



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**ESTUDIO SOBRE LOS REQUERIMIENTOS EN PROTEÍNA Y
ENERGÍA DE JUVENILES DE LA CABRILLA ARENERA,
Paralabrax maculatofasciatus (Stein., 1868) (Osteichthyes:
Serranidae)**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Acuacultura)

presenta

M. en C. Benjamín H. Anguas Vélez

La Paz, B.C.S. México, Junio, 2001.



DIRECCION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

La Paz, B. C. S., 24 de Mayo, 2001

La Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. **CERTIFICA** que según obra en nuestros registros internos, el estudiante de Doctorado en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales **BENJAMIN ANGUAS VELEZ**, ha recibido **autorización** de todos y cada uno de los miembros del **Comité Revisor de Tesis** para proceder a la **impresión** correspondiente, trámite que se realizó vía fax en virtud de que algunos de sus miembros se encuentra residiendo en el extranjero.

Declaro lo anterior bajo protesta de decir verdad.

Atentamente.

Dr. Sergio Hernández Vázquez,
Director de Estudios de Posgrado.

VERIFICADO

LIC. OSVELIA IBARRA MORALES,
JEFE DEL DEPTO. CONTROL ESCOLAR

PREFACIO

Esta tesis está basada en información presentada en dos publicaciones científicas (PC1 y PC2), en dos manuscritos en preparación (MP1 y MP2), y en dos carteles (C1 y C2) presentados en dos Simposios Internacionales en Nutrición Acuícola. Los títulos y participantes en estos estudios fueron: PC1. Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M., Contreras-Olguín, R.A. Rueda-Jasso y J. Guillaume. 2000. ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL DESTETE DE LAS LARVAS DE LA CABRILLA ARENERA (*Paralabrax maculatofasciatus*) CON UNA DIETA PREPARADA: EFECTOS EN EL CRECIMIENTO Y LA SUPERVIVENCIA. *Journal of Applied Aquaculture* 10 (4): 1-15.

PC2. Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M., Cadena-Roa, J. Guillaume y S.F. Martínez-Díaz. 2000. ESTUDIO NUTRICIONAL DE LA CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus*. EFECTO DEL NIVEL PROTEICO EN EL CRECIMIENTO Y UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN JUVENILES ALIMENTADOS CON UNA DIETA SEMIPURIFICADA. *Journal of the World Aquaculture Society* 31 (4): 580-591.

MP1. EFECTOS DE LA TEMPERATURA Y LA DENSIDAD EN EL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus* CULTIVADOS EN EL LABORATORIO,

MP2. ESTUDIO NUTRICIONAL DE LA CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus*. EFECTO DEL NIVEL PROTEICO Y ENERGETICO EN EL CRECIMIENTO, UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA e HISTOLOGIA DEL TRACTO DIGESTIVO EN JUVENILES ALIMENTADOS CON UNA DIETA SEMIPURIFICADA.

C1. CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE LAS LARVAS DE CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus*, ALIMENTADAS CON UNA DIETA DE INICIACION. B.H. Anguas Vélez, R. Civera Cerecedo, M., Contreras Olguín, R.A. Rueda Jasso, y J. Guillaume. IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 de noviembre de 1998, La Paz, Baja California Sur, México; y,

C2. EFECTO DEL NIVEL DE LA PROTEÍNA DIETÉTICA EN JUVENILES DE CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus* ALIMENTADOS CON DIETAS SEMIPURIFICADAS. B.H. Anguas-Vélez, R. Civera-Cerecedo, M., Cadena-Roa, J., Guillaume, y Sergio F., Martínez-Díaz. V Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 19-22 de noviembre de 2000, Mérida, Yucatán, México.

Como lo sugirió el Comité Tutorial, se realizaron dos ensayos preliminares (PC1 y MP1) antes de intentar hacer el estudio principal relacionado con la determinación de los requerimientos en proteína y energía (incluyendo la digestibilidad aparente de la proteína) de los juveniles de la cabrilla arenera (PC2 y MP2). La razón para hacer el experimento de destete era que nosotros quisimos resumir la experiencia obtenida en el CICIMAR y sugerir a que edad sería mejor realizar el destete de las larvas de la cabrilla arenera, por medio de una dieta preparada, en lugar del normalmente usado pescado fresco. En caso del experimento con varias temperaturas y densidades, el objetivo era determinar una temperatura óptima para probar posteriormente los efectos de diferentes niveles de proteína y energía en el crecimiento de *Paralabrax macualtofasciatus*, con esta temperatura óptima. Las dos publicaciones

científicas (PC1 y PC2) han sido publicadas en las revistas respectivas; los manuscritos (MP1 y MP2) están elaborándose y se espera poder someterlos a alguna revista del area respectiva; el cartel 1 (C1) se presentó en el IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 Noviembre de 1998, en La Paz, B.C.S.; y, el cartel 2 (C2) se presentó en el V Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 19-22 Noviembre de 2000, en Mérida, Yucatán.

CONFORMACIÓN DE COMITÉS

La presente tesis fué dirigida por:

- **Dr. Roberto Civera Cerecedo** **Nutrición Acuícola, CIBNOR,**

Composición del Comité Tutorial de la Tesis

Dr. Roberto Civera Cerecedo	Laboratorio de Nutrición Acuícola, CIBNOR, S.C.
Dr. J.C. Guillaume	INRA-IFREMER, France
Dr. Claude C. Combes	University of Perpignan, France
Dr. Normand F. Haard	University of California, Davis

Miembros del Comité Revisor de la tesis y Jurado de Exámen Doctoral:

Dr. Roberto Civera Cerecedo	CIBNOR, S.C.
Dr. J.C. Guillaume	INRA-IFREMER
Dr. Normand F. Haard	University of California, Davis
Dr. Humberto Villarreal Colmenares	CIBNOR
Dr. Denis Ricque-Marie	UANL

Dr. Sergio Hernández Vázquez
Director del Programa de Posgrado
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fué financiado a través de los proyectos del Instituto Politécnico Nacional Nos. 931390, 958131 y 980054; por el proyecto del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología No. 1702P-B y por los proyectos Nos. ICM8 y ABM17 del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.

El sustentante agradece los apoyos otorgados por el Instituto Politécnico Nacional (H2/612/97 y 6566-410-22), el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT - 87153) y por el Consejo del Sistema Nacional de Educación Tecnológica (COSNET-99197P).

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración del grupo de acuicultura del CICIMAR, dirigido por el M.C. José L. Ortiz Galindo; particularmente de Mauricio Contreras Olguín y Rebeca A. Rueda-Jasso por sus enseñanzas en el cultivo de “las larvas de peces”, y el cultivo del “alimento vivo”. También agradezco todo el apoyo y camaradería recibidos del MC. Raymundo Avendaño Ibarra y el Lic. Alejandro Hinojosa Medina para coleccionar juveniles de cabrilla de las lagunas de Bahía Magdalena para los dos últimos ensayos de nutrición (aunque estos organismos finalmente no se pudieron utilizar, por presentar altas mortalidades). Asimismo, agradezco la ayuda de Ernesto Goytortúa Bores y Sonia Rocha Meza quienes me apoyaron con los análisis químicos y la formulación del alimento, durante todo el período que duró esta investigación.

Agradezco en lo que vale al Instituto Politecnico Nacional, al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste y a la Universidad Autónoma de Baja California la Sur (particularmente al Dr. Marco Cadena Roa) por permitirme usar sus instalaciones para los diversos experimentos.

Agradezco infinitamente a los miembros de mi Comité tutorial, el Dr. Norman F. Haard y el Dr. J. C. Combes por revisar el manuscrito entero de la tesis. Mención especial me merecen mi tutor principal, el Dr. Roberto Civera C., por su apoyo académico y personal cada vez mayor, y al Dr. J. Guillaume por su crítica constructiva de las dos publicaciones y de la tesis completa. Asimismo, se agradecen las aportaciones de la revisión del inglés de las dos publicaciones científicas al Dr. Ellis Glazier del CIBNOR.

Para aquéllos que han tolerado mi temperamento durante tantos años y me han brindado sin reservas todo su amor y comprensión,
especialmente para mi hijo, Juan Pablo,
y mi esposa, Ana María,

La tesis es también para quienes luchan por la libertad, la justicia y la democracia en México

“No se ha hecho el Universo para el hombre, sino que cada hombre ha sido hecho para el Universo, en el cual reina un sublime orden y armonía.” Y la armonía del Universo debe retratarse en la armonía del Estado y en la del alma. (Aristóteles, Las Leyes, 903c) .1

El universo es perpetuo y en perfecto dinamismo: “este mundo, que es el mismo para todos los seres videntes no lo hizo ninguno de los dioses ni de los hombres, sino que siempre ha sido, es y será un fuego constantemente vivo.” (Heráclito, frag. 30)¹

¹ Tomado de Francisco Piñón G. Los orígenes de la eticidad. Hombre, naturaleza y Universo en la filosofía griega, pp. 26 y 32. En: T. Kwiatkowska (ed), Humanismo y Naturaleza. Plaza y Valdés, editores.

A la memoria de Roy Bowers

Un verdadero profesor y líder del Programa de Posgrado del
CIBNOR para la primera generación de estudiantes (1994-1998).

INDICE GENERAL

Prefacio.....	ii
Conformación de los Comités.....	iv
Agradecimientos.....	v
Indice de Figuras.....	ix
Indice de Tablas.....	x
Resumen general.....	xii
Abstract	xv
Capítulo 1. Preámbulo.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Antecedentes.....	5
1.2.1 Desarrollo ontogenético.....	5
1.2.2 Cambio de la alimentación (iniciación ó destete).....	8
1.2.3 Principales factores que afectan el crecimiento en peces cultivados..	10
1.2.4 Requerimientos de proteína y energía en los peces.....	10
1.3 Hipótesis.....	16
1.4 Objetivos.....	19
Capítulo 2. Material y Métodos Generales.....	20
2.1 Organismos de experimentación.....	21
2.2 Sistemas de cultivo.....	21
2.3 Ensayos de crecimiento.....	24
2.4 Dietas experimentales.....	27
2.5 Análisis bioquímicos.....	28
Capítulo 3. Iniciación de las larvas de cabrilla arenera, <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> con una dieta compuesta: Efectos sobre el crecimiento y la sobrevivencia.....	30
Capítulo 4. Efecto de la temperatura y la densidad en juveniles de la cabrilla arenera, <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> , cultivados en el laboratorio.....	44
4.1 Sistema de cultivo y animales experimentales.....	46
4.2 Diseño experimental.....	46
4.3 Criterios de evaluación y Análisis estadísticos.....	47
4.4 Resultados y Discusión.....	48
Capítulo 5. Determinación de los requerimientos en proteína y energía de la cabrilla arenera.....	51
5.1 Determinación de los requerimientos proteicos. Efecto del nivel de proteína en la dieta sobre el crecimiento y la utilización proteica de peces alimentados con dietas semipurificadas.....	52
5.2 Efecto del nivel de proteína y energía sobre el crecimiento y la utilización del alimento en los juveniles de cabrilla.....	68
Discusión General.....	79
Conclusiones Generales.....	84
Perspectivas y Recomendaciones.....	85
Bibliografía General.....	86
Anexo 1: Cartel 1. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas de la cabrilla arenera, <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> , alimentadas con una dieta de iniciación.....	95
Cartel 2. Efecto del nivel de la proteína dietaria sobre los juveniles de la cabrilla arenera, <i>Paralabrax maculatofasciatus</i> , alimentados con dietas semipurificadas.....	97
Anexo 2. Tablas del Análisis de Varianza del crecimiento de los peces del experimento de temperatura y densidad.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1, sección 1.1

Figura 1. Curva de crecimiento de las larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*.....7

Figura 2. Determinación del requerimiento dietético para un nutriente esencial por medio de análisis de línea quebrada.12

Figura 3. Diagrama de flujo de la utilización de la energía dietaria en los peces.....14

Capítulo 2, sección 2.2

Figura 4. Sistema experimental utilizado en el CIBNOR.....22

Figura 5. Sistema experimental utilizado en el CICIMAR.....23

Figura 6. Sistema experimental utilizado en Pichilingue.....24

Capítulo 4, sección 4.4

Figura 7. Efecto de la temperatura y la densidad sobre el crecimiento de juveniles de cabrilla arenera.....49

Capítulo 5, sección 5.2

Figure 8. Efecto de la proteína y la energía en la ganancia en peso de juveniles de cabrilla..73

Figure 9. Efecto de la proteína y la energía en el factor de conversión de alimento de juveniles de cabrilla 75

ÍNDICE DE TABLAS

Capítulo 1, sección 1.1

Tabla 1. Desarrollo ontogenético de las larvas de <i>Paralabrax maculatofasciatus</i>	6
Tabla 2. Esquemas de alimentación de larvas de la cabrilla arenera utilizados en el CICIMAR.....	9

Capítulo 2, sección 2.3

Tabla 3. Condiciones de calidad del agua en el experimento para evaluar el efecto de la temperatura y la densidad sobre el crecimiento y sobrevivencia de los juveniles de cabrilla.....	26
--	----

Capítulo 3

Tabla 4. Composición y análisis proximal de las dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera.....	35
Tabla 5. Valores promedio \pm desv. std. de crecimiento, factor de condición y sobrevivencia de las larvas a los 25 (W25) y 30 (W30) días después de la eclosión (DE), con la dieta preparada; y del grupo control (GC) iniciado en el día 33 DE con filetes de pescado fresco.....	37

Capítulo 4

Tabla 6. Composición y análisis proximal de la dieta utilizada para evaluar el efecto de la temperatura y la densidad sobre el crecimiento de la cabrilla arenera.....	47
Tabla 7. Crecimiento y sobrevivencia de juveniles de la cabrilla arenera cultivada a varias temperaturas y densidades en condiciones de laboratorio.....	48

Capítulo 5, sección 5.1

Tabla 8. Composición y análisis proximal de las dietas semipurificadas usadas para determinar los coeficientes de digestibilidad aparente de la proteína, lípidos, energía y de la materia seca en los juveniles de la cabrilla arenera (ensayo I).....	55
Tabla 9. Composición y análisis proximal de las dietas semipurificadas usadas para determinar el nivel óptimo de proteína en los juveniles de la cabrilla arenera (ensayo II).....	58
Tabla 10. Crecimiento y utilización del alimento de la cabrilla arenera alimentada con dietas de varios niveles de proteína (ensayo II).....	61
Tabla 11. Valores de los índices somáticos, la grasa abdominal, proporción de músculo, y la composición de la cabrilla arenera alimentada con dietas de varios niveles de proteína (ensayo II)..	62

Capítulo 5, sección 5.2

Tabla 12. Composición de las dietas semipurificadas con varios niveles de proteína y energía que se suministraron a la cabrilla arenera.....	71
--	----

Tabla 13. Crecimiento y utilización del alimento de la cabrilla arenera alimentada con dietas de diferentes niveles de proteína y energía.....	74
Tabla 14. Algunos parámetros biológicos de la cabrilla arenera alimentada con dietas de varios niveles de proteína y energía.....	76
Anexo 2.	
Tabla 2a. Análisis de ANOVA de dos vías para el porcentaje de sobrevivencia con un Nivel de significancia de 0.05.....	99
Tabla 2b. Análisis de ANOVA de dos vías para el peso promedio final con un nivel de significancia de 0.05.....	99
Tabla 2c. Análisis de ANOVA de dos vías para la tasa específica de crecimiento con un nivel de significancia de 0.05.....	99
Tabla 2d. Análisis de ANOVA de dos vías para el consumo de alimento diario con un nivel de significancia de 0.05.....	99
Tabla 2e. Análisis de ANOVA de dos vías para la tasa de conversión alimenticia con un nivel de significancia de 0.05.....	100

RESUMEN

Se realizó un ensayo preliminar de alimentación para determinar la edad (tamaño) a la cual las larvas de la cabrilla arenosa, *Paralabrax maculatofasciatus*, pueden ser alimentadas con alimento inerte (iniciación), utilizando a la supervivencia y el crecimiento como criterios de evaluación. Para este propósito, se probaron 4 tratamientos diferentes: grupo control, las larvas se alimentaron con alimento vivo, luego con filetes de pescado fresco; en los tratamientos 1, 2 y 3, las larvas se alimentaron con alimento vivo y luego se les cambió a alimento preparado desde los días 15, 25 y 30 después de la eclosión. Se observó claramente que la estrategia de alimentación afectó el crecimiento de la cabrilla arenosa. La longitud promedio estandar, el peso húmedo y la tasa específica de crecimiento de las larvas alimentadas con alimento vivo fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) que los registrados en las larvas iniciadas con el alimento inerte. Una posible causa de la mortalidad en las larvas iniciadas, particularmente en las larvas de 15 días de edad, pudo ser su tamaño pequeño, limitando así su habilidad para buscar ó asimilar la dieta inerte, ó algún desequilibrio en el contenido de ácidos grasos esenciales en la dieta preparada. Parece ser que las larvas alimentadas por un período más largo con el alimento vivo se adaptaron mejor al cambio de la dieta. De los resultados obtenidos se concluye que es posible “el iniciar” las larvas de la cabrilla arenosa con la dieta preparada, pero este cambio no debe hacerse antes de que las larvas alcancen los 30 días después de la eclosión (edad), a menos que se utilice una estrategia diferente, como sería la co-alimentación por un período más largo del que se utilizó en este estudio.

Antes de iniciar los ensayos de los requerimientos nutricionales de los juveniles de cabrilla arenosa, se realizó un experimento para determinar a qué temperatura (24, 27 y 30° C) y a qué densidad (8 y 12 peces/acuario de 30-L) los juveniles pueden presentar un mejor crecimiento. Para este ensayo, se probó un diseño factorial de 3 X 2. El mejor crecimiento y utilización del alimento se observó en los peces sometidos al tratamiento de 27 °C y 12 peces/acuario, aunque esta diferencia fué sólo significativamente mayor que el tratamiento mantenido en 30 °C y 12 peces/acuario. La supervivencia de los juveniles varió de manera no significativa de 96% a 100% dentro del intervalo estudiado de temperaturas (24 -30 °C), y densidades de 8 y 12 peces por acuarios.

Se realizaron dos ensayos de alimentación para determinar la digestibilidad de una dieta semipurificada a base de caseína y los efectos de diferentes niveles proteína en el crecimiento y utilización de la proteína por los juveniles de la cabrilla arenosa. Para el primer ensayo, se utilizó una dieta semipurificada con caseína sin vitaminas como la única fuente de proteína, misma que se ofreció manualmente tres veces por día y a saciedad aparente, por un período de 20 días. Las heces se colectaron por medio de sifoneo de los tanques del cultivo, y la digestibilidad *in vivo* se determinó por medio del método del óxido crómico. La digestibilidad de las dietas experimentales fué alta (97% para la proteína, 89% para los lípidos crudos y 84% para la energía bruta); siendo menor la de la materia seca, 78%. Para el segundo ensayo, se formularon siete dietas usando caseína sin vitaminas con 25, 30, 35,

40, 45, 50 y 55% de proteína. Tanques por triplicado para cada tratamiento se llenaron con peces y se alimentaron manualmente tres veces por día a saciedad aparente durante seis semanas. El crecimiento se evaluó en términos de la supervivencia, la ganancia en peso, la tasa específica de crecimiento, la tasa de conversión alimenticia y la tasa de eficiencia proteica. La supervivencia fué del 100% para todos los tratamientos. La respuesta en el crecimiento de los juveniles de cabrilla mostró un aumento en peso conforme la proteína dietética aumentó, pero no se alcanzó una asíntota en el crecimiento. El consumo diario del alimento mostró una relación inversa al nivel de la proteína en la dietas. La tasa de conversión alimenticia no fué diferente entre las dietas de más de 40% de proteína. Los resultados del presente estudio indican que los juveniles de la cabrilla arenera, con un peso promedio de 2.5, g parecen necesitar al menos 55% de proteína en la dieta para un mejor crecimiento y supervivencia, cuando la caseína es la única fuente de proteína en la dieta. Sin embargo, el requerimiento puede ser menor (40-45%) si consideramos la tasa de conversión alimenticia.

Finalmente, se realizó un ensayo para conocer los efectos del nivel de la proteína y la energía dietética en el crecimiento y la eficiencia alimenticia de los juveniles de *Paralabrax maculatofasciatus*. Para este ensayo, se utilizó un diseño factorial de 3 X 3 con nueve dietas que contenían ya sea 35, 45 ó 55% de proteína y 3.0 (12.5), 3.5 (14.6) ó 4.0 (16.7) kcal (kJ) de energía digerible/g de dieta. Los peces se alimentaron tres veces diariamente a saciedad aparente con dietas experimentales (10 peces/tanque), con peces de peso promedio inicial de 9.0 g, durante 40 días. El crecimiento de los peces parece que estuvo influido tanto por el nivel de energía que por el nivel de proteína. El máximo crecimiento y eficiencia alimenticia se alcanzó con los niveles de proteína y energía de 35% y 12.5 kJ/g. Los resultados observados aunque incompletos, debido más que nada a los valores bajos en la supervivencia y el crecimiento, y al hecho de que la mayoría de ellos mostraron enrojecimiento en la basan de las aletas del cuerpo desde la cuarta semana en adelante, permiten observar algunos efectos derivados del contenido de energía de las dietas.

Tomando en cuenta los resultados totales de la presente investigación, podemos concluir que técnicamente es factible iniciar el destete de las larvas de la cabrilla arenera, desde los 30 días después de la eclosión, con una dieta inerte; aunque nuestros valores de sobrevivencia fueron menores a los valores máximos registrados en investigaciones previas, en el CICIMAR, no dejan de ser importantes, si consideramos que nuestros valores fueron obtenidos por primera vez con el uso de una dieta inerte. Quizás el requerimiento de 55% de proteína esté sobreestimado, pero la eficiencia de la conversión alimenticia fué máxima desde la dieta con 45% de proteína en adelante, y un contenido de energía digerible entre 3.0-4.0 (12.5-16.7) kcal (kJ)/g. Se requieren más estudios con dietas prácticas y varios niveles de proteína y energía, para demostrar requerimientos nutricionales menores en los juveniles de la cabrilla arenera.

GENERAL ABSTRACT

A preliminary feeding trial was made to determine the age (size) at which spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, larvae can be weaned with a prepared diet, evaluating survival and growth performance. For this purpose, three different dietary treatments were tested: Control: the larvae were fed on live food, then on raw minced fish fillet; treatments 1, 2, and 3: the larvae were fed on live food, then weaned with a prepared diet from 15, 25, or 30 days after hatching, respectively. The larvae were obtained from naturally fertilized eggs. There was clearly an effect of the feeding strategy on the final growth of the spotted sand bass. Standard mean length, wet weight, and specific growth rate of larvae fed on live food were significantly ($P < 0.05$) higher than larvae weaned with the prepared diet. A possible cause of mortality in the weaned larvae, particularly of 15-day-old larvae, may be their small size, limiting their ability to search for food or to digest the prepared diet, or a possible imbalance in the essential fatty acid content of the prepared diet. It appears those larvae fed a longer period of time on live food were better adapted to the shift to the nonliving diet. From the results obtained, weaning of spotted sand bass larvae with the prepared diet is possible but should not be made before the larvae are 30 days old, unless a different feeding strategy, such as co-feeding, is used.

Before undertaking the protein and energy requirement study of the juvenile spotted sand bass, a laboratory trial was designed to provide basic information on water temperature and density of fish to optimize the culture conditions to conduct feeding trials on spotted sand bass juveniles under laboratory conditions. For this purpose, a 3 X 2 factorial design was tested using three water temperatures (24, 27, and 30° C) and two tank densities (8 and 12 fish/30-L tank). Best growth and feed use were obtained in fish reared at 27 °C and 12 organisms/tank. Survival of juveniles was high (96% to 100%) and no significant differences ($P < 0.05$) were found among treatments.

Two feeding trials were conducted to determine the digestibility of a casein-based semipurified diet and the effects of different protein levels on growth and protein use of spotted sand bass juveniles. For the first trial, a semipurified diet with vitamin-free casein as the sole source of protein was fed three times a day to apparent satiation, for a period of 20 d. Feces were collected by siphoning each tank, and the chromic oxide method used to determine the *in vivo* digestibility. The digestibility of the experimental diet was high; 97% for protein, 89% for lipids, and 84% for gross energy, whereas that of dry matter was rather low (78%). For the second trial, seven diets with graded levels of protein (25, 30, 35, 40, 45, 50, and 55%) were formulated using a vitamin-free casein. Triplicate tanks for each dietary treatment were stocked with fish and fed by hand three times a day to apparent satiation for 6 weeks. Performance of fish fed the different diets was evaluated for survival, percent weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio. Survival was 100% for all treatments. Growth of spotted sand bass juveniles increased as the dietary protein increased, but no evidence of reaching a plateau was found. The daily feed intake values showed an inverse relation to the protein content of the diets. The feed conversion ratio did not differ among diets containing 40% protein or greater. The results

indicate that spotted sand bass juveniles with 2.5-g mean weight need at least 55% dietary protein for best growth when casein is the sole protein source, in the conditions of the experiment. However, in terms of feed conversion ratio, the requirement apparently could be lower (40-45%).

A final feeding trial was made to determine the effects of different dietary protein and energy levels on growth and feed efficiency of juvenile spotted sand bass. A 3 X 3 factorial design was employed in which nine diets containing either 35, 45 or 55% protein and 3.0 (12.5), 3.5 (14.6), or 4.0 (16.7)-kcal (kJ) digestible energy/g were used. Experimental diets were fed to apparent satiation twice a day to three tanks of fish (10 fish/tank) with an initial average weight of 9.0 g, for 40 days. Performance of fish seemed to be influenced by both the dietary energy and by protein levels. Maximum growth and feed efficiency were attained at dietary protein and energy levels of 35% and 3.0 (12.5) kcal (kJ)/g. The observed results are not conclusive because survival of fish was lower than 100% in various treatment groups, and most fish showed reddening on the fin base since week 4 of the experiment. However, some possible explanations for the results obtained are given.

From the overall results of this thesis, we may conclude that it is technically feasible to wean spotted sand bass larvae as early as 30 days posthatching using an inert diet, and though survival was below maximum values reached on previous studies, our survival values are adequate considering that a dry diet was used for the first time, for the weaning of this species. It was determined that temperature of 27 °C was adequate to perform nutritional studies with spotted sand bass juveniles, and that protein and lipid digestibility of the semipurified diets were high, being similar to results found with other fish species. We are not certain that the 55% protein level in the diet is the optimum protein level for spotted sand bass juveniles because feed conversion was maximum from the 45% protein level and above, using a dietary energy content between 3.0 (12.5) and 4.0 (16.7) kcal (kJ)/g. Further studies using practical diets containing various protein and energy levels may demonstrate lower nutritional requirements for spotted sand bass juveniles.

CAPÍTULO 1

PREAMBULO

1.1 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la acuicultura ha sido el único sector en crecimiento dentro del sector pesquero mundial, y las perspectivas para su continuo desarrollo parecen ser excelentes. El consumo de productos marinos *per cápita*, a nivel mundial, ha crecido de manera sostenida desde 1969, sin embargo, la producción pesquera proveniente de las pesquerías principales alcanzaron su máxima producción en 1989, dejando a la acuicultura como la fuente principal de productos marinos para consumo humano, capaz de satisfacer esta demanda creciente (Chamberlain, 1993; Chamberlain y Rosenthal, 1995). De hecho, la acuicultura contribuye actualmente con la cuarta parte de la producción pesquera mundial para consumo humano (la cual, excluye especies usadas para la producción de harinas y aceites de pescado) y , casi el doble de lo suministrado hace una década, con la posibilidad de que pronto represente el 20% de la producción global (incluyendo las especies procesadas) (New, 1997).

Dentro de la acuicultura mundial, la piscicultura representa con mucho el sector de mayor crecimiento. De acuerdo a las estadísticas de FAO de 1990 la producción por grupo de especies se distribuyó de la siguiente manera: peces 62%, moluscos 31% y crustáceos 7%; dentro del porcentaje de los peces, las especies no carnívoras (y de agua dulce) dominan con mucho la producción: 48% para carpas y tilapias, 6% para salmónidos y 8% para otros peces. Esta situación se da por la participación de China y la India, quienes dominan la producción mundial por piscicultura de agua dulce. Si quitamos su participación en los datos de producción acuícola, para el período de 1988 a 1995, la producción acuícola y por pesca de los cuerpos de agua dulce cambió muy poco. En cambio, el porcentaje de crecimiento de la acuicultura marina fue bastante notable, 72% entre 1988 y 1995 (New, 1997). Aún más, si consideramos que el agua de los océanos representa el 95% de las aguas totales en el mundo, parece probable que el desarrollo de sistemas de producción acuícola de especies de alto valor económico en las aguas oceánicas, responderá a las limitaciones crecientes de la acuicultura en zonas costeras y en tierra firme (Chamberlain y Rosenthal, 1995). Sin embargo, en los países en desarrollo no deben descartarse aún los proyectos de integración de la pesca y acuicultura en cuencas y zonas costeras mediante políticas de ordenación comunitaria (Aguirre-Muñoz, 1999).

Aproximadamente un 97.4% de los peces marinos cultivados en el mundo son producidos por 12 países: Japón (39.6%), China (38.5%), Grecia (4.2%), Egipto (3.6%), Taiwan (2.2%), Turquía (1.8%), República de Corea (1.8%), Indonesia (1.8%), Italia (1.7%), Hong Kong (0.7%) y Malasia (0.4%). La producción total de peces marinos en 1996 ascendió a 624, 921 toneladas métricas (tm), incluyendo todas las especies marinas cultivadas en agua salada, salobre y agua dulce, excepto salmónidos (Tucker, 1998). De una lista de más de 60 especies reportadas por este mismo autor, las 20 que ocuparon los primeros lugares (con producciones que oscilan entre 1, 506 tm y 145, 889 tm) comprenden especies como jurel cola amarilla, brema del Mar Rojo, perca china, lisa cabezona, besugo cabeza dorada, lobina europea, lenguado japonés, lisas, botetes, cabrillas, macarela japonesa, rodaballo, macarelas, meros, pargo rojo de Asia, peces escorpión, jurel de cola azul y sargos.

En el caso particular de México, la acuicultura tiene un potencial enorme de desarrollo, tanto por su posición geográfica como por la disponibilidad de recursos de agua: 11, 500 km de línea costera, 3 millones de km² de la zona económica exclusiva, 358, 000 km² de plataforma continental, y más de 2.9 millones de hectáreas de aguas continentales, incluyendo 1.6 millones de lagunas costeras. México ocupa el 16° lugar en acuicultura, a nivel mundial (Paniagua-Michel y Lizárraga-Partida, 1995). Hasta el momento, la piscicultura de agua dulce predomina en las estadísticas de producción; del total nacional de la producción de peces de 1999 (163, 327 ton), la producción por acuicultura de mojarra, carpa, bagre, trucha, charales y lobina representó más del 55% (92, 598 ton) (SEMARNAP, 2000). El desarrollo de la piscicultura marina es aún muy incipiente. En 1978, se inician los primeros intentos por parte de diversos Centros Acuícolas del gobierno federal para cultivar robalo, jurel, sabalote, lisa, pámpano, y otros (Juárez-Palacios y Palomo-Martínez, 1988), con resultados poco claros hasta ahora. De una manera más estructurada, el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) inició en los 80's en la región del Noroeste del Pacífico mexicano un proyecto sobre la biología y cultivo larvarios de 22 especies marinas, dando como resultado la descripción del potencial acuícola de ocho especies de peces marinos del Pacífico mexicano, con base en su biología temprana (Matus-Nivón et al., 1990). Con base en estos estudios, se iniciaron a principios de los 90's una serie de proyectos sobre la biología y cultivo de la cabrilla arenosa, *Paralabrax maculatofasciatus*, hasta la obtención de las etapas de inducción al desove en cautiverio, el desarrollo y cultivo larvario, nutrición de larvas y juveniles, producción de juveniles y cultivo en jaulas, así como enfermedades (Rosales-Velázquez, 1997; Alvarez-González et al., 1998a; Anguas-Vélez et al., 2000a, 2000b; Alvarez-González, 1999; Grayeb-Del Alamo et al., 1998; Martínez-Díaz, 1995). A partir de entonces, esta especie ha sido objeto de varios estudios para evaluar su posibilidad como especie potencial para el cultivo comercial (Avilés-Quevedo et al., 1995; Avilés-Quevedo y Mazón-Suástegui, 1996).

Indudablemente el cultivo exitoso de cualquier especie comprende diversos aspectos biológicos, económicos, sociales, del medio ambiente, de ingeniería, localización del sitio adecuado, así como genéticos. El continuo desarrollo y mejoramiento en la eficiencia de la producción acuícola requiere a su vez de mejoramientos sostenidos en la formulación y tecnología de los alimentos. Para ser efectivo, el desarrollo de los alimentos debe considerar, por un lado, los requerimientos nutricionales de las especies a cultivar en términos de sus necesidades de energía, proteína, lípidos, vitaminas y minerales (Watanabe, 1988; Tacon, 1989); y por otro lado, el suministro de ingredientes disponibles para la elaboración del alimento, sus costos y su digestibilidad, así como el tipo y la regularidad de los suministros (Watanabe, 1988). La mayor parte de la investigación realizada sobre la nutrición de peces marinos se ha enfocado sobre las etapas larvaria y juvenil (Bromley y Howell, 1983; Colesante y col., 1986; Gatesoupe y col., 1999; Cowey y col., 1972; De la Higuera y col., 1989; Boonyaratpalin, 1997; Yúfera et al., 2000).

Antes de establecer el desarrollo de una tecnología de cultivo, es indispensable conocer los requerimientos nutricionales de los juveniles de la cabrilla arenosa en particular y de las cabrillas en

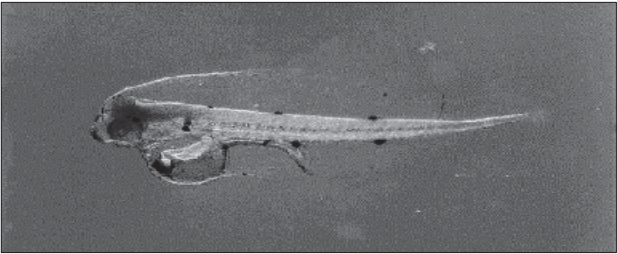
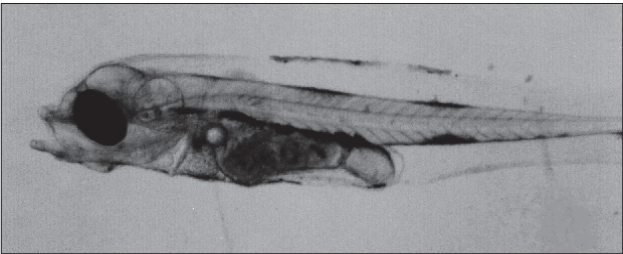
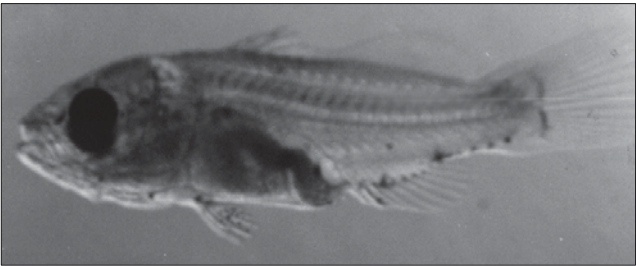

general, con el objeto de contar con un alimento y una estrategia de alimentación que permitan optimizar el cultivo de la cabrilla. En este sentido, era necesario conocer si las larvas de esta especie podrían tolerar un alimento inerte y cuál sería la producción de juveniles con este tipo de dieta, considerando que la etapa de destete es uno de los “cuellos de botella” que afrontan todos los cultivos de peces marinos. Asimismo, un siguiente paso era determinar cuál podría ser la mejor temperatura y densidad del cultivo, para optimizar el crecimiento de la cabrilla arenera en el sistema experimental a utilizar. Lo anterior, con el objeto de realizar el estudio de los requerimientos de proteína y energía en juveniles de cabrilla, en las mejores condiciones de cultivo, no sin antes determinar la digestibilidad de nuestra dieta de referencia a base de caseína, como fuente principal de proteína. De este modo, en la presente tesis se realizaron cinco investigaciones sobre: 1) El cambio de alimentación temprana en larvas; 2) Efecto de la temperatura y de la densidad de cultivo en juveniles; 3) Medición de la digestibilidad de una dieta semipurificada a base de caseína en los juveniles; 4) Determinación del nivel óptimo de proteína en el alimento para juveniles; y, 5) Efecto del nivel de proteína y de energía del alimento en los juveniles.

1.2 ANTECEDENTES

1.2.1 DESARROLLO ONTOGENETICO

Según Peña-Martínez (2000), el desarrollo del tracto digestivo en las larvas de *P. maculatofasciatus* sigue un modelo básico, como en la mayoría de las larvas de peces marinos (Tabla 1). Las larvas poseen un tubo simple, recto e indiferenciado al eclosionar. La nutrición es de tipo endógena durante los primeros dos días después de eclosionar (DE). Se abren boca y ano al principio del día 2, lo cual indica un periodo de transición entre la nutrición endógena y exógena. En el día 3 DE, el saco vitelino está totalmente reabsorbido y el estómago empieza a diferenciarse en el intestino medio; este evento marca la iniciación de la nutrición exógena. Y, en el día 5 (Tabla 1) la diferenciación del intestino en bucofaringe, esófago, estómago, intestino anterior, intestino posterior y recto está completa. Dos días después de iniciada la primera alimentación se observó absorción de carbohidratos a través del borde de cepillo de los enterocitos, en ambos intestinos. El hígado mostró una acumulación de glucógeno durante el periodo experimental. La formación de varias vesículas apicales positivas a la ninhidrina de Schiff fueron visibles en los enterocitos del intestino posterior. A su vez, los enterocitos del intestino anterior mostraban formación de vacuolas grandes. Tanto las vesículas como las vacuolas aumentaron de tamaño y número a lo largo del desarrollo del tracto digestivo. Se observaron glándulas gástricas y ciegos pilóricos el día 16 DE (Tabla 1). Las vesículas del intestino posterior y las vacuolas del intestino anterior gradualmente disminuyeron de tamaño y número, inmediatamente después de la aparición de las glándulas gástricas. Los eleuteroembriones eclosionaron (día 0) con una longitud total promedio de 1.6 mm, a una temperatura de $25.2 \pm 0.2^\circ \text{C}$. Durante los primeros 14 días de desarrollo, la proporción del crecimiento aumentó lentamente; pero del día 15 al día 30 la proporción de éste aumentó rápidamente, hasta alcanzar una longitud total promedio de 26.6 mm (Fig. 1).

Tabla 1. Desarrollo de las larvas de *P. maculatofasciatus* (Según Peña-Martínez, 2000)

Longitud de la larva (mm)	días después de la eclosión	evento crucial
2.1	1	Boca y ano cerrados. Ojos sin pigmentar. 
3.0	5	Diferenciación del intestino en cinco zonas. Desarrollo de la vejiga gaseosa. 
9.3	16	Desarrollo completo del intestino. 
26.6	30	Etapa juvenil alcanzada. 

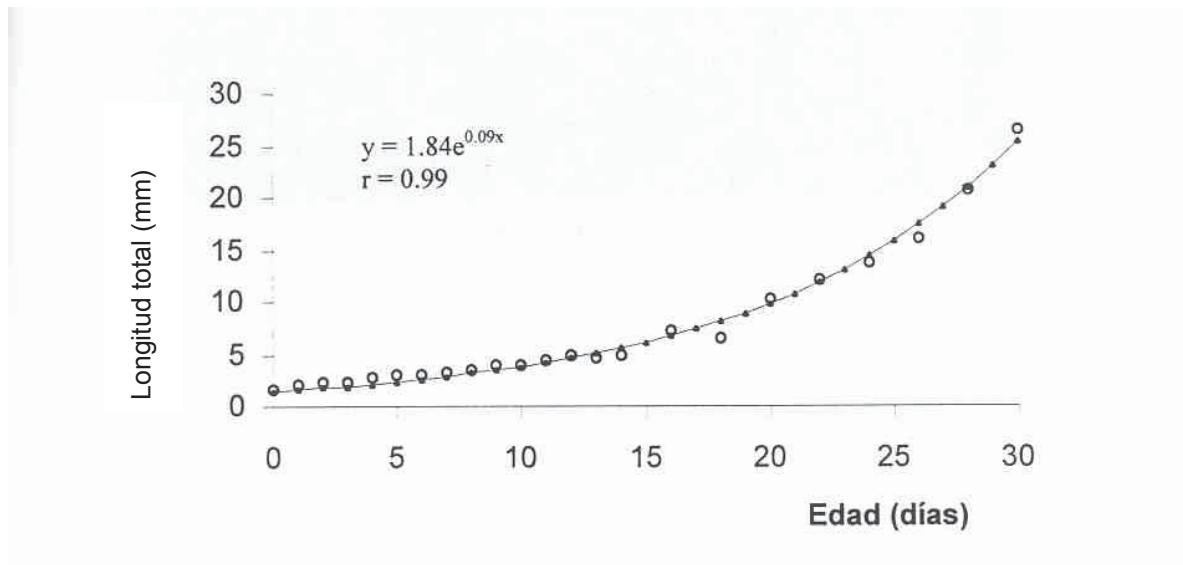


Figura 1. Curva de crecimiento de las larvas de *Paralabrax maculatofasciatus*, Según Peña-Martínez (2000).

Guillaume y Choubert (1999) mencionan que la abertura de la boca marca el final del periodo embrionario, la cual, precede a la del ano. Estudios diferentes en larvas de peces (sobre todo en el rodaballo y el barbo africano) muestran que ya desde aquí, la forma de las células absorbentes del epitelio intestinal es muy semejante a la forma de los enterocitos de los animales más grandes. De manera similar, la ultraestructura de las células hepáticas y pancreáticas es igual a la forma observada en el pez juvenil. La presencia de enzimas pancreáticas se detecta dentro de los acinii pancreáticos antes de que se abra el esófago. La estructura histológica señala la existencia de zonas funcionales que permiten la digestión y absorción de los lípidos en el intestino anterior. Se observa actividad de tripsina en el páncreas y el lumen intestinal, lo que sugiere hasta cierto punto degradación de las proteínas y absorción de sus productos en el intestino anterior. Es más, se observa absorción por pinocitosis y degradación intracelular de macromoléculas de proteína por medio de enzimas citosólicas, dentro del intestino posterior. La capacidad de usar almidón gelatinizado igualmente se nota en larvas de carpa, a nivel digestivo (presencia de actividad de amilasas) y nivel metabólico (inducción de hipertrofia hepática al agregar almidón en el régimen alimenticio).

Desde la primera alimentación, las larvas pueden modular su actividad enzimática según la composición bioquímica del alimento. Así, en las larvas de la lobina europea (*Dicentrarchus labrax*) alimentadas con 12% de almidón en la dieta induce la actividad de amilasas, durante la fase lecito-exotrófica (Zambonino-Infante y Cahu, 1994). Además, la actividad de tripsina aumenta en respuesta a la presencia de aminoácidos libres en la dieta. Los resultados de los últimos años indican que las larvas tienen capacidad digestiva de usar una dieta preparada que tome en cuenta las características digestivas de tal organismo. Este punto de vista se ha demostrado recientemente con las larvas de la lobina europea

y la brema dorada que se “destetaron” con una dieta artificial, sin presas vivas (Guillaume y Choubert, 1999; Yúfera et al., 2000, respectivamente).

1.2.2 CAMBIO DE ALIMENTACIÓN O INICIACIÓN (DESTETE)

En general, las larvas de los peces marinos son pequeñas al eclosionar y dependen de las reservas nutricionales del saco vitelino por un corto tiempo. Después de agotadas estas reservas, se les suministra alimento exógeno en forma de zooplancton, que varía de acuerdo al sistema de cultivo empleado. El tamaño del zooplancton suministrado se ajusta al tamaño de las larvas en crecimiento, y después de cierto tiempo se cambia el régimen de alimento vivo por una dieta a base de micropartículas inertes. Conforme las larvas avanzan en la transición hacia la etapa juvenil, se les alimenta con proporciones cada vez mayores de alimentos artificiales hasta que se han adaptado completamente al nuevo tipo de alimento (Watanabe, 1988; Gatlin III, 1998). Si se realiza muy temprano el cambio de alimentación, puede provocarse una menor producción y un aumento en los costos de producción de los juveniles, debido a una reducción en el crecimiento y la sobrevivencia (Gennari et al., 1994). La atractibilidad y digestibilidad de los alimentos compuestos, la aceptabilidad y estabilidad de las partículas inertes, una composición química que satisfaga los requerimientos nutricionales y energéticos, así como la variabilidad del comportamiento y fisiología alimenticia de las larvas son de la mayor importancia (Tucker, 1998; Gatesoupe et al., 1999; Yúfera et al., 2000).

Sin lugar a dudas, uno de los mayores avances alcanzados en la última década ha sido el mejoramiento de la nutrición de las larvas, particularmente aquélla sobre el mejoramiento del perfil de ácidos grasos de los rotíferos y las artemias, a través de la aplicación de técnicas para el enriquecimiento con sustancias emulsificantes ó micropartículas ricas en ácidos grasos poli-insaturados (Sorgeloos, 1994; Kanazawa, 1998), antes de ser ofrecidos a las larvas. También, altamente significativo es el desarrollo de dietas microencapsuladas que han permitido el crecimiento y desarrollo de las larvas de *Sparus aurata*, al menos durante las primeras 2-3 semanas de vida (Yúfera et al., 2000).

Estudios previos de alimentación con las fases de vida tempranas en peces marinos, y desarrollados en CICIMAR y el CRIP-La Paz, utilizaban rotíferos, copépodos, los cuales eran después reemplazados por nauplios, juveniles y adultos de *Artemia*, hasta los primeros 25-45 días de desarrollo (Avilés-Quevedo *et al.*, 1995; Alvarez-González, 1999; Peña-Martínez, 2000; Anguas-Vélez *et al.*, 2000b) (Tabla 2). Después, las larvas eran iniciadas con pescado fresco o con alimentos blandos hechos con gelatina (Avilés-Quevedo *et al.*, 1995; Alvarez-González, 1999) con resultados muy variables en la sobrevivencia larval. Considerando la experiencia ganada hasta ahora, la presente investigación fue realizada para avanzar nuestro conocimiento en el periodo inicial para el destete de esta especie pero usando una dieta seca preparada y saber si esta especie pudiera sobrevivir sin el suministro de presas vivas en lo absoluto (Anguas-Vélez et al., 2000b).

Tabla 2. Protocolos de alimentación usados en el CICIMAR y el CRIP-La Paz con las larvas de la cabrilla arenera.

día	P. mac. ¹	P. mac. ²	P. mac. ³	P. mac. ⁴
1		R	R	
3	R	R	R	R
5	R	R	R	R
7	R	R,COP	R	R
9	R,ER	R,COP	R	R
11	R,ER	ER,COP,AN	R	R
13	ER,AN	ER,AN	R,EAN,AJ	R
15	ER,AN	ER,AN	EAN,AJ	R
17	R,AN	ER,AN	EAN,AJ	R
19	R,AN	ER,AN	AJ	R
21	R,AN	R,AN	AJ,SED	R,AN
23	R,AN	R,AN,AA	AJ,SED	R,AN
25	AN	AA	AJ,SED	R,AN,COP
27	AN,AJ	AA	SED	R,AN,COP,72-h A
29	AN,AJ	AA	SED	R,AN,COP, 72-h A
31	AN,AJ	AA	SED	R,AN,COP, 72-h A
33	AJ,TF	AA,TF		AN,COP, 72-h A,TF
35	AJ,TF	AC,TF		AN,COP, 72-h A,TF
37	AJ,TF	AC,TF		COP, 72-h A,TF
39	AJ,TF	AC,TF		COP, 72-h A,TF
41	TF	AC,TF		COP, 72-h A,TF
43		AC,TF		COP, 72-h A,TF,CF
45		SED		72-h A,TF,CF
47		SED		72-h A,TF,CF
49		SED		TF,CF
51		SED		TF,CF
53		SED		TF,CF
55		SED		TF,CF
57		SED		TF,CF
59		SED		TF,CF

R=Rotíferos, ER= Rotíferos Enriquecidos, AN= Nauplios Artemia, AJ= Juveniles Artemia, AA= Artemia Adulta, TF=Restos de pescados, CN= Nauplios Copépodos, COP=Copepoditos, AC= Copépodos Adultos, SED=Extruido suave, EAN= Nauplios Artemia Enriquecidos, 72-h A= Artemia de 72-h eclosionadas, CF=Alimento preparado. Las siglas corresponden al inglés. P. mac. = *Paralabrax maculatofasciatus*

¹ Anguas-Vélez et al. (2000b), ² Alvarez-González (1999), ³ Peña-Martínez (2000), ⁴ Avilés-Quevedo et al. (1995).

La producción de “semilla” de suficiente calidad permanece aún como una “piedra angular”, en el futuro desarrollo de la maricultura. La optimización de la estrategia alimenticia de las larvas, será un aspecto importante para lograr ese desarrollo. Por lo tanto, la tendencia actual de la investigación está concentrada en: (1) Aplicaciones de alimento actuales que sean más aceptables y menos costosos, (2) Una mejor definición de los requerimientos nutricionales y de la fisiología de la etapa larvaria, incluyendo la calidad de las larvas al momento del inicio de la iniciación ó destete, (3) Los efectos del régimen de alimentación sobre los aspectos de diseño y de ingeniería de los sistemas de cultivo (Lavens et al., 1995).

El mejoramiento del acondicionamiento de los reproductores, específicamente los aspectos de su nutrición, así como el efecto sobre la calidad de las larvas, deberán considerarse como de primer orden en la investigación científica (Lavens et al., 1995).

1.2.3 PRINCIPALES FACTORES DEL CRECIMIENTO EN PECES CULTIVADOS

Aunque de fácil observación y medición, el crecimiento es una de las actividades más complejas de los organismos. Representa el balance neto entre una serie de procesos fisiológicos y de comportamiento que comienza con la ingestión del alimento y termina con la acreción de tejido animal. La interacción de los procesos de digestión, absorción, asimilación, gasto metabólico y excreción afectan el producto final (Brett, 1979; Guillaume, 1999). La tasa de crecimiento de los peces es modificada por una serie de factores que incluyen la temperatura del agua, la densidad de los peces, intensidad de la luz, proporción de alimentación y el tipo de alimento.

La cabrilla arenera es una especie euritérmica, y resiste las temperaturas altas del verano ($> 32^{\circ}\text{C}$) y las temperaturas bajas del invierno en la parte más norteña del Golfo de California. Las cabrillas pueden resistir temperaturas tan bajas como 7.5°C , pero en esta condición dejan de alimentarse (Thomson et al., 2000). Los factores más importantes en el cultivo intensivo de peces son el oxígeno, amoníaco, dióxido de carbono y sólidos suspendidos (Muir, 1982). Ninguna de las fluctuaciones de éstos factores han sido estudiadas en la cabrilla arenera. Existen algunos estudios que relacionan supervivencia y crecimiento con varias densidades de larvas y juveniles en las etapas de pre-engorda y engorda. Por ejemplo, al probar tres densidades diferentes (35, 70 y 105 peces/ m^3) con la cabrilla arenera en la etapa de pre-engorda, Grayeb Del Alamo et al. (1998) encontraron el mejor crecimiento con la densidad de 70 peces/ m^3 que corresponde, en términos de biomasa, a $1.4\text{ kg}/\text{m}^3$, según el peso final promedio. La supervivencia de las tres densidades probadas del cultivo en jaula varió entre 86-89%. Alvarez-González (1999) reporta haber obtenido con la misma especie el mejor crecimiento y supervivencia en las larvas criadas a la densidad más baja empleada (50 individuos/L). Este autor no da datos de biomasa por unidad de volumen al final de su estudio. El rango normal de densidades de carga se basa en el volumen y los requerimientos de flujo, y puede variar entre $20\text{-}100\text{ kg}/\text{m}^3$ (Muir, 1982). No hay información sobre requerimientos de flujo de agua para la cabrilla arenera, ya sea en tanques o cultivo en jaula. Así, en la presente tesis se llevó a cabo un experimento con tres temperaturas (24, 27, y 30°C) y dos densidades (8 y 12 peces/tanque, equivalente a las biomásas iniciales respectivas de 0.5 g/L y 0.8 g/L) para optimizar más tarde las condiciones de cultivo en los ensayos para determinar los requerimientos en proteína y energía.

1.2.4 REQUERIMIENTOS DE PROTEÍNA Y ENERGÍA EN PECES CULTIVADOS

El desarrollo de un régimen de alimentación para los peces requiere del entendimiento básico de la nutrición así como de los requerimientos nutricionales de estos organismos. Con excepción de la energía, los requerimientos nutricionales en la dieta de todas las especies cultivadas, se suelen considerar bajo cinco tipos principales de nutrientes: proteínas, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales (Tacon, 1989; Tucker, 1998). Desde el punto de vista económico, la proteína suele ser el ingrediente más caro en la formulación y producción del alimento; así, en el cultivo comercial de peces es necesario determinar un nivel de proteína mínimo para satisfacer los requerimientos de aminoácidos y de energía en la dieta de los organismos.

Los peces, como todos los organismos, usan el alimento ingerido (C) como “ladrillos de construcción” en la síntesis de tejidos (G) y como combustible en los procesos metabólicos que impulsan esta síntesis y otros trabajos físicoquímicos (M). Algunos de los recursos alimenticios se pierden como productos de excreción (E) (Calow, 1985). Esto es equivalente a la ecuación de energía básica propuesta por Winberg (1956): $C = M + G + E$. Warren y Davis (1967) extendieron esta ecuación a una forma más generalizada:

$$C = (M_r + M_a + SDA) + (F + U) + (G_s + G_r), \text{ donde,}$$

(Metabolismo) (Excretas) (Crecimiento)

C = tasa de consumo de energía,

M_r = tasa metabólica estandar,

M_a = aumento de la tasa metabólica (por encima de M_r) debido a la actividad,

SDA = aumento en la tasa metabólica debido a la acción dinámica específica,

F + U = pérdida de desperdicios por egesta (heces) y excreción (orina),

G_s = tasa de crecimiento somático debido a síntesis proteica y deposición de grasa, y

G_r = tasa de crecimiento debido a síntesis gonádica (reproducción).

De la ecuación de Warren y Davis (1967), podemos definir el requerimiento de proteína para el metabolismo estándar del pez como el nivel de proteína dietética necesaria para satisfacer el nivel de energía usado en reposo por el pez y en ayunas. Este metabolismo estándar está principalmente en función de la temperatura del agua y el tamaño (talla) del cuerpo (Adams y Breck, 1990). El requerimiento para mantenimiento sería el requerimiento en proteína para satisfacer el metabolismo total ($M_r + M_a + SDA$) más los desperdicios (F+U). Rice et al. (1983) sugieren el término “metabolismo dependiente de la actividad” para referirse a los costos energéticos asociados con el metabolismo estándar más la actividad (i.e., $M_r + M_a$). El metabolismo activo-dependiente puede variar con la especie, el sexo y la época del año. La acción dinámica específica comprende los costos energéticos del procesamiento y asimilación del alimento, así como la desaminación de proteínas y transporte y **deposición** de lípidos. La energía perdida con los desperdicios puede variar grandemente entre las especies, y depende del tipo de alimento. Finalmente, el requerimiento de proteína para el crecimiento sería aquél necesario para satisfacer los tres componentes de la ecuación de Winberg, i.e., $M+G+E$. El requerimiento de la proteína para el crecimiento puede variar con la especie, la edad, tamaño del pez y el método de medición.

El requerimiento mínimo proteico en los peces, fué primeramente investigado en el salmón “chinook” (*Oncorhynchus tshawytscha*) por Delong et al. (1958; citado por Cowey, 1972) y continuados estos estudios con mayor detenimiento por Halver (1972) con varias especies del género *Oncorhynchus* (salmones del Pacífico), los cuales sentaron las bases para este tipo de estudios en una gran diversidad de especies marinas, salobres y de agua dulce (Cowey et al., 1972; Takeda et al., 1975; Lim et al., 1979; Shimeno et al., 1985; Parazo, 1990; Tucker et al., 1997). Tucker (1998) reporta una lista de 47 de estos trabajos efectuados en el período de 1958-1997. En el caso del estudio sobre el salmón “chinook”, los peces fueron alimentados con una dieta balanceada, conteniendo niveles graduales de proteína de alta

calidad (caseína: gelatina, complementada con aminoácidos cristalinos, a efecto de simular el perfil de aminoácidos mostrado por la proteína de huevo entero de gallina), durante un período de diez semanas, tomándose como requerimiento aquel nivel de proteína que diera lugar al crecimiento óptimo (Fig. 2).

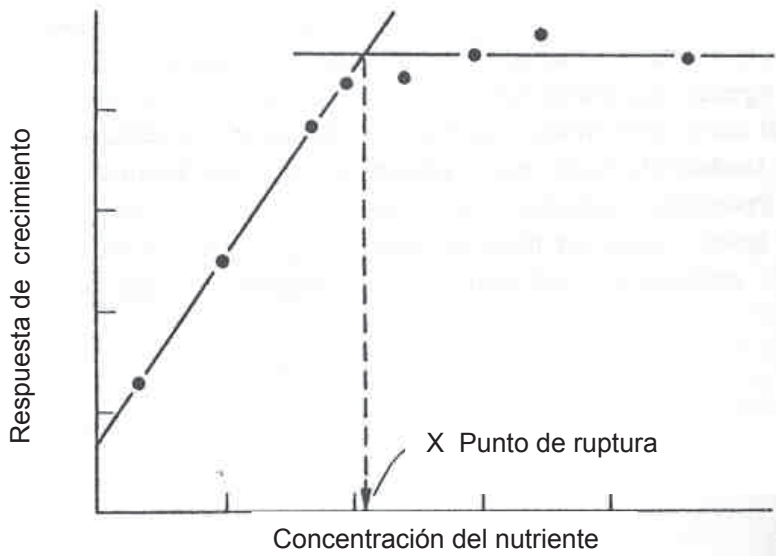


Fig. 2. Determinación del requerimiento en el alimento de un nutriente esencial, usando el análisis de la línea quebrada. La intersección de las dos líneas indican el punto de ruptura. Según Jobling (1994).

Según Tacon y Cowey (1985) desde estos primeros estudios, las investigaciones que hoy día se realizan han cambiado muy poco, con la posible excepción del uso de la técnica de máxima retención proteínica en el tejido o balance de nitrógeno, por la cual algunos investigadores han mostrado una mayor preferencia en relación a la técnica de ganancia en peso, como criterio para determinar los requerimientos en proteína (Ogino, 1980). Aparte de la determinación química de aminoácidos y su disponibilidad en el alimento, hay varios métodos biológicos para evaluar la calidad de la proteína tales como la proporción de crecimiento específica, la proporción de conversión de alimento, la eficacia del alimento, la proporción de eficacia de proteína, y el uso neto de la proteína. Para determinar el nivel del aminoácido esencial óptimo en la dieta, se usa el método de la dosis-respuesta, definido como el punto de ruptura en la curva de crecimiento observada (Baker, 1986), o la concentración máxima de nutriente en la dieta que produce un crecimiento óptimo, más allá del cual, se deprime el crecimiento (método del polinomio, Zeitoun et al., 1976), o el método de análisis del cadáver (Ogino, 1980), el cual, mide la depositación diaria de un aminoácido en el cadáver del pez. En este método, los peces alimentados con una fuente de proteína completa de alto valor biológico, y el requerimiento de los aminoácidos esenciales se basa en la depositación diaria de éstos en el tejido del pez (Tacon, 1989). De este modo, los requerimientos proteínicos de las especies normalmente se expresan como un porcentaje fijo de la dieta, o como una relación de proteína a energía (usando valores de energía digerible o metabolizable). Sin embargo, esta forma de

expresar los requerimientos ha dado por resultado que los requerimientos proteicos de las especies estudiadas hasta ahora, independientemente de sus hábitos alimenticios, sean relativamente altos (34-56%, para especies de agua dulce (Tacon y Cowey, 1985); y 38-70%, para especies marinas o de agua salobre (Tucker, 1998). Queda claro, entonces, que los requerimientos en proteína de los peces no pueden seguir expresándose únicamente como un porcentaje o como una proporción de proteína a energía. Los requerimientos de la proteína dietaria de los peces no son diferentes de los requerimientos de los animales de granja terrestres, cuando se expresan con relación al consumo de alimento o el requerimiento absoluto (gramos o kilojoules de proteína necesarios por kilogramo de peso del cuerpo por día) y en menor grado a la ganancia en peso o requerimiento de la producción (gramos o kilojoules de proteína requeridos por kilogramo de la ganancia en peso vivo) (Tacon y Cowey, 1985; Mambrini y Guillaume, 1999). Para ser estrictamente correctos, estos requerimientos deberán expresarse con base al consumo de proteína digerible.

Al criar peces, el conocimiento de la energética es útil para examinar los requerimientos de las especies involucradas. La consideración de los presupuestos de energía le permite a los acuacultores cuantificar los efectos de los factores principales, tales como especie, etapa de la vida, composición del alimento, disponibilidad del mismo y temperatura. El estudio de la energética es de importancia práctica en la optimización de las fórmulas de alimento y en las prácticas alimenticias. Debido a que el costo del alimento tiende a ser el costo principal de la producción piscícola, la comprensión de la energética es útil en cada etapa de la acuicultura (Tucker, 1998). Los animales jóvenes en crecimiento requieren más energía por unidad de peso para el mantenimiento que los animales maduros, aunque la reproducción aumenta los requerimientos de energía de éstos últimos. El cultivo exitoso de los peces dependerá del suministro de dietas que contengan niveles adecuados de energía con un equilibrio apropiado de nutrientes que permitan el crecimiento eficaz y el mantenimiento de la salud de los peces (Watanabe, 1988).

Un presupuesto de energía (Fig. 3) muestra las proporciones de energía bruta ingerida (I) perdida a través de la egestión (F) y la excreción (U) y las proporciones usadas para el metabolismo (M) y el crecimiento (G).

El metabolismo total (**M**) incluye la energía para el mantenimiento, la actividad y el incremento de calor (HE). M depende de las especies, el tamaño, la edad, la temperatura, nivel de actividad, nivel de tensión, y la facilidad para localizar y capturar sus presas u otro alimento. **M** puede aumentar cuando los peces crecen más, cuando se requiere más esfuerzo para obtener alimento o por otras actividades, cuando la temperatura aumenta, o aumentos de tensión, o cuando se presentan desviaciones del óptimo en la calidad del agua. Sobre una base individual (mg de oxígeno/pez/h), **M** aumenta con el tamaño, pero sobre la base del peso (mg oxígeno/kg/h), M disminuye (Tucker, 1998). **M** también aumenta después de que el pez es alimentado porque la energía se usa para procesar el alimento (**HE**). La energía neta es la energía disponible para el mantenimiento, la actividad y el **crecimiento (G)**. **G** para un individuo o la

población puede ser positivo, negativo o cero. La eficacia global para satisfacer los requisitos de vida tiende a mejorar gradualmente hasta la fase juvenil y después mejora a una proporción más rápida durante esta fase. Estos cambios son reflejados por un aumento en **G**. Después, cuando los peces aumentan de tamaño y sus necesidades de mantenimiento aumentan substancialmente, la eficiencia del crecimiento disminuye (Tucker, 1998; Médale y Guillaume, 1999).

Desde un punto de vista económico, tanto carbohidrato como pueda tolerarse debe ser incluido en el alimento, después tanta grasa como sea posible, y bastante proteína para obtener un crecimiento aceptable. La tolerancia a los carbohidratos y a la grasa varían entre las especies y los estadios de vida debido a las diferencias en la capacidad digestiva y modelos de asimilación (Tacon, 1989; Stickney y Hardy, 1989; Wilson, 1994; Pfeffer, 1995; Shiao, 1997). Asimismo, el mejor crecimiento normalmente ocurre cuando el nivel de proteína dietaria es mayor que el nivel económicamente óptimo.

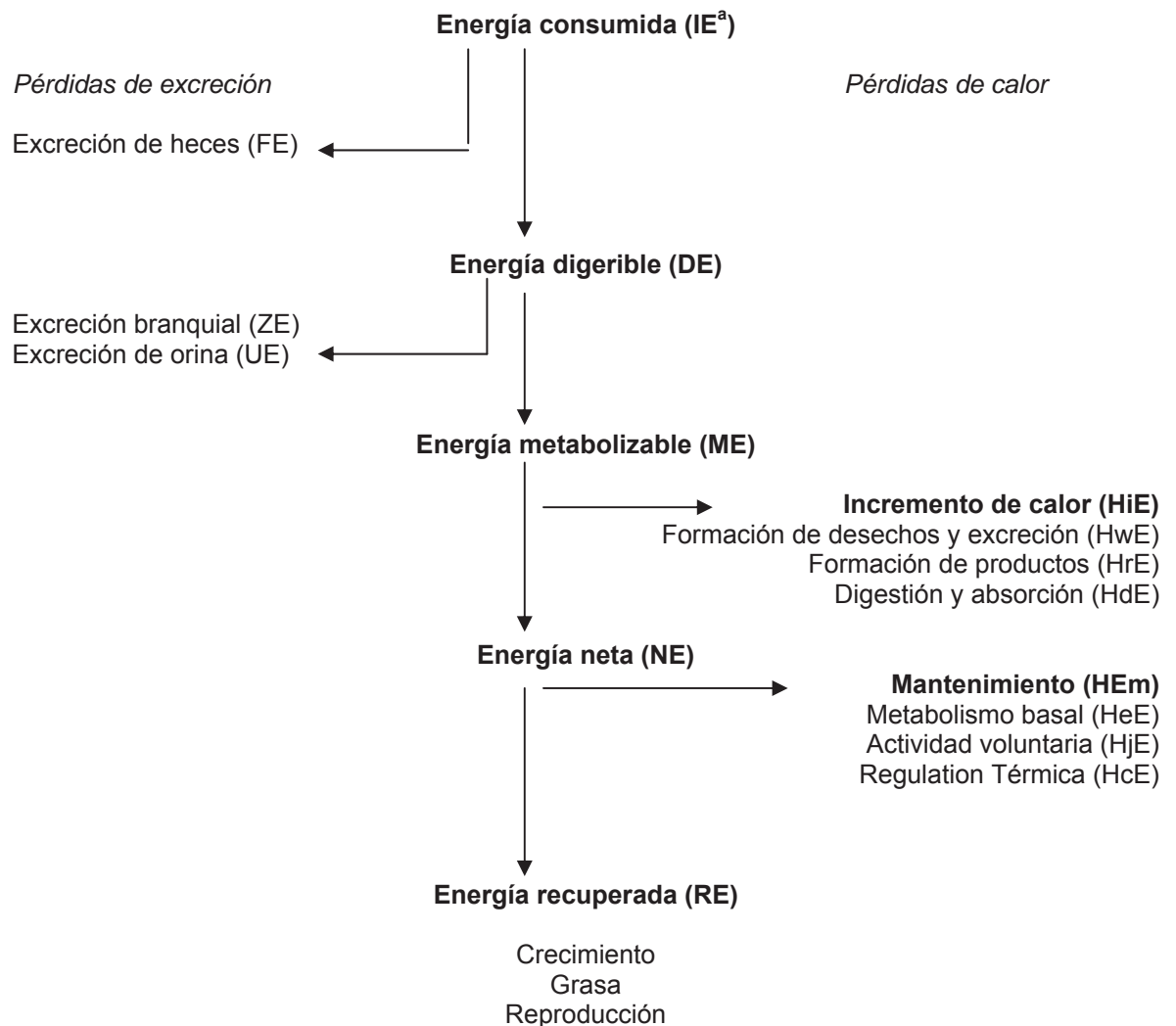


Fig. 3. Diagrama de flujo de la utilización de la energía dietaria para los peces. Según NRC (1993). ^a Por sus siglas en inglés.

Cuando los peces consumen raciones que aumentan al máximo la eficiencia del crecimiento (i.e., una menor TCA), la digestión es eficaz y hay un sobrante de energía para el crecimiento. Con raciones más bajas a la anterior, una proporción menor de energía está disponible para el crecimiento, después de que otras necesidades hayan sido satisfechas. Con raciones mayores a la que maximiza la eficiencia del crecimiento, la eficiencia de la digestión disminuye y una proporción más alta de energía es eliminada y de este modo se pierde para el crecimiento (Tucker, 1998; Médale y Guillaume, 1999). De todo lo anterior, es importante enfatizar la importancia de determinar, tan exactamente como sea posible, varios de los requerimientos nutricionales de los diferentes etapas del desarrollo y de las condiciones de cultivo de los organismos.

1.3 REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES DE LOS PECES E HIPOTESIS DE TRABAJO

La “ciencia de la nutrición” puede entenderse como la rama de la fisiología que tiene por objeto el ensamblado de procesos que aseguren al organismo el suministro de la energía y los nutrientes necesarios para sostener los procesos vitales de éste. El proceso de la nutrición comprende varias etapas: comportamiento e ingesta de organismos, digestión y absorción (etapa digestiva), metabolismo de nutrientes (etapa metabólica) y excreción y eliminación de desechos (Guillaume, 1999). En el caso particular de los peces, la nutrición puede ser afectada por factores endógenos como la especie, el estado fisiológico del pez, origen de los organismos (laboratorio o campo), y el tamaño ó talla del pez. Asimismo, es afectada por factores exógenos como composición del alimento, digestibilidad de los nutrientes, frecuencia y porcentaje de alimentación, nivel energético del alimento. Por factores ambientales como la temperatura del agua, oxígeno, amoníaco y nitritos. Un aspecto que no siempre es bien ponderado es que, la determinación cuantitativa de los requerimientos de proteína y energía de los peces y crustáceos suele ser afectado por el diseño experimental y las instalaciones de cultivo utilizadas, por lo que se refiere a las variables medidas y el análisis estadístico aplicado a los datos. Se enuncia a continuación la hipótesis principal que subyace en cada uno de los cinco experimentos que componen la tesis.

DESTETE DE LARVAS

Dado que normalmente las larvas de peces se alimentan de una variedad de organismos del zooplancton durante sus primeros estadios de vida, quisimos saber qué tan pronto las larvas de la cabrilla arenera podrían cambiar de alimento vivo a inerte, y cuál sería la sobrevivencia al ser alimentadas con una dieta microparticulada. Por consiguiente, se postula que las larvas iniciadas con una dieta compuesta seca sobrevivirán y crecerán , al menos, como el grupo control, las cuales se alimentarán con rotíferos, nauplios y juveniles de Artemia y trozos de pescado crudo, para el destete.

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA DENSIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA SUPERVIVENCIA

Se sabe que las especies de peces resisten un intervalo amplio de temperatura, pero normalmente los requerimientos para el crecimiento, la reproducción o la alimentación óptimos suelen ser mas estrechos. La temperatura y la densidad juegan un papel importante en la obtención de una supervivencia y un crecimiento altos. Se considera entonces que alguna de las seis combinaciones de tres temperaturas (24, 27 y 30 °C) y dos densidades (8 y 12 peces/tanque) del diseño experimental producirá mejores tasas de crecimiento y supervivencia de los juveniles de la cabrilla arenera.

EFFECTO POSITIVO DE LA CASEÍNA EN EL CRECIMIENTO Y USO DEL ALIMENTO

Se sabe que los alimentos purificados tienen una digestibilidad más alta que los alimentos compuestos, lo cual indica que las proteínas en forma purificada son más rápidamente digeridas (Akiyama et al. 1993). Así que, asumimos que la caseína puede ser una fuente de proteína adecuada

en dietas semi-purificadas usadas en la formulación de dietas para ensayos nutricionales con la cabrilla arenosa. Por consiguiente, se espera que los coeficientes de digestibilidad aparentes de proteína, lípidos, energía y materia seca serán valores altos y afectarán positivamente el crecimiento y uso del alimento en los animales de prueba.

EFFECTO DEL NIVEL PROTEICO DE LA DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA UTILIZACION DEL ALIMENTO

Según Jobling (1998), los requerimientos cuantitativos de un nutriente (proteína, por ejemplo) normalmente se determinan dándole una dieta a los organismos con varios niveles del nutriente en cuestión. La respuesta se mide entonces como algún índice del crecimiento, ó acumulación del nutriente en algún tejido o todo el cuerpo, ó usando algún indicador secundario, como la excreción de nitrógeno amoniacal ó la actividad enzimática. En la mayoría de los estudios realizados hasta ahora, la respuesta del crecimiento es lo que se ha medido, y se obtiene una curva de dosis-respuesta mediante la elaboración de una gráfica del crecimiento contra la cantidad (concentración) del nutriente suministrado en la dieta. Uno de los métodos que existen para analizar esta relación, asume que existe una relación lineal entre la respuesta del crecimiento y la concentración dietaria de la proteína. El requerimiento de la proteína en particular puede, entonces, ser determinado por medio del cálculo del punto de ruptura en la curva de la respuesta obtenida. El punto de ruptura será aquel punto donde mayores inclusiones del nutriente no promueven mayores aumentos en el crecimiento y se alcanza una asíntota en la curva de crecimiento. El requerimiento de la dieta se define como aquel punto donde la intersección de la línea horizontal asíntótica se cruza con la línea recta que representa los incrementos del crecimiento, como resultado de los aumentos en la dieta del nutriente limitante, que en este caso fué la proteína. Por lo tanto, se espera encontrar el nivel óptimo del requerimiento en proteína, para los juveniles de la cabrilla arenosa, en algún punto intermedio de los seis niveles a probar (25, 30, 35, 40, 45, 50 y 55%) pero por debajo del nivel más alto.

EFFECTO DEL NIVEL DE ENERGIA DE LA DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA UTILIZACION DEL ALIMENTO

Los peces, como todos los organismos, tienen requerimientos de energía para mantener todas sus funciones vitales (Guillaume, 1999). La energía es una abstracción que solo puede medirse durante la transformación de una forma a otra. Debido a que los peces requieren una mayor proporción de proteína en la dieta que otros animales (Smith, 1989), es importante encontrar la proporción adecuada de energía proteica y no proteica en los alimentos, ya que un exceso o reducción de energía puede significar una reducción en la tasa de crecimiento (NRC, 1993). Por ejemplo, un exceso de energía en la dieta provocará una disminución en la ingesta de nutrientes, ó bien dará lugar a una depositación excesiva de grasa en el pez; mientras que con una densidad energética baja en la dieta el pez usará los nutrientes ofrecidos en la ración para cubrir sus requerimientos de energía en lugar de canalizarlos para la síntesis de tejido y por ende para el crecimiento (Ramseyer y Garling, 1998). Por lo

tanto, de los tres niveles de proteína (35, 45 y 55%) y de energía digeribles (3.0, 3.5 y 4.0 kcal/g) a probar, se espera que al menos alguna de las combinaciones posibles será la proporción óptima de proteína: energía, la cual, se traducirá en el mejor crecimiento del pez y en una mayor utilización de la proteína del alimento.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 GENERAL

- Estudiar los requerimientos en proteína y energía de los juveniles de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*, en condiciones de cultivo de laboratorio.

1.4.2 ESPECIFICOS

- Determinar la edad (tamaño) a la que las larvas de la cabrilla arenera pueden aceptar alimento artificial, utilizando la sobrevivencia y el crecimiento como criterios de evaluación.
- Determinar la temperatura y densidad más adecuadas para llevar a cabo estudios de nutrición con juveniles de *P. maculatofasciatus*, en condiciones de cultivo de laboratorio.
- Medir la digestibilidad aparente *in vivo* de una dieta semipurificada a base de caseína, a fin de realizar estudios de requerimientos nutricionales en juveniles de cabrilla.
- Evaluar el efecto del nivel de proteína del alimento sobre el crecimiento y la utilización de proteína en juveniles de cabrilla arenera.
- Evaluar la influencia de los niveles de proteína y energía del alimento sobre el crecimiento y la utilización de la proteína en juveniles de cabrilla arenera.

CAPÍTULO 2

MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES

2.1 Organismos de experimentación

La presente investigación usó reproductores de la cabrilla arenera (*P. maculatofasciatus*) colectados del medio natural, para producir a los juveniles usados en los experimentos criando las larvas en condiciones similares de calidad de agua. Sólo en el experimento de digestibilidad, los juveniles fueron colectados del medio ambiente y condicionados al laboratorio durante una semana al sistema experimental, antes de iniciar el experimento.

La talla de los reproductores varió de 157 a 220 mm de longitud patrón (LP) y 106 a 211 g de peso del cuerpo (PC), en aquéllos experimentos donde los juveniles se obtuvieron de desoves naturales. En el experimento de iniciación, los reproductores se alimentaron con peces enteros congelados (juveniles de gerreidos principalmente) durante un mes y medio antes del desove.

El tamaño promedio inicial de los peces utilizados en el experimento de temperatura y densidad (T&D) y varios niveles de proteína (NP) fueron 2.1 y 2.5 g; mientras que el tamaño inicial usado en el experimento de proteína y energía (P&E) fué de 9.3 g y de 59 g, en el estudio de digestibilidad. La edad de los peces aproximadamente fué de 70 y 90 días después de haber eclosionado (DDH) en el experimento de T&D y NP, mientras que en el experimento de P&E fué de 84 DDH. Diferencias menores en la temperatura del agua, al momento del desove y la crianza de las larvas pueden explicar estas diferencias de edad en los juveniles cultivados. La edad de los peces colectados del medio natural no se midió, en el experimento de digestibilidad. La duración del periodo experimental en estos experimentos fué de 40-42 días, con excepción del experimento de digestibilidad, donde sólo fueron 27 días, tiempo suficiente para la colecta de las heces. La comparación de los datos reales se deja para después, en la discusión de los resultados globales para los experimentos de proteína y energía (capítulo 5).

2.2 Sistemas de cultivo

Se describen las características de los sistemas de cultivo utilizados en la presente investigación en este subcapítulo, según su ubicación: CIBNOR, CICIMAR y UABCS.

2.2.1 Bioterio (Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, CIBNOR)

El sistema de cultivo experimental se muestra en la Figura 4. El sistema experimental está formado por 18 acuarios rectangulares de plástico con capacidad de 40 L que reciben un suministro de agua (1.5 L/min) y de aire independientes; el sistema está conectado a un suministro de agua de mar filtrada a través de un filtro de cartucho de 5 micras y un sistema de luz U.V., antes de entrar a los acuarios experimentales. El ensayo estuvo sujeto a un fotoperíodo de 12 horas luz: 12 horas oscuridad. El control de la temperatura del agua se hizo con calentadores sumergibles de 250 watts, en cada acuario.



Fig. 4. Acuarios experimentales del sistema de flujo abierto de agua utilizado en el CIBNOR para el experimento del efecto de varias temperaturas y densidades.

2.2.2 Unidad Piloto de Maricultivos (UPIMA) localizada en el Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR).

La Figura 5 muestra el sistema experimental utilizado. El sistema recirculatorio estuvo compuesto de doce tanques de 140-L de fibra de vidrio, cuadrados, que drenaban hacia un tanque de sedimentación de 700-L, redondo y de fibra de vidrio. El agua se bombeó directamente del tanque de sedimentación a cada tanque experimental, cada uno de los cuales recibió un flujo de 2.3 L/minuto. El sistema estaba equipado con una unidad de filtración compuesta de un filtro de cartucho Jacuzzi, un filtro biológico Sea-Storm, un espumador, una unidad con 4-lámparas de luz U.V. y un termostato de titanio Bio-System. El sistema recirculatorio se llenó con aproximadamente 2.5 m³ de agua de mar y se dejó funcionando

durante dos semanas antes de la introducción de los peces; la temperatura del agua se mantuvo a 25 °C para el destete de las larvas y 27 °C para el estudio de digestibilidad, mediante el termostato de titanio.



Fig. 5. Sistema experimental utilizado para el ensayo de destete y de digestibilidad en el CICIMAR. La unidad de filtración consistente de un filtro de cartucho Jacuzzi, un filtro biológico, un espumador, una unidad de luz U.V., y un termostato de titanio.

2.2.3 Unidad de Maricultivos de Pichilingue de la Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABCS).

Una vista fotográfica del sistema de cultivo experimental se muestra en la Figura 6. Este sistema de flujo abierto estaba compuesto de veintisiete tanques de 140-L, esquinas redondeadas, de fibra de vidrio, llenos con 100 L de agua de mar. El agua entrante se filtró a través de dos tanques de 80-L, cónicos, de fibra de vidrio, llenos con material filtrante, antes de vaciar hacia los tanques experimentales. La temperatura del agua se mantuvo a 27 °C con calentadores sumergibles de 250 W colocados en cada tanque experimental.



Fig. 6. Sistema experimental usado para estudiar los requerimientos de proteína y energía en Pichilingue. Los dos tanques cónicos de sedimentación se observan al fondo de la fotografía.

2.3 Ensayos de crecimiento

Para enfatizar los factores principales y condiciones que la investigación presente tuvo, se explica una descripción breve de un experimento nutricional estandar ó de referencia en el subcapítulo presente, además del registro real de aquéllos.

Un experimento de alimentación debe realizarse en un ambiente controlado para prevenir alguna interacción de los efectos medioambientales, como temperatura o calidad del agua, con la variable nutricional estudiada en el ensayo.

2.3.1 Organismos de prueba

Es recomendable hacer la selección de los organismos de prueba según un tamaño similar (peso/longitud) o crías del mismo padre de una raza genética de rápido crecimiento (Lovell, 1989; D'Abramo y Castell, 1997). Los antecedentes de alimentación y condiciones ambientales de los peces para experimentación es importante también considerarlos. El número mínimo de organismos por unidad de cultivo (tanque o acuario) debe ser lo bastante alto para neutralizar posibles efectos negativos de una proporción de sexos desigual (machos que crecen más rápido) o para prevenir relaciones jerárquicas en la alimentación, que pueden estar presentes en algunas familias de peces (Lovell, 1989).

2.3.2 Calidad del agua y mantenimiento de los sistemas de cultivo

Se emplearon los siguientes métodos a lo largo de todo el período experimental de la presente investigación. Se llevó un registro diario de la temperatura del agua de mar y ambiental (°C), con un termómetro manual de mercurio. El oxígeno disuelto (mg/L) del agua, se midió con un oxímetro marca YSI modelo 58 (con una precisión de 0.01 mg/l); la salinidad (‰), con un salinómetro marca YSI modelo 58.; y el pH, se registró con un potenciómetro Corning Autocal 108 con una aproximación de 0.01. Se hicieron registros quincenales de nitrógeno amoniacal y nitrógeno de nitritos (mg/L), por medio del equipo y reactivos de Spectroquant®. Se mencionan a continuación, algunas variaciones en el mantenimiento y parámetros de los sistemas experimentales en particular, excepto lo relativo a los experimentos de destete y de digestibilidad y niveles de proteína, los cuales se describen más adelante.

Experimento de temperatura y densidad

La tabla 3 muestra los valores promedio en la calidad del agua del sistema experimental, observándose valores constantes durante todo el periodo experimental. Con excepción del valor de nitrógeno amoniacal total, los demás factores presentaron coeficientes de variación (CV) menores a 6%. Aunque el CV del amoníaco total es cercano a 13%, en realidad, los valores del nitrógeno amoniacal no ionizado (NANI) registrados en el presente estudio, se encuentran por debajo del nivel tóxico (74 a 400 µg/L) reportado para otras especies marinas, incluídos algunos serránidos (Tucker, 1998). Se sabe que los valores bajos de oxígeno disuelto (< 5.0 mg/L) pueden aumentar la toxicidad del amoníaco (Russo y Thurston, 1991); sin embargo, creemos que el flujo continuo del agua y el pH siempre alcalino en el sistema experimental contribuyeron a atenuar la posible toxicidad que pudiesen haber ejercido los valores más altos de NANI (0.07 mg/L) sobre los juveniles de la cabrilla arenera, los cuales se registraron solamente en la última semana del periodo experimental.

Tabla 3. Calidad del agua del sistema experimental durante el experimento para evaluar los efectos de temperatura y densidad de los peces sobre crecimiento y sobrevivencia de juveniles de cabrilla.

Parámetro	Promedio ± Desv. standard		C. V. ¹
	N = 3		(%)
Temperatura del agua (° C)			
24	24.86	0.40	1.61
27	27.06	0.12	0.44
30	29.98	0.14	0.46
Salinidad (‰)	36.0	0.18	0.50
Oxígeno disuelto (mg/L)	4.35	0.24	5.50
pH	7.9	0.07	0.88
Nitrógeno amoniacal (mg/L)	0.54	0.07	12.9
UIA ² (mg/L)	0.04	0.03	75.0
Nitrógeno de Nitritos (mg/L)	0.02	0.01	0.50

¹ coeficiente de variación = (desv. estandar/promedio) X 100

² UIA = Nitrógeno amoniacal no ionizado, según la temperatura y el pH del agua

Experimento con varios niveles de proteína y energía

El mismo sistema de flujo abierto que se utilizó en el experimento con varios niveles de proteína, se empleó para este estudio. Durante este ensayo la temperatura y salinidad fueron 27.7 ± 0.08 °C y 35 ± 0.33 ‰. El oxígeno disuelto, nitritos, amoníaco y pH fueron 5.6 ± 0.25 mg/L, 0.13 ± 0.01 mg/L, 0.05 ± 0.00 mg/L, y 8.0 ± 0.0 , respectivamente. Los peces estuvieron bajo un fotoperíodo de 12:00 h luz y 12:00 h oscuridad.

La temperatura, la salinidad y el pH estuvieron dentro del rango óptimo conocido por literatura para las especies de serránidos (Tucker, 1998). Efectos similares pueden concluirse para el fotoperíodo y el flujo de agua por lo que ningún efecto negativo puede esperarse sobre el crecimiento y la supervivencia de las larvas y juveniles de la cabrilla arenosa. Sin embargo, en caso del oxígeno disuelto (OD), del amoníaco y los nitritos habría que ser cautos. Puede ser posible que el amoníaco y los nitritos, con bajos valores de OD, hayan afectado el crecimiento y la supervivencia de las larvas utilizadas en el experimento de destete.

Debido a que los juveniles son más resistentes que las larvas, los efectos deletéreos posibles pueden no estar presentes. Sin embargo, la toxicidad de estos factores no ha sido determinada aún para la cabrilla arenosa en sus diferentes estadios de vida.

2.3.3 Evaluación del crecimiento de los peces

La evaluación de la respuesta a los nutrientes alimenticios debe consistir de tantas medidas como sea posible, i.e., ganancia en peso, supervivencia, índices bioquímico, etc. Los individuos seleccionados para el análisis bioquímico deben estar en el mismo estado fisiológico (D'Abramo y Castell, 1997).

Se describen a continuación los procedimientos para evaluar el crecimiento de los peces de los experimentos:

Tasa específica de crecimiento (TEC, %/d) = $[(\ln W_f - \ln W_i) / (t_2 - t_1) \times 100]$, donde W_f =peso húmedo promedio del pez al final (t_2) del período experimental, W_i =peso húmedo promedio del pez al inicio (t_1) del período experimental, \ln =logaritmo natural.

Factor de condición (FC) = $(W / L^b) \times 100$ (Bagenal y Tesch 1978), donde W =peso total observado del organismo y L = longitud total observada del organismo y b =el exponente de la relación lineal $\log W = \log a + b \log L$, generalmente entre los valores de 2 y 4.

Porcentaje de la ganancia en peso (PGP) = $100 \times [(\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}) / \text{peso inicial (g)}]$.

Tasa de conversión alimenticia (TCA) = peso seco (g) de la dieta / ganancia del peso húmedo (g), al final del período experimental.

Tasa de eficiencia proteica (TEP) = ganancia del peso húmedo (g) / proteína digerible ofrecida (g).

Consumo de alimento diario (CAD) = peso seco de la dieta (mg) / número de peces / días.

Consumo de proteína diario (CPD) = peso seco de la proteína (mg) / número de peces / días.

2.3.4 Análisis estadísticos

La duración de los experimentos diseñados para medir un requerimiento nutricional puede ser tan corta como 8 semanas o bien extenderse a 16 semanas o más. El punto importante es que se obtenga una relación de dosis-respuesta reconocible. Se alimentan niveles graduados del nutriente para varios (tres o más) grupos (tanques) de peces; es necesario que seis o más niveles del nutriente se ofrezcan si se quiere obtener una curva de la dosis-respuesta satisfactoria (Cowey, 1992). Los datos de crecimiento pueden examinarse de varias maneras: (1) respuesta de la línea quebrada (Robbins, Norton y Baker, 1979), (2) ajustando una curva asintótica a los datos (e.g., análisis de la regresión cuadrática) (Lovell, 1989; Cowey, 1992), o (3) los modelos de cinética de saturación de Mercer (1982) que faltan ser aplicados todavía a los estudios en peces (Cowey, 1992; Shearer, 2000). El análisis estadístico específico aplicado en la presente investigación se describe en los experimentos realizados.

2.4 Dietas experimentales

Todas las dietas experimentales, con excepción de las dietas usadas en el experimento de destete y para estudiar los efectos de temperatura del agua y densidad del pez, se formularon usando caseína sin vitaminas como la única fuente de proteína dietética. En cuatro de los cinco experimentos, la dieta se formuló usando el programa de computadora nombrado MIXIT-2⁺, V. 3.0 (1991)(ASC, Kingsville, Texas).

Los pasos para preparar las dietas semipurificadas se describen en Civera y Guillaume (1989): Los ingredientes secos de la fórmula se mezclan bien en un mezclador de comida, y después se agrega una emulsión de aceite de pescado y lecitina de soya. La mezcla se muele entonces finamente en un molino de café y se mezcla todo de nuevo a alta velocidad. Se agrega agua hasta que se forma una masa más o menos suave; esta masa se hace pasar despacio dos veces a través de un dado de 2-mm, de un molino de carne. Los pelets se secan al aire durante toda la noche a 30 °C y se guardan a 4 °C hasta que se usan. La composición del alimento se describe en cada experimento de la presente investigación.

2.5 Análisis bioquímicos

Todos los análisis de la composición proximal de las dietas y del cuerpo de los peces se realizaron en el Laboratorio de Nutrición del CIBNOR, utilizando los métodos descritos en el AOAC (1995).

Contenido de humedad

Cuatro muestras de 5 g del alimento se secan a 70-75 °C. durante 24 horas a peso constante, luego se enfrían en un desecador, y se vuelven a pesar. La diferencia en peso húmedo y seco representa el contenido de humedad de la muestra y se expresa como un porcentaje del peso original.

Análisis de ceniza

Tres muestras de un gramo del alimento se calcinan a 550 °C, en una mufla durante 24 horas. Después de enfriadas, las muestras se pesaron y el contenido de ceniza de la muestra original se estimó como porcentaje. El contenido de ceniza de un ingrediente o materia prima es el residuo inorgánico que permanece, después de que la materia seca se ha incinerado.

Proteína cruda

El contenido de proteína total se obtiene por el método de micro-Kjeldahl Automatizado, que mide el contenido de Nitrógeno total de la muestra y éste se convierte a proteína total, multiplicando por el factor 6.25, para materias primas de origen animal, y está basado en el supuesto de que, en promedio, el contenido de proteína contiene aproximadamente 16% de Nitrógeno.

Lípidos crudos

Se determinaron los lípidos crudos por medio del método de Soxhlet. Este procedimiento consiste en la extracción del componente éter, el cual es soluble en la muestra. El extracto se denomina contenido de lípidos crudos ya que no consiste completamente de grasas y aceites sino que también incluye otros materiales solubles en éter.

Fibra cruda

La fibra cruda se determina como la fracción que permanece, después de digestiones sucesivas con soluciones normales de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio, seguida de un secado y una incineración del residuo, bajo condiciones cuidadosamente controladas.

Energía bruta

El contenido de energía de una sustancia se determina oxidando el alimento completamente hasta dióxido de carbono, agua y otros gases, y midiendo el calor liberado que es denominado energía bruta del producto. Esto se hizo con un calorímetro adiabático de la marca PARR.

Óxido de Cromo

Se empleó un método simplificado para la determinación del óxido de cromo en heces y dietas, usando la digestión ácida con ácido nítrico y perclórico, según la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966), modificada por Olvera-Novoa et al. (1993).

CAPÍTULO 3

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE DESTETE DE LAS LARVAS DE
***Paralabrax maculatofasciatus*,**
CON UNA DIETA COMPUESTA:
EFFECTOS EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA

ARTICULO PUBLICADO:

Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M. Contreras-Olguín, R.A. Rueda-Jasso, y J. Guillaume, 2001. Preliminary study on the timing of weaning of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) larvae with a prepared diet: effects on growth and survival. *Journal of Applied Aquaculture* 10 (4): 1-15.

ABSTRACT. A preliminary feeding trial was made to determine the age (size) at which spotted sand bass, Paralabrax maculatofasciatus, larvae can be weaned with a prepared diet, using survival and growth performance as evaluation criteria. For this purpose, three different dietary treatments were tested: Control: the larvae were fed on live food, then on raw minced fish fillet; treatments 1, 2, and 3: the larvae were fed on live food, then weaned with a prepared diet from 15, 25, or 30 days after hatching, respectively. The larvae were obtained from naturally fertilized eggs. There was clearly an effect of the feeding strategy on the final growth of the spotted sand bass. Standard mean length, wet weight, and specific growth rate of larvae fed on live food were significantly ($P = 0.05$) higher than larvae weaned with the prepared diet. A possible cause of mortality in the weaned larvae, particularly of 15-day-old larvae, may be their small size, limiting their ability to search for food or to assimilate the prepared diet, or a possible imbalance in the essential fatty acid content of the prepared diet. It appears those larvae fed a longer period of time on live food were better adapted to the shift to the nonliving diet. From the results obtained, weaning of spotted sand bass larvae with a compound diet is possible but should not be made before the larvae are 30 days old, unless a different feeding strategy, such as co-feeding, is used.

Keywords: spotted sand bass, larvae, weaning, artificial feeding.

INTRODUCTION

The spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, is one of the 36 sea bass species reported along the west coast of Mexico (Lavett-Smith 1971; Miller and Lea 1972). Several of these species are commercially fished along the Pacific Coast and are valued as a high-quality marine fish (Heemstra 1995; Ramirez-Rodríguez 1996). There is no specific information on the spotted sand bass in the official records of Mexican fisheries (SEMARNAP 1998), because all commercial species of serranids are grouped within the generic terms of cabrillas (bass) and meros (groupers), but in 1998 the annual catch of just basses and groupers amounted to 16,568 tonnes, representing 14% of the total catch of marine fish (121,298 tonnes). The commercial value of this catch was about US\$18 billion, which represents 18% of the total value for the marine fish catch. This fishery production excludes tuna-like fish and sardines that are processed. Little is known about specific larval and juvenile feeding requirements under controlled conditions (Thompson et al. 1979; Avilés-Quevedo et al. 1995). Studies done at the Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) to develop a culture technique for spotted sand bass have shown that adults have high handling resistance and are able to spawn throughout the year under controlled conditions (Rosalez-Velázquez et al. 1992). Avilés-Quevedo et al. (1995) report that in varying temperature (17-32°C), juvenile spotted sand bass can grow to a commercial size of 25 cm (about 500 g) in 10 months, if the nursery stage of the fish is about 10 cm. The spotted sand bass can grow up to 56 cm in the wild (Thomson et al. 1979) and, under culture conditions, it can reach 45 cm in 3.5 yr (Avilés-Quevedo and Mazón-Suástegui 1996). Low survival (<5%) for one-month-old fry (30-mm standard length) have been obtained (Avilés-Quevedo et al. 1995; Contreras-Olguin et al. 1997; Alvarez-González 1999). The previous reports used raw-minced fish to change from live food to inert feed from day 32 of larval raising, but there is no standardized method to wean larvae up to juveniles in experimental culture for this species. Some advances have been made to determine the optimal culture conditions for this species, but an inadequate supply of fry and lack of knowledge of their nutritional requirements represent the major obstacles to sea bass culture or to any Mexican farming venture in finfish mariculture. In the present study, a first attempt to determine the age (size) at which the spotted sand bass larvae can be weaned with a prepared diet was made using survival and growth performance as evaluation criteria.

MATERIALS AND METHODS

Experimental Organisms

Wild, adult spotted sand bass (157- to 220-mm standard length; 106- to 211-g body weight) were captured in Bahía de La Paz (México) and transported to the Experimental Biology Laboratory at CICIMAR. After a quarantine period, 40 fish were transferred to four 1,100-L tanks, keeping a sex ratio of 1:1. The fish were maintained under a 13:11 light-dark photoperiod in sea water (34 ppt salinity) at 24°C, allowing them to mature and finally to spawn. Larvae were obtained from spontaneously spawned eggs in June 1996 and incubated at 25°C in a conical fiberglass tank with 80 L of seawater (35 ppt salinity). The water was well aerated until hatching started; then aeration was decreased and water volume increased to 100 L.

Experimental Conditions

The eleutheroembryos obtained were transferred to 8 fiberglass tanks filled with 80 L of filtered seawater through a 10- μ cartridge filter, UV sterilized, and passed through a 1- μ mesh bag. Water temperature was adjusted to 25°C with 200-W thermostatic heaters and salinity kept at 35 ppt. Aeration was gently supplied through a 50-cm perforated plastic tube placed at the bottom of each tank. As larvae grew, the water level in the tanks was increased to 140 L to keep safe levels of ammonia and nitrite (< 0.8 mg/L and < 0.4 mg/L, respectively), as recommended by Piper et al. (1982) and Wise and Tomasso (1989).

Before day 33, the tanks were operated as a static "green water" system; however, periodical water changes of sea water from 25% to 50% were done. From day 33 and until day 45 (end of the experiment), a constant 2.3-L/minute water flow was maintained in each tank. The larvae were maintained at a 12:12 h (L:D), using 39-W fluorescent lamps suspended 1.4 m above the culture tanks.

Experimental Design and Feeding Treatments

The newly hatched eleutheroembryos were randomly assigned to 12 tanks of the experimental system on day 0 at a density of 74/L. However, a great mortality in larvae during the first 2 weeks of the experimental period caused them to be redistributed in 8 tanks. Thus, once the larvae reached 15 days old (average survival being 5.2% at this time), two replicates of four groups of 300 larvae were fed using 4 different feeding regimens: control group (CG): the larvae were fed on live food until day 32, then on raw minced fish fillet. Treatments 1, 2, and 3: the larvae were fed on live food, then weaned with a prepared diet from day 15, 25, or 30 after hatching. All live prey used in the experiment were distributed ad libitum to the fish larvae, according to the following schedule: rotifers, *Brachionus plicatilis*, were supplied from day 3 to day 11 (two times a day) at increasing densities of 6 to 35/mL and then decreasing to 5/mL at the end of the period, day 24. The density of rotifers in each tank was monitored daily (early in the morning) and adjusted as needed. Thus, minor variations occurred between the control and the other treatments in the supply of rotifers and *Artemia nauplii* and juveniles. Enriched rotifers were used from day 10 to day 16. They were enriched with Superselco (INVE, Aquaculture NV, Belgium¹) for two hours before feeding the larvae. We adhered to

¹ Use of trade or manufacturer's name does not imply endorsement.

this 2-hour period mainly for the following reasons: (1) We used Superselco to enrich rotifers in a shorter period of time, because we found literature showing that compared to results obtained with Selco® it had a better composition in total (n-3) HUFA (Dhert 1996), and (2) the rotifer source employed was previously cultured in the microalgae *Nannochloris* sp., which was found to give much better results (Rueda-Jasso 1996) of rotifer production (233 rotifers/mL; 1.05 fecundity) and biochemical composition (60% protein, 16% lipid, and 25% carbohydrates). Newly hatched nauplii of *Artemia* (Platinum Grade Argentemia, San Francisco Bay, California¹) were given to the larvae from day 12 to day 31. When rotifers were lowered, *Artemia* nauplii were increased from 0.1/mL to 3/mL, i.e. from day 12 to day 24. Later, *Artemia* nauplii were decreased to 0.4/mL, from day 25 to day 31. Batches of *Artemia* juveniles were collected from a brine pond near La Paz, and kept in 200-L circular tanks with aeration and microalgae. Then, they were washed and sieved on appropriate mesh screens before being fed to the fish larvae. *Artemia* juveniles were supplied at increasing densities of 5 to 50/L to the larvae, from day 27 to day 39.

Weaning of the CG was done at day 33 with raw trigger fish, *Balistes polylepis*, fillets, chopped and sieved, and the supply of *Artemia* juveniles was accordingly lowered from day 33 to day 39.

Composition and Presentation of the Prepared Diet

The experimental diet was prepared following the method described in Civera and Guillaume (1989). The dried pellets of the experimental diet (Table 4) were ground and sieved to obtain three particle-size ranges (125–355 µm, 355–500 µm, and 500–850 µm).

TABLE 4. Composition and proximal analysis of prepared diet used for the weaning of spotted sand bass larvae. All values on a dry basis (except moisture).

Ingredient	Amount (g/100 g diet)
Fish meal ¹	35.3
Squid meal ²	15.0
Wheat meal	11.2
Soybean meal	10.0
Blood meal ³	7.0
Shrimp meal ⁴	5.0
Grenetin	4.0
Fish oil ⁵	3.0
Soy lecithin	3.0
Baker's yeast	3.0
Mineral premix ⁶	2.4
Vitamin premix ⁷	0.7
Choline chloride ⁸	0.2
Vitamin C ⁹	0.8

Proximate analysis of the weaning diet

Crude protein (%)	55.38
Crude lipid (%)	10.27
Crude fibre (%)	1.08
Ash (%)	13.23
Moisture (%)	7.23
N.F.E. ¹⁰ (%)	20.04

¹: From sardine (San Carlos, Bahia Magdalena, B.C.S., Mexico).²: Giant squid (Promotora Industrial Acuasistemas, La Paz, B.C.S., México.).³: From H.J. Baker & Bro. Co.⁴: Prepared from shrimp heads.⁵: From tuna fish.⁶: As requirements for marine fish (mg/kg diet): Vitamin A Acetate, 0.86; Vitamin D3, 0.06; Vitamin E Acetate, 80; Vitamin K3, 10.0; Thiamine mononitrate, 10.0; Riboflavin, 25.0; Pyridoxine Hydrochloride, 20.0; Pantothenic Acid, 50.0; Niacin, 200; d-Biotin, 2.0; Folic Acid, 10.0; Cyanocobalamin, 0.02; Inositol, 500.⁷: As requirements for marine fish (mg/kg diet): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄•7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄•7H₂O, 150; ZnSO₄•7H₂O, 30; MnCl₂•4H₂O, 13; CuSO₄•5H₂O, 3; CaCl₂•2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1.⁸: (50% active agent).⁹: (Ascorbate, 25% active agent) from Rovimix-Roche, Stay-C^R.¹⁰: Nitrogen-free extract.

The following weaning procedure was used as an attempt to condition the larvae from live food (LF) to prepared diet (PD); first day of weaning 80% LF + 20% PD, second day 50%LF + 50% PD, third day 25% LF + 75% PD, fourth and subsequent days 100% PD. The prepared diet was given at 0800, 1000, 1200, 1400, 1600 and 1800. According to total biomass in each tank, adjustments were made every five days to feed the larvae to apparent satiation during the experiment (percent wet body weight of feed given varied from 15% to 8% approximately). The prepared diet was used according to the criteria developed for marine fish larvae by

Shirota (1970) and Hunter (1980), who recommended that particle size of food should not be out of the range 40-70% of larvae's mouth aperture to ensure swallowing of food.

Proximate analyses of the PD (Table 4) were done according to the Association of Official Analytical Chemists (1980). Feeding treatments were evaluated for mean survival, standard length, wet weight, specific growth rate ($SGR(\%/day) = (\ln W_f - \ln W_i / t_2 - t_1) \times 100$), and Fulton's Condition Factor = $(W / L^b) \times 100$ (Bagenal and Tesch 1978). At least five larvae per tank were sampled for growth and mouth measurements every five days, except at the end of the experiment when all the organisms were measured.

Statistical Analysis

Data (standard length, wet weight, SGR, and Fulton's condition factor) were analyzed by one-way anova (Stat Soft 1998) to detect significant differences ($P = 0.05$) between treatments. When significant differences were detected, a Tukey honestly significant difference for equal sample sizes was used. Percent survival values were corrected by using a Square-Root Transformation (Little and Hills 1974) for ANOVA. Data on growth and survival of larvae weaned from day 15 (W15) were analyzed by a Student's t -test for independent samples (Stat Soft 1998) to detect significant differences among treatments.

RESULTS

Larvae of the W15 group (weaned at day 15) survived only until day 20 after hatching. Survival for the CG at day 20 was 5.2%. No significant differences ($P > 0.05$) were detected between treatments CG, W30, and W25 (Table 5).

The mean final standard length and wet weight of larvae in the CG were significantly higher ($P < 0.05$) than those of larvae fed the PD at 25 and 30 days after hatching (dah).

The specific growth rate (measured in length) varied from 4.4 to 6.2% per day, however, no significant differences were detected between treatments ($P > 0.05$). For SGR measured in terms of weight, greater variations were detected. Larvae from the CG grew faster than larvae from treatments W25 and W30, but significant differences were found only between the CG and the W25 treatments ($P = 0.05$). No significant differences were detected in the final Fulton's condition factor among treatments CG, W25, and W30 (Table 5).

TABLE 5. Values are mean \pm SD of growth indices, condition factor, and survival of larvae weaned at days 25 (W25) and 30 (W30), and the control group (CG). W15 larvae had 0% survival after 20 days. CG = Control group weaned at day 33 with the fish fillets. Values in each column with the same letter are not significantly different at $P > 0.05$

	Final standard length (mm)	Final wet weight (mg)	SGR (%/d) days 15-45		Fulton's condition factor	Final (%) survival (0-45 d)
			SL (mm)	Weight (mg)		
CG	27.4 \pm 1.4a	517 \pm 124a	6.1 \pm 0.9a	18.1 \pm 0.5a	2.4 \pm 0.3a	2.3 \pm 1.5a
W30	22.2 \pm 0.4b	290 \pm 19b	6.2 \pm 1.0a	15.8 \pm 0.2ab	2.6 \pm 0.1a	2.7 \pm 0.6a
W25	19.4 \pm 0.3c	193 \pm 12c	4.4 \pm 0.4a	15.1 \pm 0.8bc	2.5 \pm 0.4a	1.7 \pm 0.8a

Changing of the range 40-70% mouth aperture for the experimental period was as follows: 15-day larvae, 344-480 μ ; 20-day larvae, 400-680 μ ; 25-day larvae, 540-940 μ ; 30-day larvae, 696-1200 μ ; 35-day larvae and older, 888-1416 μ . Minimum and maximum particle size of the PD were close to the 40% mouth aperture of the larvae, from day 15 to day 22, while particle size of food offered in subsequent days represented 70% of the size needed for their gape size. In contrast, particle size of LF matched quite well the 40-70% gape size of spotted sand bass larvae, whatever the age considered.

DISCUSSION

Survival at the end of the present study was 1.7, 2.3, and 2.7%, for larvae weaned 25 days after hatching (dah), the CG, and 30 dah, respectively. Previous results obtained in three different larval cultures made in the

laboratory with the same fish species had shown survivals from 3.5 to 7.6% in the first month of life (25-34 dah) (Contreras-Olguín et al. 1997). Because our results are for a 45-day period, final survival can be considered close to that range found so far for spotted sand bass. As most marine larvae of the family Serranidae, P. maculatofasciatus larvae in this study showed great mortality when fed an artificial diet too soon, as has been reported for other marine species (Holt 1990; Doi et al. 1991; Gennari et al. 1994; Brown et al. 1996; Kestemont et al. 1996; Hilge and Steffens 1996). Great variations in survival have been reported for marine fish larvae cultures. For instance, during transition period from Artemia nauplii to chopped shrimp or commercially PD, Holt (1990) found that mortality might be high, as some fish do not rapidly accept these diets and cannibalism becomes prevalent. First attempts to artificial propagation of the grouper, Epinephelus suillus, led to very low survivals of larvae and juveniles, the rate being usually less than 10% on day 7 and 1% on days 50-60 (Doi et al. 1991). Tucker (1998) stated that many species of the serranids cultured, mainly of the genus Epinephelus from Asia, show low survival (1.4 to 10.0%)(e.g. Nassau grouper, E. striatus, and white-spotted green grouper, E. amblycephalus) when cultured from 1 to 98 dah, whereas other fish show fairly high survivals (12.1-34%)(e.g. orange-spotted grouper, E. coioides, and red-spotted grouper, E. akaara), when cultured from 1-47 dah. Different species, larval density employed, diet composition and presentation, and different culture conditions may account for major differences in the results obtained by several authors.

Survival was influenced by the feeding strategy, especially in the W15 treatment, where larvae were unable to survive more than 5 days after the prepared diet was used. It seems that larvae of W15 group were too small or too immature to switch from the live food to the inert diet because of their small size compared to larvae from the other treatments. However, we can not ignore that mortality of these larvae may have been a direct result of feed intake and not because of inability to assimilate the PD. Similar results are presented by Bryant and Matty (1981), who found that without exception, initial mortality of common carp, Cyprinus carpio, fed larvae, preceded the onset of mortality in their starved control fish.

Tandler (1993) reports that assimilation problems related to the use of dry diets in larvae are found to be associated with their digestibility for gilthead seabream, Sparus aurata, and European sea bass, Dicentrarchus labrax. Similar results were obtained by Gatesoupe (1983), Appelbaum (1985), Holt (1993), and Person-Le Ruyet et al. (1993), for the dover sole, Solea solea; red drum, Sciaenops ocellatus; and European sea bass, D. labrax, respectively. Watanabe and Kiron (1994) made a revision on the formulation of microdiets to replace LF's in larviculture, concluding that generally the main problems encountered are low ingestion rate and poor digestion rate. Unfortunately the digestibility of the artificial diet in this study has not been determined, and no conclusions can be reached. Furthermore, we do not ignore that the lack of maturation of the digestive-tract enzymes may be another possible cause of the mortality, as has been observed by Zambonino-Infante et al. (1996) in European sea bass. In a recent study on the ontogeny of the digestive tract of spotted sand bass's larvae, Peña-Martínez and Dumas (1998) observed that from day 15 on, the digestive tract is fully developed, but secretion of enzymes may be limited or impaired because the digestive tract is not physiologically matured. Therefore, when larvae ingest artificial food, maturation of the digestive tract is delayed, and there is lower survival (Cahu and

Zambonino-Infante 1994). Unfortunately there is no published information about the digestive enzymes and their development in the spotted sand bass.

When the feed of marine fish larvae is limited to a few groups of live prey organisms such as rotifers and Artemia, this low food diversity may lead to nutritional imbalances or deficiencies (Watanabe 1993; Dhert et al. 1998). As early studies have shown, one of the principle factors affecting the nutritional value of live prey for marine fish is their low content of essential fatty acids (EFA) (Bengtson et al. 1991; Lavens et al. 1995). We did not measure the EFA composition of the LF used; however, the culture conditions of the rotifers and the source of Artemia cyst used suggest the probability for an EFA-deficient LF limiting survival and growth of the larvae is small. Moreover, the good growth obtained in the CG of our study seems to confirm this statement.

Numerous studies have shown the importance of highly unsaturated fatty acids (HUFA's), especially those of the n-3 series, in the diet of marine fish larvae (Rimmer et al. 1994; Tucker et al. 1997; Brinkmeyer and Holt 1998; Kanazawa 1998). The requirement for n-3 HUFA's in marine fish larvae ranges from 0.5-2.0% of total fatty acids (Watanabe and Takeuchi 1989; Watanabe 1993) or from 0.3 to 39 g/kg on a dry basis (Izquierdo 1996), though these requirements vary between species and may also vary between different growth stages in the same species (Ronnestad et al. 1995; Izquierdo 1996; Tucker et al. 1997).

The EFA requirements for spotted sand bass have not been studied, and the eicosapentaenoic acid (EPA)/ docosahexaenoic acid (DHA) ratio in the compound diet, containing 3% fish oil and soy lecithin, was not determined. It is known that lecithin contains three main types of phospholipids: phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, and phosphatidylinositol, and they may represent 80% of the total content of phospholipids. These compounds act biologically as energy and EFA sources and as liposoluble vitamin carriers (Gurking and Orthoefer 1993). Soy lecithin in the present study's PD enhances diet attractivity and growth of larvae. Kanazawa et al. (1983a) and Kanazawa et al. (1983b) found that supplementation of microdiets with phospholipids such as lecithin improved larval growth of ayu, Plecoglossus altivelis, red sea bream, Pagrus major, and knifejaw, Ophlegnathus sp. Unfortunately, it cannot be determined to what extent the present study's PD satisfied these requirements for W25 and W30 larvae, but presumably it may have been deficient in some of the HUFA's, or the EPA/DHA ratio was below the optimum for this species, because lecithin does not contain EPA and DHA. Additionally, there is a growing demand for natural lipids highly enriched in DHA as nutritional supplement during larval development, Tocher et al. (1997) mention that this demand cannot be easily met by conventional commercial fish oils because their content of DHA seldom exceeds 15%. The aspects described above for low survival may account for lower growth of larvae fed the PD.

Further studies are needed to determine specific requirements for arachidonic acid (ADA), EPA, and DHA of spotted sand bass larvae and juveniles and also, an optimal ratio of ADA/EPA/DHA in the compound diet.

From the results obtained, weaning of spotted sand bass larvae with a compound diet is possible but should not be made before the larvae are 30 days old, unless a different feeding strategy, such as co-feeding, is used.

REFERENCES

- Alvarez-González, C.A. 1999. Optimización del proceso de producción de semilla de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (PERCOIDEI: SERRANIDAE) en sistemas de circulación cerrada. Master's thesis, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional. La Paz, B.C.S. México.
- Association of Official Analytical Chemists). 1980. Official Methods of Analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
- Appelbaum, S. 1985. Rearing of the Dover sole, Solea solea (L), through its larval stages using artificial diets. *Aquaculture* 49:209-221.
- Avilés-Quevedo, A., and J.M. Mazón-Suástegui. 1996. Cultivo de peces marinos. Pages 651-684 in M. Casas-Valdéz and G. Ponce-Díaz, eds. Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur. SAMARNAP. Gobierno del Estado de Baja California Sur. FAO. INP. UABCS. CIBNOR. CICIMAR. CET del Mar. La Paz, B.C.S. México.
- Avilés-Quevedo, A., U. McGregor, R. Rodríguez, O. Hiraes, M.A. Huerta, and M. Iizawa. 1995. Biología y cultivo de la cabrilla arenera, Paralabrax maculatofasciatus (Steindachner, 1868). Subsecretaría de Pesca, Instituto Nacional de la Pesca y Agencia de Cooperación Internacional del Japón. La Paz, B.C.S. México.
- Bagenal, T.B. and F.W. Tesch. 1978. Age and growth. Pages 101-136 in T. Bagenal, ed. Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters., 3rd. ed. IBP Handbook No. 3. Blackwell Scientific Publication. Oxford, U.K.
- Bengtson, D.A., P. Léger, and P. Sorgeloos. 1991. Use of Artemia as food source for aquaculture. Pages 255-285 in R.A. Browne, P. Sorgeloos, and C.N.A. Trotman, eds. *Artemia Biology*. CRC Press, Boca Raton, Florida .
- Brinkmeyer, R.L., and G.J. Holt. 1998. Highly unsaturated fatty acids in diets for red drum (Sciaenops ocellatus) larvae. *Aquaculture* 161:253-267.
- Brown, P.B., K. Dabrowski, and D.L. Garling. 1996. Nutrition and feeding of yellow perch (Perca flavescens). *Journal of Applied Ichthyology* 12:171-174.
- Bryant, P.L., and A.J. Matty. 1981. Adaptation of carp (Cyprinus carpio) larvae to artificial diets. 1. Optimum feeding rate and adaptation age for a commercial diet. *Aquaculture* 23:275-286.
- Cahu, C.L., and J.L. Zambonino-Infante. 1994. Early weaning of sea bass (Dicentrarchus labrax) larvae with a compound diet: Effect on digestive enzymes. *Comparative Biochemical Physiology* 109A:213-222.
- Civera, R., and J.C. Guillaume. 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralisation of Penaeus japonicus and Penaeus vannamei juveniles. *Aquaculture* 77:145-156.

- Contreras-Olguín, M., M. Rueda-Jasso, R.A. Matus-Nivón, E. Ortiz-Galindo, J.L. Dumas, and M. Osorio-Galindo. 1997. Crianza de larvas y juveniles de cabrilla arenera, Paralabrax maculatofasciatus. V Congreso Nacional de Ictiología. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa, México.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. Pages 49-78 in P. Lavens and P. Sorgeloos, eds. Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper. No. 361. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
- Dhert, P., P. Divanach, M. Kentouri and P. Sorgeloos. 1998. Rearing techniques for difficult marine fish larvae. *World Aquaculture* 29 (1):48- 55.
- Doi, M., M.N. Munir, N.L. Nik-Razali, and T. Zulkifli. 1991. Artificial propagation of the grouper, Epinephelus suillus at the marine finfish hatchery in Tanjong Demong, Terengganu, Malaysia. *Kertas Pengembangan Bilang* 167. Department of Fisheries, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Gatesoupe, F. J. 1983. Weaning of sole, Solea solea, before metamorphosis, achieved with high growth and survival rates. *Aquaculture* 32:401-404.
- Gennari, L., A. Roncarati, P. Melotti, and F. Loro. 1994. Early weaning trials of sea bass (Dicentrarchus labrax L.) using different artificial diets. *Aquaculture* 124:283-291.
- Gurking, S.U., and F. Orthoefer. 1993. Lecithin in Aquaculture. Pages 329-343 in L.E. Cruz-Suárez, D. Ricke Marie, and R. Mendoza-Alfaro, eds. *Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura*. Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, NL. México.
- Heemstra, P.C. 1995. Serranidae. Pages 1565-1613 in W. Fischer, F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter, and V.H. Niem, eds. *Guía FAO para la Identificación de Especies para los fines de la Pesca. Pacífico-Centro-Oriental. Vol. III, Vertebrados, Parte 2*. Food and Agriculture Organization. Rome, Italy .
- Hilge, V. and W. Steffens. 1996. Aquaculture of fry and fingerling of pike-perch (Stizostedion lucioperca L.)--a short review. *Journal of Applied Ichthyology* 12:167-170.
- Holt, G.J. 1990. Growth and development of red drum eggs and larvae. Pages 46-50 in G.W. Chamberlain, R.J. Miget, and M.G. Haby, compilers. *Red Drum Aquaculture*. Texas A&M Sea Grant College Program No. TAMU-SG-90-603. Port Aransas, Texas.
- Holt, G.J. 1993. Feeding larval red drum on microparticulate diets in a closed recirculating water system. *Journal of World Aquaculture Society* 24:225-230.
- Hunter, J.R. 1980. The feeding behaviour and ecology of marine fish larvae. Pages 287-330 in J.E. Bardach, J.J. Magnuson, R.C. May, and J.M. Reinhart, eds. *Fish Behaviour and Its Use in the Capture and Culture of Fishes*. ICLARM Conference Proceedings No. 5, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines.
- Izquierdo, M.S. 1996. Review article: Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 2:183-191.
- Kanazawa, A. 1998. Nutrition of fish larvae. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Manuscritos de conferencias y resúmenes de carteles. Parte 2. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, Baja California Sur, México.

- Kanazawa, A., S.I. Teshima, T. Kobayashi, M. Iwashita, and R. Uehdra. 1983a. Necessity of dietary phospholipids for growth of the larval ayu. *Memoirs of Faculty of Fisheries of Kagoshima University*. 32:115-120.
- Kanazawa, A., S.I. Teshima, S. Inamori, and H. Matsubara. 1983b. Effects of dietary phospholipids on growth of the larval red sea bream and knife jaw. *Memoirs of Faculty of Fisheries of Kagoshima University*. 32:109-114.
- Kestemont, P., C. Mélard, E. Fiogbé, R. Vlavanou, and G. Masson. 1996. Nutritional and animal husbandry aspects of rearing early life stages of Eurasian perch Perca fluviatilis. *Journal of Applied Ichthyology* 12:157-165.
- Lavens, P., P. Sorgeloos, P. Dhert, and B. Devresse. 1995. Larval foods. Pages 373-397 in N.R. Bromage and R.J. Roberts, eds. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Blackwell Science Ltd, Great Britain.
- Lavett-Smith C. 1971. A revision of the American groupers: Epinephelus and allied genera. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 146:71-226.
- Little, T., and J. Hills. 1979. *Métodos Estadísticos para la Investigación en la Agricultura*. Editorial Trillas. México, D.F.
- Miller D.J., and R.N. Lea. 1972. Guide to the coastal marine fishes of California. California Department of Fish and Game, *Fish Bulletin* 157:1-235.
- Peña-Martínez, R., and S. Dumas. 1998. Desarrollo ontogenético del tubo digestivo de larvas de la cabrilla arenera, P. maculatofasciatus (Steindachner, 1868)(Teleostei : Serranidae). IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. Manuscritos de conferencias y resúmenes de carteles, Parte 2. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S. México.
- Person Le Ruyet, J., J.C. Alexandre, L. Tebaud, and C. Mugnier. 1993. Marine fish larvae feeding: formulated diets or live prey? *Journal of World Aquaculture Society* 24: 211-224.
- Piper, R.G., I.B. McElwain, L.E. Orune, J.P. McCraren, L.G. Fowler, and J.R. Leonard. 1982. *Fish Hatchery Management*. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington, DC. 517 pp.
- Ramírez-Rodríguez M. 1996. Pesquería de Escama. pp. 287-304 in I. M. Casas Valdéz and G. Ponce Díaz. *Estudio del Potencial Pesquero y Acuicola del Estado de Baja California Sur*. Vol.1. SEMARNAP, Gobierno del Estado de B. C. S., FAO, UABCS, CIBNOR, CICIMAR, CRIP, CETMAR.
- Rimmer, M.A., A.W. Reed, M.S. Levit, and A.T. Lisle. 1994. Effects of nutritional enhancement of live food organisms on growth and survival of barramundi, Lates calcarifer (Bloch), larvae. *Aquaculture and Fisheries Management* 25:143-156.
- Rønnestad, I., R.N. Finn, I. Lein, and Ø. Lie. 1995. Compartmental changes in the content of total lipid, lipid classes and their associated fatty acids in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut, Hippoglossus hippoglossus (L.). *Aquaculture Nutrition* 1:119-130.
- Rosales-Velázquez M.O., R. Martínez-Pecero, B. Anguas-Vélez, M. Contreras-Olguín, and E.O. Rodríguez-Morales. 1992. Inducción al desove de la cabrilla arenera, Paralabrax maculatofasciatus (Stein.) (PISCES: SERRANIDAE) mantenida en laboratorio. III Congreso Nacional de Ictiología. 24-27 Noviembre 1992. Oaxtepec, Morelos. México.
- Rueda-Jasso, R.A. 1996. Nutritional effect of three microalgae and one cyanobacteria on the culture of the rotifer Brachionus plicatilis MÜLLER: 1786. *Ciencias Marinas* 22:313-328.

- Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca. 1998. Anuario Estadístico de Pesca. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca. México, D.F.
- Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 36:353-368.
- Stat Soft. 1998. Estadística Software, release 5.1 for Windows. STAT SOFT, Inc. Tulsa, Oklahoma.
- Tandler, A. 1993. Marine aquaculture in Israel with special emphasis on larval rearing. Journal of the World Aquaculture Society 24:241-245.
- Thomson, D.A., L.T. Findley, and A.N. Kerstich. 1979. Reef Fishes of the Sea of Cortez. University of Arizona Press, Tucson.
- Tocher, D.R., G. Mourente, and 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., Jr., 1998. Marine Fish Culture. Kluwer Academic Publishers. Boston, Massachusetts.
- Tucker, J.W., Jr., W.A. Lellis, G.K. Vermeer, D.E. Roberts, and P.N. Woodward. 1997. The effects of experimental starter diets with different levels of soybean or menhaden oil on red drum (*Sciaenops ocellatus*). Aquaculture 149:323-339.
- Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. Journal of the World Aquaculture Society 24:152-161.
- Watanabe, T., and V. Kiron. 1994. Prospects in larval fish dietetics-A review. Aquaculture 124: 223-251.
- Watanabe, T., and M. Takeuchi. 1989. Implications of marine oils and lipids in aquaculture. Pages 457-479 in R.G. Ackman, ed. Marine Biogenics Lipids, Fats, and Oils. Vol. II. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Wise, D.J., and J.R. Tomasso. 1989. Acute toxicity of nitrite to red drum *Sciaenops ocellatus*: Effect of salinity. Journal of the World Aquaculture Society 20:193-198.
- Zambonino-Infante, J.L., C.L. Cahu, A. Peres, P. Quazugel, and M.M. Le Gall. 1996. Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed *Artemia* rations: growth, pancreas enzymatic response and development of digestive functions. Aquaculture 139:129-138.

CAPÍTULO 4

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA DENSIDAD SOBRE EL CRECIMIENTO DE JUVENILES DE LA CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus*, CULTIVADOS EN EL LABORATORIO[♦]

[♦] Manuscrito 1 en preparación: "Effect of temperature and density on the growth of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) juveniles cultured under laboratory conditions".

INTRODUCCIÓN

La tasa de crecimiento de los peces es modificada por una serie de factores que incluyen a la temperatura del agua, la densidad de cultivo, la intensidad de la luz, porcentaje de alimentación y el tipo de alimento. De todos estos factores, la temperatura del agua y el suministro de alimento son de la mayor importancia para el desarrollo de larvas y juveniles (Watanabe, 1988). En este sentido, el crecimiento está ligado a un factor poderoso de origen biológico de tal modo que, cualquier factor del ambiente necesariamente interactúa con él. Por ejemplo, si la temperatura aumenta, la cantidad de comida ingerida normalmente aumenta así como la tasa de la digestión. La tasa del crecimiento, sin embargo, puede aumentar o disminuir dependiendo de la naturaleza de la relación entre alimento-metabolismo-temperatura. En este sentido, la demanda de energía podría exceder a la ganancia resultante del incremento en consumo de comida y podría producir una disminución en la tasa del crecimiento. Más aún, al crecer los peces alteran su tamaño y otro factor importante cambia con el tiempo (Brett, 1979). Para proporcionar un ambiente de cultivo que asegure un crecimiento óptimo al pez, es esencial tener información sobre la manera en que el comportamiento alimenticio y el consumo de alimento son influenciados por cambios en varios factores bióticos y el abióticos (Jobling et al. 1995).

La cabrilla arenera puede tolerar un rango de temperatura de menos de 15° C a más de 32° C que caracteriza su área de la distribución de California central al sur de México y a lo largo del Golfo de California (Oda et al., 1993; Thomson et al., 2000). Experimentalmente, esta especie puede tolerar temperaturas tan bajas como 7.5° C, aunque deja de alimentarse a estas temperaturas (Thomson y Lehner, 1976 citados por Thomson et al., 2000). No hay información publicada sobre la temperatura óptima para el crecimiento de la fase juvenil de esta especie. Sin embargo, una temperatura promedio consistente de 25° C se usa en cultivo de larvas en el CICIMAR. Esta temperatura es cercana a la temperatura óptima (23° C) encontrada por Rosalez-Velázquez et al. (1998) para inducir el desove y la obtención de una producción alta de huevos y fecundidad por hembra. Existe poca información disponible sobre estudios de densidad de esta especie. En un estudio para determinar la densidad óptima en el cultivo de larvas, usando valores iniciales de 50, 100, 150, y 200 individuos por litro, Alvarez-González (1999) encontró la mejor longitud promedio estandar y supervivencia con la densidad menor. En otro estudio con la cabrilla arenera cultivada en jaulas flotantes, Grayeb-Del Alamo et al. (1998) probó tres densidades (35, 70, y 105 organismos/m³)(45, 91 y 136 g/m³) para la fase de pre-engorda y otras tres densidades (13, 27, y 45 organismos/m³)(295, 613 y 1, 022 g/m³) para la fase de engorda. Estos autores encontraron los mejores valores significativos en el crecimiento absoluto a las densidades de 70 peces/m³ y 13 peces/m³, para las fases de pre-engorda y engorda, respectivamente. Por esta razón, se diseñó el siguiente experimento para obtener información básica sobre qué temperatura y densidad de cultivo serían convenientes para la cría de los juveniles de la

cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*, en condiciones de laboratorio, y poder así realizar estudios de requerimientos nutricionales de esta especie en condiciones adecuadas (capítulo 5).

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Sistema de cultivo y organismos experimentales

Este experimento se realizó en las instalaciones del Bioterio del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Los juveniles usados en éste experimento se obtuvieron de huevos espontáneamente desovados el 30 de abril de 1995, e incubados a 23-24 °C (salinidad = 36‰), en seis acuarios de vidrio de 100 L, y seis tanques de fibra de vidrio de 140 L, en el Laboratorio de Biología Experimental (LBE) del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Otras condiciones del cultivo y el régimen de alimentación de las larvas fué como se describe en el capítulo 3 para el grupo control.

4.2. Diseño experimental

Del lote de juveniles obtenidos, se seleccionaron 180 con un peso de 2.1 ± 0.05 g, y se distribuyeron de manera aleatoria en 18 acuarios de plástico (50X32X24 cm) con un volúmen de agua de 30 L cada uno. Se aplicó un diseño factorial de 3 X 2 tratamientos: tres temperaturas (24, 27 y 30° C) y dos densidades (8 y 12 peces/acuario). Cada tratamiento experimental tenía tres repeticiones. Se preparó una dieta húmeda de acuerdo a los ingredientes y el método descrito por Bower (1983). Los peces se alimentaron con esta dieta a una ración fija, equivalente a 10.5 g/tanque/día durante los primeros 20 días y 12.4 g/tanque/día durante la segunda mitad (20 días) del período experimental, el cual tuvo una duración de 40 días. La ración de alimentación (consistente en pequeños trozos de alimento blando) se dividió en dos comidas al día (0900 y 1400 hs). La composición de la dieta húmeda se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Composición de la dieta experimental usada en la determinación del efecto de la temperatura y la densidad en el crecimiento de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*.

Ingredientes	Cantidad (g/100 g dieta)
Filete de pescado ¹	17.5
Calamar ²	17.5
Harina de cabeza de camarón	17.5
Concentrado de proteína ³	19.5
Harina de sorgo	1.9
Levadura de cerveza	1.0
Premezcla de Vitaminas ⁴	1.0
Gelatina sin sabor	11.6
Aceite de Pescado ⁵	6.2
Lecitina de Soya	6.2
	99.9
Agua	450 ml
Composición proximal (% materia seca, excepto humedad ⁶)	
	% ± dev. std.
Proteína cruda (N X 6.25)	56 ± 3.46
Extracto etéreo (Soxhlet)	23 ± 0.04
Fibra cruda	4 ± 0.03
Cenizas	3 ± 0.07
Humedad	69 ± 1.96

¹ Pez gatillo (*Balistes polylepis*)

² *Loligo* sp. entero ó filetes de *Dosidiscus gigas*

³ Varias fuentes de proteína vegetal más algunos minerales, según Bower (1983)

⁴ (UI ó mg/kg dieta): Acetato de Vitamina A, 2500; Vitamina D3, 2400; acetato de Vitamina E, 30; Vitamina K3, 10.0; mononitrato de Tiamina, 10.0; Riboflavina, 25.0; hidrocloreuro de Piridoxina, 20.0; ácido Pantoténico, 50.0; Niacina, 200; d-Biotina, 2.0; ácido Fólico, 10.0; Cianocobalamina, 0.02; Inositol, 500.

⁵ Valores promedio de 3 determinaciones ± desviación estandard

4.3 Criterios de evaluación y Análisis estadístico

Los datos fueron analizados por un análisis bidireccional de variación para determinar los efectos principales de temperatura y densidad y los efectos de la interacción entre los dos factores. Se confinó la homogeneidad de variación usando la prueba de Levene. Cuando un efecto principal significativo fue encontrado ($P < 0.05$), las diferencias de las medias eran determinadas por el procedimiento de la diferencia honestamente significativa de Tukey. Los pesos de los 180 peces estuvieron normalmente distribuídos y la prueba de homogeneidad de varianza por réplica, por la fecha

y por el tratamiento demostró uniformidad para todos los tratamientos, con excepción del grupo T27D12.

4.4 Resultados y Discusión

Sobrevivencia de juveniles

Al comparar los porcentajes de sobrevivencia de los seis tratamientos (Tabla 7) no se detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$), obteniéndose valores por encima de 96%. Por lo tanto, no se observó efecto alguno debido a la temperatura, la densidad ó la interacción de ambos factores (Tabla 2a del anexo 2). La mortalidad registrada en una de las réplicas no se tomó en cuenta para el análisis estadístico, debido a que fué provocada por falla del calentador en uno de los tanques.

Tabla 7. Crecimiento y supervivencia de los juveniles de la cabrilla arenera, *P. maculatofasciatus* cultivados a diferentes temperaturas y densidades en condiciones de laboratorio. Los valores son promedios de tres grupos de peces. Los promedios con letras diferentes en la misma fila son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Parámetro	Tratamientos					
	24°C		27°C		30°C	
	8 (peces/acuario)	12 (peces/acuario)	8 (peces/acuario)	12 (peces/acuario)	8 (peces/acuario)	12 (peces/acuario)
Peso inicial promedio (g)	2.0a	2.1a	2.1a	2.1a	2.1a	2.1a
Supervivencia (%)	100a	100a	96a	100a	96a	100a
TEC ¹ (%/d)	2.8bc	2.6bcd	3.0ab	3.3a	2.9ab	2.3d
CAD ² (mg)	443ab	295c	464a	295c	464ab	295c
FCA ³	3.9c	6.3ab	3.6c	3.5c	3.8c	7.5a

¹ TEC = Tasa específica de crecimiento

² CAD = Consumo de alimento diario por pez

³ FCA = Factor de conversión alimenticia

Crecimiento y asimilación del alimento

El peso final promedio (5.7 g) de los juveniles de cabrilla, correspondiente a la densidad más alta de la temperatura de 30 °C (T30D12) fué significativamente menor que cualquier otro tratamiento. No fueron estadísticamente diferentes los tratamientos de las temperaturas de 24 °C, 27 °C y T30D8. El valor más alto del peso final promedio (7.8 g) correspondió al tratamiento T27D12 y el más bajo (5.7 g), al T30D12 (Tabla 7, Fig. 7). Una tendencia semejante se presentó en la tasa específica de crecimiento (TEC) cuyo valor más alto (3.3) se presentó en el tratamiento T27D12 y el valor más bajo (2.3) en el grupo T30D12. Avilés-Quevedo et al. (1995) reporta valores cercanos a los encontrados por nosotros en juveniles de cabrilla arenera (3.55) y en juveniles silvestres (2.7) cultivados en jaulas, y alimentados con una dieta compuesta húmeda, a base de ingredientes de origen animal,

principalmente. En otro estudio con dietas prácticas balanceadas de diferente contenido proteico (40-50%), Alvarez-González (1999) encontró valores de TEC menores a los de este estudio, entre 1.65 y 1.74 para juveniles de *P. maculatofasciatus* cultivados a 24.5 °C. Valores semejantes o menores en la TEC a los encontrados en el presente estudio, se reportan por ejemplo, en Tucker y Woodward (1996), quienes encuentran una TEC de 1.57 en juveniles de 7 g (peso inicial promedio) de la cabrilla de Nassau (*Epinephelus striatus*), a una temperatura de 28.7 °C y alimentados con dietas compuestas secas en cultivo en jaulas. Las diferencias encontradas entre estos estudios y el nuestro, posiblemente se relacionan con las diferencias en el sistema de cultivo (acuario-tanques-jaulas), la especie, la composición y presentación de los alimentos, y la temperatura de cultivo.

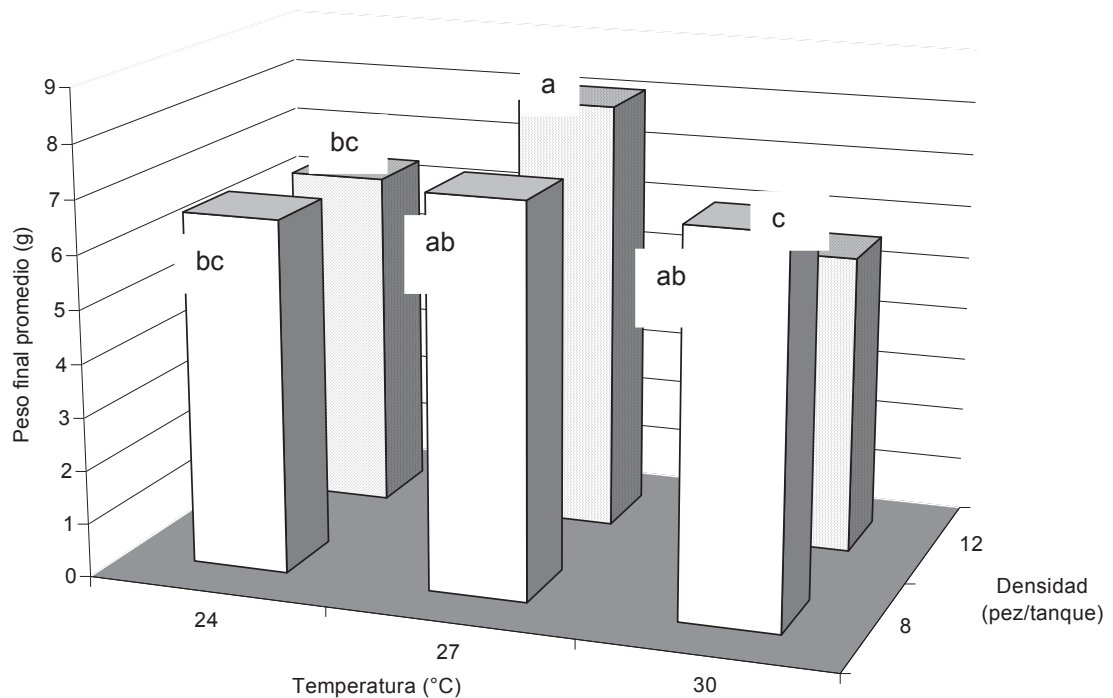


Fig. 7. Efecto de la temperatura del agua y la densidad de los peces sobre el crecimiento de los juveniles de la cabrilla arenera.

En caso del consumo de alimento diario (CAD, en mg de alimento seco/pez), los valores más bajos (295) se encontraron a la densidad de 12 peces/tanque, en las tres temperaturas. El valor de CAD para la densidad de 8 peces/tanque fué significativamente más alto (443-464) que el valor de CAD de la densidad más alta dentro de cada temperatura. Una observación importante es que después de cada comida se notó un poco de desperdicios de comida en la mayoría de los acuarios pero, no fueron cuantificados porque estaban en forma particulada y se disgregaron rápidamente. Así, parece que en lugar de alimentar al pez a saciedad aparente se alimentó al pez con una cantidad fija del alimento, i.e., los tanques con la densidad más baja recibieron más alimento que los tanques con la densidad más alta. En esta variable del CAD sólo la densidad fué significativa (Tabla 2d, anexo 2).

Dado que la cantidad de alimento ofrecido a todos los tratamientos fué uniformemente alto o bajo, independientemente de la temperatura (Tabla 7), parece ser que los peces sujetos a la temperatura más baja, recibieron más energía de la necesaria; por el contrario, los peces sometidos a la temperatura más alta, recibieron menos energía de la que necesitaban, particularmente el grupo T30D12 que mostró el crecimiento más bajo. El porcentaje fijo de alimentación y la cantidad variable de alimento desperdiciado probablemente influyeron en los valores de TCA obtenidos, sin contar con el hecho de que la ganancia en peso fresco de los tratamientos con la densidad mayor (22.8 y 18.7 g), de las temperaturas de 24 y 30 °C, respectivamente, fué menor a la ganancia del peso en los tratamientos con la densidad menor (32.2 y 37.7 g), con excepción de las dos densidades de la temperatura de 27 °C. cuya ganancia en peso fué más pareja (39 g para la densidad menor, y 39.3 para la densidad mayor, en promedio).

Los parámetros del crecimiento y la tasa de eficiencia alimenticia (TECy TCA) mostraron una interacción significativa ($P < 0.05$), lo cual significa que el efecto combinado de la temperatura y la densidad no son aditivos. En otras palabras, indica que cualquier combinación de temperatura y densidad contribuyó positiva o negativamente para aumentar la expresión del parámetro considerado, i.e., el crecimiento. En este estudio, la temperatura y la interacción fueron significativas en el peso final y la TCE (Tablas 2b y 2c, anexo 2); por otro lado, en la TCA la temperatura y la densidad fueron significativas (Tabla 2e, anexo 2). Esto parece estar relacionado parcialmente con los resultados de la TCA. En este factor, el valor respectivo del tratamiento T27D12 fué significativamente ($P < 0.01$) mejor (TCA=3.5) que la TCA de los tratamientos T24D12 (6.3) y T30D12 (7.5) (Tabla 7). Se sabe que la temperatura y la alimentación son de los factores de mayor peso sobre el metabolismo y el crecimiento de los organismos ectotérmicos (Brett, 1979; Jobling, 1981; Pandian, 1987; Guillaume, 1994). Sin embargo, el presente estudio parece indicar que la eficiencia de la conversión alimenticia de la cabrilla arenosa, no fue máxima al aumentar el consumo de alimento diario en los grupos de la densidad baja, en cada temperatura. La marcada diferencia entre el tratamiento T27D12 y T30D12, probablemente fue debido a una mejor utilización del alimento por los peces del grupo T27D12 a la temperatura de 27 °C. Al comparar el presupuesto energético de seis especies de teleosteos, Cui y Liu (1990; citados por Tuene y Nortvedt (1995), encontraron que la tasa de alimentación y la tasa de la energía disponible para el metabolismo explican la mayoría de las variaciones individuales en el crecimiento. Es necesaria una mayor investigación con dietas compuestas a base de ingredientes de digestibilidad conocida para clarificar el efecto de un mayor consumo de alimento en la cabrilla arenosa, dentro del intervalo de temperatura estudiado. De acuerdo a los resultados del crecimiento encontrados en el presente estudio (condiciones de alimentación restringida en lugar de saciedad aparente), se concluye que las mejores condiciones para el crecimiento de juveniles de *Paralabrax maculatofasciatus*, en condiciones de laboratorio, fueron a la temperatura de 27 °C y una densidad de 12 peces por acuario (equivalente a 2 g/L ó ca. 1 kg/m²), lo cual, se aplicó en el ensayo para determinar los requerimientos nutricionales de esta especie (capítulo 5).

CAPÍTULO 5

DETERMINACIÓN DE LOS REQUERIMIENTOS EN PROTEÍNA Y ENERGÍA DE LOS JUVENILES DE CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus*

5.1 DETERMINACIÓN DEL REQUERIMIENTO EN PROTEÍNA

EFFECTO DEL NIVEL DE PROTEINA DEL ALIMENTO SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA EFICIENCIA PROTEICA DE JUVENILES ALIMENTADOS CON DIETAS SEMIPURIFICADAS

ARTICULO PUBLICADO:

Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M. Cadena-Roa, J. Guillaume, and S.F. Martínez-Díaz. 2000. Studies on the Nutrition of Spotted Sand Bass, *Paralabrax maculatofasciatus*. Effect of the Dietary Protein Level on Growth and Protein Utilization in Juveniles Fed Semipurified Diets. J. World Aquacult. Soc. 31 (4): 580-591.

Abstract

Two feeding trials were conducted to determine the digestibility of a casein-based semipurified diet and the effects of different protein levels on growth and protein use of spotted sand bass (Paralabrax maculatofasciatus) juveniles. For trial I, a semipurified diet with vitamin-free casein as the sole source of protein was fed three times a day to apparent satiation, for a period of 20 d. Feces were collected by siphoning each tank. The digestibility of the experimental diet was high; 97% for protein, 89% for lipids, and 84% for gross energy, whereas that of dry matter was 78%. For trial II, seven diets were formulated using vitamin-free casein at graded levels (25, 30, 35, 40, 45, 50, and 55% protein). Triplicate tanks for each dietary treatment were stocked with fish and fed by hand three times a day to apparent satiation for 6 wk. Performance of fish fed the different diets was evaluated for survival, percent weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio. Survival was 100% for all treatments. Growth of spotted sand bass juveniles increased as the dietary protein increased, but no evidence of reaching a plateau was found. The daily feed intake values showed an inverse relation to the protein content of the diets. The feed conversion ratio did not differ among diets containing 40% protein or greater. The results indicate that spotted sand bass juveniles with 2.5-g mean weight need at least 55% dietary protein for best growth when casein is the sole protein source. However, in terms of feed conversion ratio, the requirement apparently could be lower.

Introduction

Nutrition is a critical factor in intensive aquaculture because of its influence on fish growth, health, and production cost. Development of nutritious and cost-effective diets is dependent on the knowledge of basic nutritional requirements of the organisms and on meeting those requirements with balanced feed formulation and appropriate feeding practices (Gatlin 1995; Tucker 1998). Protein is usually the most expensive component in the diet of fish in culture, hence dietary protein levels directly affect production cost (Lazo et al. 1998). Diets for most marine fish contain a relatively high level of protein because carnivorous fish are thought to have higher protein requirements than noncarnivorous species (Cowey et al. 1972; Wee and Tacon 1982), though this hypothesis has never been proved (Guillaume 1999). Most of the carnivorous fish species studied so far show a relatively high dietary protein requirement, in the range 35%-70% (Tacon and Cowey 1985; Tucker 1998). One of the possible reasons for this high protein requirement may be that fish derive more energy from catabolism of proteins than do terrestrial animals (Brett and Groves 1979). What appears to be a high protein requirement in fish is actually a low energy requirement (Smith 1989).

Feed use and fish growth are greatly influenced by factors such as protein content, feed intake, fish size, salinity, stress, and water temperature. These factors affect nutritional requirements and optimum dietary levels of nutrients (Brett 1979; Watanabe 1988). To develop feeds that are used efficiently, one must consider the nutritional requirements of the cultured species for protein, energy, vitamins, minerals, and available feed ingredients for digestibility and cost (Watanabe 1988; Tacon 1989).

The spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) is a carnivorous fish, preying mainly on small crustaceans, gastropods, pelecypods, and small fish (Calapiz-Segura and Mariscal-Loza 1991; Mendoza-Carranza 1995). It is considered a good candidate for commercial culture because adults have high handling resistance and are able to spawn throughout the year under controlled conditions (Rosales-Velázquez et al. 1992). Since 1990, there has been considerable interest in its biology and the feasibility of cage culture. Avilés-Quevedo et al. (1995) report that at temperatures ranging from 17-32 C, the fish can grow from fish at the nursery stage (about 10 cm) to a commercial size of 25 cm (about 500 g) in 10 mo. The spotted sand bass can grow up to 56 cm in the wild (Thomson et al. 1979) and, under laboratory culture conditions, they can reach 45 cm in 3.5 yr (Avilés-Quevedo and Mazón-Suástegui 1996).

There is no published information on the protein requirement for optimum or maximum growth of the juvenile spotted sand bass. Alvarez-González (1999) found that juvenile spotted sand bass (9.5-g initial mean weight) grew well at protein levels of 45-50% with complete practical diets. Therefore, more research is needed to optimize the level of protein and energy in the diets and to determine the digestibility of protein in various ingredients.

Our objective was to determine the digestibility of a casein-based semipurified diet (trial I) and to evaluate the effects of different dietary protein levels on growth and protein use of spotted sand bass juveniles (trial II) under laboratory conditions.

Materials and Methods

Experimental diets and design

For trial I, a semipurified diet was prepared using vitamin-free casein ICN® (Biomedical, Inc. Aurora, Ohio, USA) as the sole source of protein. The diet was formulated to contain 45% protein and 11% lipid with an estimated available energy value of 4.6 kcal/g (Table 8). An indirect method was used for digestibility determinations. Chromic oxide (0.5%) was added in the diet as an inert marker to determine the digestibility of protein, lipids, total energy, and dry matter. All diets contained 6% of an attractant premix (betaine and various free amino acids) to improve their palatability, according to Cadena-Roa (1983) and Metailler et al. (1983). The ingredients of the formula were well mixed in a food mixer, then an emulsion of tuna oil and soybean lecithin was added. The mixture was then finely ground in a coffee mill and mixed again at high speed. Tap water was added until a stiff dough was formed, and this was then slowly extruded two times through a 2-mm die in a Tor-Rey™ (Monterrey, N.L., México) meat grinder. The pellets were air-dried overnight at 30 °C and stored at 4 °C. (Civera and Guillaume, 1989). Proximate composition of the diets was determined by using AOAC (1995) methods.

Table 8. Composition of the semipurified diet used to determine the apparent digestibility coefficients of protein, lipids, energy, and dry matter in spotted sand bass juveniles (Trial I). Mean \pm SD of the ADC values are included.

Ingredient	(g / 100 g dry diet)	Apparent digestibility coefficients (%)				
Casein (vitamin-free)	50.5	Crude protein	Crude lipid	Organic matter	Gross energy	
Corn starch	10.0					
Cellulose	10.0	Pooled samples:	96.7 \pm 1.5	89.3 \pm 0.7	78.3 \pm 0.2	84.0 \pm 0.7
Soy lecithin	5.0					
Tuna oil	5.0					
Vitamin premix ^a	4.0					
Mineral premix ^b	8.0					
Attractants ^c	6.0					
Sodium hexametaphosphate	1.0					
Chromic oxide	0.5					
Proximate analysis (% dry matter, except moisture)						
Crude protein	45.3					
Crude lipid	11.1					
Ash	10.3					
Fiber	10.1					
NFE ^d	13.5					
Moisture	9.7					
Gross Energy (kcal / g)	4.6					
P / E ratio (mg protein / kcal)	97.8					

^a Vitamin premix (mg / kg diet): Vitamin A Acetate, 2500 IU; Vitamin D3, 2400 IU; Vitamin E Acetate, 30 IU; Vitamin K3, 10.0; Thiamine mononitrate, 10.0; Riboflavin, 25.0; Pyridoxine Hydrochloride, 20.0; Pantothenic Acid, 50.0; Niacin, 200; d-Biotin, 2.0; Folic Acid, 10.0; Cyanocobalamin, 0.02; Inositol, 500; Choline chloride, 2000; Vitamin C (ascorbate, 25% active agent), 800.

^b Mineral premix (mg / kg diet): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄•7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄•7H₂O, 150; ZnSO₄•7H₂O, 30; MnCl₂•4H₂O, 13; CuSO₄•5H₂O, 3; CaCl₂•2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1.

^c (g / 100 g diet): Betaine, 4.2; Glycine, 0.32; L-Arginine, 0.32; L-Proline, 0.32; Inosine, 0.84.

^d Nitrogen-free extract = 100-(%CP + %CL + %CF + %Ash).

For trial II, seven semipurified diets were formulated, prepared, and fed using a randomized design. Vitamin-free casein was added at graded levels to obtain protein levels of 25, 30, 35, 40, 45, 50, and 55 g protein/100 g diet on a dry weight basis. A mix of tuna oil and soy lecithin was added to give 10% oil (Table 9). Vitamin and mineral premixes were added to equal or exceed recommended levels of these nutrients for warmwater fish (NRC 1993). Diets were made using the procedures described above for trial I. Proximate composition of the diets was confirmed by analysis. Energy levels of the experimental diets were 4.3 to 4.9 kcal/g (18 to 20.5 kJ/g) and protein: energy ratios were 59.2-113.1 mg crude protein (CP)/kcal (15.9-30.8 mg CP/kJ). Apparent Digestibility Coefficients (ADC) from trial I were used to calculate digestible protein, lipids, and energy values of the semipurified diets tested in trial II (Table 9).

Table 9. Composition of the semipurified diets with different protein levels used in Trial II.

Ingredients (g / 100 g dry diet)	Diet						
	1	2	3	4	5	6	7
Casein	25.6	30.8	36.1	41.4	46.7	52.0	57.4
Corn starch	37.4	32.1	26.8	21.5	16.2	10.9	5.6
Cellulose	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Soy lecithin	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Tuna oil	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Vitamins ^a	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Minerals ^b	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Attractants ^c	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Alginic acid	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Sodium hexameta-phosphate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Proximate analysis (% dry matter, except moisture)							
Crude protein	25.5	31.0	35.2	40.1	45.7	50.1	55.5
Digestible protein ⁱ	24.6	30.0	34.0	38.7	44.2	48.4	53.6
Crude lipid	11.4	11.5	11.6	11.7	11.8	11.9	12.0
Digestible lipid ⁱ	10.2	10.2	10.3	10.4	10.5	10.6	10.7
Ash	7.7	7.7	7.7	7.7	7.8	7.8	7.8
Fiber	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
NFE ^d	36.4	31.8	27.1	22.5	17.8	13.1	8.5
Moisture	8.3	8.5	8.3	8.7	9.0	9.2	9.5
GE (kcal/g) ^e	4.30	4.38	4.47	4.44	4.54	4.77	4.91
DE (kcal/g) ^f	3.61	3.68	3.75	3.73	3.81	4.00	4.12
P / E ratio ^g	59.2	70.7	78.7	90.2	100.7	104.9	113.1
DP/DE ratio ^h	68.2	81.4	90.6	104.0	115.8	121.0	130.1

^a (mg / kg diet): Vitamin A Acetate, 2500 IU; Vitamin D3, 2400 IU; Vitamin E Acetate, 30 IU; Vitamin K3, 10.0; Thiamine mononitrate, 10.0; Riboflavin, 25.0; Pyridoxine Hydrochloride, 20.0; Pantothenic Acid, 50.0; Niacin, 200; d-Biotin, 2.0; Folic Acid, 10.0; Cyanocobalamin, 0.02; Inositol, 500; Choline chloride, 2000; Vitamin C (Ascorbate, 25% active agent), 800.

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

^c (g / 100 g diet): Betaine, 4.2; Glycine, 0.32; L-Arginine, 0.32; L-Proline, 0.32; Inosine, 0.84.

^d NFE: Nitrogen free extract = 100 – (% CP + % CL + % CF + % Ash).

^e GE: Gross energy, determined by bomb calorimeter.

^f DE: Digestible or available energy

^g P / E ratio (mg protein /kcal).

^h DP/DE ratio (mg digestible protein/kcal digestible energy)

ⁱ Values calculated after results obtained in trial I

Culture systems

The culture system for trial I consisted of 12, 140-L fiberglass tanks connected to a recirculating indoor rearing system with a seawater delivery rate of approximately 13 L/min per tank. The water temperature was kept at 27.0 ± 0.5 C. An adequate level of oxygen (minimum 6 mg/L) was maintained through aeration provided by an airstone in each tank. A photoperiod of 12 h light: 12 h darkness was maintained using fluorescent lighting

controlled by an electric timer.

To determine the effect of the dietary protein level on fish growth (trial II), an open flow-through system of 21, 100-L fiberglass square tanks (0.5 X 0.5 X 0.6 m) was used. Flow rate was maintained at approximately 5 L/min and all tanks were continuously aerated by using airstones. Dissolved oxygen levels were maintained between 7-8 mg/L during this trial. The water temperature of the experimental system was kept at 27.0 ± 0.5 C. A photoperiod of 11.5h light: 12.5h dark was maintained.

During both trials, water quality was monitored weekly and maintained at acceptable levels for spotted sand bass by mechanical and biological filtration, and U. V. sterilization. In trial I, salinity was 35.0 to 35.5 ppt, pH was 8.0 to 8.2, un-ionized ammonia was 0.020 to 0.026 mg/L, and nitrites were 0.0 to 1.4 mg/L. In trial II, salinity was 35.0 to 37.0 ppt; pH was 7.6 to 7.8; un-ionized ammonia was 0.0 to 0.030 mg/L, and nitrites were 0.00 to 0.10 mg/L. Seawater temperature and dissolved oxygen were monitored with an oximeter YSI model 58 (Yellow Springs Instrument, Yellow Springs, Ohio, USA). Salinity was measured with a Goldberg temperature compensated refractometer (Cole Palmer International, Vernon Hill, Illinois, USA). Ammonia and nitrite were measured by means of a portable unit and reagents of Spectroquant™ (E. Merck, Darmstadt, Germany).

Fish and feeding trials

For trial I, 120 juvenile spotted sand bass were collected by using a shrimp-type trawl net in Bahía de La Paz, B.C.S., México, and were transferred to the mariculture pilot unit of the Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). The fish were maintained in a circular fiberglass tank for 1 wk before transfer to the experimental system. Randomly selected groups of 12 fish with a mean weight of 59.0 ± 2.8 g were then distributed in six tanks of the experimental system. Fish were acclimated to the experimental system and the chromic oxide diet (45% protein) during 6 d prior to initiation of fecal collection. Fish were fed by hand three times a day (0800, 1200, and 1600) to apparent satiation for 20 d. Total feed provided was approximately 1.5-2.0% of body weight per d. Prior to the first daily feeding, feces and uneaten food were removed from each tank and discarded. Apparent digestibility coefficients (ADCs) were calculated using the formula (Watanabe 1988)

$$\text{ADC (\%)} = 100 - 100[(\% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ in feed} / \% \text{ Cr}_2\text{O}_3 \text{ in feces}) \times (\% \text{ nutrient in feces} / \% \text{ nutrient in feed})]$$

For trial II, juvenile spotted sand bass were obtained from laboratory-reared eggs, naturally spawned on 4 November 1997 at the Experimental Biology Laboratory of CICIMAR. Fish were kept in several circular fiberglass tanks before transfer to the experimental system at the aquaculture facilities of the Universidad Autónoma de Baja California Sur, Mexico, and fed a complete practical diet prepared in our laboratory with 35% protein for 1 wk before starting the feeding trial. There were three replications with 15 fish of a uniform mean weight of 2.5 g for all treatments. Fish were fed by hand three times a day (0800, 1300, and 1600) to apparent satiation for 42 d. All fish were initially fed about 8% of wet body

weight, divided into three equal feedings. As the fish grew during the experiment, feeding rate was adjusted according to apparent feed consumption. At 20 to 25 minutes after each meal, feces and uneaten food were removed from each tank by siphoning. All fish were individually weighed at the beginning of the trial and at 21 and at 42 d of the trial. Fish performance was evaluated by calculating the following parameters, according to formulas described in chapter 2, section 2.2: weight gain, specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), daily feed intake (DFI), and daily protein intake (DPI).

Sample collection and analysis

Feces for digestibility analysis (trial I) were collected by siphoning each tank every 0.5h after the first meal (0800), which was the average time of feces appearance. The last fecal sample was collected at 1630. Fecal samples of the six tanks were first collected and pooled into two periods, morning (0830-1130) and evening (1230-1630), for 20 d. The moist fecal pellets were gently rinsed with cold distilled water to remove salts before freeze-drying and then kept at -50 C for subsequent chemical analysis.

At the beginning of trial II, a sample of 25 fish was collected for initial protein and dry matter analysis in muscle, as well as muscle ratio, hepatosomatic index, and abdominal fat of fish body. At the end of the experimental period, 4 randomly sampled fish from each tank (12 fish/diet) were lyophilized for subsequent composition analysis. Two of these fish were used for final protein and dry matter content in fish muscle. The other two fish/tank were killed and excised for liver, abdominal fat, and whole muscle for the determination of hepatosomatic index ($HSI = \text{liver weight} \times 100/\text{body weight}$), intraperitoneal fat ratio ($IPF = \text{IPF weight} \times 100/\text{body weight}$), and muscle ratio ($MR = \text{muscle weight} \times 100/\text{body weight}$). Excised tissues were not included for proximate analysis, only the muscle tissue was used.

In both trials, proximate analysis of diets and feces samples was done using standard methods (AOAC, 1995) with NFE (nitrogen-free extract) being determined by difference. Chromic oxide was determined using the wet-digestion method of Furukawa and Tsukahara (1966). Gross energy was determined using a ParrTM adiabatic calorimeter model 1261 (Parr Instrument Co., Moline, Illinois, USA). All sample analysis were made in triplicate.

Statistical analysis

Normality of distribution and homogeneity of variance were tested. Data of initial and final weight were analyzed by a one-way ANOVA. Data on weight gain, feed conversion ratio, protein efficiency ratio, daily feed intake, daily protein intake, muscle composition, and somatic indices were not normally distributed, and were analyzed by the Kruskal-Wallis nonparametric analysis of variance. When differences were found, the Newman-Keuls multiple range test was used. Statistical significance was determined at $P = 0.05$ level in all factors determined. Statistical analysis was made using Statistica 5.0 (Statsoft®)(STAT SOFT, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

Results

Trial I

Fecal samples from the six tanks used in trial I were first collected and pooled into two periods, morning (0830-1130) and evening (1230-1630), for 20 d. The ADC values derived from the morning samples were protein (96.3%), lipids (74.5%), dry matter (78.9%), and energy (83.3%). The ADC values derived from the evening samples were protein (98.1%), lipids (76.9%), dry matter (78.7%), and energy (84.4%). Since the ADC of these two collection periods did not differ significantly ($P > 0.05$), the average ADC values (Table 8) were used to calculate nutrient digestibility values of diets in trial II.

Trial II

Growth performance and diet use of spotted sand bass juveniles are shown in Table 10. The final weight, percent weight gain, and the specific growth rate increased as the protein level in the diet increased, but no evidence of a plateau was observed. The poorer feed conversion ratio and daily feed intake values were obtained with fish fed the lower protein level (25%), whereas fish fed diets containing 45, 50, and 55% protein showed the best performances. In contrast, the daily protein intake increased as dietary protein level increased. Protein efficiency ratio values ranged between 0.9 and 1.26 but no significant differences among diets were found ($P > 0.05$). During this trial, survival was 100% with all treatments and hence not affected by the dietary protein level.

Table 10. Growth performance and diet use of spotted sand bass juveniles fed diets with different protein levels (trial II). Values are means of three tanks of fish per dietary treatment. Figures in each row with a different letter are significantly different ($P < 0.05$).

	Protein Level						
	25%	30%	35%	40%	45%	50%	55%
Mean initial weight (g)	2.4a	2.4a	2.4 ^a	2.5a	2.5a	2.4a	2.4a
Mean final weight (g)	4.1b	4.9a	5.1a	5.3a	5.7a	5.8a	6.5a
Weight gain (%)	70.0b	107.0ab	116.0ab	117.0ab	126.0ab	146.0a	162.0a
Specific growth rate (%/d)	2.5b	3.5ab	3.6ab	3.7ab	3.9a	4.3a	4.6a
Feed conversion ratio	4.5a	2.6bc	2.7b	2.3bcd	1.9d	1.8d	1.5d
Protein efficiency ratio	0.90a	1.26a	1.07a	1.12a	1.21a	1.15a	1.24a
Daily food intake	180.6a	162.0c	180.5ab	161.3c	137.1d	146.6d	140.8d
Daily protein intake	46.0f	50.2e	63.5cd	64.7c	62.6cd	73.4b	78.1a
Survival (%)	100a	100a	100a	100a	100a	100a	100a

The somatic indices, protein, and dry matter composition in muscle of spotted sand bass juveniles fed diets with different protein levels are shown in Table 11. Both the initial and final values of the somatic and muscle indices did not show significant differences among the dietary treatments ($P > 0.05$).

Table 11. Somatic indices, abdominal fat, muscle ratio, and compositions of spotted sand bass juveniles fed diets with different protein levels (trial II). Values are means of six fish per dietary treatment (two fish per tank). Initial values are at the beginning of the experiment. Figures in each row are not significantly different ($P > 0.05$).

	Protein Level (%)							
	Initial	25	30	35	40	45	50	55
Hepatosomatic index (%)	1.04	0.38	0.80	0.66	0.60	0.65	0.67	0.55
Abdominal fat (%)	1.7	2.4	2.6	2.2	2.2	2.6	2.3	2.0
Muscle ratio (%)	28.0	31.8	32.0	28.9	30.1	31.0	31.7	32.7
Muscle composition:								
Moisture (%)	23.8	26.9	21.7	23.1	23.1	24.9	24.5	21.4
Dry matter (%)	76.2	73.7	78.3	76.9	76.9	75.1	75.5	78.6
Protein (%)	76.3	80.8	79.2	79.5	80.0	81.1	80.2	80.3

Discussion

Trial I

The high protein ADC of casein ($96.7 \pm 1.5\%$) is similar to the value of 98% found by Smith and Lovell (1973) for channel catfish (*Ictalurus punctatus*), using a casein-based diet with 40% protein. It is also in agreement with the ADC values (96.8 and 97.1%) found by Arzel et al. (1995) for brown trout (*Salmo trutta*), using three protein sources (casein, soluble fish protein concentrate, and Norwegian fish meal) with 37% and 65% protein. The lipid digestibility found in the present study ($89.3 \pm 0.7\%$) is slightly higher than the lipid ADC (87.2%) found by Gibson-Gaylord and Gatlin (1996) for the red drum (*Sciaenops ocellatus*), using selected menhaden fish meal as the main protein source. The relatively low ADC for dry matter (78%) probably reflects the inclusion of raw corn starch in the diet instead of cooked starch. Gibson Gaylord and Gatlin (1996) report that carnivorous species do not easily digest the carbohydrate fraction of some diets and thus dry matter digestibility can be reduced. The ADC values determined in the present study with spotted sand bass juveniles were used to estimate digestible values of protein, lipid, and energy in the diets used in trial II (Table 8) and to calculate the corresponding protein efficiency ratio values in terms of digestible protein.

Trial II

The 25%-protein diet resulted in the lowest weight gain, whereas the highest weight gain was obtained with the 55%-protein diet, without reaching a plateau. Similar results have been reported by others authors (Ogino and Saito 1970; Cowey et al. 1972; Parazo 1990; Lazo et al. 1998) employing various protein sources for other fish species. Cowey et al. (1972) suggested a possible explanation of earlier results with diets containing casein may lie in their different metabolizable energy content. They

suggested their high protein diets were probably high in metabolizable energy and, if animals eat to meet an energy requirement, the energy content of the diets may have been an important factor affecting feed intake. This is now a well-known effect related to the protein/energy (P/E) ratio in the diet (Guillaume 1994; Yousif et al. 1996). The inverse relation of dietary protein level and feed intake was observed in the present study. The daily protein intake, estimated as grams of digestible protein per fish per d, indicates that the total or absolute amount of protein intake increased from the 25% to the 55% protein diets. Nevertheless, it seems that fish fed the higher protein levels (higher energy levels) apparently did not consume the amount of protein needed for optimum growth, which could explain why a plateau in weight gain was not reached. For growth, under our culture conditions, the results indicate the protein requirement of spotted sand bass is at least 55% in the diet when casein is the only source of protein. However, a possible imbalance in amino acid composition of the casein may have limited growth performance. Chen and Tsai (1994) mention that casein is limiting in arginine for many species studied, and the protein requirement level for *E. malabaricus* may be lower than 48% if a more complete protein, such as casein-gelatin mixture, is added. It is possible that if a more balanced diet in amino acids were used, the protein requirement for spotted sand bass would have been lower than 55% in the diet. Alvarez-González (1999) found in the same species, but greater fish size (9.0 g), the best growth in fish fed semimoist diets containing 45% and 50% protein. These results seem to support the previous statement. It is suggested that future investigations should consider larger protein increments and less dietary energy to clearly establish the optimum protein level for this species.

The highest feed conversion ratio (4.5) was obtained in fish fed the 25% protein diet. Tacon and Cowey (1985) mention that, in general, fish perform relatively poorly on purified diets when compared with practical diets. In the present study, the best FCR (1.5) was obtained in fish fed the 55%-protein diet, although there were no significant differences between fish fed diets containing 40% protein or greater. It is possible the protein requirement of this species may be lower than 55%, if a more balanced diet is used. These results are in agreement with Alvarez-González (1999) in spotted sand bass fed practical diets, where the best FCRs were obtained with diets containing 45% to 50% protein.

Protein efficiency ratios were uniform among the protein levels tested. Similar results have been found by Cowey et al. (1972), Lochmann and Phillips (1994), Mohanty and Samantaray (1996), and Lazo et al. (1998) for the plaice (*Pleuronectes platessa*), golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*), goldfish (*Carassius auratus*), snakehead (*Channa striata*), and Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) using casein or other protein sources. Because no significant differences were noted in PER values, it appears that protein was used with rather low efficiency independently of the dietary protein level.

Optimum dietary protein levels are affected by the amount of nonprotein energy in the test diets and the optimum dietary protein to energy balance (Cowey 1994; Wilson 1994). In our work, seven diets with a P/E ratio between 59 (25% protein) and 113 mg protein/kcal (55% protein) were used, and with a relatively constant lipid level (11.4-12.0%). In a review of nutrient requirements for marine fish cultured in Southeast Asia, Boonyaratpalin (1997) cites optimum values of P/E ratios and lipid content of various

carnivorous fish. For example, Lates calcarifer, 50% crude protein (CP), 15% lipid, and 140 mg/kcal/g of protein; Epinephelus salmoides, 40% CP, 13.5% lipid, and 121 mg protein/kcal; E. tauvina, 47 to 60% CP, 94 mg protein/kcal; and E. malabaricus, 47.8% CP, 142 mg protein/kcal (no lipid data were provided for the last two species). In addition, New (1987), cited by Boonyaratpalin (1997), reported the optimum dietary lipid level for groupers to be 14%. In our study, diet 7, which showed the highest weight gain, contained 55% protein, 12% lipid, and 113.1 mg protein/kcal. Diet 7 was below the optimum lipid level reported for some serranid species and slightly lower than the P/E ratios reported for similar species. Protein could be used as metabolic fuel instead of being used for growth when inadequate dietary energy is fed (Yousif et al. 1996; Ramseyer and Garling Jr. 1998). Thus, the balance of protein to energy and the amount of nonprotein energy in our diets might have not been within the optimum ratio for the spotted sand bass.

The corn starch content of diet 1 was the highest (37%) and decreased as the dietary protein increased. According to Wilson (1994), in general, marine and cold water fish cannot use levels of carbohydrates higher than 20% in their diet. In a review of red drum (Sciaenops ocellatus) nutrition, Gatlin (1995) states this species was not adversely affected by as much as 35% carbohydrate in the diet, although in some instances weight gain and feed efficiency were slightly reduced. According to results in Table 3, it seems that spotted sand bass can tolerate levels of crude corn starch from 20% to 30% (diets 2-4). Lack of significant differences among diets 2-7 for survival and weight gain seem to confirm this assumption, nevertheless, the digestibility of crude and cooked starch at different dietary levels needs to study to better understand the availability of carbohydrates for this species.

There are contradictory results in the literature related to the effects of the protein content of the diet on fish body and tissue composition. Some authors find that the diet can affect the body protein, lipid, and ash levels (Mohanty and Samantaray 1996; Webster et al. 1997), whereas other authors find no significant effects (Jauncey, 1982; Martínez-Palacios et al. 1996; Lazo et al. 1998). The values of hepatosomatic index, abdominal fat, and muscle ratio of spotted sand bass are not significantly different ($P > 0.05$). The muscle ratio represented about a third of the whole-body biomass, independent of the diet, thus the yield of edible flesh was not influenced by dietary protein level. Similarly, the hepatosomatic index and the abdominal fat did not change as a function of dietary protein level. A plausible explanation for lack of significant differences in the present study may be the short time of the growth trial (6 wk). Millikin (1983) found significant differences in whole-body protein concentration of striped bass (Morone saxatilis) fed various protein concentrations in a study that lasted 10 wk, but not in another study lasting 6 wk with young striped bass (Millikin 1982; cited by the same author). Our results call for a longer trial to verify lack of significant differences found.

Results from the present study indicate that spotted sand bass juveniles with 2.5-g mean weight need at least 55% dietary protein for best growth when casein is the sole protein source. However, in terms of feed conversion ratio apparently the requirement could be lower. Further research is needed, to determine the protein and essential amino acids requirements for optimum growth, as well as the effect of

the protein/energy ratio on the body composition of spotted sand bass, using casein/arginine or a more balanced amino acid practical diet.

Literature cited

- Alvarez-González, C.A. 1999. Optimización del proceso de producción de semilla de la cabrilla arenera Paralabrax maculatofasciatus (Percoidei: Serranidae) en sistemas de circulación cerrada. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.
- Arzel, J., R. Métailler, C. Kerleguer, H. Le Delliou, and J. Guillaume. 1995. The protein requirement of brown trout (Salmo trutta) fry. *Aquaculture* 130: 67-78.
- Avilés-Quevedo, A. and J.M. Mazón-Suástegui. 1996. Cultivo de peces marinos. Paginas 651-684 in: M. Casas Valdés y G. Ponce díaz, eds. Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. Vol. II. SEMARNAP. Gobierno del Estado de B.C.S. FAO. I.N.P. UABCS. CIB. CICIMAR. CET del MAR. La Paz, B.C.S., México.
- Avilés-Quevedo, A., U. McGregor P., R. Rodríguez R., O. Hiraes C., M.A. Huerta B. and M.lizawa. 1995. Biología y cultivo de la cabrilla arenera, Paralabrax maculatofasciatus (Steindachner, 1868). I. N. P., CRIP-La Paz, Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA). La Paz, B.C.S., México.
- Boonyaratpalin, M. 1997. Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia. *Aquaculture* 151: 283-313.
- Brett, J.R. 1979. Environmental factors and growth. Pages 599-675 in: W.S. Hoar, D.J. Randall, and J.R. Brett, eds. Fish physiology. Vol. VIII, Bioenergetics and growth. Academic Press, Inc., San Diego, California, USA.
- Brett, J.R. and T.D.D. Groves. 1979. Physiological energetics. Pages 279-352 in: W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (eds). Fish physiology, v. 8. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Cadena-Roa, M. 1983. Etude experimentale de l'alimentation de la sole (Solea vulgaris Q) en élevage intensif. Ph.D. Thesis, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Calapiz-Segura, A. and A. Marcial-Loza. 1991. Hábitos alimenticios de la estructura poblacional de la cabrilla de roca Paralabrax maculatofasciatus (Pisces: Serranidae) de Bahía Magdalena, B.C.S. Mexico. Resumen 033. II Congreso Nacional de Ictiología, San Nicolás de la Garza, N.L. Mexico.
- Chen, H.Y. and J.C. Tsai. 1994. Optimal dietary protein level for the growth of juvenile grouper, Epinephelus malabaricus, fed semipurified diets. *Aquaculture* 119: 265-271.
- Civera, R. and J. Guillaume. 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralization of Penaeus japonicus and Penaeus vannamei juveniles. *Aquaculture* 77: 145-156.
- Cowey, C.B. 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture* 124: 1-11.
- Cowey, C.B., J.A. Pope, J.W. Adron, and A. Blair. 1972. Studies on the nutrition of marine flatfish. The protein requirement of plaice (Pleuronectes platessa). *British Journal of Nutrition* 28: 447-456.

- Furukawa, A. and H. Tsukuhara. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, vol. 32 (6). (Abstract).
- Gatlin, D.M. III. 1995. Review of red drum nutrition. Pages 41-49 in: Lim, C.M. and D.J. Sessa, eds. Nutrition and utilization technology in aquaculture. AOCS Press, Champaign, Illinois, USA.
- Gibson-Gaylord, T. and D.M. Gatlin III. 1996. Determination of digestibility coefficients of various feedstuffs for red drum (Sciaenops ocellatus). Aquaculture 139: 303-314.
- Guillaume, J.C. 1994. Origen de las características nutricionales de los peces: una revisión. Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 7-9 Noviembre 1994, Monterrey, N.L., México.
- Guillaume, J. 1999. I Généralités. Pages 25-39 in J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot, and R. Métailler, eds. Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. INRA editions, Brest, France.
- Jauncey, K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, and body composition of juvenile tilapias (Sarotherodon mossambicus). Aquaculture 27: 43-54.
- Lazo, J.P., D. Allen Davis and C.R. Arnold. 1998. The effects of dietary protein level on growth, feed efficiency and survival of juvenile Florida pompano (Trachinotus carolinus). Aquaculture, 169: 225-232.
- Lochmann, R.T. and H. Phillips. 1994. Dietary protein requirement of juvenile golden shiners (Notemigonus crysoleucas) and goldfish (Carassius auratus) in aquaria. Aquaculture 128: 277-285.
- Martínez-Palacios, C.A., M. Harfuz-Melendez, C. Chávez-Sánchez, and L.G. Ross. 1996. The optimum dietary protein level for the Mexican cichlid Cichlasoma urophthalmus (Gunther): a comparison of estimates derived from experiments using fixed-rate feeding and satiation feeding. Aquaculture Nutrition 2: 11-20.
- Mendoza-Carranza, M. 1995. Descripción y comparación de las dietas de Paralabrax maculatofasciatus, P. clathratus y P. nebulifer en el estero de Punta Banda y Bahía de Todos Santos, Ensenada, B.C. México. Tesis de Maestría, CICESE. Ensenada, B.C.N., México.
- Metailler, R., M. Cadena-Roa, and J. Person-Le Ruyet. 1983. Chemical attractive substances for the weaning of dover sole (Solea vulgaris): qualitative and quantitative approach. Journal of World Mariculture Society 14: 679-684.
- Millikin, M.R. 1982. Effects of dietary protein concentration on growth, feed efficiency, and body composition of age-0 striped bass. Transactions of the American Fisheries Society 111: 373-378.
- Millikin, M.R. 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization of age-0 striped bass. Transactions of the American Fisheries Society 112: 185-193.
- Mohanty, S.S. and K. Samantaray. 1996. Effect of varying levels of dietary protein on the growth performance and feed conversion efficiency of snakehead Channa striata fry. Aquaculture Nutrition 2: 89-94.
- New, M.B. 1987. Feed and feeding of fish and shrimp: A manual on the preparation and presentation of compound feeds for shrimp and fish in aquaculture. United Nations Development Program, FAO, Rome, Italy.
- NRC (National Research Council). 1993. Nutrient Requirements of Fish. National Academy Press, Washington, D.C., USA.

- Ogino, C. and K. Saito. 1970. Protein Nutrition in Fish-I. The utilization of dietary protein by young carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36 (3): 250-254.
- Parazo, M.M. 1990. Effect of dietary protein and energy level on growth, protein utilization and carcass composition of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Aquaculture* 86: 41-49.
- Ramseyer, L.J. and D.L. Garling Jr. 1998. Effects of dietary protein to metabolizable energy ratios and total protein concentrations on the performance of yellow perch *Perca flavescens*. *Aquaculture Nutrition* 4: 217-223.
- Rosales-Velázquez, M.O., R. Martínez-Pecero, B. Anguas-Vélez, M. Contreras-Olguín, and E.O. Rodríguez-Morales. 1992. Inducción al desove de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus* (Stein.) (PISCES: SERRANIDAE) mantenida en laboratorio. (Abstract, p. 18). III Congreso Nacional de Ictiología. 24-27 de noviembre de 1992. Oaxtepec, Morelos, México.
- Smith, B.W. and R.T. Lovell. 1973. Determination of apparent protein digestibility in feeds for channel catfish. *Transactions of the American Fisheries Society* (4): 831-835.
- Smith, R.R. 1989. Nutritional energetics. Pages 1-29 in: J. Halver, editor. *Fish nutrition*. Academic Press, Inc. London.
- Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. GCP/RLA/102/ITA. Proyecto Aquila II. Documento de campo No. 4. FAO, Brasilia, Brasil.
- Tacon, A.G.J. and C.B. Cowey. 1985. Protein and amino acid requirements. Pages 155-183 in: P. Tytler and P. Calow, eds. *Fish energetics: new perspectives*. The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
- Thomson, D.A., L.T. Findley, and A.N. Kerstich. 1979. *Reef Fishes of the Sea of Cortez*. The University of Arizona Press, USA.
- Tucker, J.W., Jr. 1998. *Marine fish culture*. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts, USA.
- Watanabe, T., editor. 1988. *Fish nutrition and mariculture*. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries, Japan.
- Webster, C.D., L.G. Tiu, and J.H. Tidwell. 1997. Growth and body composition of juvenile hybrid bluegill *Lepomis cyanellus* X *L. macrochirus* fed practical diets containing various percentages of protein. *Journal of the World Aquaculture Society* 28 (3): 230-240.
- Wee, K.L. and A.G.J. Tacon. 1982. A preliminary study on the dietary protein requirement of juvenile snakehead. *Bulletin of Japanese Society of Science and Fisheries* 48: 1463.
- Wilson, R.P. 1994. Requerimientos de aminoácidos en peces. Pages 283-299 in Mendoza, R., L.E. Cruz-Suárez, and D. Ricque, eds. *Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 7-9 Noviembre 1994, Monterrey, Nuevo León, México.
- Yousif, O.M., M.F. Osman, A.A. Anawhi, and T. Cherian. 1996. Optimum protein-to-energy ratio for two size groups of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). *Aquaculture Nutrition* 2: 229-233.

5.2 EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE PROTEÍNA Y ENERGÍA DEL ALIMENTO SOBRE EL CRECIMIENTO Y EFICIENCIA ALIMENTICIA DE JUVENILES DE CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus* *

* Manuscrito en preparación: "Effect of the dietary protein and energy levels on the growth, feed use, and histology of the digestive tract of juvenile spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*

ABSTRACT

A feeding trial was made to determine the effects of different dietary protein and energy levels on growth and feed efficiency of juvenile spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*. A 3 X 3 factorial design was employed in which nine diets containing either 35, 45 or 55% protein and 300, 350, or 400-kcal digestible energy/100 g were used. Experimental diets were fed to apparent satiation twice daily to three tanks of fish (10 fish/tank) with average weight of 9.0 g, for 40 days. Performance of fish fed the different diets was evaluated for survival, percent weight gain, feed conversion ratio, and protein efficiency ratio. No significant interaction between protein and energy levels was found for weight gain, daily feed consumption, and daily protein consumption. The fish growth rate decreased as the dietary energy level increased. Daily feed consumption of fish was significantly affected by dietary protein level but not by the energy level. In contrast, the final mean weight, the feed conversion ratio, the protein efficiency ratio, and survival showed a significant interaction between the protein and energy levels. The best feed conversion values were observed on the lowest (300 kcal/kg) energy level diets for each protein level tested (35%, 45%, and 55% protein). Maximum growth and feed conversion were attained at dietary proteins of 35% and 55%, and the energy level of 300 kcal/100 g. Intraperitoneal fat was mainly affected by dietary energy level while muscle ratio and carcass waste by the protein level. Possible disease effects might affected growth of spotted sand bass juveniles during the experiment.

INTRODUCTION

Sea basses or groupers comprises valuable species in most parts of the world. The spotted sand bass, *Paralabrax maculatofasciatus*, is one of the eight species within this genus distributed on the western Pacific (Walford, 1937, cited by Lluch-Cota, 1995). Though entire spotted sand bass, in particular, is not highly demanded at the regional market, the white muscle flesh (fillets) of this and other sea basses reach high prices in national and international markets (Van der Heiden, 1985; Anguas-Vélez and Ortega-Rubio, 1998). Because of its high market price, adaptability to cage culture, ample tolerance to environmental factors, ready acceptance to formulated feeds, and low territorialism in captivity, the spotted sand bass has received greater attention by various research institutions as a possible candidate species for commercial culture (Van der Heiden, 1985; Arvizu et al., 1990; Avilés-Quevedo and Mazón-Suástegui, 1996; Contreras-Olguín et al., 1997).

Nutrition is a critical factor for intensive aquaculture because of its influence on fish growth and health as well as production cost. (Gatlín III, 1995; Tucker, 1998). Little information on the protein and energy requirements of the spotted sand bass under controlled conditions have been reported. Alvarez-González et al. (1998) found that *P. maculatofasciatus* juveniles (9.5 g initial mean weight) grew well with practical diets containing 45-50% protein. Anguas-Vélez et al (2000) found that protein requirement of juvenile spotted sand bass (2.5 g, mean weight) is within the 45-50% protein range, when using a casein-based diet as the

(Stain.)(Osteichthyes: Serranidae)".

sole dietary protein source. It is known that excess dietary protein will be used for energy and will lead to an increase in ammonia excretion. Moreover, protein will be used as metabolic fuel or deposited as fat, instead

of growth, when the protein-to-energy ratio is higher than optimal (Ramseyer and Garling, 1998). Therefore, more research is needed to determine at which level of available energy the protein is best retained by juvenile spotted sand bass. The objective of this work was to determine the influence of different dietary protein and energy levels on growth and feed utilization of spotted sand bass juveniles.

MATERIALS AND METHODS

Experimental diets and design

A 3 X 3 factorial design was employed for this experiment in which nine diets were formulated to contain either 35, 45 or 55% protein and 300, 355 or 400 kcal digestible energy (DE)/ 100 g diet (Table 12) on a dry weight basis. The diets contained vitamin-free casein as the sole protein source, fish oil and soy lecithin to provide essential fatty acids, and dextrin to balance required DE contents. Also, 150 ppt of BHT antioxidant was added to each diet during oil mixing. A mixture of betaine and free amino acids was added at 4.0% to all diets to increase palatability and diet acceptance (Cadena-Roa, 1983; Métailler et al., 1983). Proximate composition of the diets was confirmed by analysis. Apparent digestibility coefficient values determined by Anguas-Vélez et al. (2000) were used to calculate digestible energy values of the prepared diets. Digestible energy content ranged from 308 to 407 kcal/ 100 g. The protein: energy ratios were 20-27, 26-35, and 32-42 mg DP/Kj/g, for the three protein levels (35, 45, and 55%) tested (table 12). The extruded diets were prepared as described by Civera and Guillaume (1989).

Table 12. Composition and proximate analysis of diets containing different protein and energy levels for the spotted sand bass.

Ingredients ¹	35% Protein			45% Protein			55% Protein		
	Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)		
	300	350	400	300	350	400	300	350	400
Casein	38.2	38.2	38.2	49.1	49.1	49.1	59.9	59.9	59.9
Dextrin	26.9	28.5	28.0	15.0	12.0	12.0	6.0	4.0	4.0
Cellulose	15.9	8.3	1.8	18.6	13.9	7.1	19.8	14.6	8.1
Soy lecithin	1.5	4.0	6.0	1.0	5.0	6.0	0.2	3.5	4.0
Fish oil	3.5	7.0	12.0	2.4	6.0	11.8	0.2	4.0	10.0
Vitamins ²	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Minerals ³	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Atractants ⁴	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Alginate acid	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Sodium hexa-Metaphosphate	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Proximate composition (g/100 g dry matter)									
Crude protein	36.4	36.5	36.7	46.7	46.8	47.0	57.5	57.2	57.3
Digestible protein	35.1	35.1	35.1	45.1	45.1	45.1	55.0	55.0	55.0
Crude lipids	10.1	20.9	29.4	8.3	17.7	28.6	4.2	15.9	23.2
Digestible lipids	4.3	9.4	15.4	2.9	9.3	15.2	0.3	6.3	12.0
Ash	5.9	6.1	6.2	6.0	6.2	6.3	6.0	6.9	6.3
Crude fiber	9.9	5.2	1.1	11.6	8.7	4.4	12.3	9.1	5.0
NFE ⁵	33.5	32.5	29.7	22.8	18.2	15.9	14.5	10.7	8.4
Moisture	8.8	8.6	8.4	9.6	8.9	9.0	11.4	10.6	9.6
GE ⁶	468	495	527	479	513	645	482	547	645
DE ⁷	308	357	407	310	356	406	308	355	403
P/E ratio ⁸	77.7	73.8	69.6	97.5	91.2	72.9	119.1	104.6	88.8
DP/DE ratio ⁹	27.2	23.5	20.6	34.7	30.3	26.5	42.6	37.1	32.6
NFE/crude lipid	3.3	1.5	1.0	2.7	1.0	0.6	3.4	0.7	0.4

¹ g/100 g diet.² (IU or mg/kg diet): Vitamin A Acetate, 2500 IU; Vitamin D3, 2400 IU; Vitamin E Acetate, 30 IU; Vitamin K3, 10.0; Thiamin mononitrate, 10.0; Riboflavin, 25.0; Pyridoxine Hydrochloride, 20.0; Pantothenic Acid, 50.0; Niacin, 200; d-Biotin, 2.0; Folic Acid, 10.0; Cyanocobalamin, 0.02; Inositol, 500; Choline chloride, 2000; Vitamin C (Ascorbate), 800.³ (mg/Kg diet): Na₂HPO₄, 6000; MgSO₄·7H₂O, 700; KI, 0.0011; FeSO₄·7H₂O, 150; ZnSO₄·7H₂O, 30; MnCl₂·4H₂O, 13; CuSO₄·5H₂O, 3; CaCl₂·2H₂O, 3400; SeS₂, 0.1.⁴ (g/100 g diet): Betaine, 4.2; L-Glycine, 0.32; L-Arginine, 0.32; L-Proline, 0.32; Inosine, 0.84.⁵ NFE = Nitrogen free extract = 100 – (% CP + % CL + % CF + % Ash).⁶ GE (kcal/100 g): Gross energy, determined by bomb calorimeter.⁷ DE (kcal/100 g): Digestible energy, calculated on base of the apparent digestible coefficients determined on previous experiment (section 5.1).⁸ mg/Kcal/g⁹ mg/Kj/g

Fish and feeding trial

Juvenile spotted sand bass were obtained from laboratory reared eggs naturally spawned on April 13, 1998, at the Experimental Biology Laboratory (EBL), of the Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR). Fish were maintained in four 600-L circular fiberglass tanks for one month before

transfer to the experimental system at the aquaculture facilities of the Universidad Autónoma de Baja California Sur, México, and fed a pelleted diet prepared with a mixture of a commercial shrimp feed (40% protein) and fresh squid during the conditioning period. There were three replications with 10 fish of a mean initial weight of 9.3 ± 0.37 g for all treatments. Fish were fed by hand three times a day (0800, 1300, and 1600 h) to apparent satiation, for a period of 40 days. All fish were initially fed about 2.0-2.6% of wet body weight, divided into three equal feedings. As the fish grew during the experiment, feeding rate was adjusted according to apparent feed consumption. Twenty to 25 minutes after each meal faeces and uneaten food were removed from each tank by siphoning. All fish were individually weighed at zero days, 30 days, and 40 days. Fish performance was evaluated by calculating the following parameters, according to formulas described by Anguas-Vélez et al. (2000), percent weight gain, feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), daily feed consumption (DFC), and daily protein consumption (DPC).

Sample collection and analysis

At the beginning of the experiment, a representative sample of fish was collected for initial muscle composition analysis. And, at the end of the experiment, four randomly sampled fish from each tank were lyophilized for subsequent composition analysis. Two of these fish were used for final protein and dry matter content in fish muscle. Another two fish were sacrificed and excised for liver, mesenteric fat and whole muscle for the determination of hepatosomatic index ($HSI = (\text{liver weight/body weight}) \times 100$), intraperitoneal fat ($IPF = (\text{mesenteric fat weight/body weight}) \times 100$) and yield of muscle ($MR = (\text{muscle weight/body weight}) \times 100$). The remaining part of the fish after liver, fat and muscle were excised was weighed for the determination of percentage of carcass waste ($CW = (\text{fish waste weight/body weight}) \times 100$). Proximate analysis of diet samples was done according to standard methods (AOAC 1995) with NFE (nitrogen-free extract) being determined by difference. Gross energy was determined using an adiabatic calorimeter PARR™. All sample analysis were conducted in triplicate.

Statistical analysis

The following parameters were statistically analyzed to evaluate fish growth: final weight, weight gain, feed conversion ratio, protein efficiency ratio, daily feed consumption, daily protein consumption, and survival. Homogeneity of variance was confirmed using the Levene's test. When a significant main effect was found ($P < 0.05$), mean differences were determined by a Tukey's honestly significant difference procedure. Data of the mentioned growth factors were analyzed by Two-way analysis of variance to determine the main effects of protein and energy level and the effects of interaction between the two factors. All somatic indices, which expressed as percentage, were subjected to arcsine transformation prior to analysis. When a significant main effect was found ($P < 0.05$), mean differences were determined by a Tukey's honestly significant difference procedure. Statistical analysis were calculated using Statistica 5.0 (Statsoft®).

RESULTS

Growth performance and feed utilization

No significant interaction between protein and energy levels was found for weight gain, daily feed consumption (DFC), and daily protein consumption (DPC); thus, the main effects of those factors are separately explained. A decreasing pattern from low (diets 1, 4, and 7) to high (diets 3, 6, and 9) energy content is observed in the final mean weight and the weight gain of spotted sand bass, within each protein level though, differences are more clearly established for 35 and 45%-protein diets than for 55%-protein diet, among the three energy contents (300, 350, and 400 kcal/g)(Table 13 and Fig. 8). As protein level increased, the growth of the fish decreased though, this effect was not as clear as the energy effect (Fig. 8).

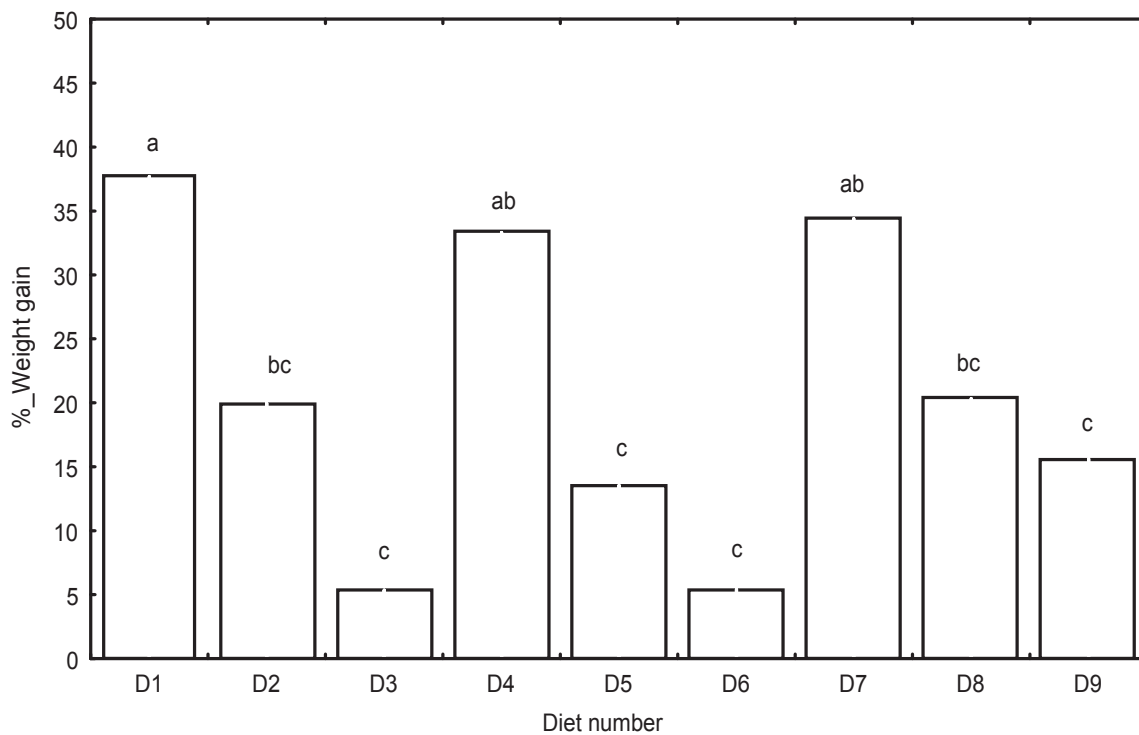


Figure 8. Effect of dietary protein and energy content on percent weight gain of spotted sand bass juveniles.

Table 13. Growth performance and diet utilization of spotted sand bass fed diets with different protein and energy levels. Values are means of three tanks of fish. Different superscripts indicate significant ($P < 0.05$) differences within protein and energy effects, respectively.

Variable	35% Protein			45% Protein			55% Protein		
	Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)		
	300 D1	350 D2	400 D3	300 D4	350 D5	400 D6	300 D7	350 D8	400 D9
Mean final weight (g)	12.8 ^a	11.3 ^{bc}	9.5 ^d	12.1 ^{ab}	10.8 ^{bcd}	10.0 ^d	12.0 ^{abc}	11.1 ^{bc}	10.7 ^{cd}
Protein efficiency ratio	0.89 ^a	0.76 ^{ab}	0.19 ^d	0.68 ^{ab}	0.35 ^{cd}	0.17 ^d	0.55 ^{bc}	0.46 ^{cd}	0.29 ^{cd}
Daily feed consumption ¹	284 ^{ab}	262 ^{ab}	209 ^{ab}	246 ^{ab}	216 ^{ab}	175 ^b	296 ^{ab}	229 ^{ab}	321 ^a
Daily protein consumption ¹	99 ^b	91 ^b	73 ^b	110 ^b	97 ^b	79 ^b	163 ^a	126 ^{ab}	176 ^a
Survival (%)	100 ^a	73 ^{cd}	76 ^{ab}	100 ^a	100 ^a	86 ^{ab}	93 ^{ab}	93 ^{ab}	63 ^d

¹(mg/fish/d)

There was a significant interaction in the effects of dietary protein and energy levels for the final mean weight of fish, the food conversion ratio (FCR), the protein efficiency ratio (PER), and percent survival. Thus, the effects of the two factors (protein and energy levels) are not additive, and are not independent of each other (Underwood, 1981). This is clearly seen in Fig. 9 where FCR increased abruptly from the low (300 kcal/g) to high (400 kcal/g) energy content diets in the low (35%) and middle (45%) protein levels. In the high (55%) protein diet, in turn, the increasing pattern from diet 7 (300 kcal/g) to diet 9 (400 kcal/g) is not so abrupt. Significant differences between low and high energy content diets are only found in the 35%- and 45%-protein diets but not in the 55%-protein diets.

PER values do not show clear boundaries between sets of means not significantly different from each other, and such sets overlap. Only one or two pair of means enclosed by the range of the three energy content diets, within the 35%- or 45%-protein diets, is significantly different; however, a similar decreasing pattern as in the weight gain is observed from the low (300 kcal/g) to the high (400 kcal/g) energy content diets, for each protein level (Table 13).

Daily feed consumption of fish was rather uniform (mean = 257 g) from lower to higher energy content in

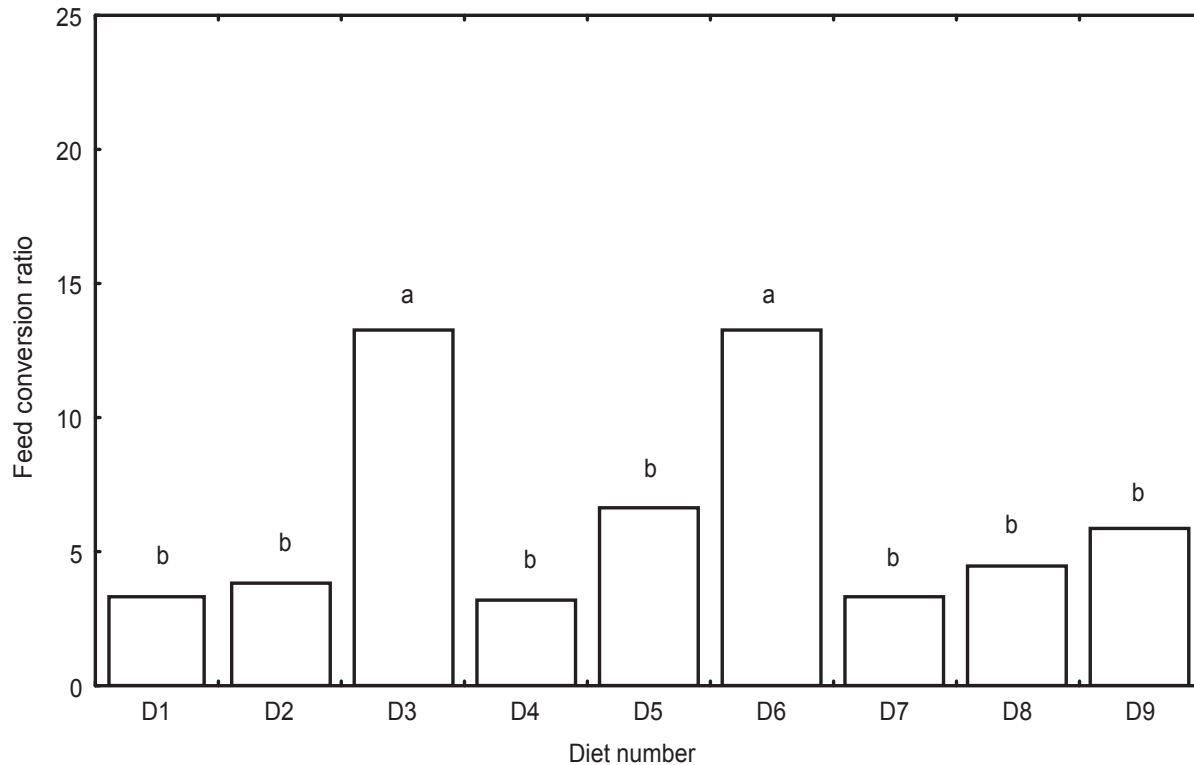


Figure 9. Effect of dietary protein and energy content on feed conversion ratio of spotted sand bass.

the three protein level diets, with exception of diet 6 (45% protein and 400 kcal/g) which was significantly lower (175 g) than diet 9 (Table 13). Daily protein consumption (DPC) of fish was also affected by dietary protein level but not by the energy level (speaking from a statistical point of view). DPC decreased as the energy level increased only in the 35%- and 45%-protein diets (Table 13). DPC in fish fed diets 7 (300 kcal/g) and 9 (400 kcal/g) of the 55% protein level was significantly higher than DPC of fish fed the 45% and 35% protein level diets which, in turn, were not significantly different between each other (Table 13).

Hepatosomatic index (HSI) was not influenced ($P > 0.05$) by both dietary protein and energy; while, intraperitoneal fat (IPF) was influenced ($P < 0.05$) by energy but not by protein levels (Table 14). Fish fed 300 kcal/100 g showed a larger IPF ($P < 0.05$) than fish fed 400 kcal/100 g. Muscle ratio (MR) and carcass waste (CW) were both influenced ($P < 0.05$) by dietary protein and energy levels; however, a significant interaction between protein and energy levels was only found for muscle ratio but not for carcass waste. MR and CW were slightly higher ($P < 0.05$) in fish fed 55% protein than in fish fed the lower protein levels.

Table 14. Some biological parameters of spotted sand bass fed diets containing different protein and energy levels. Values are means of three tanks of fish. Italics numbers are the average values of main factors from nine tanks of fish. Different letters abc and xy in each row indicate significant ($P < 0.05$) differences within protein and energy effects, respectively.

Variable	35% Protein			45% Protein			55% Protein		
	Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)			Energy (Kcal/100 g)		
	300 D1	350 D2	400 D3	300 D4	350 D5	400 D6	300 D7	350 D8	400 D9
Hepatosomatic index (%)	0.80	1.22	0.45	1.09	0.56	0.82	1.32	0.78	0.74
Intraperitoneal fat (%)	2.45	2.66	1.05	2.25	1.39	1.47	2.54	1.34	1.45
Muscle ratio (%)	30.6	30.0	26.0	26.3	28.4	27.7	32.2	31.3	29.0
Carcass waste (%)	63.8	63.8	70.0	68.0	67.0	67.5	61.6	64.2	65.8
Muscle composition (%)									
Moisture	8.8	11.9	8.8	9.7	10.3	9.4	10.0	10.0	7.3
Protein	84.1	83.6	86.4	83.5	83.2	82.8	84.5	87.3	85.7

Table 14. *Extended*

	Protein mean			Energy mean		
	35	45	55	300	350	400
Hepatosomatic index (%)	0.82a	0.82a	0.94a	1.078x	0.85x	0.67x
Intraperitoneal fat (%)	2.05a	1.70a	1.77a	2.41x	1.79xy	1.32y
Muscle ratio (%)	28.8b	27.4b	30.8a	29.7x	30.0x	27.5y
Carcass waste (%)	65.8b	67.5b	63.8a	64.4x	65.0x	67.7y
Muscle composition (%)						
Moisture	9.8a	9.8a	9.1a	9.5x	10.7x	8.5x
Protein	84.7ab	83.1b	85.8a	84.0y	84.7x	85.0x

In turn, MR and CW were lower ($P < 0.05$) in fish fed 400 kcal/100 g than in fish fed the lower energy levels (300-350 kcal/g). Moisture in muscle (edible flesh) was not affected by both dietary protein and energy levels (Table 14 extended). In contrast, protein content in muscle (PCM) was affected ($P < 0.05$) by both the dietary protein and energy levels; however, the PCM in the 55%-protein diet was higher than in 45%-protein diet. And among energy levels, the PCM in the 350 and 400 kcal/100 g diet was higher than in the 300 kcal/100 g diet.

Finally, it is important to note that small red spots at the base of the fins (mainly on dorsal and pelvic fins) were observed after 4 weeks of rearing spotted sand bass on all the experimental diets, and fish growth was impaired by the end of the study. Some of these fish became darker but not emaciated towards the end of the experiment. It should be noted that all values for the factors studied in the present experiment were abnormally low, compared to what was reported by Anguas et al. (2000) for the same species and similar conditions.

DISCUSSION

Fish growth and diet utilization

The best protein and energy levels for maximum weight and diet utilization of juvenile spotted sand bass were 35% and 300 kcal DE /100 g (the P/E ratio for this diet was 78 mg protein/kcal). This is close to the results obtained for hybrid *Clarias* catfish (Jantrarotai et al. 1998), who found optimum growth, diet utilization and yield of edible flesh at 35% protein and 325 kcal/100 g. In another work, Yousif et al. (1996) found for fingerlings of the rabbitfish (*Siganus canaliculatus*) the best results with a diet containing 36% protein and P:E ratio of 20.48 mg crude protein (CP)/kJ. The P:E ratios of our best diet is equivalent to 18.6 mg CP/kJ (35% protein). Moreover, Millikin (1983) reports that high protein efficiency ratios have been reported for fish fed diets containing protein concentrations insufficient for maximal growth. This author quotes examples for grass carp (Dabrowski, 1977), plaice (Cowey et al. 1972) and common carp (Ogino and Saito 1970). Similarly to most studies (Tibaldi et al., 1995; Catacutan and Coloso, 1995; Ramseyer and Garling Jr., 1998), which relate fish growth and feed efficiency as function of dietary protein intake, fish growth in the present study was also influenced by dietary protein levels rather than by energy levels. Jantrarotai et al. (1998), for instance, found for hybrid *Clarias* catfish fed 40% protein diet consumed more protein than those fish fed lower protein diets, and therefore grew and utilized feed better. In this study, fish fed 55% protein diet consumed more protein than fish fed 45% protein diet, and this more than 35% protein diet. Similar results were found by Jantrarotai et al. (1998), with diets containing 30 and 40% protein. The authors state that this is probably because fish fed the low protein diets consumed enough nonprotein energy so that the energy intake of fish in this group was the highest. In the present work this seems to be the case because feed intake increased from the low (35%) to the high (55%) protein level diets. Our results may indicate that spotted sand bass fed the low energy diets, at each protein level, was able to use some carbohydrates as energy source as good as the protein source; also, the response may indicate that this species performs best at low (4-10%) or moderate (16-21%) levels of lipids (energy) and that supplementation of high (23-29%) levels of lipid (energy) to the diet may have affected growth and FCR. Anguas-Vélez et al. (2000) found that juvenile spotted sand bass can tolerate levels of crude corn starch from 20% to 30%. In this study, dextrin was employed instead of crude starch, since it has better digestibility than the crude starch. However, this response should be evaluated with further research. According to Webster et al. (1995) protein utilization can be improved with lipid or carbohydrate; however, excess energy is undesirable because it reduces feed consumption, produce fatty fish or may inhibit optimal utilization of other dietary components. And, a limited dietary energy will cause that fish used diet nutrients to meet first energy requirements instead of growth (Tacon 1989).

Proximate composition of fish

In the present study, intraperitoneal fat was only significantly higher in fish fed the low energy levels (300 kcal/100 g) than fish fed the high energy level (400 kcal/100 g). This could be due to lipid accumulation on the peritoneal cavity walls as a result of the low/high dietary NFE/crude lipid ratio among

those diets; however, lack of a lipid content analysis in the body fish impede a valid conclusion on this matter. Fish fed 35 and 45% protein diets in the present study yielded slightly lower edible flesh (muscle ratio) and carcass waste than those fed 55% protein. Not so different results were found by Jantrarotai et al. (1998): their fish fed the lower protein diets (20 and 30%) produced markedly lower edible flesh and higher carcass waste than fish fed higher (40%) protein diet. They used a high dextrin to lard ratio in diet composition and, therefore, they conclude that hybrid *Clarias* catfish utilized energy with a low ratio of carbohydrate to lipid more efficiently and this resulted in a protein sparing effect. In the present study, a protein sparing effect was not noted probably because all diets contained high levels of energy (a high ratio of carbohydrate to lipid) causing underfeeding of fish, and thus affecting growth in all treatment fish. The level of digestible energy in a diet affects the amount of food consumed by fish and the P/E ratio of the diet will influence protein efficiency of the diet (Reis et al., 1989). Fish of present work fed diets containing from 70 to 119 mg protein/kcal/g had very similar percentages of edible flesh, carcass waste, HSI and PCM, and no clear effect of the dietary protein or lipid on any of these characteristics of fish body was observed. However, growth of fish fed diets containing 119 and 78 mg protein/kcal (with 55 and 35% protein, respectively) was similar. Several authors (Tibaldi et al. 1996; Yousif et al. 1996; Ramseyer and Garling Jr 1998) have stated that protein will be used as metabolic fuel instead of growth when there is inadequate digestible energy intake. Thus, the balance of protein to energy in the 35%- and 45%-protein diets may have not been within the optimum ratio for juvenile spotted sand bass, with exception of the 55%-protein diets. As a result of a possible nutritional disorder, survival in fish was lower (63-86) at the highest (400 kcal/100 g) energy level within each protein level (35, 45, and 55%), being the 55:400 diet with the lowest survival value (63%). Reddening of the fins, observed from week 4 onwards, may be due to an inadequate lipid intake (Corraze 1999), a vitamin deficiency (Tacon 1989), or a septicemic condition caused by *Vibrio* like bacteria (Sanders and Fryer, 1988). Samples of fish from all treatments were analyzed, at the end of the experimental period, and no pathogenic bacteria were found (Martínez-Díaz, 1998, pers. obs.). A possible nutrient deficiency was not likely to occur, according to diet formulation. However, a preliminary histological analysis of the digestive tract of fish fed the different protein and energy level diets revealed that all fish showed an extensive destruction of the intestinal epidermis but not the gastric tissue (Ochoa-Baez, pers. comm.). It seemed that fish was using available energy mostly for maintenance and to cope a disease rather than synthesis of new tissues (growth). Finally, it is not clear yet if presence of fin haemorrhages was a symptom of malnutrition or part of the causing agent for the limited growth recorded in spotted sand bass. Present results call for further studies to evaluate effects of the P/E ratio on growth and feed efficiency.

DISCUSIÓN GENERAL

Período de iniciación

Según Balon (1990), el primer intervalo natural de la ontogenia, el período embrionario, se caracteriza por una alimentación principalmente endógena, i.e. por la adquisición de nutrientes a través de los padres. La transición a una alimentación exógena, oralmente ingerida e intestinalmente digerida (período de iniciación), i.e. la adquisición de nutrientes de las fuentes en el ambiente externo, marcan el principio del siguiente período de vida, ya sea larva en caso de ontogenia indirecta, o juvenil en caso de la directa. La cabrilla arenera muestra ontogenia indirecta (Butler et al. 1982).

Para la mayoría de las especies marinas cultivadas, el cambio de alimentación de alimento vivo a dietas inertes secas puede empezar unos días antes de la transformación y terminar cuando los peces alcanzan el estadio juvenil (Tucker 1998). En general, las fases larvales son el estadio más vulnerable que cualquier otro estadio de vida, en virtud de sus tamaños pequeños que las restringen a partículas pequeñas de alimento, por lo menos en los peces (Balon 1990).

Los resultados de supervivencia y crecimiento de las larvas alimentadas con alimento vivo y la dieta preparada se dieron en la Tabla 5, del capítulo 3. En las larvas “iniciadas” con la dieta preparada, a los 15, 25 y 30 días después de la eclosión (DDE), la supervivencia y el crecimiento fueron significativamente menores que los presentados por las larvas alimentadas con el alimento vivo e iniciadas con pescado crudo desmenuzado. Se dan varias explicaciones en el capítulo 3 para discutir estos resultados pobres de las larvas iniciadas con el alimento preparado, en términos de la diferente composición de los ácidos grasos esenciales (AGE) del alimento vivo y artificial, la estrategia de alimentación, problemas de asimilación por el uso de dietas secas, y el desarrollo del tracto digestivo y el correlativo metabolismo enzimático de las larvas tratadas. Adicionalmente al problema nutricional, puede ser que las larvas alimentadas con la dieta artificial fueran menos resistentes a la combinación de valores bajos de oxígeno disuelto (4.4-5.0 mg/L) y valores bastante altos de amoníaco no ionizado (ca. 0.026 mg/L) y de nitritos (0.4 mg/L), como se observó en el sistema experimental utilizado en el experimento de “iniciación”. Resultados aún más bajos fueron encontrados en la calidad del agua del mismo sistema experimental, por Alvarez-González (1999) en un estudio con varias densidades larvales de la cabrilla arenera. Este autor registró valores bajos de oxígeno disuelto (1.0- 4.5 mg/L) y amoníaco total entre 0.0- 0.8 mg/L, informando que éstos últimos valores fueron más altos que las concentraciones recomendadas para las larvas de peces marinos. El mismo autor atribuye a éstos problemas de calidad del agua, los efectos deletéreos sobre la salud y por lo tanto la baja supervivencia de sus larvas. No conocemos los umbrales de oxígeno, amoníaco y nitritos para las larvas de la cabrilla arenera, así que no podemos estar seguros de cuánto de la supervivencia y crecimiento bajos corresponden a la calidad del agua o a la alimentación recibida por estos organismos. Otro factor conocido que podría haber afectado el llamado “vigor” de la larva fué la alimentación de los reproductores. Como se mencionó, los

huevos y larvas obtenidos para la iniciación se obtuvieron de reproductores alimentados con peces enteros congelados, aunque el análisis proximal de este pescado crudo no se realizó. Por evidencias indirectas (Rosales-Velázquez, 1997) sabemos que el pescado congelado fué alto en proteína cruda (70%) y que este alimento produjo una mejor tasa de eclosión y supervivencia de las larvas de 48 horas, en comparación a las larvas alimentadas con dietas compuestas de 35 y 55% de proteína. Desafortunadamente, estos resultados no son conclusivos debido a un “efecto de los tanques” observado por Rosales-Velázquez (1997), durante los dos experimentos llevados a cabo, más el hecho de que se utilizaron dos lotes de reproductores diferentes que fueron desovados a dos temperaturas diferentes (23 y 25° C) alargando así el período de acondicionamiento a uno y dos meses, respectivamente.

Muchas variables o factores influyen en el cultivo de las larvas de peces marinos su supervivencia y crecimiento. Estos factores pueden ser clasificados como: (1) biológicos, como las interacciones intra-específicas debido a la competencia individual por alimento y espacio, la relación presa-depredador y el canibalismo (Li y Mathias 1982; Meeren, 1991; Hetch y Pienaar 1993); (2) la herencia de padres a hijos, como resultado de una buena nutrición de los peces paternos que se manifiesta en la calidad de los huevos y embriones, mejorando el crecimiento y supervivencia de las larvas (Bromage, 1995; Abi-Ayad et al. 1997); (3) nutricionales, por el suministro de alimentos vivo e inerte de tamaño de partícula apropiado, contenido y proporción adecuados de ácidos grasos, balance de aminoácidos esenciales y la densidad de los nutrientes (Theilacker y Kimball 1984; Lavens et al., 1995; Dhert et al. 1998); (4) prevención o control del estado microbiano del alimento durante el cultivo larvario (Muroga et al. 1987; Sorgeloos 1994); y (5) mejoramiento de la calidad del agua y del manejo de los sistemas de cultivo para asegurar una producción comercial en el suministro de “la semilla” (Russel y O'Brian 1988; Huguenin y Colt, 1989; Brock et al. 1992). Se entiende que todos estos factores actúan recíprocamente entre sí. Sin embargo, la existencia de tantas variables hace difícil generalizar sobre la importancia relativa de estos aspectos, aunque obviamente el método más simple que rinda resultados buenos sería el más aceptable, no considerando que la acuicultura debiera ser un compromiso entre una artesanía y una tecnología, susceptible de ser aplicada a nuestras especies y condiciones particulares. Se necesita más investigación sobre estos aspectos ambientales y nutricionales brevemente descritos, para garantizar un suministro mínimo y constante de semilla para lograr el cultivo de ésta u otra especie de serránido, a niveles más altos que el experimental. En la presente investigación, se determinó una temperatura óptima de 27 °C y una densidad de 12 peces/tanque (2 g/L) para el crecimiento de los juveniles de cabrilla arenera, condiciones que se aplicaron en el ensayo para determinar los requerimientos en proteína y energía de esta especie (capítulo 5).

Requerimientos de proteína

Una mezcla de varios mariscos crudos (calamar, camarón, pescado y carne de cangrejo), o sólo pescado crudo complementado con varias harinas de alimentos compuestos ha sido la fuente principal de alimento usada en el cultivo experimental en jaulas de meros y pargos nativos (Avilés-Quevedo y Mazón-

Suástegui, 1996; Guerrero-Tortolero, 1997; Serrano-Pinto, 1997; Grayeb del Alamo et al., 1998). Sin embargo, el cultivo intensivo generalmente requiere el empleo de alimentos preparados y nutritivamente completos. La importancia de la proteína como nutriente esencial, así como su costo como ingrediente del alimento garantiza una investigación más completa de los requerimientos cuantitativos en la proteína del alimento para esos meros y pargos. Esta información es vital para la formulación de dietas prácticas óptimas para estas especies, ya sea que esos alimentos sean complementarios o completos (Lochmann y Phillips, 1994). De este modo, los requerimientos específicos deben conocerse con el objeto de aumentar al máximo el crecimiento de la cabrilla arenera y hacer posible una valoración económica de la especie.

La utilización del alimento y el crecimiento de los peces son influidos grandemente por varios factores; tales como el contenido de la proteína, ingestión del alimento, ingestión de energía y temperatura del agua. Estos factores afectan los requerimientos nutricionales y los niveles dietéticos de nutrientes (Brett and Groves 1979; Watanabe 1988). Para desarrollar alimentos que sean utilizados eficazmente, uno debe considerar los requerimientos nutricionales de las especies cultivadas para la proteína, energía, vitaminas, así como la digestibilidad y el costo de los ingredientes disponibles para el alimento (Watanabe 1988; Tacon 1989).

Se realizó un ensayo previo para determinar la digestibilidad de una dieta semipurificada a base de caseína, antes de evaluar los efectos de varios niveles de proteína del alimento (25 a 55%) en el crecimiento y uso de la proteína en los juveniles de la cabrilla arenera. La determinación de la digestibilidad en las dietas control es de suma importancia ya que muchos trabajos de nutrición con peces (Ogino and Saito, 1970; Mazid et al., 1979; Millikin, 1983; Morales et al., 1994; Webster et al., 1997) se limitan a usar los coeficientes reportados en la literatura, en lugar de medirla al momento de realizar los experimentos con estos organismos. La composición de los ingredientes y nutrientes de las dietas experimentales utilizados para determinar la digestibilidad y el nivel de proteína óptimo se muestran en las Tablas 8 y 9 del capítulo 5 (sección 5.1). Los coeficientes de digestibilidad aparente (CDA, %) de la proteína, lípidos, materia seca y energía con la dieta a base de caseína fueron los siguientes: 96.6 ± 0.1 , 89.2 ± 0.4 , 78.3 ± 0.0 , y 83.9 ± 0.1 , respectivamente. La digestibilidad de las dietas experimentales fué bastante alta, por lo que la calidad de la caseína al parecer fué buena y no afectó el uso de la proteína por los juveniles de la cabrilla arenera. Es más, otros estudios han mostrado que la digestibilidad de la proteína no es afectada por el nivel de la proteína en el alimento (Jauncey 1982; De la Higuera et al. 1989; Mohanty y Samantaray 1996), o por la temperatura (Carneiro et al., 1994), aunque sí es influida por el nivel de energía en la dieta (Cho y Kaushik, 1985; Carneiro et al., 1994). En un estudio anterior con juveniles de cabrilla arenera de 9 g (Alvarez-González, 1999), a 23-25° C y alimentadas con dietas prácticas, los peces mostraron el mejor crecimiento con dietas de 45-50% de proteína aunque con alto nivel de energía (4800-4900 cal/g). Grayeb Del Alamo et al. (1998) informa una proporción de crecimiento absoluta de 0.32 g/día en peces de 1.3 g peso inicial cultivado en la fase de pre-engorda en

jaulas flotantes (peso final = 20 g). La proporción de crecimiento corresponde a la mejor densidad de pez empleada (70 organismos/m³ o 91 g/m³) y usando una dieta práctica con 56% proteína y 22% lípidos. La temperatura del cultivo fluctuó entre 22° a 30° C. En el presente estudio, nosotros encontramos el mejor crecimiento con la dieta de 55% de proteína y 400 kcal/100 g (peso inicial = 2.4 g y peso final = 6.5 g; densidad = 15 peces/tanque ó 375 g/m³). Este valor de requerimiento transformado a cantidad de proteína digerible nos dá 26.8 g/kg de peso del pez/día, equivalente a 536 g/kg de la ganancia en peso vivo/día, de acuerdo a las fórmulas utilizadas por Tacon y Cowey (1985) para calcular los requerimientos en proteína de varias especies de agua dulce, salobre y salada. Los valores encontrados en la presente tesis son muy semejantes a los valores reportados por Tacon y Cowey (1985) para *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus*, *Morone saxatilis* y *Cyprinus carpio*.

El tamaño de los peces es uno de los factores que alteran sus requerimientos nutricionales (Halver 1972; Tacon 1989). El tamaño restringe en mayor medida a la tasa de crecimiento que a la tasa metabólica, una diferencia que explica la disminución en el factor de conversión alimenticia con el aumento de tamaño de los peces (Brett and Groves 1979). Valores de crecimiento absoluto (CA) de los juveniles de 2.1-2.5-g de la cabrilla arenera encontrados en el presente estudio (0.10-0.14 g/d, respectivamente) son menores a lo encontrado en estudios anteriores con la misma especie. Alvarez-González (1999) encontró una CA de 0.36-0.40 g/d con organismos de ~ 9.0 g peso inicial. Grayeb del Alamo et al. (1998), a su vez, encuentra una CA de 0.27-0.32 g/d, con peces de 1.3-g peso inicial. Sin embargo, la tasa específica de crecimiento (TEC) encontrada en el estudio de niveles de proteína fué mayor (4.6%/d) a lo reportado por ambos autores (1.7 y 3.0-3.2%/d), respectivamente. Inclusive, la mejor TEC del estudio de temperatura y densidad (3.3%/d) fué menor, aunque comparable con la TEC encontrada por Grayeb del Alamo (1998). Del mismo modo, los mismos autores encontraron una tasa de conversión alimenticia (TCA) de 1.43 y 1.13 con dietas de 50% y 56% de proteína, respectivamente; la TCA encontrada en el estudio de los niveles de proteína fué de 1.5 para la dieta con 55% de proteína y de 3.5 en el estudio de temperatura y densidad, con una dieta húmeda compuesta de 56% de proteína. Considerando que una dieta a base de caseína no es tan bien aceptada como una dieta práctica, puede verse que la cabrilla arenera se adapta bastante bien a diferentes ingredientes en el alimento. Al mismo tiempo, nuestros resultados concurren para predecir buen crecimiento a niveles de proteína de 40-45% que pueden resultar económicos en cultivos de mayor escala con esta especie.

Requerimientos de energía

Durante el experimento para determinar los efectos interactivos de los niveles de proteína y energía, la supervivencia fué afectada por los dos factores (capítulo 5, sección 5.2). Estos valores fueron muy dispares entre los niveles de proteína y energía estudiados. Así por ejemplo, la supervivencia varió de 100% (dieta 1, 35-3.0 proteína-energía, % de la dieta y kcal/kg) a 75% (dietas 2 y 3, 35-3.5 y 35-4.0); de 100% (dietas 4 y 5, 45-3.0 y 45-4.0) a 86.6% (dieta 6, 45-4.0); y de 93.3% (dietas 7 y 8, 55-3.0 y 55-3.5) a 63.3% (dieta 9, 55-4.0). Todo los valores que se discuten a continuación para el crecimiento y la

eficiencia alimenticia de este experimento fueron anormalmente bajos y sólo representan aproximadamente 50-60% del crecimiento encontrado en un estudio anterior (Anguas-Vélez et al. 2000a) para los juveniles de la cabrilla arenera de 2.5-g peso promedio inicial. Sin embargo, se dan algunas explicaciones, teniendo presente este crecimiento limitado.

Aunque la mejor combinación de proteína y energía para obtener la ganancia máxima en peso (39.5%) y el mejor factor de conversión alimenticia (3.3) en los juveniles de la cabrilla arenera fue 35% de proteína y 3.0 kcal DE/kg (dieta 1). la segunda mejor combinación de crecimiento y conversión alimenticia se registró con la dieta 7 (55% de proteína y 3.0 kcal DE/kg). Esta mejor tendencia mostrada por la dieta 7 es similar a lo encontrado para la misma especie por Anguas-Velez et al. (2000a), quienes encontraron el mejor crecimiento con una dieta de 55% proteína y 4.1 kcal ED/kg. Adicionalmente, la proporción de P/E para ambas dietas fué muy parecida; 119 mg de proteína/kcal-g en el estudio con varios niveles de energía, y 113 mg de proteína/kcal-g en el estudio con varios niveles de proteína y el mismo contenido de energía. La mejor tasa de crecimiento encontrada por Alvarez-González (1999) fué con la dieta de 50% proteína y 4.9 kcal de EB/kg. La proporción de P/E correspondiente a esta dieta encontrada por Alvarez-González (1999), 105.8 protein/kcal del mg, es muy parecida a nuestros valores. El valor más bajo de este autor probablemente es debido a un menor valor de la proteína utilizada. Los resultados en general encontrados para la cabrilla arenera indican que esta especie se desarrolla mejor con dietas de 50-55% proteína y niveles de energía no mayores de 4.8 kcal/g energía bruta.

La presente investigación se enfocó en el período del cambio de alimentación de las larvas, de alimento vivo a un alimento inerte, y a la determinación de los requerimientos en proteína y energía de los juveniles. Antes del presente trabajo, hubo varios ensayos en el CICIMAR para “destetar” a las larvas mediante el uso invariable de pescado crudo desmenuzado o pez entero como dieta de “iniciación”, comenzando este período a los 25 días después de la eclosión (DDE), sin estar muy claros de por qué comenzar a esta edad y no en otra. Nuestro estudio fue el primero en intentar la regulación de los eventos conducentes a este proceso de “iniciación” de las larvas de la cabrilla arenera, por medio de una dieta microparticulada (capítulo 3) y estandarizar el método para “iniciar” a las larvas en condiciones de laboratorio. Antes de esta tesis, no hubo ningún intento para determinar los requerimientos en proteína y en energía de los juveniles, y tampoco se había determinado la digestibilidad de la dieta control en este tipo de estudios (capítulo 5).

Se requiere avanzar en el conocimiento de la fisiología enzimática de las larvas y probar formulaciones prácticas y estrategias de alimentación que produzcan porcentajes de sobrevivencia larval que posibiliten la factibilidad económica del cultivo. Así como elaborar dietas prácticas, con ingredientes de la región, que aumenten la tasa de crecimiento de los juveniles de la cabrilla arenera. El mejoramiento genético de la especie es un campo que espera una mayor dedicación de los esfuerzos de investigación, en la región y en el país, dentro de la acuicultura marina.

CONCLUSIONES GENERALES

1) No se observó ningún efecto deletéreo de las condiciones de calidad de agua mantenidas en los sistemas experimentales sobre el crecimiento y la supervivencia de los juveniles, aunque en el caso de las larvas es posible que haya contribuido a la alta mortalidad registrada antes de los 15 días de edad. No obstante, se necesitan más estudios sobre este aspecto.

2) La supervivencia y el crecimiento de las larvas iniciadas con la dieta inerte fueron significativamente menores a los de las larvas que recibieron alimento vivo y que fueron iniciadas con pescado crudo desmenuzado. El destete de las larvas de la cabrilla arenera con una dieta inerte es posible, pero no debe hacerse antes de los 30 días después de la eclosión, a menos que se utilice una estrategia de alimentación diferente.

3) Se encontró una temperatura de 27 °C como valor óptimo para el cultivo de la cabrilla arenera, aunque la densidad encontrada como mejor (12 peces/tanque) requiere de mayor investigación.

4) La digestibilidad de las dietas experimentales fué alta, por lo que la caseína puede ser considerada una buena fuente de proteína en dietas experimentales para la cabrilla. El uso de dietas semipurificadas nos permitió conocer la digestibilidad de proteína, lípidos y la disponibilidad de energía, así como formular los alimentos de manera más adecuada para determinar los requerimientos en proteína y energía de los juveniles de cabrilla.

5) Los juveniles de cabrilla de 2.5-g peso promedio parecen requerir 55% de proteína en la dieta para el mayor crecimiento cuando se usa a la caseína como única fuente de proteína, con un valor de energía bruta de 4.9 kcal/g. En términos de la tasa de conversión alimenticia el requerimiento podría ser cercano a 536 g proteína digerible/kg de la ganancia en peso/día; sin embargo, el requerimiento podría ser menor.

6) Los porcentajes de carne comestible, carcasa, índice hepatosomático y grasa intraperitoneal no fueron afectados por los niveles de proteína dietética, bajo las condiciones experimentales empleadas en la presente investigación.

7) Los juveniles de la cabrilla arenera aparentemente pueden tolerar niveles de almidón de maíz crudo entre 20% y 30% en la dieta.

8) El crecimiento de los peces del presente estudio fué afectado por el consumo de proteína y energía dietéticas. Sin embargo, los efectos de los niveles de energía fueron más notables que los efectos de los niveles de la proteína dietaria, en el último experimento de niveles de proteína y energía, de la tesis. El contenido de energía (lípidos) de la dieta afectó negativamente el crecimiento de los organismos.

PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

1) La composición de los alimentos inertes, que se usen con las larvas (destete), deben modificarse para aumentar el nivel de lípidos a 18-20% del total, y bajar la fracción de los carbohidratos a 15% máximo, con un contenido de cenizas igual ó menor a 5%. Asimismo, sería aconsejable tratar de mantener la energía en niveles que no limiten el consumo del alimento.

2) Sería aconsejable realizar pronto un estudio de los cambios enzimáticos del desarrollo ontogenético del tracto digestivo de las larvas de la cabrilla arenera, usando una dieta práctica completa, con el objeto de conocer la calidad y la disponibilidad de los ingredientes regionales para este tipo de dietas y su efecto sobre el desarrollo enzimático de las larvas.

3) Se sugiere abordar un estudio de factibilidad económica de la producción de "semilla", en condiciones lo más cercanamente posible a las condiciones reales de un cultivo comercial, para encontrar el tipo de cultivo más conveniente para la cabrilla arenera, de ser posible.

4) Sería importante determinar si las características genéticas del modo de reproducción (hermafrodita protogínico) de esta especie puede regular la producción de "semilla", a fin de asegurar un abasto adecuado de juveniles cultivados.

5) Es importante mantener un mínimo en los criterios de calidad del agua de los sistemas experimentales durante un estudio nutricional, para evitar interferencias en la respuesta del factor nutricional que se está investigando. En este sentido, es aconsejable determinar el nivel de toxicidad del amoníaco y los nitritos para los diferentes estadios de vida de la cabrilla arenera, con el objeto de lograr las mejores condiciones de cultivo.

6) La selección de los organismos experimentales es otro paso crítico en una investigación de tipo nutricional. Peces de talla uniforme y los antecedentes alimenticios de los animales a ser utilizados son esenciales para disminuir la probabilidad de obtener datos muy variables dentro del mismo experimento.

7) Dado que son muchas las variables o factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de las larvas de peces marinos, es necesario definir adecuadamente los requerimientos nutricionales de los reproductores y de las fases larvales, incluyendo la condición o vigor de las larvas, al momento del período de iniciación.

8) La composición y proporción de los aminoácidos y los ácidos grasos esenciales de las dietas completas usadas para iniciar a las larvas de los peces marinos, deben ajustarse a los niveles básicos, relativos a los diez aminoácidos esenciales y la proporción de DHA/EPA reportadas en la literatura.

9) Se recomienda determinar los coeficientes de utilización digestiva aparente, al momento de realizar el estudio de los requerimientos en proteína, para estar seguros de que la digestibilidad de la dieta no cambia al final del período experimental, como resultado de los cambios de talla de los peces.

10) Sería deseable determinar los requerimientos cuantitativos de los aminoácidos esenciales de los juveniles de la cabrilla arenera.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Abi-Ayad, S-M., E-A. C. Melard, and P. Kestemont. 1997. Effects of n-3 fatty acids in Eurasian perch broodstock diet on egg fatty acid composition and larvae stress resistance. *Aquaculture International* 5: 161-168.
- Adams, S.M. and J.E. Breck. 1990. Bioenergetics, pp. 389-415. In: C.B. Shreck and P.B. Moyle, eds. *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society. Bethesda, Maryland, USA.
- Aguirre-Muñoz, A. 1999. El destino de los cuerpos de agua protegidos en la zona costera de la Península de Baja California, México. *Panorama Acuícola* 5 (1): 24-25.
- Alvarez-González, C. A. (1999). Optimización del proceso de producción de semilla de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (PERCOIDEI: SERRANIDAE) en sistemas de circulación cerrada. Tesis de Maestría, CICIMAR-I.P.N.
- Alvarez-González, C. A., M. Contreras-Olguin, R.A. Rueda-Jasso, and J.L. Ortiz-Galindo (1998). Resumos do Aquicultura Brasil'98. Effect of seeding density on the growth and survival of larvae of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* in a closed recirculating system, Brasil.
- Anguas-Vélez, B.H., M. Cadena-Roa, J. Guillaume, S.F. Martínez-Díaz, and R. Civera-Cerecedo. 2000a. Studies on the Nutrition of Spotted Sand Bass, *Paralabrax maculatofasciatus*. Effect of the Dietary Protein Level on Growth and Protein Use in Juveniles Fed Semipurified Diets. *Journal of World Aquaculture Society*, 31 (4): 580-591.
- Anguas-Vélez, B.H., R. Civera-Cerecedo, M. Contreras-Olguín, R.A. Rueda-Jasso, and J. Guillaume. 2000b. Preliminary study on the timing of weaning of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) larvae with a prepared diet: effects on growth and survival. *Journal of Applied Aquaculture* 10 (4): 1-15.
- Anguas-Vélez. B.H. and A. Ortega-Rubio. 1998. Potencial acuícola de áreas desérticas de México: La zona costera del Noroeste. *CIENCIA* 49 (2): 35-39.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official methods of analysis, 13th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.
- Arvizu, M.J., F. de Lachica B., D.B. Lluch-Cota and A. Morales D. 1990. El cultivo de peces marinos en la Baja California Sur. IV Congreso AMAC 90, Hermosillo, Son. 3-6 abril 1990. Compilado, vol. I, sin paginar.
- Avilés-Quevedo, A. and J.M. Mazón-Suástegui. 1996. Cultivo de peces marinos. pp. 651-684. In: M. Casas Valdés y G. Ponce Díaz, eds. *Estudio del Potencial Pesquero y Acuícola de Baja California Sur*. Vol. II. SEMARNAP. Gobierno del Estado de B.C.S. FAO. I.N.P. UABCS. CIB. CICIMAR. CET del MAR.
- Avilés-Quevedo, A., U. McGregor, R. Rodríguez, O. Hirales, M.A. Huerta Y M. Iizawa. 1995. Biología y cultivo de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus* (Stein., 1868). I.N.P., CRIP- La Paz, Agencia Internacional de Cooperación del Japón (JICA). 85 PP.
- Bagenal, T.B. and F.W. Tesch. (1978). Age and Growth, pp. 101-136. In: T. Bagenal (ed.). *Methods for assessment of fish production in fresh waters*, 3rd.ed. IBP Handbook No. 3. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Baker, D.H. 1986. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements

-
- for essential nutrients. *Journal of Nutrition* 116: 2339-2349.
- Balon, E. K. 1990. Epigenesis of an epigeneticist: the development of some alternative concepts on the early ontogeny and evolution of fishes. *Guelph Ichthyology Reviews* (1): 42 pp.
- Boonyaratpalin, M. (1997). "Nutrient requirements of marine food fish cultured in Southeast Asia." *Aquaculture* 151: 283-313.
- Bower, C. E. (1983). *The Basic Marine Aquarium*. Charles C. Thomas, Publishers. Springfield.
- Brett, J. R. (1979). Environmental factors and growth. pp. 599-675. In: *Fish Physiology*. W. S. HOAR, D.J. RANDALL and J.R. BRETT, eds., V. VIII: Bioenergetics and Growth.
- Brett, J.R. and T.D.D. Groves. 1979. Physiological energetics. pp. 279-352 in: W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (eds). *Fish physiology*, v. 8. Academic Press, San Diego, California, USA.
- Brok, D., H.R. Robinette, and J. Heinen. 1992. Culture system for evaluating live and formulated diets for larval fish. *Prog. Fish Cult.*, 54: 270-273.
- Bromage, N. 1995. Broodstock management and seed quality- general considerations. pp. 1-24. In: N.R. Bromage and R.J. Roberts, eds. *Broodstock Management and Egg and Larval Quality*. Institute of Aquaculture, Blackwell Science.
- Bromley, P.J. and B.R. Howell. 1983. Factors influencing the survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L., during the change from live to compound feeds. *Aquaculture* 31: 31-40.
- Butler, J. L., H. G. Moser, G. S. Hageman and I. E. Nordgren. 1982. Developmental stages of three California sea basses (*Paralabrax*, pisces, serranidae). *CalCOFI Rep.*, (23): 252-268.
- Cadena-Roa, M. 1983. Etude experimentale de l'alimentation de la sole (*Solea vulgaris*) en élevage intensif. Ph.D. Thesis, Université de Bretagne Occidentale, France.
- Calow, P. 1985. Adaptive aspects of energy allocation. Pp. 13-31. In: P. Tytler and P. Calow, eds. *Fish Energetics: New Perspectives*. The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
- Carneiro, D.J., R.T. Rantin, T.C.R. Dias, and E.B. Malheiros. 1994. Interaction between temperature and dietary levels of protein and energy in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). II. Effects on digestibility of protein and and transit time through the gastrointestinal tract. *Aquaculture* 124: 127-131. (Abstracts).
- Catacutan, M.R. and R.M. Coloso. 1995. Effect of dietary protein to energy ratios on growth, survival, and body composition of juvenile Asian seabass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture* 131: 125-133.
- Chamberlain, G. W. (1993). "Aquaculture trends and feed projections." *World Aquaculture* 24 (1): 19-29.
- Chamberlain, G. and H. Rosenthal. 1995. Aquaculture in the next century. *World Aquaculture* 26 (1): 21-25.
- Cho, C.Y. and S.J. Kaushik. 1985. Nutritional energetics in fish: Energy and protein utilization in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *World Rev. Nutr. Diet.* 61: 132-172.
- Civera, R. And G. Guillaume. 1989. Effect of sodium phytate on growth and tissue mineralization of *Penaeus japonicus* and *Penaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 77: 145-156.
- Colesante, R.T., N.B. Youmans, and B. Ziolkoski. 1986. Intensive culture of walleye fry with live food and formulated diets. *Progressive Fish-Culturist* 48: 33-37.

- Contreras-Olguín, M., R.A. Rueda-Jasso, E. Matus-Nivón, J.L. Ortiz-Galindo, S. Dumas and M. Osorio-Galindo. 1997. Crianza de larvas y juveniles de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. V Congreso Nacional de Ictiología, febrero 1997, Facultad de Ciencias del Mar y Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sin., México.
- Corraze, G. 1999. Nutrition lipidique. pp. 147-170. In: J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Cowey, C. B., J. A. Pope, J. W. Adron, AND A. Blair (1972). "Studies on the nutrition of marine flatfish. The protein requirement of plaice (*Pleuronectes platessa*)." Br. J. Nutr. **28**: 447-457.
- Cowey, C.B. 1992. Nutrition: estimating requirements of rainbow trout. Aquaculture 100: 177-189.
- Cui, Y. and J. Liu. 1990. Comparison of energy budget among six teleosts –IV. Individual differences in growth and energy budget. Comp. Biochem. Physiol., 97A: 551-554.
- D'Abramo, L.R. and J.D. Castell. 1997. Research methodology, pp. 3-25. In: L.R. D'Abramo, D.E. Conklin, and D.M. Akiyama (eds.). Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture, v. 6. World aquaculture Society, Louisiana State University, baton Rouge, Louisiana.
- Dabrowski, K. 1977. Protein requirement of grass carp fry (*Ctenopharyngodon idella* Val.). Aquaculture 12: 63-73.
- De la Higuera, M., M. García-Gallego, A. Sanz, M.C. Hidalgo, and M.D. Suárez. 1989. Utilization of dietary protein by the eel (*Anguilla anguilla*): Optimum dietary protein levels. Aquaculture 79: 53-61.
- DeLong, D.C., J.E. Halver, and E.T. Mertz. 1958. Nutrition of salmonid fishes. VI Protein requirements of chinook salmon at two water temperatures. J. Nutr., 65: 589.
- Dhert, P., P. Divanach, M. Kentouri and P. Sorgeloos. 1998. Rearing techniques for difficult marine fish larvae. World Aquaculture 29 (1): 48-55.
- Furukawa, A. and H. Tsukuhara. 1966. On the acid digestion method for the determination of chromic oxide as an index substance in the study of digestibility of fish feed. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, vol. 32 (6). (Abstract).
- Gatesoupe, F.J., J.L. Zambonino-Infante, Chantal Cahu et P. Bergot. 1999. Ontogenese, développement et physiologie digestive chez les larves de poissons. Pp. 249-264 in J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Gatlin III, D.M. 1995. Review of red drum nutrition. Pages 41-49. In: C.M. Lim and D.J. Sessa, eds. Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture. AOCS Press, Champaign, Il.
- Gatlin, D.M. III. 1998. Nutrition of marine fish juveniles and broodstock. Cuarto Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 15-18 Noviembre 1998, La Paz, Baja California Sur, México.
- Gennari, L., A. Roncarati, P. Melotti and F. Loro. 1994. Early weaning trials of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) using different artificial diets. Aquaculture 124: 283-291 (Abstracts).
- Grayeb del Alamo, T., J.L. Ortiz-Galindo, S. Dumas and R. Civera-Cerecedo. 1998. Effect of density on growth and survival during the nursery and growout phases of spotted sand bass reared in floating sea cages. Resumos do Aquicultura Brasil'98, 2 a 6 de novembro de 1998. I Congresso Sul-Americano de Aquicultura, Recife, Brazil.

- Guerrero-Tortolero, D.A. 1997. Efecto de la densidad de siembra de juveniles del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) cultivado en jaulas. Tesis de Maestría, CICIMAR-I.P.N. La Paz, B.C.S. 87 pp.
- Guillaume, J. C. (1994). El "turnover" proteico en peces. pp. 323-333. In: R.E. Mendoza-Alfaro, L. E. Cruz-Suárez y D. Ricque Marie, eds. Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 7-9 noviembre 1994, Monterrey, N.L.
- Guillaume, J. 1999. Terminologie et rappels méthodologiques. Pp. 31-42. In: J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Guillaume, J. and G. Choubert. 1999. Physiologie digestive et digestibilité des nutriments. Pp. 51-86. In: J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Halver, J.E. 1972. Fish Nutrition. Academic Press, Inc. Orlando, Florida, USA.
- Hetch, T. and A.G. Pienaar. 1993. A review of cannibalism and its implications in fish larviculture. J. World Aquaculture Soc., 24: 246-261.
- Huguenin, J.E. and J. Colt. 1989. Design and operating guide for aquaculture seawater systems. Elsevier, Amsterdam, Dev. Aquac. Fish. Sci. vol. 20, 264 pp.
- Jantrarotai, W., P. Sitasit, P. Jantrarotai, T. Viputhanumas, and P. Srabua. 1998. Protein and Energy Levels for Maximum Growth, Diet Utilization, Yield of Edible Flesh, and Protein Sparing of Hybrid *Clarias* catfish (*Clarias macrocephalus* X *Clarias gariepinus*). Journal of the World Aquaculture Society. 29 (3): 281-289.
- Jauncey, K. 1982. The effects of varying dietary protein level on the growth, food conversion, and body composition of juvenile tilapias (*Sarotherodon mossambicus*). Aquaculture 27: 43-54.
- Jobling, M. (1981). "The influences of feeding on the metabolic rate of fishes : a short review." J. Fish Biol. **18**: 385-400.
- Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics. Chapman and Hall. London.
- Jobling, M. 1998. Feeding and nutrition in intensive fish farming, pp. 67-113. In: Black, K.D. and Pickering, A.D. (eds.). Biology of farmed Fish. Sheffield Academic Press, CRC Press. Boca Raton, FL. USA.
- Jobling, M., A. M. Arnesen, B. M. Baardvik, J. S. Christiansen, AND E. H. Jorgensen (1995). "Monitoring feeding behaviour and food intake: Methods and applications." Aquaculture nutrition **1**: 131-143.
- Juarez-Palacios, R. and G. Palomo-Martínez. (1998). Acuicultura. México, Compañía Editorial Continental. S.A. de C.V.
- Kanazawa, A. 1998. Nutrición de larvas de peces. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 Noviembre, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Lavens, P., P. Sorgeloos, P. Dhert, and B. Devresse. 1995. Larval foods. Pp. 373-397 in N.R. Bromage and R.J. Roberts, eds. Broodstock Management and Egg and Larval Quality. Blackwell Science Ltd, Great Britain.
- Li, S. and J.A. Mathias. 1982. Causes of high mortality among cultured larval walleyes. Trans. Am. Fish. Soc. 111: 710-721.

- Lluch-Cota, D.B. 1995. Aspectos reproductivos de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Pisces: Serranidae) en Bahía Magdalena-Almejas, Baja California Sur, México. Tesis maestría, CICIMAR-IPN. 116 pp.
- Lochmann, L.T. and H. Phillips. 1994. Dietary protein requirement of juvenile golden shiners (*Notemigonus crysoleucas*) and goldfish (*Carassius auratus*) in aquaria. *Aquaculture* 128: 225-232.
- Lovell, T. 1989. Nutrition and feeding of fish. Van Nostran reinhold, New York.
- Mambrini, M. and J. Guillaume. 1999. Nutrition protéique, pp. 113-146. In: J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Martínez-Díaz, S.F. 1995. Estudio de una enfermedad hemorrágico ulcerativa en un lote de reproductores de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner, 1868): Osteichthyes; Serranidae. Tesis de Maestría, CICIMAR-I.P.N. La Paz, B.C.S., México.
- Matus-Nivón, E., R. Ramírez-Sevilla, R. Martínez-Pecero y J.L. Ortiz-Galindo. 1990. Potencial acuacultural de ocho especies de peces marinos del Pacífico mexicano, con base en su biología temprana. pp. 68-74 In: G. de la Lanza-Espino y J.L. Arredondo-Figueroa, eds. La Acuicultura en México: De los conceptos a la producción. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mazid, M.A., Y. Tanaka, T. Katayama, M. Asadur-Rahman, K.L. Simpson, and C.O. Chichester. 1979. Growth response of *Tilapia zillii* fingerlings fed isocaloric diets with variable protein levels. *Aquaculture* 18: 115-122.
- Médale, F. et J. Guillaume. 1999. Nutrition énergétique. pp. 87-111 in J. Guillaume, S. Kaushik, P. Bergot and R. Métailler, eds. Nutrition et Alimentation des Poissons et Crustacés. INRA, editions.
- Meeren, T. van der. 1991. Selective feeding and prediction of food consumption in turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) reared on the rotifer *Brachionus plicatilis* and natural zooplankton. *Aquaculture* 93: 35-55.
- Mercer, L.P. 1982. The quantitative nutrient-response relationship. *J. Nutr.*, 112: 560-566.
- Metailler, R., M. Cadena-Roa, and J. Person-Le Ruyet. 1983. Chemical attractive substances for the weaning of dover sole (*Solea vulgaris*): qualitative and quantitative approach. *Journal of World Mariculture Society*, 14: 679-684.
- Millikin, M.R. 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization of age-0 striped bass. *Transactions of the American Fisheries Society* 112: 185-193.
- Mohanty, S.S. and K. Samantaray. 1996. Effect of varying levels of dietary protein on the growth performance and feed conversion efficiency of snakehead *Channa striata* fry. *Aquaculture Nutrition* 2: 89-94.
- Morales, A.E., G. Cardenete, M. De la Higuera, and A. Sanz. 1994. Effects of dietary protein source on growth, feed conversion, and energy utilization in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* 124: 117-126.
- Muir, J.F. 1982. Recirculated water systems in aquaculture, pp. 357-446. In: J.F. Muir and R.J. Roberts, eds. Recent Advances in Aquaculture. Croom Helm, London&Camberra.
- Muroga, K., M. Higashi, and H. Keitoku. 1987. The isolation of intestinal microflora of farmed red sea bream (*Pagrus major*) and black sea bream (*Acanthopagrus Schlegelii*) at larval and juvenile stages. *Aquaculture* 65: 79-88.

- New, M. B. (1997). Aquaculture and the capture fisheries. *World aquaculture* (june): 11-30.
- NRC (National Research Council). 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, D.C., USA.
- Oda, D.L., R.J. Lavenberg, and J.M. Rounds. 1993. Reproductive biology of three California species of *Paralabrax* (Pisces: Serranidae). *Cal. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.* 34: 122-132.
- Ogino, C. 1980. Protein requirements of carp and rainbow trout. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 46: 385.
- Ogino, C. and K. Saito. 1970. Protein Nutrition in Fish-I. The utilization of dietary protein by young carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36 (3): 250-254.
- Olvera-Novoa, M.A., C.A. Martínez-Palacios y L.E. Real. 1993. Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos. FAO, GCP/RLA/102/ITA, Documento de campo No. 7, 104 pp.
- Pandian, T. J. (1987). Fish. pp. 357-465. In: *Animal Energetics*, V. 2 (Bivalvia through Reptilia). T. J. Pandian and F.J. Vernberg, eds. Academic Press.
- Paniagua-Michel, J., and M.L. Lizárraga-Partida. (1995). Marine Biotechnology in Latin America: The case of México. *J. Mar Biotechnology* 3: 64-66.
- Parazo, M.M. 1990. Effect of dietary protein and energy level on growth, protein utilization and carcass composition of rabbitfish, *Siganus guttatus*. *Aquaculture* 86: 41-49.
- Peña-Martínez., R. 2000. Histología e histoquímica del desarrollo ontogenético del tubo digestivo de larvas de la cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*) (PERCOIDEI: SERRANIDAE). Tesis de Maestría, CICIMAR-I.P.N. La Paz, B.C.S., México.
- Pfeffer, E. (1995). Carbohydrate utilization and its determination. *J. Appl. Ichthyol.* 11: 175-182.
- Ramseyer, L.J. and D.L. Garling Jr. 1998. Effects of dietary protein to metabolizable energy ratios and total protein concentrations on the performance of yellow perch *Perca flavescens*. *Aquaculture Nutrition*: 217-223.
- Reis, L. M., E.M. Reutebuch, and R.T. Lovell. 1989. Protein-to-energy ratios in production diets and growth, feed conversion, and body composition of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture* 77: 21-27.
- Rice, J.A., J.E. Breck, S.M. Bartell, and J.F. Kitchell. 1983. Evaluating the constraints of temperature, activity, and consumption on growth of largemouth bass. *Environmental Biology of Fishes* 9: 263-275.
- Robbins, K.R., W.H. Norton, and D.H. Baker. 1979. Estimation of nutrient requirements from growth data. *J. Nutr.*, 109: 1710-1714.
- Rosalez-Velázquez, M.O. 1997. Efecto de la alimentación sobre los desoves de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Teleostei: Serranidae) mantenida en cautiverio. Tesis de Maestría, CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. 62 pp.
- Rosalez-Velázquez, M.O., J.L. Ortiz-Galindo, M. Contreras-Olguín, R.E. Martínez-Pecero, and R.I. Ochoa-Báez. 1998. Induced spawning of spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* in captivity by the control of photoperiod and temperature. ABSTRACS. X Simpósio Brasileiro de Aquicultura. Recife-PE, Brasil, 2 a 6 de novembro de 1998.

- Russell, D.J. and J.J. O'Brian. 1988. Small-scale water recirculating system for experimental rearing of fish eggs and larvae. *Prog. Fish Cult.*, 50: p.247.
- Russo, C.R. and R.V. Thurston. 1991. Toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to fish. *Adv. World Aquacult.* 3: 58-89.
- Sanders, J.E. and J.L. Fryer. 1988. Bacteria of fish. Pages 115-142. In: B. Austin, ed. *Methods in Aquatic Bacteriology*. John Wiley and Sons, Ltd.
- SEMARNAP (2000). Anuario Estadístico de Pesca. México, D.F., SEMARNAP. 232 pp.
- Serrano-Pinto, V.V. 1997. Crecimiento del pargo amarillo *Lutjanus argentiventris* (Peters, 1869) (PISCES: LUTJANIDAE) a diferentes concentraciones de salinidad en condiciones de cautiverio. Tesis de Maestría, U.N.A.M., México, D.F. 62 pp.
- Shearer, K.D. 2000. Experimental design, statistical analysis and modelling of dietary nutrient requirement studies for fish: a critical review. *Aquaculture Nutrition* 2000 (6): 91-102.
- Shiau, S. Y. (1997). Utilization of carbohydrates in warmwater fish-with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Aquaculture* **151**: 79-96.
- Shimeno, S., H. Hosokawa, M. Takeda, H. Kajiyama, and T. Kaisho. 1985. Effect of dietary lipid and carbohydrate on growth, feed conversion, and body composition of juvenile yellowtail. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 51: 1893-1898.
- Smith, R.R. 1989. Nutritional energetics, pp. 1-29. In: J.E. Halver (editor). *Fish Nutrition*. Academic Press, Inc. San Diego, CA.
- Sorgeloos, P. (1994). State of the art in marine fish larviculture. *World Aquaculture* **25** (3): 34-37.
- Stickney, R. R. and R. W. Hardy. (1989). Lipid requirements of some warmwater species. *Aquaculture* **79**: 145-156.
- Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. GCP/RLA/102/ITA. Proyecto Aquila II. Documento de campo No. 4. FAO, Brasilia, Brasil.
- Tacon, A.G.J. and C.B. Cowey. 1985. Protein and amino acid requirements. Pages 155-183 in P. Tytler and P. Calow, eds. *Fish Energetics: new perspectives*. The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA.
- Takeda, M., S. Shimeno, H. Hosokawa, H. Kajiyama, and T. Kaisyo. 1975. The effect of dietary calorie-to-protein ratio on the growth, feed conversion, and body composition of young yellowtail. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 41: 443-447.
- Theilacker, G.H. and A.S. Kimball. 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. *Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.*, 25: 80-86.
- Thomson, D.A. and C.E. Lehner. 1976. Resilience of a rocky intertidal fish community in a physical unstable environment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 22: 1-29.
- Thomson, D.A., L.T. Findley, and A.N. Kerstich. 2000. *Reef Fishes of the Sea of Cortez*. University of Arizona Press. Tucson, Arizona.

- Tibaldi, E., P. Beraldo, L.A. Volpelli, and M. Pinosa. 1996. Growth response of juvenile dentex (*Dentex dentex* L.) to varying protein level and protein to lipid ratio in practical diets. *Aquaculture* 139: 91-99.
- Tucker, J.W. Jr. 1998. *Marine Fish Culture*. Kluwer Academic Publishers. Boston, Massachusetts.
- Tucker, J.W. Jr. and P.N. Woodward. 1996. Nassau grouper aquaculture. In: *Biology, Fisheries, and Culture of Tropical Groupers and Snappers*. F. Arreguín Sánchez, J.L. Munro, M.C. Balgos, and D. Pauly, eds. ICLARM, Conf. Proc. (48): 363-377.
- Tucker, J.W., W.A. Lellis, G.K. Vermeer, D.E. Roberts, Jr. and P.N. Woodward. 1997. The effects of experimental starter diets with different levels of soybean or menhaden oil on red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* 149: 323-339.
- Tuene, S., and R. Nortvedt (1995). "Feed intake, growth and feed conversion efficiency of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.)." *Aquaculture Nutrition* 1: 27-35.
- Underwood, A.J. 1981. Techniques of analysis of variance in experimental marine biology and ecology. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 19: 513-605.
- Van der Heiden, A.M. 1985. Taxonomía, biología y evaluación de la ictiofauna demersal del Golfo de California. Pages 149-195. In: A. Yañez-Arancibia, ed. *Recursos pesqueros potenciales de México. La pesca acompañante del camarón*. UNAM. PUAL. ICML, SEPESCA. INP. México.
- Warren, C.E. and G.E. Davis. 1967. Laboratory studies in the feeding, bioenergetics and growth of fish, pp. 175-214. In: S.D. Gerking (ed.). *The Biological Basis of Freshwater Fish Production*. Blackwell, Oxford.
- Watanabe, T. 1988. *Fish nutrition and mariculture*. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries, Japan.
- Webster, C.D., L.G. Tiu, and J.H. Tidwell. 1997. Growth and body composition of juvenile hybrid bluegill *Lepomis cyanellus* X *L. macrochirus* fed practical diets containing various percentages of protein. *Journal of the World Aquaculture Society* 28 (3): 230-240.
- Webster, C.D., L.G. Tiu, J.H. Tidwell, P. Van Wyk, and R.D. Howerton. 1995. Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of sunshine bass (*Morone chrysops* X *M. saxatilis*) reared in cages. *Aquaculture* 131: 291-301.
- Wilson, R.P. 1994. Requerimientos de aminoácidos en peces. Page 283-299 in Mendoza, R., L.E. Cruz-Suarez, and D. Ricque, eds. *Segundo Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 7-9 Noviembre 1994, Monterrey, Nuevo León, México.
- Winberg, G.G. 1956. Rate of Metabolism and Food Requirements of Fishes. Beloruss. State Univ., Minsk. [Fish. Res. Board Can., Transl. Ser. No. 194 (1960)].
- Wise, D.J., and J.R. Tomasso. 1989. Acute toxicity of nitrite to red drum *Sciaenops ocellatus*: Effect of salinity. *Journal of the World Aquaculture Society* 20:193-198.
- Yousif, O.M., M.F. Osman, A.A. Anawhi, and T. Cherian. 1996. Optimum protein-to-energy ratio for two size groups of rabbitfish, *Siganus canaliculatus* (Park). *Aquaculture Nutrition* 2: 229-233.

Yúfera, M., C. Fernández-Díaz, E. Pascual, M.C. Sarasquete, F.J. Moyano, M. Díaz, F.J. Alarcón, M. García-Gallego, and G. Parra. 2000. Towards an inert diet for first-feeding gilthead seabream *Sparus aurata* L. larvae. *Aquaculture Nutrition* 6: 143-152.

Zambonino-Infante, J.L. and C. Cahu. 1994. Development and response to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 12 (5): 399-408.

Zeitoun, I.H., D.E. Ullrey, W.T. Magee, J.L. Gill, and W.G. Bergen. 1976. Quantifying nutrient requirements in fish. *J.Fish.Res.Board Can.*, 33: 167-172.

ANEXO 1

CARTEL 1

Estudio preliminar sobre el crecimiento de larvas de la cabrilla arenera alimentadas con una dieta de iniciación

Presentado en el IV Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 15-18 de noviembre, 1998, en La Paz, B.C.S., México.

PA19

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL CRECIMIENTO LARVARIO DE Paralabrax maculatofasciatus (Stein.) ALIMENTADAS CON UNA DIETA DE DESTETE

PRELIMINARY STUDY ON THE GROWTH OF THE SPOTTED SAND BASS, Paralabrax maculatofasciatus (Stein.) LARVAE FED AN STARTER DIET

¹Anguas-Vélez, B.H.^{1#}, R. Civera-Cerecedo², M. Contreras-Olguín¹, R.A. Rueda-Jasso¹ y J. Guillaume³ 1) CICIMAR-IPN. Apdo. Postal 592. La Paz, B.C.S. banguas@vmredipn.ipn.mx, 2) CIBNOR, S.C. Apdo. Postal 128. La Paz, B.C.S. rcivera@cibnor.mx, 3) INRA-IFREMER. Brest, Laboratoire de Nutrition. B.P. 70, 29280 Plouzane, Francia.

RESUMEN

Se realizaron varios ensayos para conocer el efecto de una dieta de “destete” sobre el crecimiento, la sobrevivencia y la actividad enzimática de las larvas de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*, las cuales se alimentaron a los 15, 25 y 30 días después de la eclosión. El crecimiento al final del período experimental fue significativamente ($P < 0.05$) mayor en el grupo control con respecto a los larvas que recibieron la dieta artificial. Aparentemente, las larvas alimentadas con el alimento natural por mayor tiempo, resistieron mejor el cambio a la dieta artificial. De acuerdo a los resultados encontrados en este trabajo, el cambio de dieta natural a la artificial debe hacerse preferentemente después de los 25 mg de peso promedio, ó a los 25 días de edad de las larvas.

ABSTRACT

A feeding trial was conducted in order to determine the effects of employing a weaning diet on survival, growth and enzyme activity of the Spotted Sand Bass, *Paralabrax maculatofasciatus* larvae, which were fed from 15, 25 and 30 days posthatched. There was clearly an effect of the feeding regime on the final growth of *P. maculatofasciatus* larvae. Standard mean length and weight of larvae fed on live food was significantly higher than larvae weaned with the artificial diet. Apparently, those larvae kept a longer period on live food were better adapted to a shift toward inert food. According to the results obtained in the present work, the transfer to an artificial diet should be made preferably at a size close to or greater than 26 mg mean wt. (25-day-old larvae).

Becario de COFAA-I.P.N.

CARTEL 2

EFECTO DEL NIVEL DE LA PROTEÍNA DIETARIA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN LOS JUVENILES DE LA CABRILLA ARENERA, *Paralabrax maculatofasciatus* CON DIETAS SEMIPURIFICADAS

Presentado en el V Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 19-22 de noviembre, 2000, en Mérida, Yucatá, México.

El efecto del nivel de la proteína dietaria en el crecimiento y utilización de la proteína en juveniles de la cabrilla arenera, *Paralabrax maculatofasciatus*, con dietas semipurificadas

Benjamín H. Anguas-Vélez¹ (CICIMAR-I.P.N.), Roberto Civera Cerecedo (CIBNOR, S.C.), M. Cadena-Roa (UABCS), J. Guillaume (INRA/IFREMER Brest) y Sergio F. Martínez-Díaz (CICIMAR-I.P.N.)

¹Laboratorio de Biología Experimental, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Apartado Postal 592, La Paz, B.C.S., C.P. 23096, México. Fax: (112) 2 53 22; E-mail:

banguas_2000@yahoo.com ó banguas@redipn.ipn.mx

Palabras clave: *Requerimientos, proteína, Paralabrax maculatofasciatus.*

Introducción. La nutrición es uno de los factores críticos en la acuicultura debido a su influencia en el crecimiento del pez, la salud y el costo de la producción. El desarrollo de dietas nutritivas y rentables depende del conocimiento de los requerimientos nutricionales de los organismos y de incluir esos requisitos en la formulación de alimentos balanceados y en una apropiada práctica alimenticia (1, 2). Los objetivos de este estudio fueron determinar la digestibilidad *in vivo* de una dieta semipurificada a base de caseína (ensayo I) y evaluar los efectos de diferentes niveles de proteína dietética en el crecimiento y utilización de la proteína de los juveniles de la cabrilla arenera (ensayo II), en condiciones de laboratorio.

Metodología. Para el ensayo (1), la dieta experimental se ofreció tres veces por día a saciedad aparente, durante un período de 20 días. Y, las heces se colectaron en cada tanque por medio de un sifón. Para el ensayo II, se prepararon siete dietas con un contenido de proteína desde 25 a 55%. Se colocaron 15 peces/tanque de 2.5 g y se alimentaron a mano tres veces por día, a saciedad aparente, durante seis semanas. El crecimiento de los peces se evaluó por medio de la supervivencia, la tasa de crecimiento específica (TCE) y el factor de conversión alimenticia (FCA). Se aplicó un modelo de la línea quebrada para encontrar el punto de ruptura del factor de conversión del alimento.

Resultados y Discusión. Ensayo I: Los coeficientes de digestibilidad aparente fueron relativamente altos; 97% para la proteína, 89% para los lípidos, 84% para la energía bruta y 78% para la materia seca. En el caso del ensayo II, la supervivencia fué de 100% para todos los tratamientos, es decir, que no fué afectada por el nivel de proteína en la dieta. El crecimiento de los juveniles de la cabrilla aumentó conforme la proteína dietética aumentó, pero no se alcanzó

un nivel óptimo (asíntota) en el requerimiento. El mismo comportamiento se observó en la TCE.

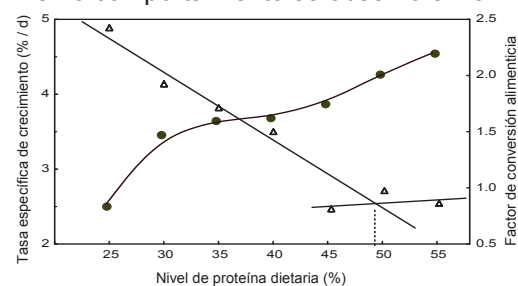


Figura 1. La relación del nivel de proteína dietética y la tasa de crecimiento específica y el factor de conversión alimenticia de la cabrilla arenera. Los círculos sólidos indican valores promedio de la TEC; y los triángulos abiertos, valores promedio del FCA.

La TCA no difirió entre las dietas que contienen 40% de proteína o más. Sin embargo, la aplicación del modelo de la línea quebrada mostró que la proteína en el punto asíntótico estuvo cerca de 50% y la TEC a 4.4%/día (Fig. 1).

Conclusiones. Los resultados indican que los juveniles de la cabrilla arenera necesitan por lo menos 55% de proteína dietaria para el mejor crecimiento. Sin embargo, en términos de la TCA, el requerimiento podría ser menor a 55%, usando una dieta a base de caseína.

Bibliografía.

- (1) Gatlin, D.M., III. 1995. Review of red drum nutrition. In: Lim, C.M. and Sessa, D.J. (eds.), Nutrition and Utilization Technology in Aquaculture. AOCS Press, USA. Pp. 41-49.
- (2) Tucker, J.W., Jr. 1998. Marine fish culture. Kluwer Academic Publisher, USA. 750 pp

ANEXO 2. TABLAS DE ANÁLISIS DE VARIANZA DEL CRECIMIENTO DE LOS PECES USADOS EN EL EXPERIMENTO DE TEMPERATURA Y DENSIDAD (Capítulo 4).

Tabla 2a. Análisis de ANDEVA sobre el porcentaje de sobrevivencia con un nivel de confianza de 0.05.

Fuente de variación	g.l.	CM	F	P
Temperatura	2	7.2115	0.34615	0.71555
Densidad	1	29.7691	1.42857	0.25957
Interacción T&D	2	7.2115	0.34615	0.71555
Error	10	20.8333		

Tabla 2b. Análisis de ANDEVA sobre el peso final promedio con un nivel de confianza de 0.05.

Fuente of variación	g.l.	CM	F	P
Temperatura	2	3.5179	18.8880	0.00019*
Densidad	1	0.4608	2.47409	0.14171
Interacción T&D	2	2.0930	11.2376	0.00177*
Error	10	0.18625		

Tabla 2c. Análisis de ANDEVA sobre la tasa específica de crecimiento con un nivel de confianza de 0.05.

Fuente de variación	g.l.	CM	F	P
Temperatura	2	0.9835	17.4542	0.00028*
Densidad	1	0.3055	5.42151	0.03818*
Interacción T&D	2	0.6257	11.1043	0.00118*
Error	10	0.0563		

Tabla 2d. Análisis de ANDEVA sobre el consumo de alimento diario con un nivel de confianza de 0.05.

Fuente de variación	g.l.	CM	F	P
Temperatura	2	183.20	0.34620	0.71555
Densidad	1	101226.90	191.2828	0.00000*
Interacción T&D	2	183.20	0.346	0.71555
Error	10	529.2		

Tabla 2e. Análisis de ANDEVA sobre la tasa de conversión alimenticia con un nivel de confianza de 0.05.

Fuente de variación	g.l.	CM	F	P
Temperatura	2	6.1546	14.2524	0.00118*
Densidad	1	15.8601	36.7274	0.00012*
Interacción T&D	2	4.8921	11.3287	0.00269*
Error	10	0.4318		