, K. Fukusho. 1989. The effect of food deprivation on the fatty acid and lipid profile of red seabream (*Pagrus major*) larvae. *Br J Nutr.* 62:349-361.
- Thorsen, A., H.J. Fyhn, R. Wallace. 1993. Free amino acids as osmotic effectors for oocyte hydration in marine fishes. En: Walther, B.T., Fyhn, H.J. Physiology and biochemistry of fish larval development. Universidad de Bergen. 94p.
- Tocher, D.R., G. Mourente, J.R. Sargent. 1997. The use of silages prepared from fish neural tissues as enrichers for rotifers (*Brachionus plicatilis*) and *Artemia* in the nutrition of larval marine fish. *Aquaculture.* 148:213-231.
- Tucker, J.W. 1998. Marine Fish Culture. Kluwer Academic Publishers. London, UK. 750p.
- Vetter, R.D., R.E. Houdson, C. Arnold. 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marinefish eggs the red drum *Scienops ocellata*. *Can J Fish Aquat Sci.* 40:627-634.

- Watanabe, T. 1982 Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on w3 highly unsaturated fatty acids. *Bull Jap Soc Sci Fish.* 48:1775-1782.
- Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aqua Soc.* 24(2):152-161.
- Watanabe, T., V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture.* 124:223-251.
- Watanabe, T., R. Vasallo-Agius. 2003. Broodstock nutrition research on marine finfish in Japan. *Aquaculture.* 227:35-61.
- Watanabe, T., V. Kiron. 1995. Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream. En: Bromage N.R., Roberts, R. J. (eds). Broodstock management and egg and larval quality. University Press, Cambridge. 424p.
- Watanabe, T., C. Kitajima, S. Fujita. 1983. Nutritional values of marine live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture.* 34:115-145.
- Watanabe, T., M.S. Izquierdo, T. Takeuchi, S. Satoh, C. Kitajima. 1989. Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream. *Nippon Suisan Gakk.* 55(9):1635-1640.
- Watanabe, W., O. Ellis, E.P. Ellis, S.C. Chavez, J. Manfredi, C. Hagood, R.W. Sparsis, M.S. Ameson. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a new candidate marine fish species for aquaculture. *J World Aquac Soc.* 29:176-187.
- Williams, K., N. Papanikos, R. Phelps, J.D. Shardo. 2004. Development, growth and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Mar Ecol Prog Ser.* 275:231-239.

Yoon, H.S., J.H. Hwang, S.D. Choi. 2010. Effect of light intensity on first feeding of the chub mackerel *Scomber japonicus* larvae. *Animal Cells and Systems*. 14(2):125–128.

Zavala, I. 2011. Caracterización bioquímica del consumo de reservas vitelinas en peces teleósteos de ontogenia indirecta. *Rev Electrón Vet*. 3(12):1-32.

Zavala-Leal, I. 2007. Efecto de la temperatura, intensidad de luz, tipo y densidad de presa en la eficiencia alimenticia durante la ontogenia inicial del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*). Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. 66p.

Zavala-Leal, O.I. 2011. Primera alimentación exógena y evaluación de la eficiencia alimenticia de las larvas del Huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. Tesis Doctoral. CICIMAR-IPN. 107p.