

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio de Ciencias Agropecuarias
Doctorado en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Ciencias del Mar



TESIS:

*“Caracterización fisiológica de los estadios tempranos de larvas de pargo flamenco
(Lutjanus guttatus) en cultivo”*

**Que para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

María Isabel Abdo de la Parra

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca

CO-DIRECTOR DE TESIS:

Dr. José Cristóbal Román Reyes

Culiacán, Sinaloa, México; enero de 2019

ACTA DE APROBACIÓN

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR **MARÍA ISABEL ABDO DE LA PARRA**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR

DR. GUSTAVO ALEJANDRO RODRÍGUEZ MONTES DE OCA

CO-DIRECTOR

DR. JOSÉ CRISTÓBAL ROMÁN REYES

ASESOR

DR. JOSÉ ANTONIO ESTRADA GODÍNEZ

ASESOR

DR. MARIO ALBERTO GALAVIZ ESPINOZA

ASESOR

DR. EMMANUEL MARTÍNEZ MONTAÑO

CULIACÁN, SINALOA, ENERO DE 201



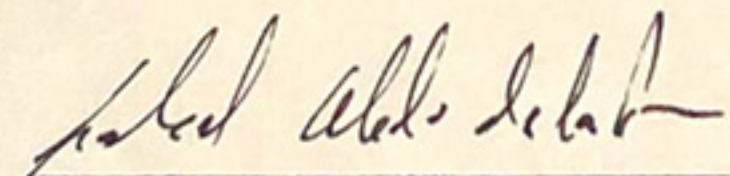
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, la que suscribe María Isabel Abdo de la Parra, alumna del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, de la Unidad Académica Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Gustavo Alejandro Rodríguez Montes de Oca y del Dr. José Cristóbal Román Reyes y cede los derechos del trabajo titulado “Caracterización fisiológica de los estadios tempranos de larvas de pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*) en cultivo”, a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE


María Isabel Abdo de la Parra



UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

DEDICATORIA

A Dios, sin El nada hay.

A mis hijos, Zaida y Manuel, mi sueño hecho realidad.

Mi timón y mi ancla. Son lo mejor de mí. Mi máximo.

Los amo con toda mi alma.

A mi mamá, mi ejemplo de amor incondicional. Me apoyó e impulsó en todo momento para superarme a mi misma. Te extraño tanto.

A mi papá, mi ejemplo de tenacidad, responsabilidad, esfuerzo, trabajo duro. Por su amor y entrega. Te amo.

A Seli, Toño, Sandra, Alonso, Rebe, Gabriel, Pao y Sarita, por su amor, porque puedo contar con uds. siempre; por todos los momentos compartidos y las interminables risas. Los amo.

*No hay peor lucha que la que no se hace.
(Refrán Español).*

AGRADECIMIENTOS

A el Colegio de Ciencias Agropecuarias y Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa, por darme la oportunidad de continuar con mi superación profesional.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán, por todas las facilidades brindadas para lograr esta meta; por permitirme desarrollarme en mi vida profesional.

A mis directores de tesis Dr. Gustavo A. Rodríguez Montes de Oca y Dr. J. Cristóbal Román Reyes, por su impulso, apoyo y amistad.

A mis asesores Dr. J. Antonio Estrada Godínez, Dr. Mario Galaviz Espinoza y Dr. Emmanuel Martínez Montaña por su invaluable ayuda para culminar esta etapa.

Al Dr. Javier Romo y Gabriela Juárez por su disposición y apoyo durante mis estudios.

A mis compañeros del doctorado, Juan Francisco y Adán por su apoyo y amistad.

A mis hermanas del alma: Estela Rodríguez Ibarra y Patricia Domínguez Jiménez, por siempre estar, en las buenas y en las malas, por empujar mi carreta siempre que se atora y cuando no, también. Por hacerme reír tanto.

A mis amigas viajeras Gaby y Rubí, por su apoyo, su cariño, por esos viajes inolvidables, por todo lo compartido.

A Valerie Williams por su amistad de tantos años, su apoyo incondicional, por la traducción de todos los resúmenes y correcciones.

A Noemí por todas las experiencias, aventuras y risas compartidas; a Rosy y Selene por su cariño, apoyo y amistad de toda una vida.

A mis amigas, las cumpleañeras CIAD, Irma, Leonor, Gabita, Marcela, Ana, Crisantema, por todo su apoyo; por todo lo que hemos vivido juntas.

A Omar Calvario por su cariño y amistad de todos estos años.

A mis amigos del personal administrativo del CIAD, Gilberto, Lupita, Sonia, Soquito, Lucy, Alberto, Don Felipe, Chuy, por su amistad y apoyo.

Al personal de la planta piloto de peces del CIAD, Leonardo, Juan Manuel, Juan Luis, Wicho, Jaime, por todo su apoyo; por los huevos y las larvas de pargo que me facilitaron; porque sé el esfuerzo, tiempo y recursos que cuestan. Muchas Gracias!

A Don Juan por su amistad y apoyo; a Don Rosendo y Don Manuel por todo su apoyo durante los bioensayos.

A todos mis compañeros del CIAD, Mazatlán; porque de una u otra manera han influido en mi vida.

A Manuel Marrufo Herrera por lo mejor de mi vida, nuestros hijos. Por la vida que compartimos.

Especialmente, a mi hermana del alma, Blanca Teresa de Jesús. Siempre presente en mí corazón.

CONTENIDO

PÁGINA

ÍNDICE DE CUADROS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.2.1. Biología del pargo flamenco <i>Lutjanus guttatus</i>	3
1.2.1.1. Taxonomía	3
1.2.1.2. Hábitat y Distribución	4
1.2.1.3. Hábitos alimenticios	4
1.2.2. Importancia económica del pargo flamenco	4
1.2.3. Conocimiento del estado actual de la larvicultura del pargo flamenco (<i>Lutjanus guttatus</i>)	5
1.2.3.1. Reproductores	5
1.2.3.2. Control de la reproducción	5
1.2.3.3. Fertilización	6
1.2.3.4. Manejo e Incubación de huevos	7
1.2.3.5. Análisis financiero de producción de huevos fertilizados	9
1.2.3.6. Desarrollo embrionario y larvario	9
1.2.3.7. Descripción del sistema digestivo	11
1.2.3.8. Larvicultura	11
1.3. CONCLUSIONES	17
1.4. LITERATURA CITADA	17
CAPITULO 2. CONSUMO DE OXÍGENO DEL PARGO FLAMENCO <i>Lutjanus guttatus</i> (PERECIFORMES: LUTJANIDAE) DURANTE SU CULTIVO LARVAL	23
2.1. RESUMEN	23
2.2. ABSTRACT	24
2.3. INTRODUCCIÓN	24
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.4.1. Incubación de huevos y larvicultura	26
2.4.2. Cámaras respirométricas y determinación del consumo de oxígeno	27
2.4.3. Análisis estadístico	28
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
2.5.1. Biomasa seca (Bs) y longitud total (LT)	28
2.5.2 Tasa de consumo de oxígeno biomasa-específica (μLO_2 mg-1Bs h-1) y por larva (μLO_2 larva h-1) en relación a la edad de las larvas	29

de pargo flamenco	
2.5.3 Tasa respiratoria biomasa-específica (μLO_2 mg-1Bs h-1) y por larva (μLO_2 larva h-1) en función de la biomasa seca (Bs) de las larvas de pargo flamenco	31
2.6. CONCLUSIONES	36
2.7. LITERATURA CITADA	37
CAPÍTULO 3. COMPOSICIÓN PROXIMAL Y PERFIL DE AMINOÁCIDOS DE ESTADIOS TEMPRANOS DEL PARGO FLAMENCO <i>Lutjanus guttatus</i>	42
3.1. RESUMEN	42
3.2. ABSTRACT	43
3.3. INTRODUCCIÓN	43
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	45
3.4.1. Obtención y manejo de huevos fertilizados y larvas	45
3.4.2. Morfometría de huevos y larvas	46
3.4.3. Análisis químico proximal	46
3.4.4. Perfil de AA en huevos y larvas	46
3.4.5. Análisis estadístico	47
3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
3.5.1. Morfometría de huevos y larvas	47
3.5.2. Análisis químico proximal	48
3.5.3 Perfil de AA en huevos y larvas	49
3.6. CONCLUSIONES	53
3.7. LITERATURA CITADA	53
CAPÍTULO 4. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TASA DE CONSUMO DEL VITelo Y GOTA DE ACEITE EN LAS LARVAS DEL PARGO FLAMENCO <i>Lutjanus guttatus</i> (PERCIFORMES:LUTJANIDAE)	58
4.1. RESUMEN	58
4.2. ABSTRACT	59
4.3. INTRODUCCIÓN	59
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS	61
4.4.1. Obtención de los huevos fertilizados	61
4.4.2. Diseño experimental	61
4.4.3. Porcentaje y tiempo de eclosión	62
4.4.4. Crecimiento, Tasa de Consumo del vitelo y de la gota de aceite	62
4.4.5. Análisis estadístico	63
4.5. RESULTADOS y DISCUSIÓN	63
4.5.1. Tiempo y porcentaje de eclosión	63
4.5.2. Crecimiento, Consumo del saco vitelino y de la gota de aceite	65
4.6. CONCLUSIONES	71
4.7. LITERATURA CITADA	71
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENEALES Y PERSPECTIVAS	76
5.1. CONCLUSIONES GENERALES	76
5.1.1. Oxígeno	76
5.1.2. Composición proximal y perfil de aminoácidos	76

5.1.3. Consumo de las reservas energéticas	77
5.2. PERSPECTIVAS	77

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO	TÍTULO	PÁGINA
1	Clasificación taxonómica de la familia Lutjanidae	3
2	Desarrollo embrionario del pargo flamenco (<i>Lutjanus guttatus</i>). Tomado de Ibarra-Cuadro 3. Biomasa seca, longitud total (LT) y tasa de consumo de oxígeno de larvas de <i>L. guttatus</i> hasta 35 días después de la eclosión (DDE).	10
3	Biomasa seca, longitud total (LT) y tasa de consumo de oxígeno de larvas de <i>L. guttatus</i> hasta 35 días después de la eclosión (DDE)	29
4	Resultados del análisis proximal en base seca de los diferentes estadios evaluados del pargo flamenco (<i>Lutjanus guttatus</i>).	49
5	Perfil de aminoácidos en huevos fertilizados, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo del pargo flamenco (<i>Lutjanus guttatus</i>).	52
6	Resultados de porcentaje y tiempo de eclosión y longitud total de las larvas de <i>L. guttatus</i> en las diferentes temperaturas evaluadas	64
7	Resultados de VSV, TCV, VGA, TCGA, en las larvas de <i>L. guttatus</i> obtenidas en las diferentes temperaturas evaluadas	66

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINA
1	a) Huevo fertilizado viable de pargo flamenco, de forma esférica, con corion transparente y liso, muestra un espacio previtelino pequeño y el vitelo presenta una sola gota de aceite. b) huevo fertilizado no viable. (Reproducida de Abdo-de la Parra y Rodríguez-Ibarra, 2011).	7
2	Larva recién eclosionada 2,1 mm LT	11
3	Protocolo de alimentación tomado de Abdo de la Parra et al. (2010).	13
4	Juvenil de pargo flamenco de 45 DDE. 45.0 mm LT.	13
5	Curva de crecimiento de las larvas de pargo flamenco a diferentes densidades de siembra (Abdo de la Parra et al., 2010).	16
6	Tasa respiratoria ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) de larvas del pargo flamenco <i>Lutjanus guttatus</i> en relación con la edad (DDE). La barras señalan A: inicio de la alimentación exógena, B: preflexión, C: flexión, D: posflexión y E: inicio del destete. Los puntos indican los promedios de la tasa respiratoria y las barras verticales \pm la desviación estándar	30
7	Tasa respiratoria por individuo ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de larvas de pargo flamenco <i>Lutjanus guttatus</i> en relación con la edad (DDE). Los puntos indican los promedios de la tasa respiratoria y las barras verticales representan \pm la desviación estándar de la media	31
8	Gráfico log-log entre la tasa de respiración ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) del pargo flamenco <i>Lutjanus guttatus</i> con la biomasa seca en mg (Bs).	32
9	. Gráfico log-log entre la tasa de respiración por larva ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) del pargo flamenco <i>Lutjanus guttatus</i> con la biomasa seca en mg (Bs).	33
10	Volumen del saco vitelino de las larvas de <i>L. guttatus</i> a 28°C y a diferentes horas después de la eclosión	67
11	Volumen de la gota de aceite de las larvas de <i>L. guttatus</i> a 28°C y a diferentes horas después de la eclosión	69

RESUMEN

Caracterización fisiológica de los estadios tempranos de larvas de pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*) en cultivo.

María Isabel Abdo de la Parra

Actualmente, la producción de juveniles de pargo flamenco, es el principal cuello de botella que enfrenta la industria dedicada al cultivo de esta especie. Específicamente, la supervivencia reportada en las primeras etapas de larvicultivo es de 1 a 12%; lo cual, se debe principalmente, a la dificultad de proveer los nutrientes necesarios para que la larva en la primera alimentación desarrolle adecuadamente su fisiología digestiva para lograr con éxito la transición de la alimentación endógena a exógena. Aunque se han descrito varios protocolos de alimentación, aun no se ha logrado un avance del todo significativo para aumentar la supervivencia. Sin embargo, cabe la posibilidad de establecer el grado de impacto en la modificación de los protocolos de alimentación larvaria, utilizando como base diferentes tasas metabólicas, determinando el perfil de aminoácidos esenciales de las larvas vitelinas y la temperatura óptima para el consumo adecuado de las reservas energéticas de las larvas del pargo flamenco. En el presente trabajo se realizaron varios bioensayos para evaluar el consumo de oxígeno de los diferentes estadios larvales, para determinar el perfil de aminoácidos esenciales (AAE) y la tasa de consumo de las reservas energéticas a diferentes temperaturas de cultivo de huevos y larvas vitelinas del pargo flamenco. El mayor consumo de oxígeno fue en los primeros 5 días después de la eclosión (DDE) lo cual coincide con el inicio de la alimentación exógena. A los 14, 19 y 30 DDE las tasas respiratorias presentaron ligeros incrementos, y parecen estar asociados a cambios morfológicos de las larvas (preflexión, flexión y posflexión, respectivamente). Los valores de los exponentes de la relación potencial alométrica entre la tasa respiratoria biomasa-específica y por individuo, en función de la biomasa seca del pargo flamenco, fueron de -0.172 y 0.834, respectivamente. Por otro lado, los datos obtenidos del perfil de AAE de huevos y larvas, podrán utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE de las larvas de pargo flamenco al inicio de la alimentación exógena y coadyuvar a mejorar los protocolos de alimentación y al desarrollo de dietas balanceadas para mejorar el crecimiento y supervivencia de las larvas. Por último, se concluyó que la temperatura para la incubación y cultivo de larvas vitelinas del pargo flamenco se debe llevar a cabo alrededor de los 28°C para un adecuado crecimiento, supervivencia y consumo de sus reservas energéticas.

Palabras clave: larvas de pargo flamenco, consumo de oxígeno, perfil de aminoácidos esenciales, temperatura, reservas energéticas.

ABSTRACT

Physiological characterization at early culture stages of the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*)

María Isabel Abdo de la Parra

Currently, the production of spotted rose snapper juveniles is the main bottleneck facing the industry. Specifically, the survival reported in the first stages of larviculture is from 1 to 12%; which is mainly due to the difficulty of providing the necessary nutrients for the first-feeding larvae to adequately develop their digestive physiology in order to successfully achieve transitions from endogenous to exogenous feed. Although several feeding protocols have been described, significant progress has not yet been made to increase survival. However, it is possible to establish the degree of impact on the modification of the larval feeding protocols, using as a base different metabolic rates, determining the essential amino acid profile of the yolk sac larvae and the optimal temperature for the adequate consumption of the energetics reserves of the spotted rose snapper larvae. In the present work, several bioassays were conducted to evaluate the oxygen consumption of the different larval stages, determine the essential amino acid profile (EAA) and the rate of consumption of energy reserves of eggs and yolk sac larvae at different culture temperatures. The highest oxygen consumption was in the first 5 days after hatching (DDE), which coincides with the start of exogenous feeding. At 14, 19 and 30 DDE respiratory rates showed slight increases, and appear to be associated with morphological changes of the larvae (preflexion, flexion and postflexion, respectively). The values of the exponents of the potential allometric relationship between the biomass-specific respiratory rate and per individual, as a function of the dry biomass larvae, were -0.172 and 0.834, respectively. On the other hand, the data obtained from the AAE profile of eggs and larvae, may be used as an approximate indicator of the EAA requirement of spotted rose snapper larvae at the beginning of exogenous feeding and help improve feeding protocols and the development of balanced diets to improve the growth and survival of the larvae. Finally, it was concluded that the temperature for the incubation and culture of yolk sac larvae of the spotted rose snapper should be carried out around 28 ° C for an adequate growth, survival and consumption of its energy reserves.

Key words: spotted rose snapper larvae, oxygen consumption, amino acid profile, temperature, energy reserves.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. INTRODUCCIÓN

La piscicultura marina es una actividad que contribuye a la economía de muchos países, generando alimento con alto valor nutricional, empleos y divisas. Hace algunos años, en Europa y Asia esta actividad se basó principalmente en el cultivo de juveniles silvestres; sin embargo, actualmente la producción continua de juveniles en cautiverio se está incrementando, convirtiéndola en una actividad sustentable. En el sureste de Asia, las especies cuya biotecnología de producción de juveniles ya está establecida son el sabalote (*Chanos chanos*) y barramundi (*Lates calcarifer*); en Japón, el pargo japonés (*Pagrus major*); en el Mediterráneo, la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y la dorada (*Sparus aurata*); en Australia, el barramundi y en Estados Unidos, la corvina (*Sciaenops ocellatus*), (Tucker, 1998; Battaglione y Cobcroft, 2007). En México, el cultivo de peces marinos se encuentra en pleno desarrollo y aunque ya se han logrado avances significativos en la producción de juveniles de laboratorio de algunas especies como pargos (*Lutjanus guttatus* y *L. peru*), robalos (*Centropomus undecimales* y *C. viridis*), totoaba (*Totoaba macdonaldi*), corvina (*Sciaenops ocellatus*) y jurel (*Seriola lalandi* y *S. rivoleana*), en la mayoría de los casos, su engorda en jaulas se basa casi exclusivamente de juveniles silvestres (Dával-Camacho *et al.*, 2018); lo cual aumenta la presión existente en las pesquerías, al reducir las poblaciones naturales. La producción constante, confiable y en el momento adecuado de juveniles de calidad, es un requerimiento indispensable para el cultivo de peces marinos (Alvarez-Lajonchère, *et al.*, 2012). Por lo tanto, es imprescindible contar con las técnicas de cultivo adecuadas y sistemas de producción eficientes que permitan que la especie cultivada alcance un desempeño satisfactorio.

El pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) se distribuye en el pacífico oriental, desde México hasta Perú (Fischer *et al.*, 1995). Es una especie que presenta alta demanda en los mercados de algunos países de Latinoamérica; por lo que a partir de la década pasada, los pescadores extraen juveniles silvestres para engordarlos en jaulas. Las investigaciones sobre su reproducción artificial se iniciaron

hace varios años en algunos países como Colombia (Valverde y Boza, 1999), Panamá (Cano, 2003), Costa Rica (Boza-Abarca *et al.*, 2008) y Ecuador (Benetti y Wilson, 1996). En México se iniciaron en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán (CIAD), desde el año 2000 (García-Ortega *et al.*, 2005). En la actualidad se han alcanzado grandes avances para lograr la producción masiva de juveniles y cerrar el ciclo generacional; sin embargo, todos los trabajos relacionados al respecto han mostrado que durante los primeros estadios de vida se presentan altas mortalidades, con una supervivencia al final del cultivo larvario entre uno a 12% (García-Ortega *et al.*, 2005; Sierra de la Rosa, 2007; Boza-Abarca *et al.*, 2008; Abdo de la Parra *et al.*, 2010; Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2012; Ibarra-Castro *et al.*, 2012). Las altas mortalidades que se han presentado en la larvicultura del pargo flamenco han sido el principal cuello de botella en el desarrollo e implementación de la biotecnología del cultivo a nivel comercial. Optimizar las estrategias de alimentación y de cultivo de larvas de pargo flamenco es un paso crítico para establecer la producción masiva de juveniles de pargo flamenco de manera confiable, constante y rentable, para que la actividad pueda ser sustentable. En este sentido, en el presente estudio se determinó la tasa respiratoria de los diferentes estadios larvarios, el contenido bromatológico, perfil de aminoácidos y tasa de consumo del vitelo y la gota de aceite de huevos y primeros estadios larvarles del pargo flamenco cultivadas a diferentes temperaturas.

El consumo de oxígeno es uno de los perfiles fisiológicos más útil para estimar los requerimientos nutricionales de los peces, ya que representa la tasa del metabolismo energético (Jobling, 1994); al conocer la tasa metabólica de los diferentes estadios larvales del pargo flamenco se podrán diseñar estrategias de alimentación que cubran en tiempo y forma sus requerimientos energéticos y disminuir, en consecuencia, las altas mortalidades presentadas en esta etapa.

Algunos autores utilizan la composición de aminoácidos (AA) del cuerpo completo o de los huevos de peces para estimar el requerimiento correspondiente a cada especie (Hastey *et al.*, 2010; Buentello *et al.*, 2011; Saavedra *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2016). Este método es menos costoso y constituye una alternativa para determinar el requerimiento de AA de las larvas de peces (Monentcham *et al.*, 2010).

Al conocer el perfil de AA de las larvas del pargo flamenco antes de la primera alimentación exógena se podrán optimizar los protocolos de alimentación y desarrollar dietas con un adecuado perfil de AA. Por otro lado, el consumo lento o rápido del vitelo puede ser determinante en el desarrollo y supervivencia de las larvas. Varios autores han demostrado que la eficiencia en el consumo del vitelo y las gotas de aceite es mayor en las larvas de peces marinos cultivadas dentro de los rangos óptimos de temperatura de cada especie, y disminuye cuando se cultivan fuera del rango óptimo (Kaminski *et al.*, 2006; Estrada-Godínez *et al.*, 2015; Guevara-Fletcher *et al.*, 2017); por lo cual, al determinar la temperatura adecuada de cultivo de huevos y larvas vitelinas de pargo flamenco se aumentará la supervivencia durante la transición a la alimentación exógena.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA.

1.2.1. Biología del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*

1.2.1.1. Taxonomía. El pargo flamenco pertenece a la familia Lutjanidae (Cuadro 1), la cual está representada por 17 géneros y 103 especies, incluyendo 65 especies del género *Lutjanus* (Allen, 1995).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la familia Lutjanidae

Phylum	Chordata
Clase	Actinopterygii
Superorden	Acanthopterygii
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Lutjanidae
Género	<i>Lutjanus</i>
Especie	<i>guttatus</i>

1.2.1.2. Hábitat y Distribución. El pargo flamenco generalmente se encuentra en áreas de arrecifes costeros y fondos rocosos hasta de 30 metros de profundidad, su comportamiento social en ocasiones es solitario o forma cardúmenes. Los juveniles habitan en estuarios y desembocaduras de ríos. Se distribuye en el Pacífico oriental, desde el Golfo de California, México, hasta el norte del Perú (Allen, 1995).

1.2.1.3. Hábitos alimenticios. Es una especie carnívora oportunista de hábitos nocturnos, los adultos se alimentan principalmente de peces y en la etapa juvenil su principal alimento lo constituyen los crustáceos y en menor medida los moluscos, lo cual sugiere una posible estrategia ecológica para la optimización en el uso de presas (Saucedo y Chiappa, 2002; Rojas et al., 2004).

1.2.2. Importancia económica del pargo flamenco.

Una de las pesquerías más importantes en las costas del Pacífico Mexicano es la de peces de la familia Lutjanidae, pasada principalmente en el pargo flamenco (*L. guttatus*) y huachinango (*L. peru*). Su demanda se debe a la calidad de su carne y a su alto precio en el mercado (Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2012); lo cual ha conllevado a la sobreexplotación de la especie.

La pesca requiere de alternativas para la obtención de mayores volúmenes de productos que puedan comercializarse a mejores precios; en este sentido, el empleo de jaulas flotantes para la engorda de peces de alto valor comercial con el apoyo de alimento balanceado se convierte en una posibilidad. En su fase de desarrollo inicial, esta actividad inicia con el aprovechamiento de juveniles del medio natural y a mediano plazo es imprescindible disponer de crías obtenidas en el laboratorio.

Los estudios realizados en la Unidad Mazatlán, CIAD, A. C. desde el 2000 a la fecha, sobre la biotecnología de cultivo del pargo flamenco, han evaluado y confirmado la posibilidad de cultivo esta especie. A continuación se detalla el conocimiento generado sobre la larvicultura del pargo flamenco en varios países de Latinoamérica.

1.2.3. Conocimiento del estado actual de la larvicultura del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*).

(Artículo publicado: LAJAR 43(3): 415-423. 2015, DOI: 10.3856/vol43-issue3-fulltext-3)

Disponible en http://www.lajar.cl/pdf/imar/v43n3/Articulo_43_3_03.pdf

1.2.3.1. Reproductores. El pargo flamenco es una especie gonocórica, con sexos separados, sin dimorfismo sexual aparente; la fertilización es externa y sin cuidado paternal. Su desarrollo gonadal es asincrónico con desoves parciales por la presencia de ovocitos con desarrollo avanzado y folículos post-ovulatorios en diferentes grados de reabsorción, liberados en diferentes tiempos (Cruz- Romero et al., 1996). La actividad reproductiva se presenta prácticamente todo el año; con picos máximos en los meses de abril y mayo y en octubre-noviembre. En enero y febrero, cesa totalmente la reproducción, principalmente por las bajas temperaturas (Rojas, 1997; Arellano Martínez et al., 2001; Alvarez-Lajonchère e Ibarra-Castro, 2011). Para obtener el banco de reproductores y realizar la inducción artificial de la reproducción del pargo flamenco, los organismos silvestres se pueden capturar por medio de chinchorros, anzuelos y línea de fondo (palangre), por pescadores artesanales en la época de reproducción, a profundidades de 30 a 50 m. De acuerdo a lo recomendado por Benetti y Feeley (1999) a los peces con barotrauma (abultamiento de la vejiga gaseosa debido a cambios de presión durante el ascenso) se les practica una punción de la vejiga gaseosa con una aguja hipodérmica para retirar el exceso de gas y estabilizar al animal en la columna de agua. Posteriormente se trasladan a las instalaciones correspondientes. Ibarra-Castro et al. (2012a) reportaron que es posible mantener un banco de reproductores obtenido de juveniles producidos en laboratorio y posteriormente cultivados en jaulas hasta alcanzar la talla adecuada para su reproducción.

1.2.3.2. Control de la reproducción.

Para lograr con éxito el cultivo de peces marinos se requiere la producción sostenida de huevos de calidad (Bromage, 1995). En general los reproductores capturados del medio ambiente o los que son criados en cautiverio, se encuentran en condiciones medioambientales inapropiadas para lograr la maduración final y liberación de gametos; por lo cual, es necesario aplicar tratamientos hormonales para lograrlo. A

partir de los años 30's se han utilizado las hormonas exógenas para estimular el proceso reproductivo e inducir a la ovulación, espermiación y desove de peces marinos (Zohar y Mylonas, 2001). Para establecer los protocolos de inducción a la maduración final del pargo flamenco, se han realizado diversos estudios: Valverde y Boza (1999) inyectaron a hembras silvestres con 4 mg de extracto de pituitaria de carpa (EPC) Kg^{-1} de peso corporal (PC), y después de 24 h las hembras desovaron; recientemente, Boza-Abarca *et al.* (2011) confirmaron que la dosis de 4 mg Kg^{-1} PC de EPC aplicada en una sola inyección es la adecuada para inducir al desove a las hembras de esta especie; en otro estudio Boza-Abarca *et al.* (2008) indujeron el desove de *L. guttatus* engordado en jaulas, utilizando dos inyecciones de gonadotropina coriónica humana (hCG) la primera inyección fue de 4.5 mg hCG kg^{-1} PC y la segunda de 3.5 mg hCG kg^{-1} PC; después de 9 a 12 h las hembras desovaron. Estos resultados fueron ratificados posteriormente por Boza-Abarca *et al.* (2011) en peces silvestres de la misma especie. Por su parte, Ibarra *et al.* (2004) indujeron el desove de *L. guttatus* utilizando implantes del análogo de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRHa), con dosis de 25 ó 75 mg kg^{-1} de PC. Ibarra-Castro y Duncan (2007) evaluaron implantes con 25, 50, 75 y 100 μg del análogo de la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH α) en pargos silvestres y determinaron que el implante de 75 μg fue el más efectivo para la liberación de huevos; por su parte, Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchere (2009) demostraron la eficiencia de los implantes de GnRH α tanto en pargos silvestres como de cautiverio y desarrollaron un monográfico para estimar la dosis requerida de GnRH α para la inducción al desove de hembras de pargo flamenco. Además, se ha demostrado que es posible obtener desoves espontáneos durante la época natural de desove, con peces adaptados a las condiciones de cautiverio propicias para su maduración y desove (Cano, 2003; Boza-Abarca *et al.*, 2008, Alvarez-Lajonchère *et al.*, 2011, Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchère, 2011).

1.2.3.3. Fertilización.

Una vez inducidas, las hembras se colocan en los tanques donde se llevará a cabo la fertilización natural. Generalmente la proporción de machos:hembra es de 2:1. Los machos fecundan los huevos naturalmente al momento de ser liberados por la hembra

en el agua (Sierra de la Rosa, 2007; Boza-Abarca *et al.*, 2008; Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchere 2009, 2011). Se han reportado diferentes porcentajes de fertilización, que varían según las condiciones de mantenimiento de los reproductores, desde 45 hasta 90% (García-Ortega *et al.*, 2005; Sierra de la Rosa, 2007; Boza-Abarca *et al.*, 2008, 2011; Ibarra-Castro y Álvarez-Lajonchère, 2009, 2011; Herrera-Ulloa *et al.*, 2009, 2010; Álvarez-Lajonchère *et al.*, 2012). Los huevos vivos fertilizados del pargo flamenco son pelágicos y flotan en la superficie del agua. Son de forma esférica, con corion transparente y liso lo que permite observar, a través de un microscopio compuesto, el desarrollo embrionario; presentan un espacio previtelino pequeño; el vitelo presenta una sola gota de aceite (Fig.1a). Los huevos muertos son opacos y no flotan en la superficie del agua (Fig. 1b) (Duncan e Ibarra-Castro, 2007; Boza-Abarca *et al.*, 2008; Álvarez-Lajonchère *et al.*, 2011).

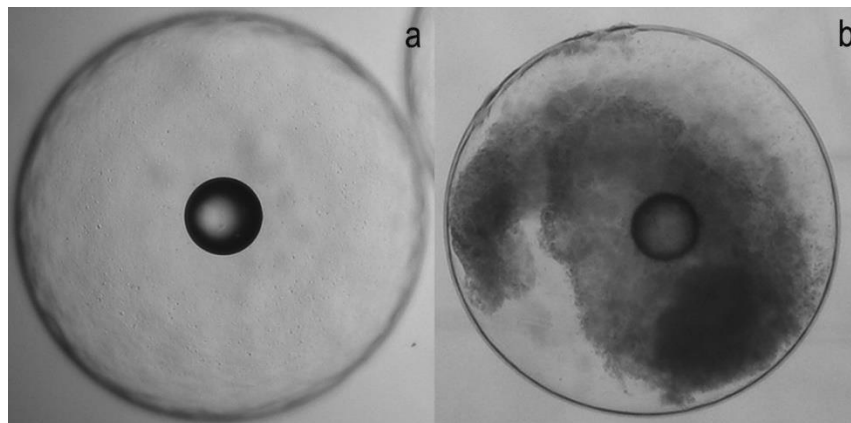


Figura 1. a) Huevo fertilizado viable de pargo flamenco, de forma esférica, con corion transparente y liso, muestra un espacio previtelino pequeño y el vitelo presenta una sola gota de aceite. b) huevo fertilizado no viable. (Reproducida de Abdo-de la Parra y Rodríguez-Ibarra, 2011).

1.2.3.4. Manejo e Incubación de huevos.

La manipulación y la incubación de huevos de peces son procedimientos sencillos pero importantes para la producción masiva de juveniles; por lo cual, se han realizado diferentes estudios para establecer las mejores prácticas de manejo en *L. guttatus*. Ibarra-Castro *et al.* (2012b) realizaron un estudio para determinar el manejo más apropiado para la incubación de huevos. Evaluaron dos densidades de siembra (250

y 1000 huevos L⁻¹) con o sin tratamiento profiláctico de formalina a 10 mg L⁻¹ por una hora antes de la incubación, colocándolos en tanques de fibra de vidrio de 100 L con y sin flujo de agua (renovando el 30% h⁻¹), en este trabajo concluyeron que la mejor densidad de siembra para la incubación es de 250 huevos L⁻¹ y no encontraron diferencias significativas en la eclosión de huevos con o sin tratamiento profiláctico ni con flujo o sin flujo de agua. En otro estudio realizado por Ibarra-Castro *et al.* (2012c) recomiendan utilizar acriflavina a 5 mg L⁻¹ como tratamiento profiláctico en la incubación de huevos de pargo flamenco para reducir los efectos negativos de microorganismos patógenos en huevos y larvas.

Por otro lado, las condiciones ambientales en la incubación de huevos de peces marinos juegan un papel preponderante en el desarrollo de los organismos; por ejemplo, se ha demostrado que el fotoperiodo influye en el desarrollo embrionario y tiempo de eclosión de las larvas (Helvik y Walter, 1992, 1993; Downing y Litvak, 2002). Duncan *et al.* (2008) evaluaron el efecto del fotoperiodo en la incubación de huevos de pargo flamenco y concluyeron que, independientemente del fotoperiodo, la mayoría de los huevos eclosionaron entre las 17 y 20 h postfertilización (HPF); sin embargo, el periodo de eclosión aumentó significativamente (de 23 a 25 HPF) en los huevos incubados con luz constante.

Otro de los factores ambientales que influyen en los procesos vitales de los peces, es la salinidad del medio donde se cultivan; algunas investigaciones en especies de peces marinos mencionan que la incubación de huevos, fuera del rango de salinidad que tolera la especie, afecta el desarrollo embrionario, produce malformaciones, puede alargar el tiempo de eclosión y disminuir la supervivencia, tanto de embriones como de larvas eclosionadas (Henne y Watanabe, 2003; Jian *et al.*, 2003; Berlinsky *et al.*, 2004). Para el pargo flamenco, se demostró que la incubación de huevos puede llevarse a cabo en salinidades entre 15 a 40‰ sin afectar el desarrollo embrionario y la eclosión de larvas normales (Abdo de la Parra *et al.*, 2011).

1.2.3.5. Análisis financiero de producción de huevos fertilizados.

Ibarra-Castro *et al.* (2013), realizaron un análisis financiero de un ciclo de producción de huevos de pargo flamenco a escala piloto en las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán, en Sinaloa, México; para evaluar la posibilidad de implementar esta tecnología a escala comercial. Los resultados determinaron que la mano de obra se llevó el 36% del costo total, seguida de los materiales e insumos (21%), alimento (11%) y por último, la depreciación que representó el 10% del total. El costo de 1,000 huevos viables ya empacados para su envío se estimó en \$USD 96 y el costo de producción de 100,000 larvas de 48 horas después de la eclosión (HDE) fue de \$USD 2,045. De acuerdo a los resultados obtenidos, los autores mencionan que la tecnología de producción de huevos de esta especie puede extenderse a escala comercial, siguiendo sus recomendaciones.

1.2.3.6. Desarrollo embrionario y larvario.

El desarrollo embrionario (Cuadro 2) es similar a otras especies de pargo y fue descrito por Ibarra-Castro (2005). La eclosión inicia entre las 15 y 17 HPF a temperaturas entre 26 y 30°C, y termina en un periodo de 3-4 h. En condiciones normales de cultivo se obtienen porcentajes de eclosión mayores al 80%. (Gracia-Ortega *et al.*, 2005; Ibarra-Castro, 2005; Duncan e Ibarra, 2007; Boza-Abarca *et al.*, 2008; Duncan *et al.*, 2008; Abdo de la Parra *et al.*, 2010; Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchère, 2011; Ibarra-Castro *et al.*, 2012a, b).

Las larvas recién eclosionadas (Fig. 2) miden entre 2.1 a 2.7 mm de longitud total (LT) (García-Ortega *et al.*, 2005; Boza-Abarca *et al.*, 2008; Abdo de la Parra *et al.*, 2010; Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchere, 2011; Alvarez-Lajonchère *et al.*, 2012); el saco vitelino abarca casi la mitad de la longitud del cuerpo; el tubo digestivo, la boca y el poro anal se encuentran indiferenciados y no se distinguen. Los ojos también están indiferenciados. Entre 0 y 1 día después de la eclosión (DDE) las larvas flotan en la columna del agua sin movimiento significativo y los ojos empiezan a desarrollarse. A los 3 DDE se observa la abertura del poro anal y de la boca y los ojos se encuentran completamente pigmentados, el saco vitelino ha sido absorbido completamente y miden alrededor de 3.0 ± 0.02 mm de LT. A los 4 DDE se alimentan activamente en la columna de agua y en la superficie. La preflexión ocurre entre el 14 al 16 DDE; la

flexión ocurre entre 19 y 20 DDE y la postflexión ocurre después de 25 DDE y miden alrededor de 9.3 ± 1.2 mm de LT (Boza-Abarca *et al.*, 2008; Abdo de la Parra y Rodríguez-Ibarra, 2011).

Cuadro 2. Desarrollo embrionario del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*). Tomado de Ibarra-Castro (2005).

Horas post-fertilización (HPF)	Estado de desarrollo
0:15-0:30	División de 2 y 4 células
0:45-0:55	8 células
1:10-1:30	16 células
1:40-1:50	Mórula
4:15-4:25	Blástula
6:15-6:25	Inicio del eje embrionario
7:15-7:25	Evolución del embrión
8:15-8:25	Segmentación del embrión (Fig. 9)
10:19	Continúa segmentación hasta la cola y aparecen pigmentos (Fig. 10)
15:39	Formación de la aleta caudal y aparición de órganos internos
16:44	Empieza a latir el corazón y se observa movimiento del embrión
19:49	Eclosión del embrión

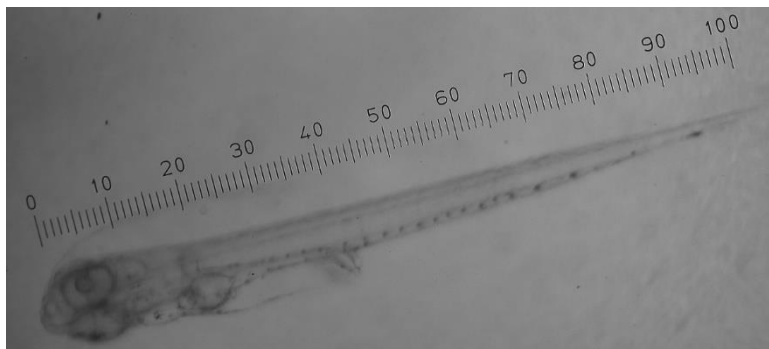


Figura 2. Larva recién eclosionada 2,1 mm LT.

1.2.3.7. Descripción del sistema digestivo.

Galaviz *et al.* (2013), realizaron un estudio para describir el desarrollo del sistema digestivo de las larvas de pargo flamenco desde la eclosión hasta los 40 DDE. Señalan que al momento de la eclosión, el sistema digestivo se encuentra indiferenciado y aparece como un tubo recto, la boca y el ano no están diferenciados todavía y el tracto digestivo se encuentra cerrado al exterior. Durante la absorción del saco vitelino (2-3 DDE) se empieza a diferenciar el rudimentario sistema digestivo en bucofaringeo, un esófago corto, intestino y de las glándulas digestivas (hígado y páncreas). Entre 3 y 4 DDE las larvas abren la boca (3.0 ± 0.02 mm LT) y el intestino posterior es separado del anterior por la válvula intestinal. A partir de la alimentación exógena y hasta 10 DDE, el sistema digestivo aumenta en talla y complejidad. A los 20 DDE las glándulas gástricas se distinguen claramente y a 25 DDE el estómago está morfológicamente diferenciado y se distinguen tres regiones: cardias, fundus y píloro. La actividad de la tripsina se detectó al momento de la eclosión y fue aumentando conforme la larva fue desarrollándose y con el cambio del tipo de alimento. La máxima actividad se detectó al 35 DDE, cuando la larva se alimentó con una dieta artificial. En base a estos resultados, los autores sugieren que el destete se puede llevar a cabo entre 20 y 25 DDE.

1.2.3.8. Larvicultura

1.2.3.8.1. Protocolos de alimentación. El primer reporte publicado sobre la larvicultura del pargo flamenco se realizó en las instalaciones del CIAD, Unidad Mazatlán, Sinaloa

por García-Ortega *et al.* (2005). Los tanques de cultivo se inocularon con una mezcla de *Nanochloropsis oculata*, *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis* sp. a 100,000 cél mL⁻¹ a partir de 1 DDE hasta 14 DDE. Las larvas se alimentaron con rotíferos *Brachionus rotundiformis* con 10 ind mL⁻¹ del 1 al 23 DDE, a partir del 24 DDE se redujo a 6 ind mL⁻¹ y se añadieron metanauplios de *Artemia* sp. enriquecida, a una densidad de 0.1 ind mL⁻¹, la cual se fue incrementando gradualmente hasta 1 ind mL⁻¹. El destete inició 31 DDE utilizando una dieta microparticulada a base de quistes descapsulados de *Artemia* y harina de pescado como fuentes de proteína (García-Ortega *et al.*, 2003). A los 41 DDE las larvas consumieron solo alimento artificial. Los autores reportaron una tasa de supervivencia de 0.5%.

El protocolo anterior fue modificado (Fig. 3) en las mismas instalaciones por Abdo de la Parra *et al.* (2010), aumentando la cantidad de microalgas, rotíferos y nauplios de *Artemia* otorgada a las larvas de pargo. Además, a partir del 2 al 15 DDE se añadió a los tanques de cultivo, una mezcla de copépodos (*Tisbe monozota* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*) a una concentración de 0.5 ind mL⁻¹. El cambio a alimento inerte se realizó a partir de los 30 DDE, con una dieta comercial microparticulada (Lansy 2/4, 4/6, 5/8 8/12, INVE Aquaculture. Inc.). Los autores reportaron una tasa de supervivencia entre 1.5 a 2.8% al final del cultivo larvario (45 DDE) y los juveniles cosechados midieron alrededor de 4.5 cm de LT (Fig. 4).

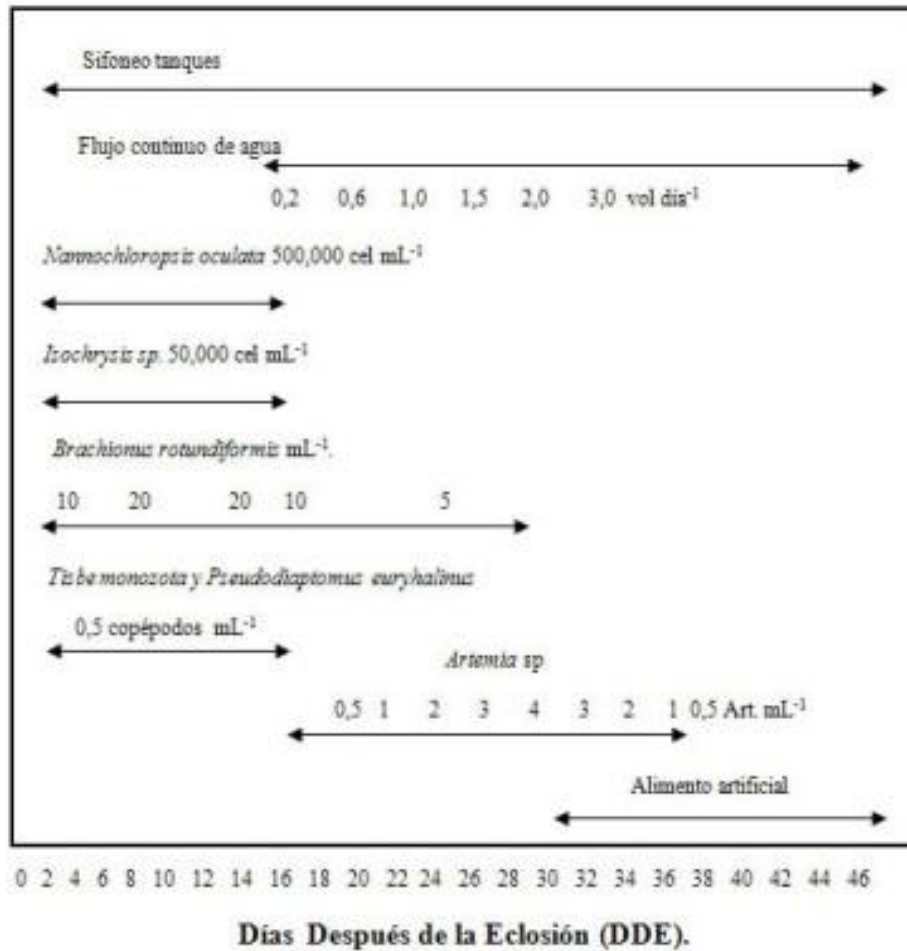


Figura 3. Protocolo de alimentación tomado de Abdo de la Parra *et al.* (2010).

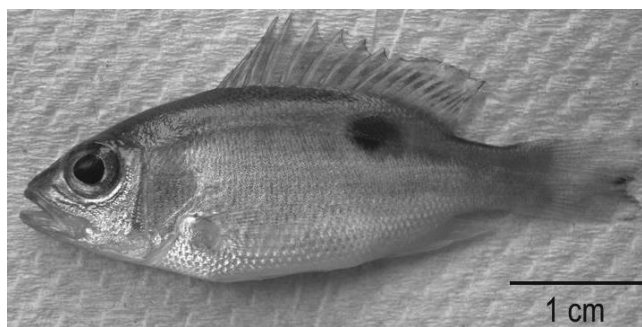


Figura 4. Juvenil de pargo flamenco de 45 DDE. 45.0 mm LT.

Recientemente, Álvarez-Lajonchère *et al.* (2012) describieron la larvicultura del pargo flamenco a escala piloto, realizada en la planta piloto para la producción de

peces marinos del CIAD, Unidad Mazatlán (Álvarez-Lajonchère *et al.*, 2007). El protocolo de alimentación fue similar al reportado por Abdo de la Parra *et al.* (2010), modificando la alimentación con metanauplios de *Artemia* enriquecidos durante 18 h con SuperSelco® (INVE Aquaculture Inc). Los autores obtuvieron una supervivencia de 12.1 ± 1.1 % debido a que a partir de los 28 DDE se inició la separación de tallas para evitar el canibalismo, dado que durante la larvicultura de esta especie, se observó una gran dispersión de tallas.

En la Estación de Biología Marina de Punta Arenas, Costa Rica se ha reportado una tasa de supervivencia de 1.5% de larvas de pargo flamenco a los 26 DDE, bajo el siguiente protocolo de alimentación; los tanques de larvicultura fueron inoculados con *Isochrysis galbana* ($600,000 \text{ cél mL}^{-1}$), rotíferos *Brachionus plicatilis* ($15\text{--}20 \text{ ind. mL}^{-1}$), huevos de ostión fertilizados (*Crassostrea gigas*, 5 huevos mL^{-1}) y zooplancton prefiltrado del Golfo de Nicoya (menos de $150 \mu\text{m}$ de tamaño) que contenía principalmente larvas de copépodos ($5\text{--}10 \text{ ind. mL}^{-1}$). Excepto los huevos de ostra fertilizados que se mantuvieron un sólo día, las densidades de *Isochrysis galbana*, rotíferos, y zooplancton se mantuvieron hasta los 27, 29 y 35 DDE, respectivamente. A los 16 DDE se inició la alimentación con nauplios de *Artemia* ($3\text{--}5 \text{ nauplios mL}^{-1}$) hasta los 36 DDE; las larvas aceptaron la sardina fresca como alimento a los 31 DDE y el destete se realizó mezclando el alimento fresco con alimento inerte (Boza-Abarca *et al.*, 2008).

Por otro lado, la Universidad Nacional (UNA) de Costa Rica transfirió la biotecnología de acuicultura al Parque Marino del Pacífico y unieron esfuerzos para desarrollar el cultivo del pargo flamenco en el país. La larvicultura se llevó a cabo aplicando del 2 hasta 20 DDE, 500 litros diarios de *Tetraselmis chui* con densidades entre 100 y 200 cél mL^{-1} y rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) enriquecidos con Rotimac® (Bio-Marine. Inc) entre 5 y 20 ind mL^{-1} . A partir de los 15 hasta 30 DDE se aplicaron nauplios de *Artemia*, (1 ind. mL^{-1}) y del 25 al 35 DDE se otorgó *Artemia* adulta a razón de $2 \text{ ind. larva día}^{-1}$. El período de destete inició entre los 30 y 32 DDE otorgando una mezcla de alimento fresco basado en camarón y pescado. Los autores mencionan que los procesos de producción de larvas fueron optimizados durante los primeros años de la investigación en función de obtener un protocolo de alimentación

que permitiese la supervivencia de las larvas; así, de 10,000 alevines producidos al inicio pasaron a producir cerca de 70, 000. Los resultados encontrados refuerzan el potencial de la producción en laboratorio de la especie (Herrera-Ulloa *et al.*, 2009, 2010).

En Colombia, CENIACUA y la compañía camaronera C.I. Balboa S.A unieron esfuerzos, para verificar el potencial del pargo flamenco como especie candidata para la diversificación de la maricultura en el Pacífico colombiano y desarrollaron el siguiente protocolo de alimentación en tanques de concreto de 10,000 L: a partir del 3 DDE suministraron microalgas (*Nannochloropsis oculata*), rotíferos enriquecidos (10-15 ind. mL⁻¹), *Artemia salina* enriquecida (5 ind. mL⁻¹) con HUFA'S (DHA Protein SELCO®, INVE Aquaculture Inc.) y zooplancton silvestre. Del 6 hasta 20 DDE se otorgó una solución nutritiva sin diluir, el Epac® tamizado a 100 µm (alimento microparticulado) y del 19 a 33 DDE se aplicó en su tamaño original (500 µm) conjuntamente con zooplancton silvestre y nauplios de *Artemia*; posteriormente, se utilizó alimento balanceado para camarón (alimento particulado 2 y 3) acompañado de juveniles y adultos de *Artemia salina* enriquecidos con SELCO® (INVE Aquaculture Inc). A los 42 DDE los alevines se alimentaron únicamente a base de dietas comerciales. Durante las dos últimas semanas de la larvicultura se observó un acentuado canibalismo debido a la diferencia de tallas de los peces, lo cual afectó la supervivencia final (1.8%), por lo que recomiendan una separación de tallas a partir de los 30 DDE (Sierra de la Rosa, 2007).

Por su parte, Velasco-Blanco *et al.* (2013) evaluaron tres productos comerciales, S-Presso® (INVE Aquaculture Inc.), DHA Protein Selco® (INVE Aquaculture Inc.) y Rotigrow Plus® (Reed Mariculture Inc.) para enriquecer el alimento vivo utilizado para alimentar larvas de pargo flamenco durante el cultivo larvario y mencionan que no encontraron diferencias significativas en crecimiento y supervivencia de las larvas de los tres tratamientos; sin embargo, recomiendan utilizar Rotigrow-Plus® por ser el más económico de los tres productos evaluados.

1.2.3.8.2. Densidad de siembra. Durante la larvicultura de peces marinos existen muchos factores que influyen sobre el crecimiento y la supervivencia; uno de ellos es

la densidad de siembra de huevos o larvas, que puede afectar la calidad del agua, limitar el espacio y aumentar la agresividad de las larvas (Sakakura y Tsukamoto, 2002; Szkudlarek y Zakés, 2007). Abdo de la Parra *et al.* (2010) evaluaron el efecto de la densidad de siembra (30, 20 y 10 huevos L⁻¹) en la larvicultura del pargo flamenco y concluyeron que la densidad de siembra inicial no afectó el crecimiento (Fig. 5) ni la supervivencia de las larvas, por lo que mencionan que el cultivo larvario de *L. guttatus* puede llevarse a cabo sembrando 30 huevos L⁻¹; sin embargo, recomiendan realizar más estudios para evaluar mayores densidades de siembra en la larvicultura de esta especie y aumentar la producción de juveniles.

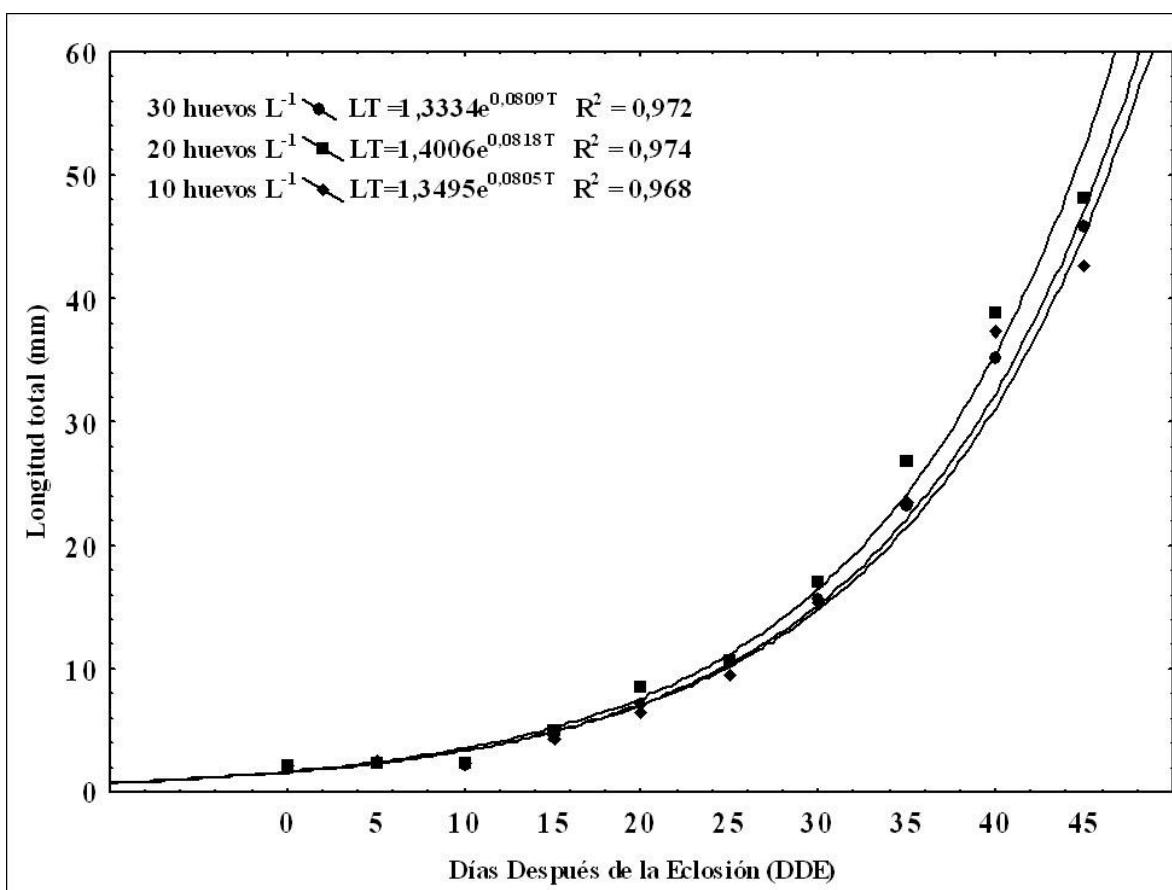


Figura. 5. Curva de crecimiento de las larvas de pargo flamenco a diferentes densidades de siembra (Abdo de la Parra *et al.*, 2010).

1.3. CONCLUSIONES

La presente revisión demuestra que el pargo flamenco *L. guttatus* es una especie con alto potencial para diversificar la maricultura en los países con litoral del Pacífico, en donde se le encuentra naturalmente. Se comprobó que los reproductores maduran y se reproducen en cautiverio por inducción hormonal y/o dándoles las condiciones medioambientales para tal efecto. En el CIAD, Unidad Mazatlán, el ciclo reproductivo se ha cerrado y se cuenta con organismos F1 y F2 que forman parte del lote actual de reproductores de la planta piloto para la producción de peces marinos de la Unidad. La tasa de fertilización es alta cuando se dan las condiciones adecuadas; así como el porcentaje de eclosión. Se han determinado algunos de los parámetros adecuados para su cultivo larvario como: fotoperiodo y salinidad de incubación, protocolos de alimentación, densidad de siembra, etc., mejorando con ello los protocolos de cultivo larvario. Uno de los grandes logros hasta la fecha fue elevar la supervivencia de las larvas al final del cultivo (45 DDE) de 1,5 hasta un 12.0% a escala piloto; por lo que será factible producir, en un futuro cercano, de manera confiable y continua, juveniles de pargo flamenco en laboratorio para realizar su engorda en jaulas y detonar el crecimiento de esta industria en Latinoamérica.

1.4 LITERATURA CITADA

- Abdo de la Parra, M. I., L. E. Rodríguez Ibarra, F. Campillo-Martínez, G. Velasco-Blanco, N. García-Aguilar, L. Álvarez-Lajonchère y D. Voltolina. 2010. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento y supervivencia larval del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Rev. Biol. Mar. Ocean., 45(1): 141-146.
- Abdo de la Parra, M. I. y L. E. Rodríguez-Ibarra. 2011. Cultivo larvario y requerimientos nutricionales del pargo flamenco. Editorial Académica Española. Berlín, 64 pp.
- Abdo de la Parra, M. I., L. E. Rodríguez Ibarra, G. Velasco-Blanco, N. García-Aguilar y B. González-Rodríguez. 2011. Evaluación del efecto de diferentes salinidades sobre la incubación de huevos y eclosión de larvas del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. Cien. Pesq., 19(1): 29-34.
- Allen, G. R. 1995. Lutjanidae. Pargos. En: W. Fischer, K. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K. E. Carpenter y V. H. Niem (Eds), Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental Volumen III Vertebrados Parte 2. FAO, Rome, pp. 1231- 1244.

- Álvarez-Lajonchère, L., M. A. Reina Cañez, M. A. Camacho Hernández and S. Kraul. 2007. Design of a pilot-scale tropical marine finfish hatchery for a research center at Mazatlán, México. *Aquacult. Eng.*, 36: 81-96
- Álvarez-Lajonchère, L. y L. Ibarra-Castro. 2011. Biología del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. In: L.S. Álvarez-Lajonchère & A. Puello-Cruz (eds.). El pargo flamenco: *Lutjanus guttatus*. Producción controlada de huevos, larvas y juveniles. Clave Editorial, México, pp. 19-24.
- Álvarez-Lajonchère, L., L. Ibarra-Castro & N. García-Aguilar. 2011. Reproducción controlada. In: L.S. Álvarez-Lajonchère & A. Puello-Cruz (eds.). El pargo flamenco: *Lutjanus guttatus*. Producción controlada de huevos, larvas y juveniles. Clave Editorial, México, pp. 25-58.
- Alvarez-Lajonchere, L. S., M. I. Abdo de la Parra, L. E. Rodríguez Ibarra, G. Velasco Blanco, A. Puello Cruz, B. González- Rodríguez, A. Ibarra Soto and Ibarra Castro, L. 2012. The Scale-up of Spotted Rose Snapper, *Lutjanus guttatus*, Larval Rearing at Mazatlan, Mexico. *JWAS*, 43(3): 411-421
- Arellano-Martínez, M., A. Rojas-Herrera, F. García-Domínguez, B. Caballos-Vazquez y M. Villarejo-Fuerte. 2001. Ciclo reproductivo del pargo lunajero *Lutjanus guttatus* (Steindachner 1869) en las costas de Guerrero, México. *Rev. Biol. Mar. Ocean.*, 36: 1-8.
- Battaglione S. C and J. M. Cobcroft. 2007. Advances in the culture of striped trumpeter larvae: A review. *Aquacult.* 268: 195–208.
- Benetti, D. y E. Wilson. 1996. Estado actual y perspectivas del cultivo de peces marinos en el Ecuador. En memorias IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. 2º Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile. Coquimbo, pp. 5-14.
- Benetti, D. and M. Feeley. 1999. The capture, transport, handling, prophylaxis, quarantine and sampling of broodstock marine fish. *W. Aquacult.* 30(3): 54-57.
- Berlinsky, D. L., J. Taylor, R. A. Howell, T. Bradley and T. J. Smith. 2004. The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. *JWAS*. 35(3): 335-344.
- Boza-Abarca, J., E. Calvo-Vargas, N. Solís-Ortiz and J. Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. *Cienc. Mar.* 34: 239-252.
- Boza-Abarca, J., S. Valverde-Chavarría, E. Calvo-Vargas, M. Ramírez-Alvarado y E. Rodríguez-Gómez. 2011. Inducción hormonal con suspensión de pituitaria de carpa y gonadotropina coriónica humana en el pargo manchado *Lutjanus guttatus* silvestre y criado en cautiverio. *Cienc. Mar.* 37(2): 125-139.

- Bromage, N., 1995. Broodstock management and seed quality-general considerations. In: N.R. Bromage & R.J. Roberts (eds.). Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science, Oxford, pp. 1-24.
- Cano, A. 2003. Reproduction in captivity and cultivation of the Pacific rose spotted snapper *Lutjanus guttatus* in the Republic of Panama. En: World Aquaculture 2003. Proceedings WAS, Salvadore, Brazil. pp. 153.
- Cruz-Romero, M., E. A. Chávez, E. Espino and A. Garcia. 1996. Assessment of a snapper complex (*Lutjanus* spp.) of the eastern tropical Pacific. In. Biology and culture of tropical groupers and snappers. ICLARM Conf. Proc. 48: 331-337.
- Dávila-Camacho C. A., I. Galaviz-Villa, F. Lango-Reynoso, M.R. Castañeda-Chávez, C. Quiroga-Brahms & J. Montoya-Mendoza. 2018. Cultivation of fish in Mexico: cases of success. Reviews in Aquaculture1: 1-14.
- Downing, G. and M. K. Litvak. 2002. Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglephnus*) embryos. Aquacult. 213: 265-278.
- Duncan, J. N, L. Ibarra-Castro and R. Álvarez-Villaseñor. 2008. Effect of the dusk photoperiod change from light to dark on the incubation period of eggs of the spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner) Aquacult. Res. 39: 427-433.
- Estrada-Godínez, J. A., L. D. Moreno-Figueroa, M. Maldonado-García, J.C. Pérez-Urbiola, J. Romero-Rodríguez y A. Audelo-Naranjo. 2015. LAJAR. 43(1), 137-145
- Fischer, W.F. Krupp & W. Schneider. 1995. Guía FAO: Para la Identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental. FAO, Roma. Pp 646.
- Galaviz, M. A., A. García-Ortega, E. Gisbert, L. M. López and A. García-Gasca. 2012. Expression and activity of trypsin and pepsin during larval development of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. Comparat. Biochem Physiol. Part B. 161: 9-16.
- García Ortega, A., I. Abdo de la Parra and C. Hernández. 2003. Waning of bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*) from live food to microparticulate diets made with decapsulated cysts of Artemia and fishmeal. Aquacult. Int. 11:183-194.
- García-Ortega, A., I. Abdo de la Parra, N. Duncan, E. Rodríguez-Ibarra, G. Velasco, B. González-Rodríguez, A. Puello-Cruz & I. Martínez-Rodríguez. 2005. Larval rearing of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* under experimental

conditions. In: Larvi fish and shellfish larviculture Symposium EAS. Pubn. 36. Bélgica, pp. 172-175.

Guevara-Fletcher, C., O. Alvarez, J. Sánchez y I. Iglesias. 2017. The effect of temperature on the development of yolk-sac larvae of European hake (*Merluccius merluccius* L.) under laboratory conditions. *Aquaculture Research*, 48(4), 1392-1405

Hastey, R. P., R. P. Phelps, D. A Davis y K. A Cummins. 2010. Changes in free amino acids profile of red snapper *Lutjanus campechanus*, eggs, and developing larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 36: 473-481.

Helvik, J. V. and B. T. Walther. 1992. Photo-regulation of the hatching process of halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) embryos. *J. Exper. Zool.* 263: 204-209.

Helvik, J. V. and B. T. Walther. 1993. Development of hatchability in halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) eggs. *Int. J. Develop. Biol.* 37(3): 487-490.

Henne, J. P. and W. O. Watanabe. 2003. Effects of light intensity and salinity on growth, survival, and whole-body osmolality of larval southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *JWAS.* 34(4): 450-465.

Herrera-Ulloa, A., J. Chacón-Guzmán, G. Zúñiga-Calero, O. Fajardo & R. Jiménez-Montealegre. 2009. Acuicultura de pargo la mancha *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en Costa Rica dentro de un enfoque ecosistémico *Rev. Mar. Cost.* 1: 197-213.

Herrera-Ulloa, A., J. Chacón-Guzmán, G. Zúñiga-Calero and R. Jiménez-Montealegre. 2010. Spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) aquaculture research and development as socio-economic alternative for Costa Rican fisheries communities. *W. Aquacult.* 41: 20-22.

Ibarra, L., S. Dumas and N. Duncan. 2004. Gonad development and LHRHa-induced spawning in female spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. In: 5th International Symposium on Fish Endocrinology. Castellón. pp. 1.

Ibarra-Castro, L. and N. Duncan. 2007. GnRHa-induced spawning of wild-caught spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Aquacult.* 272: 737-746.

Ibarra-Castro, L. and L. Alvarez-Lajonchère. 2009. An improved induced-spawning protocol for spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh*, 61: 121-133.

Ibarra-Castro, L. and L. Alvarez-Lajonchère. 2011. GnRHa induced multiple spawns and volition spawning of captive spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at Mazatlan, Mexico. *JWAS.* 42: 564-574.

- Ibarra-Castro, L., L. Alvarez-Lajonchère, N. García-Aguilar, M. I. Abdo de la Parra and L. E. Rodríguez-Ibarra. 2012a. Generation cycle closure of the spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, in captivity. *Rev. Bio. Mar. Ocean.* 47(2): 333-337.
- Ibarra-Castro, L., L. E. Muñoz-Meza y L. Álvarez-Lajonchère. 2012b. Estudios sobre el manejo e incubación de huevos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Pisces, Lutjanidae). *Hidrobiol.* 22 (1): 49-57.
- Ibarra-Castro, L., C. R. Lizárraga-Osuna, B. Gómez-Gil¹ y L. Alvarez-Lajonchère. 2012c. Tratamientos profilácticos para desinfectar la superficie de huevos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. *Rev. Bio. Mar. Oceanog.* 47(1): 155-160.
- Ibarra-Castro, L., F.J. Martínez Cordero y L. Alvarez-Lajonchère. 2013. Financial analysis of pilot-scale egg production of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*. *Aquacult. Econom. & Manag.* 17(2): 171-183.
- Jian, C. J., S. Y Cheng y J. C. Chen. 2003. Temperature and salinity tolerances of yellowfin seabream, *Acanthopagrus latus*, at different salinity and temperature levels. *Aquacult. Res.* 34: 175-185.
- Jobling, M. 1994. Respiration and metabolism. In: Jobling, M. (ed). *Fish bioenergetics*, Chapman & Hall, London, England. pp. 121-146.
- Kaminski, R., E. Kamler, M. Korwin-Kossakowski, L. Myszkowski y J. Wolnicki. 2006. Effects of different incubation temperatures on the yolk-feeding stage of *Eupallasella percnurus* (Pallas). *J. Fish Biol.* 68, 1077-1090.
- Kamler, E. 1992. Early life history of fish: An energetic approach. Chapman and Hall. Fish and fisheries series. London. England. 266 p.
- Monentcham, S. E., B. Whatelet, V. Pouomogne y P. Kestemont. 2010. Egg and whole-body amino acid profile of African bonytongue (*Heterotis niloticus*) with an estimation of their dietary indispensable amino acid requirements. *Fish Physiol. Biochem.* 36: 531-538.
- Peñuela Hernández, Z., G. Hernández-Arevalo, J. R Corredor-Matus y P. E. Cruz Casallas. 2007. Consumo de oxígeno en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) durante diferentes etapas de desarrollo corporal. *Orinoquia* 11: 49-55.
- Rojas, J. R. 1997. Fecundidad y época de reproducción del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 44/45: 477-487.
- Rojas, J. R., E. Maravilla y F. Chicas B. 2004. Hábitos alimentarios del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en Los Cóbanos y Puerto La Libertad, El Salvador. *Rev. Biol. Trp.* 52 (1): 163-170

- Sakakura, Y. and K. Tsukamoto. 2002. Onset and development of aggressive behaviour in the early life stage of Japanese flounder. *Fish Sci.* 68: 854-861.
- Saavedra, M., A. Cadeias-Mendes, S. Castanho, B. Teixeira, R. Mendes y P. Pousao-Ferreira. 2015. Amino acid profile of meagre (*Argyrosomus regius*) larvae: Towards the formulation of an amino acid balance diet. *Aquacult.* 448: 315-320.
- Sierra-De la Rosa, J F. 2007. Inducción hormonal (HCG) al desove y larvicultura del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* como alternativa de diversificación para la maricultura en el Pacífico Colombiano. *Rev. Electrón. Ing. Produc. Acuicult.* 2: 47-60.
- Szkudlarek, M. and Z. Zake. 2007. Effect of stocking density on survival and growth performance of pikeperch, *Sander lucioperca* larvae under controlled conditions *Aquacult. Int.* 15: 67-81.
- Song, Z., W. Jiyang, Q. Hongjin, L. Peiyu, Z. Limin y X. Bin. 2016. Ontogenetic changes in digestive enzyme activities and the amino acid profile of starry flounder *Platichthys stellatus*. *Chin. J. Ocean. Limnol.* 34(5): 1013-1024.
- Tucker JW. 1998. Marine fish culture. Kluwer Academic Publishers, Boston, Mass. USA. 750 p.
- Valverde, S. & Boza J. 1999. Inducción al desove en hembras del pargo mancha, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Uniciencia*, 15-16: 65-69.
- Velasco-Blanco, G., J. F. Arias-Rodríguez, M. I. Abdo-de la Parra, L. Ibarra-Castro, L. E. Rodríguez-Ibarra y N. García-Aguilar. 2013. Enriquecimiento de rotíferos y *Artemia* con diferentes fuentes de DHA/EPA, para alimentar larvas de pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. En: XII Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Villahermosa. Tab. México. pp: 88.
- Zohar, Y. and C. C. Mylonas. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquacult.* 197: 99-136.

CAPÍTULO 2. CONSUMO DE OXÍGENO DEL PARGO FLAMENCO *Lutjanus guttatus* (PERECIFORMES: LUTJANIDAE) DURANTE SU CULTIVO LARVAL

Artículo publicado en Rev. Biol. Mar. Ocean. 5(1): 51-59, 2016. DOI 10.4067/S0718-19572016000100005. Disponible en: <http://www.revbiolmar.cl/resumenes/v511/511-51.pdf>

2.1. RESUMEN

Se evaluó el consumo de oxígeno de los diferentes estadios larvales del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* para contribuir al diseño de estrategias de alimentación para su cultivo. El consumo de oxígeno se determinó utilizando respirómetros cerrados a una temperatura constante de 30°C en una bañera termorregulada. Se utilizaron 6 repeticiones y 2 testigos por cada tratamiento. Se evaluaron los estadios larvarios desde el 2 hasta los 35 días después de la eclosión (DDE). El oxígeno disuelto se cuantificó utilizando un microsensor de fibra óptica conectado a un oxímetro. La respiración, fue expresada en microlitros de oxígeno por miligramo de biomasa seca por hora ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{Bs h}^{-1}$). Los resultados indicaron que la tasa de consumo de oxígeno (R) disminuyó con la edad de las larvas. El mayor consumo de oxígeno fue en los primeros 5 DDE lo cual coincide con el inicio de la alimentación exógena. A los 14, 19 y 30 DDE las tasas respiratorias presentaron ligeros incrementos, y parecen estar asociados a cambios morfológicos de las larvas (preflexión, flexión y posflexión, respectivamente). Los valores de los exponentes de la relación potencial alométrica entre la tasa respiratoria biomasa-específica y por individuo, en función de la biomasa seca del pargo flamenco, fueron de -0.172 y 0.834, respectivamente. Los datos obtenidos son importantes para estimar las demandas de oxígeno durante el cultivo larvario del pargo flamenco, y combinados con las pérdidas de nitrógeno, pueden ser usados para estimar los requerimientos de alimentación en base a las pérdidas energéticas.

Palabras clave: Tasa respiratoria, pargo flamenco, larvas

2.2. ABSTRACT

Oxygen consumption of different larval stages of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* were evaluated to help design food strategies for its culture. Oxygen consumption was determined using closed respirometers at a constant temperature of 30°C in a thermoregulated bath. Six replicates and two control for each treatment were used. Larval stages were evaluated from 2 to 35 days after hatching (DDE). Dissolved oxygen was measured using a fiber-optic microsensor connected to an oximeter. Respiration was expressed in microliters of oxygen per milligram of dry biomass per hour ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{Bs h}^{-1}$). Results indicate that oxygen consumption rate (R) decreased with the age of the larvae. Higher oxygen consumption was observed in the first 5 DDE which coincides with the onset of exogenous feeding. At 14, 19 and 30 DDE respiration rates showed slight increases and appear to be associated with morphological changes of the larvae (preflexion, flexion and postflexion, respectively). The values of the exponents of the potential allometric relationship between the specific biomass respiration rate and for each individual, based on the dry biomass of the spotted rose snapper were -0.172 and 0.834 respectively. The data obtained are important to estimate oxygen demand during the larval rearing of the spotted rose snapper, and combined with nitrogen losses can be used to estimate feeding requirements based on energy losses.

Key words: Respiratory rates, spotted rose snapper, larvae.

2.3. INTRODUCCIÓN

El pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) se distribuye en el Pacífico oriental, desde México hasta Perú (Fischer *et al.*, 1995). Es una especie demersal que habita arrecifes costeros de hasta 30 m de profundidad, generalmente solitaria o en pequeños cardúmenes y ocasionalmente forma grandes cardúmenes (Allen, 1995). Presenta alta demanda en los mercados de algunos países de Latinoamérica; por lo que a partir de la década pasada, en el pacífico mexicano los pescadores extraen juveniles silvestres para engordarlo en jaulas (Avilés-Quevedo *et*

al., 2008). Las investigaciones sobre su reproducción artificial se iniciaron hace varios años en algunos países como Colombia, Costa Rica, Panamá y Ecuador (Boza-Abarca *et al.*, 2008, Alvarez-Lajonchère y Puello-Cruz, 2011). En México, las investigaciones se iniciaron en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán (CIAD), desde el año 2000 (García-Ortega *et al.*, 2005). En la actualidad se ha logrado la producción masiva de juveniles y se completó en condiciones de cultivo el ciclo generacional (Ibarra-Castro *et al.*, 2012); sin embargo, todos los trabajos relacionados al respecto han mostrado que durante los primeros estadios de vida se presenta una alta mortalidad, con una supervivencia al final del cultivo larvario entre 1 a 12% (García-Ortega *et al.*, 2005; Boza-Abarca *et al.*, 2008, Abdo-de la Parra *et al.* 2010; Alvarez-Lajonchère *et al.*, 2012). Las altas mortalidades que se han presentado en la larvicultura del pargo flamenco, ha sido uno de los principales problemas en el desarrollo e implementación de la biotecnología del cultivo a nivel comercial. En la actualidad no se han realizado trabajos para determinar la relación que existe entre el metabolismo y consumo de oxígeno de las larvas de pargo flamenco y la mortalidad durante los primeros estadios de vida, lo cual optimizaría las técnicas de cultivo mejorando la salud y calidad de los juveniles de pargo producidos en cautiverio. La energía necesaria para el metabolismo de rutina se deriva de la dieta, principalmente de los aminoácidos y lípidos. En general, la energía consumida es directamente proporcional al oxígeno consumido en cada célula (Miyashima *et al.*, 2012). La tasa metabólica es la velocidad a la que un organismo utiliza la energía disponible y se estima como la tasa de liberación de calor del organismo, que se obtiene midiendo la liberación de calor (calorimetría directa) o la tasa de consumo de oxígeno (calorimetría indirecta) (Calderer-Reig, 2001). Por lo tanto, el oxígeno consumido por las larvas de peces se utiliza como un indicador fisiológico muy importante del metabolismo (Rombough, 1988). Varios autores han demostrado que la tasa de consumo de oxígeno en las larvas de peces varía de acuerdo al estadio de desarrollo (Oozeki y Hirano, 1994); sin embargo, la relación entre la tasa metabólica y la masa corporal depende de la especie (Pelster, 2008); por lo tanto, es importante conocer el consumo de oxígeno de un organismo, ya que es un buen indicador del estado metabólico general del pez y es una medida sensible del gasto diario de energía, que necesita el

organismo para mantener sus funciones vitales a través de un metabolismo aeróbico. El objetivo del presente trabajo fue determinar la tasa de consumo de oxígeno de los diferentes estadios larvales del pargo flamenco, para contribuir al diseño de estrategias de alimentación que cubran en tiempo y forma sus requerimientos energéticos, mejorar las condiciones del cultivo y disminuir, en consecuencia, las altas mortalidades presentadas en esta etapa.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1. Incubación de huevos y larvicultura.

Los huevos viables de pargo flamenco fueron obtenidos del lote de reproductores de la planta piloto para la producción de juveniles de peces marinos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán (CIAD), los huevos viables son flotantes, esféricos, con el vitelo homogéneo y transparente, con un diámetro aproximado de 724-728 μm y una sola gota de aceite con 121-123 μm de diámetro. Se incubaron en 5 jarras tipo McDonald de 6 L de capacidad (2000 huevos L^{-1}), con flujo de aire ($0,5 \text{ L min}^{-1}$) y a 29°C . Las larvas recién eclosionadas (1,8 a 2 mm de longitud total) fueron transferidas a 2 tanques circulares de fibra de vidrio de 3.000 L donde se llevó a cabo la larvicultura, a una temperatura media del agua de $30 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ y salinidad de 35. El cultivo larvario se realizó mediante el protocolo propuesto por Abdo de la Parra *et al.* (2010); a partir del día 1 a 13 días después de la eclosión (DDE), se añade a los tanques de cultivo una mezcla de 500,000 células ml^{-1} de *Nannochloropsis oculata* y 50,000 células ml^{-1} de *Isochrysis* sp. Desde el día 2 hasta el 6 DDE se entregó en cada tanque 10 rotíferos ml^{-1} (*Brachionus rotundiformis*), previamente enriquecidos durante 3 h con microalgas (*Nannochloropsis oculata*), incrementando la ración a partir del 7 a 15 DDE a 20 rotíferos ml^{-1} . Además, a partir de 2 DDE se añadió una mezcla de copepoditos y adultos de *Tisbe monozota* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*, a una concentración de 05 presas ml^{-1} , que se mantuvo constante hasta 15 DDE. Del 16 al 35 DDE, la cantidad de rotíferos se redujo a 10

presas·ml⁻¹ y se añadieron 0.5 nauplios de *Artemia* ml⁻¹, que se incrementaron gradualmente hasta 4 nauplios ml⁻¹.

2.4.2. Cámaras respirométricas y determinación del consumo de oxígeno

Para los experimentos se utilizaron los estadios larvarios del 2, 4, 5, 8, 11, 14, 16, 19, 23, 30 y 35 DDE. Se emplearon cámaras respirométricas cerradas con volumen de 310 ml (botellas BOD transparentes), con 6 repeticiones por estadio, colocando entre 5 y 50 larvas por respirómetro dependiendo de la etapa larvaria y 2 controles sin organismos. Las larvas recién alimentadas fueron colocadas en los respirómetros y se llenaron a su máxima capacidad con agua filtrada a 1 µm y mantenidos a temperatura constante de 30°C, temperatura adecuada para el cultivo de esta especie (Álvarez-Lajonchere y Puello-Cruz 2011), en un baño maría termorregulado con un calentador de titanio de 1.500 W. Los organismos se aclimataron antes de iniciar los experimentos, por al menos 1 h en los respirómetros, bajo luz natural. Al terminar el periodo de aclimatación se tomó la lectura inicial del oxígeno disuelto, procurando que la concentración no fuera menor de los 5 mg L⁻¹

Para determinar la concentración de oxígeno disuelto se colectaron 3 ml de muestra de cada respirómetro mediante una jeringa de 3 ml de capacidad, parte de la cual se inyectó en una cámara de vidrio hermética de 100 µl. A la cámara se le adaptó un microsensor de fibra óptica (PreSens, GMBH, Alemania), el cual a su vez se conectó a un oxímetro MICROX TX3, que transmitió los datos de oxígeno disuelto (mg O₂ L⁻¹) al disco duro de una computadora a través de una interfase en serie capaz de transmitir mediciones de oxígeno a intervalos de un segundo. La ventaja de esta técnica es que permite mediciones rápidas de oxígeno disuelto, tiene alta sensibilidad, no consume oxígeno durante las mediciones y no es afectada por la salinidad (Klimant *et al.*, 1995). El microsensor fue calibrado a la temperatura y salinidad experimental, en agua aireada al 100% de saturación y una solución de 0.5% de NaSO₃ con 0% de oxígeno como estándar.

El consumo de oxígeno fue expresado en unidades de µg de O₂ mg⁻¹ de Biomasa Seca (Bs) h⁻¹ o de µg de O₂larva h⁻¹, los cuales se calcularon con base a la ecuación: $R=(\Delta O_2 \cdot V_{H_2O}) / (W_o \cdot \Delta t)$, Donde ΔO_2 es la diferencia de la concentración de oxígeno

entre el respirómetro control y los respirómetros experimentales al final de cada periodo, V_{H_2O} es el volumen de agua en los respirómetros en ml, W_o es la biomasa seca en mg o el número de larvas y Δt es el tiempo transcurrido en horas. El tiempo total de experimentación fue de 2 h con muestreos consecutivos cada media hora, ya que Ameer y Kutty (1972) indicaron que es el tiempo máximo para no permitir concentraciones de oxígeno menores a 2 mg L^{-1} y evitar el estrés de los organismos. En cada fase de experimentación se midió la longitud total (LT) de las larvas mediante un vernier digital de 0,01 mm de precisión y se determinó el peso seco (Bs), colocando entre 10 a 50 larvas en papel secante para secarlas en una estufa a 60°C durante 8 h y posteriormente se pesaron en una balanza semimicro Denver Instrument PI-225D con una precisión de 0.01 mg.

2.4.3. Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) no paramétrico de Kruskal-Wallis, ya que se rechazaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas en los datos (Zar, 1999). Cuando se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) se realizaron pruebas de comparaciones múltiples no paramétricas de Dunn. Se realizaron regresiones lineales y no lineales para examinar las relaciones entre la tasa de consumo de oxígeno, la edad y la biomasa seca de las larvas.

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1. Biomasa seca (Bs) y longitud total (LT)

Las larvas de 2 DDE presentaron una Bs de 0.01 ± 0.001 mg hasta alcanzar 58.48 ± 3.14 mg el 35 DDE. A los 2 DDE las larvas midieron alrededor de 2.08 ± 0.14 mm de LT hasta alcanzar 26.63 ± 3.03 mm de LT a los 35 DDE (Cuadro 3). Los datos de las biometrías registrados en este estudio fueron similares a los obtenidos por García-Ortega *et al.* (2005), Boza-Abarca *et al.* (2008) y Abdo-de la Parra *et al.* (2010) para larvas de pargo flamenco.

Cuadro 3. Biomasa seca, longitud total (LT) y tasa de consumo de oxígeno de larvas de *L. guttatus* hasta 35 días después de la eclosión (DDE).

Días después de la eclosión	Número de larvas	Biomasa seca (mg larva ⁻¹)	Longitud total (mm)	Consumo de oxígeno (μLO ₂ mg ⁻¹ h ⁻¹)	Consumo de O ₂ por larva (μLO ₂ larva h ⁻¹)
2	50	0.01±0.001	2.08±0.14	37.07±3.73 ^c	0.18±0.03 ^a
4	50	0.04±0.001	2.43±0.19	22.16±5.90 ^b	0.61±0.13 ^a
5	45	0.02±0.01	2.63±0.16	26.26±4.16 ^{bc}	0.36±0.1 ^a
8	40	0.05±0.03	3.31±0.18	8.83±1.77 ^a	0.42±0.08 ^a
11	30	0.13±0.06	4.18±0.50	6.37±1.93 ^a	0.91±0.28 ^a
14	25	0.23±0.08	5.26±0.74	9.82±0.98 ^a	2.41±0.31 ^b
16	25	0.53±0.05	6.14±0.67	5.92±0.26 ^a	2.96±0.13 ^b
19	20	0.55±0.08	8.24±0.83	10.99±0.55 ^a	4.09±1.37 ^b
23	15	2.92±0.73	10.55±1.33	3.72±0.36 ^a	10.87±1.04 ^c
30	10	20.40±2.16	17.10±3.74	7.52±1.08 ^a	117.62±13.6 ^d
35	5	58.48±3.14	26.63±3.03	4.35±0.31 ^a	254.41±17.8 ^e

Los valores son promedios ± desviación estándar. Los superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

2.5.2 Tasa de consumo de oxígeno biomasa-específica (μLO₂ mg⁻¹Bs h⁻¹) y por larva (μLO₂ larva h⁻¹) en relación a la edad de las larvas de pargo flamenco

Conforme aumenta la edad de las larvas, se observó que el consumo de oxígeno disminuye significativamente (Kruskal-Wallis, $H= 48.38$, $gl= 10$, $P < 0.05$) (Cuadro 3). La relación entre el consumo de oxígeno-biomasa específica y la edad de las larvas se muestra en la figura 6 y se pueden observar ligeros incrementos en el consumo de oxígeno en los 14, 19 y 30 DDE.

La tasa de consumo de oxígeno por larva (μLO₂ larva h⁻¹) se incrementó exponencialmente con la edad de las larvas de acuerdo a la ecuación $R= 0.366 \cdot e^{0.187 \cdot dde}$ ($r^2= 0.9897$, $P < 0.05$) (Fig. 7). El análisis de varianza detectó diferencias significativas el consumo de oxígeno por larva y la edad (Kruskal-Wallis, $H= 52.68$, $gl=$

10, $P < 0.05$), presentándose los valores más bajos entre las larvas de 2 hasta 11 DDE; mientras que entre en los 14 a 19 DDE, la tasa respiratoria por larva no fue estadísticamente diferentes ($P > 0.05$). Posteriormente, los valores del consumo de oxígeno se incrementaron significativamente de manera continua a los 23, 30 y 35 DDE (Cuadro 3).

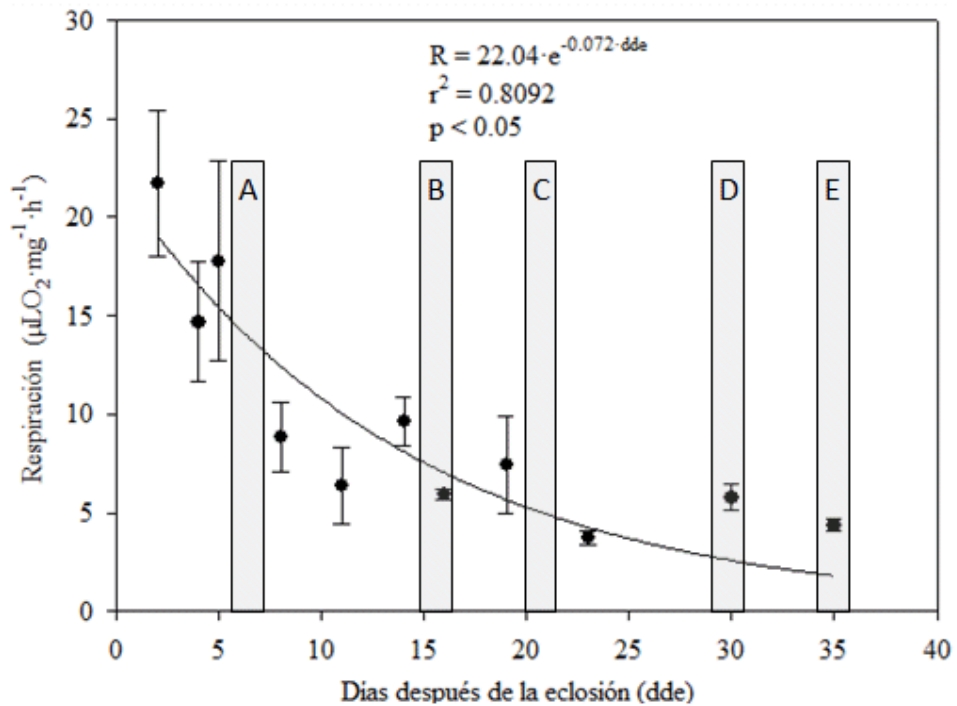


Figura 6. Tasa respiratoria ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) de larvas del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* en relación con la edad (DDE). Las barras señalan A: inicio de la alimentación exógena, B: preflexión, C: flexión, D: posflexión y E: inicio del destete. Los puntos indican los promedios de la tasa respiratoria y las barras verticales \pm la desviación estándar.

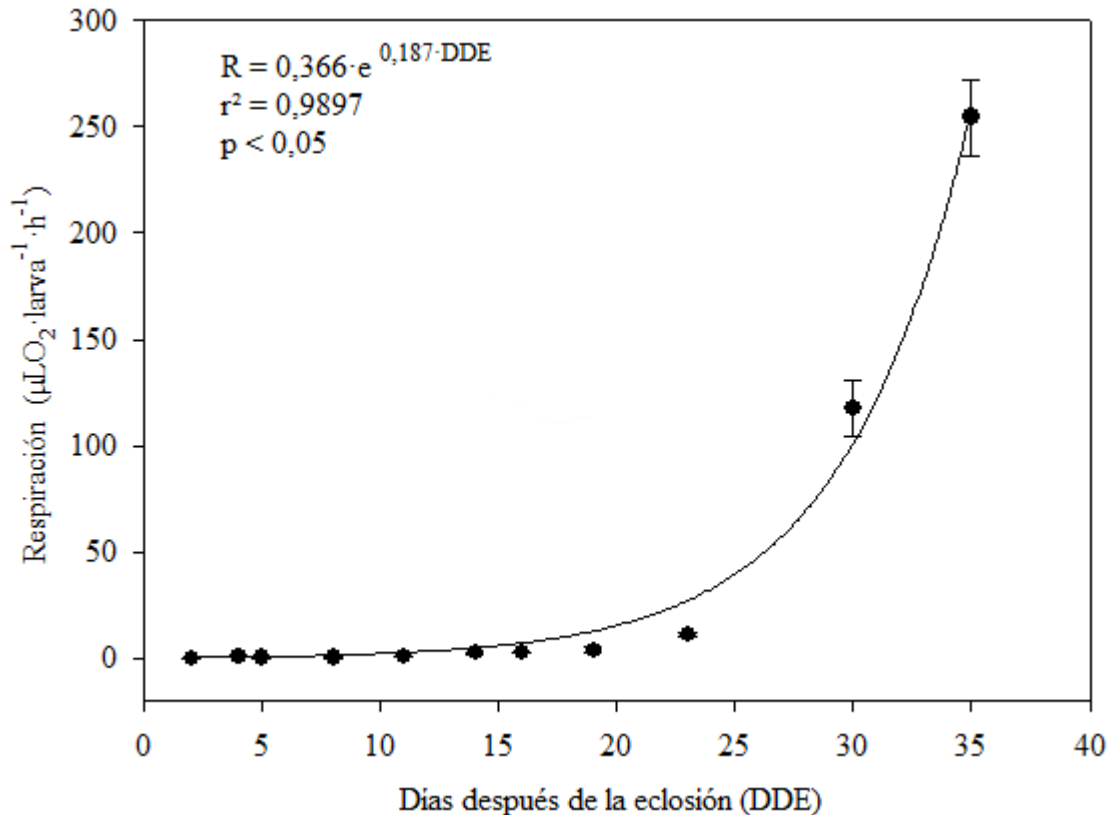


Figura 7. Tasa respiratoria por individuo ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) de larvas de pargo flamenco *Lutjanus guttatus* en relación con la edad (DDE). Los puntos indican los promedios de la tasa respiratoria y las barras verticales representan \pm la desviación estándar de la media.

2.5.3 Tasa respiratoria biomasa-específica ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) y por larva ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva h}^{-1}$) en función de la biomasa seca (Bs) de las larvas de pargo flamenco.

La tasa de consumo de oxígeno biomasa-específica ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) disminuyó significativamente con el incremento en la biomasa seca (Bs). Los datos fueron transformados a logaritmos de base 10 para linealizar la relación. La ecuación de regresión $\log R = 0.842 - 0.172 \cdot \log Bs$ ($r^2 = 0.844$, $P < 0.05$) se muestra en la figura 8. La ecuación logarítmica transformada a la versión potencial alométrica resulta en la ecuación $R = 6.94 \cdot Bs^{-0.172}$.

Por otro lado, la tasa respiratoria por larva ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) aumentó significativamente conforme aumenta la Bs. La relación fue descrita por la ecuación logarítmica $\log R = 0.842 + 0.834 \cdot \log Bs$ ($r^2 = 0.992$, $P < 0.05$) y la correspondiente versión alométrica es $R = 6.94 \cdot Bs^{0.834}$ (Fig. 9).

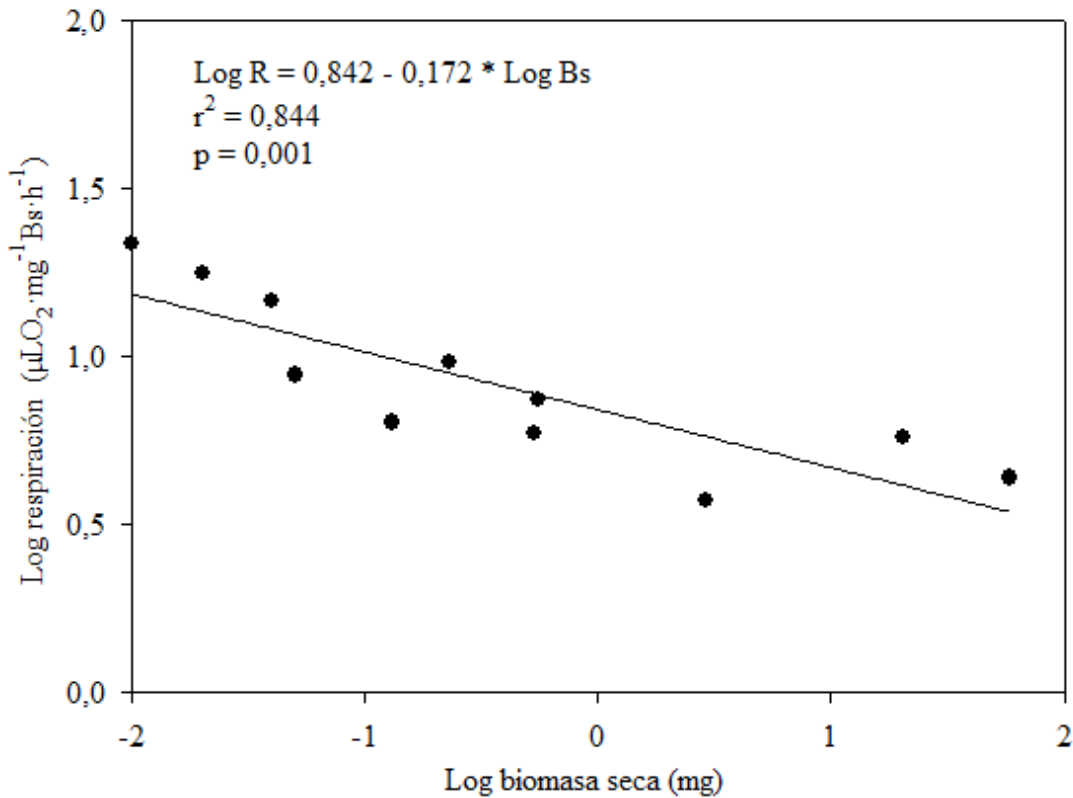


Figura 8. Gráfico log-log entre la tasa de respiración ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1} \text{Bs h}^{-1}$) del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* con la biomasa seca en mg (Bs).

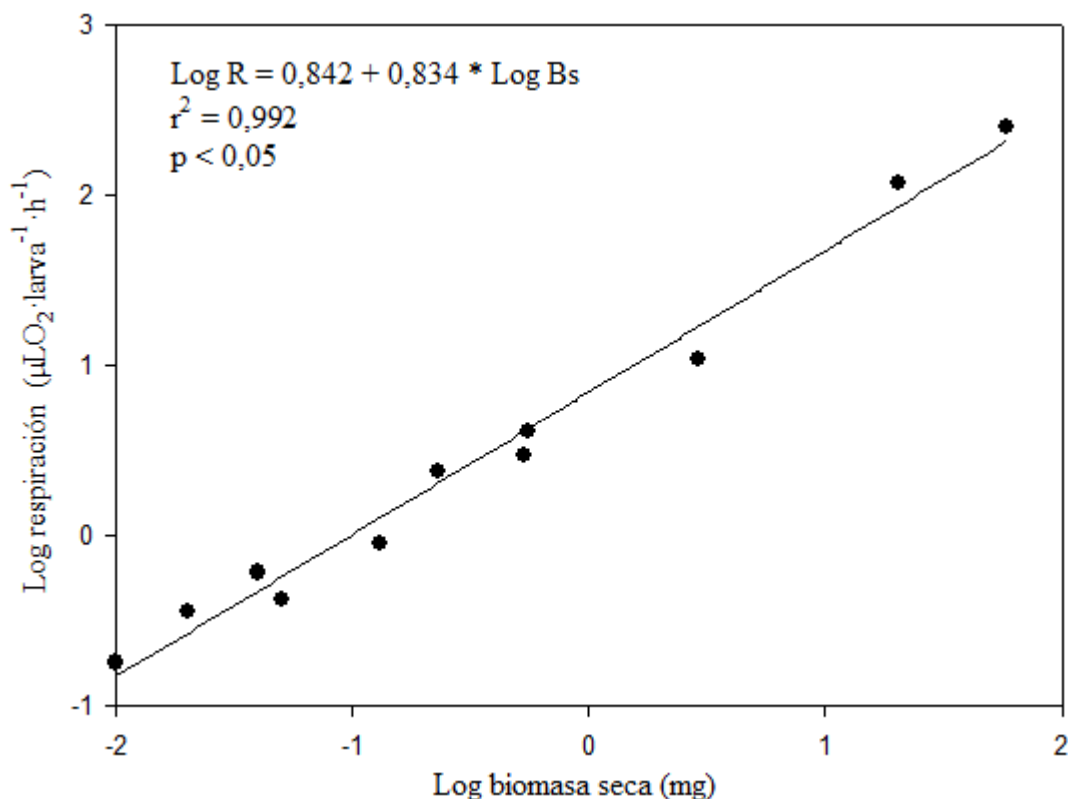


Figura 9. Gráfico log-log entre la tasa de respiración por larva ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* con la biomasa seca en mg (Bs).

El consumo de oxígeno es uno de los perfiles fisiológicos más útiles para estimar los requerimientos nutricionales de los peces, ya que representa la tasa del metabolismo energético (Jobling, 1994). En un amplio sentido, el término metabolismo, es la suma de todas las reacciones químicas que ocurren en un organismo y la medición del oxígeno consumido es un método usado comúnmente para determinar indirectamente la tasa metabólica de los organismos (De la Gándara, 2003). En este aspecto, Winberg (1960) define tres niveles de metabolismo: la tasa metabólica estándar, la cual es medida en peces mantenidos reposo y sin alimentar; la tasa metabólica de rutina, medida en peces sin alimentar pero que muestran nado espontaneo; la tasa metabólica activa, que se define como la tasa aeróbica máxima sostenible. En consecuencia, la tasa metabólica estándar representa la demanda energética mínima que un animal requiere para mantenerse con vida, pero que no está asociada con la natación, digestión y catabolismo (Benetti *et al.*, 1995). Los valores en

el consumo de oxígeno reportados en este estudio pudieran representar el metabolismo de rutina más la acción dinámica específica, puesto que los experimentos fueron realizados con organismos con contenido estomacal y confinados en los respirómetros donde se observó nado continuo (aunque no se midió la velocidad de nado). Las mayores tasas de consumo de oxígeno ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) se presentaron en los primeros 5 DDE, coincidiendo con la absorción del saco vitelino y con el inicio de la alimentación exógena y por consiguiente con el incremento en la actividad por la búsqueda del alimento, lo cual ha sido observado en otras especies de peces marinos como *Pagrus pagrus* (Aristizabal, 2006), *Paralichthys olivaceus*, *Pagrus major* e *Inimicus japonicus* (Miyashima *et al.*, 2012) donde se reporta un incremento en el consumo de oxígeno en los primeros estadios de vida, cuando se presente la apertura de la boca, el consumo del saco vitelino e inicia la alimentación exógena. Con base en sus resultados, Miyashima *et al.* (2012) hipotetizaron que las larvas de peces marinos requieren más energía durante el periodo comprendido entre la apertura de la boca y flexión de la notocorda y por consecuencia el porcentaje de mortalidad se eleva cuando la energía proporcionada es insuficiente. Por consiguiente, las altas tasas metabólicas determinadas en este estudio en los primeros días después de la eclosión, pueden contribuir a las elevadas mortalidades reportadas al inicio de la alimentación exógena de las larvas de pargo flamenco (Boza-Abarca *et al.*, 2008; Abdo de la Parra *et al.*, 2010). Por otro lado, los valores observados de consumo de oxígeno entre los 8 y 35 DDE no parecen estar asociados a cambios morfológicos de las larvas de pargo; excepto a los 14, 19 y 30 DDE, donde se observaron incrementos (aunque no significativos) en las tasas respiratorias, los cuales coinciden con la preflexión, la flexión y posflexión del notocordio en las larvas. Boza-Abarca *et al.* (2008) y Abdo de la Parra y Rodríguez-Ibarra (2011) mencionan que en las larvas de pargo flamenco la preflexión ocurre entre los 14 a 16 DDE, la flexión a los 19-20 DDE y la postflexión a los 27 DDE. Estos cambios en el consumo de oxígeno también fueron observados por Ishibashi *et al.* (2005) en los estadios tempranos de *Pagrus major*, quienes indicaron que alrededor de la etapa de flexión y postflexión las demandas metabólicas se incrementaron. Por otro lado, la disminución de la tasa de consumo de oxígeno biomasa-específica ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) respecto a la edad de las larvas ha sido

reportada para varias especies de peces, la cual disminuye con el incremento en la biomasa de los organismos (Djawad *et al.*, 1995; Barrionuevo y Burggren, 1999; Pelster, 2008; Barrionuevo *et al.*, 2010), debido a que los peces con menor biomasa consumen más oxígeno por unidad de masa que sus congéneres con mayor biomasa (Jobling, 1994). La reducción de la tasa de consumo de oxígeno biomasa-específica con el desarrollo larval, es el resultado del aumento de la biomasa de tejidos con tasas metabólicas menores (músculo blanco), relativo a los tejidos con tasas metabólicas mayores (ciego pilórico, cerebro, intestinos), los cuales son cada vez menos pesados en proporción a todo el cuerpo, conforme el organismo crece (Oikawa *et al.*, 1992, Oozeki y Hirano, 1994). Por el contrario, la tasa respiratoria del pargo flamenco por larva ($\mu\text{LO}_2 \text{larva}^{-1} \text{h}^{-1}$) se incrementó exponencialmente en relación con la edad de las larvas ($R = 0.336 * e^{0.87 \text{d}}$). Estos resultados confirman la relación exponencial existente entre la tasa de consumo de oxígeno por individuo y la edad de las larvas reportadas para otras especies de peces marinos (Houde y Scheckter, 1983; Houde y Zastrow, 1993; Oozeki y Hirano, 1994; Torres *et al.*, 1996; Gisbert *et al.*, 2002, Idrisi *et al.*, 2002). El incremento exponencial es atribuido al rápido crecimiento de la superficie de intercambio de gases, siendo la superficie corporal el sitio principal para el intercambio de gases en los estados más tempranos de desarrollo, antes de la formación de las branquias (Rombough, 1988). El incremento exponencial en el consumo de oxígeno de las larvas de pargo flamenco a partir de los 14 DDE, se asume como una respuesta a una rápida formación de las lamelas branquiales (sitio de mayor intercambio de gases), lo cual sucede en la mayoría de larvas de peces entre los 8 y 12 DDE (Iwai y Hughes, 1977; Oozeki y Hirano, 1994). El desarrollo de arcos y filamentos branquiales permite a las larvas cambiar de respiración cutánea a respiración branquial, lo cual resulta en mejor aprovechamiento del oxígeno disponible y en el aumento en la actividad de natación (Gisbert *et al.*, 2002). De esta forma, Rombough (1988) señala que las branquias se forman en una fase tardía durante el desarrollo de las larvas, y mientras no aparezcan las branquias, el consumo de oxígeno está restringido a un intercambio de gases a través de la piel por difusión. Posteriormente, dado que el área-superficie de la piel se expande a una tasa proporcional a $B^{2/3}$ (B = biomasa), mientras la demanda por O_2 se expande a una tasa proporcional a la $B^{1.0}$, entonces conforme

el organismo crece la respiración cutánea se vuelve limitante (Rombough, 2007). De acuerdo con Krogh (1941), la solución es desarrollar estructuras branquiales que por su morfología no están sujetas a las mismas limitaciones geométricas como la piel. La opinión de que las branquias se desarrollan para el intercambio de gases, es una hipótesis que todavía permanece y es la explicación aceptada del porque los peces desarrollan branquias, aunque también se ha sugerido que las branquias se desarrollan para satisfacer la demanda de iones (Li *et al.*, 1995).

La tasa respiratoria en términos de biomasa ($\mu\text{LO}_2 \text{ mg}^{-1}\text{Bs h}^{-1}$) disminuye linealmente (datos transformados a logaritmos de base 10) con el incremento en la biomasa de los organismos en general (Savage *et al.*, 2004; West y Brown, 2005; Anderson-Teixeira *et al.*, 2009) y de los peces en particular (Barrionuevo y Burggren, 1999; Feeley *et al.*, 2007; Pelster, 2008; Yagi y Oikawa, 2014), siguiendo el modelo potencial ($y = a \cdot \text{Bs}^{-b}$, y: tasa respiratoria, Bs: biomasa seca, a y b: parámetros de la ecuación). El valor de b en la ecuación potencial generalmente se encuentra entre -0.2 y -0.25 (Brett y Groves, 1979, Steinhausen *et al.*, 2005), y aunque hay ligeras variaciones entre especies, los valores se mantienen (Smith y Brown, 1983; West y Brown, 2005; Clark y Seymour, 2009). El valor obtenido en este trabajo fue de -0.17, un valor muy cercano al intervalo predicho. Como se ha demostrado en los peces (Bokma, 2004; Burggren y Blank, 2009; Hunt von Herbing, 2005), la relación alométrica de la tasa de consumo de oxígeno por individuo ($\mu\text{LO}_2 \text{ larva}^{-1} \text{ h}^{-1}$) con la biomasa corporal del pargo flamenco (datos transformados a logaritmos de base 10) sigue el modelo potencial estándar $y = a \cdot \text{BS}^b$ (y: tasa metabólica por individuo, a: coeficiente, BS: biomasa corporal y b: la pendiente o exponente de escalamiento). Con base en la biomasa seca, el exponente de escala determinado para el pargo flamenco en este estudio (0.83) fue igual al mencionado por Yagi y Oikawa (2014) para *P. olivaceus* y bastante cercano al exponente de escala de 0.79 determinado por Clarke y Johnston (1999), en su estudio sobre la tasa metabólica de 69 especies de teleósteos.

2.6. CONCLUSIONES

El presente trabajo es el primer estudio reportado hasta la fecha que describe la tasa respiratoria del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* durante el desarrollo larvario,

desde el 2 hasta los 35 DDE y proporciona información útil sobre la fisiología de la especie, lo cual puede contribuir al avance de la biotecnología para su cultivo.

Los datos obtenidos en este trabajo demostraron que el escalamiento del metabolismo con el tamaño corporal de las larvas pargo flamenco no es substancialmente diferente al reportado para otros teleósteos.

Estos resultados serán de gran utilidad para estimar las demandas de oxígeno durante el cultivo larvario del pargo flamenco y combinados con las pérdidas de nitrógeno, pueden ser usados para estimar los requerimientos nutricionales de las larvas de pargo en base en las pérdidas energéticas.

2.7. LITERATURA CITADA.

- Abdo de la Parra, M. I., L. E. Rodríguez Ibarra, F. Campillo-Martínez, G. Velasco-Blanco, N. García-Aguilar, L. Álvarez-Lajonchère y D. Voltolina. 2010. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento y supervivencia larval del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Rev. Biol. Mar. Ocean. 45(1): 141-146.
- Abdo de la Parra, M. I. y L. E. Rodríguez-Ibarra. 2011. Cultivo larvario y requerimientos nutricionales del pargo flamenco. Editorial Académica Española. Berlín, 64 p.
- Allen, G.R. 1995. Lutjanidae. Pargos. In: Fischer W, K Krupp, W Schneider, C Sommer, KE Carpenter & VH Niem (eds). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental, Volumen III Vertebrados Parte 2. FAO, Rome. Italy. Pp: 1231-1244
- Alvarez-Lajonchère, L. y A. C Puello-Cruz. 2011. El pargo flamenco: *Lutjanus guttatus*. Producción controlada de huevos, larvas y juveniles. Clave Editorial, México, 169p
- Alvarez-Lajonchere, L. S., M. I. Abdo de la Parra, L. E. Rodríguez Ibarra, G. Velasco Blanco, A. Puello Cruz, B. González- Rodríguez, A. Ibarra Soto and Ibarra Castro, L. 2012. The Scale-up of Spotted Rose Snapper, *Lutjanus guttatus*, Larval Rearing at Mazatlan, Mexico. JWAS, 43(3): 411-421
- Ameer Hamsa, K. M. y M. N. Kutty. 1972. Oxygen consumption in relation to spontaneous activity and ambient oxygen in five marine teleosts. Ind. J. Fish. 12: 76-85.

- Anderson-Teixeira, K. J., V. M. Savage, A. P. Allen y J. F. Gillooly. 2009. Allometry and metabolic scaling in ecology. In: Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Chichester, England. p 10.
- Aristizabal, E. O. 2006. Consumo de oxígeno, crecimiento y utilización del alimento durante el desarrollo larval del besugo *Pagrus pagrus* (Linné, 1758) (Pisces: Sparidae). Rev. Biol. Mar. Ocean. 41: 209-220.
- Avilés-Quevedo, A., J. M. Mazón-Suástegui y F. Castelló-Orvay. 2008. Avances en el cultivo del pargo flamenco, *Lutjanus guttatus* un ejemplo a seguir de los pescadores de Bahía Concepción, en Baja California Sur. Industria Acuícola 4: 4-7.
- Barrionuevo, W. R. y W. W Burggren. 1999. Oxygen consumption and heart rate in developing zebrafish (*Danio rerio*): influence of temperature and ambient oxygen. Amer. J. Physiol. 276: 505-513.
- Barrionuevo, W. R., M. N. Fernandes y O. Rocha. 2010. Aerobic and anaerobic metabolism for the zebrafish, *Danio rerio*, reared under normoxic and hypoxic conditions and exposed to acute hypoxia during development. Braz. J. Biol. 70(2): 425-434.
- Benetti, D., C. Acosta y J. C. Ayala. 1995. Cage and pond aquaculture of marine finfish in Ecuador. World Aquacult. 26: 7-13.
- Bokma, F. 2004. Evidence against universal metabolic allometry. Funct. Ecol. 18: 184-187.
- Boza-Abarca, J., E. Calvo-Vargas, N. Solís-Ortiz and J. Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. Cienc. Mar. 34: 239-252.
- Brett, J. R y T. D. Groves. 1979. Physiological energetic. In: Hoar, W. S, D. J. Randall y J. R Brett (eds). Fish physiology 8: Bioenergetics and growth, Academic Press, New York. pp. 279-352.
- Burggren, W y T. Blank. 2009. Physiological study of larval fishes: challenges and opportunities. In: Clemmesen, C, A. M Malzahn, M. A. Peck y D. Schnack (eds). Advances in early life history study of fish. Scientia Marina 73(S1): 99-110.
- Calderer-Reig, A. 2001. Influencia de la temperatura y la salinidad sobre el crecimiento y consumo de oxígeno de la dorada (*Sparus aurata* L.). Tesis Doctorado en Ciencias, Departamento de Biología Animal, Universitat de Barcelona, Barcelona, España. 195 pp.

- Clark, T. D. y R. S. Seymour. 2009. Cardiorespiratory physiology and swimming energetics of a high-energy-demand teleost, the yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *J. Experim. Biol.* 209: 3940-3951.
- Clarke, A. y N. M. Johnston. 1999. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. *J. Anim. Ecol.* 68: 893-905.
- De la Gándara, F. 2003. Efecto de diversos factores sobre el consumo de oxígeno de juveniles de seriola (*Seriola dumerili* Risso, 1810) en condiciones de cultivo. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Murcia, España. 249 pp.
- Djawad, M. I, K. Namba, J. Matsuura y K. Uematsu. 1995. Oxygen consumption of ayu larvae in fasting condition. *J. Appl. Biolog. Sci.* 35: 149-161.
- Feeley, M. W., D. Benetti y J. S. Ault. 2007. Elevated oxygen uptake and high rates of nitrogen excretion in early life stages of the cobia *Rachycentron canadum* (L.), a fast-growing subtropical fish. *J. Fish Biol.* 71: 1662-1678.
- Fischer, W., F. Krupp y W. Schneider. 1995. Guía FAO: Para la Identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental Vol. 3: FAO, Roma. Italia. Pp.646.
- García-Ortega, A., I. Abdo de la Parra, N. Duncan, E. Rodríguez-Ibarra, G. Velasco, B. González-Rodríguez, A. Puello-Cruz & I. Martínez-Rodríguez. 2005. Larval rearing of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions. In: Larvi fish and shellfish larviculture Symposium EAS. Pubn. 36. Bélgica, pp. 172-175.
- Gisbert, E., G. Merino, J. B. Muguet, D. Bush, R. H. Piedrahita y D. E. Conklin. 2002. Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. *J. Fish. Biol.* 61: 1217-1229.
- Houde, E. D. y R. C. Scheckter. 1983. Oxygen uptake and comparative energetics among eggs and larvae of the subtropical marine fishes. *Mar. Biol.* 72: 283-293.
- Houde, E. D. y C. E. Zastrow. 1993. Ecosystem- and taxon-specific dynamic and energetics properties of larval fish assemblages. *Bull. Mar. Sci.* 53: 290-335.
- Hunt von Herbing, I. 2005. The physiological basis for metabolic scaling in animals: a developing perspective. In: Warburton S. J, W. Burggren, B. Pelster, C. Reiber y J. Spicer (eds). *Comparative developmental physiology*. Oxford University Press, New York. USA. pp. 83-98
- Ibarra-Castro, L., L. Alvarez-Lajonchère, N. García-Aguilar, M. I. Abdo de la Parra y L. E. Rodríguez-Ibarra. 2012a. Generation cycle closure of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*, in captivity. *Rev. Bio. Mar. Ocean.* 47(2): 333-337.

- Idrisi, N., T. Capo, S. Luthy y J. Seraphy. 2002. Behaviour, oxygen consumption and survival of stressed juvenile sailfin (*Istiophorus platypterus*) in captivity. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 36: 51-57.
- Ishibashi, Y., K. Inoue, H. Nakatsukasa, Y. Ishitani, S. Miyashita y O. Murata. 2005. Ontogeny of tolerance to hypoxia and oxygen consumption of larval and juvenile red sea bream, *Pagrus major*. *Aquacult.* 244: 331-340.
- Iwai, T. y G. M. Hughes. 1977. Preliminary morphometric study on gill development in Black Sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Bull. Japan. S.* 43: 929-934.
- Jobling, M. 1994. Respiration and metabolism. In: Jobling, M. (ed). *Fish bioenergetics*, Chapman & Hall, London, England. pp. 121-146.
- Klimant, I., V. Meyer y M. Kühl. 1995. Fiber-optic oxygen micro sensors, a new tool in aquatic biology. *Limnol. Ocean.* 40: 1159-1165.
- Krogh, A. 1941. *Comparative physiology of respiratory mechanisms*. University of Pennsylvania Press, Philadelphia, USA. 172 pp.
- Li, J., J. Eygensteyn, R. Lock, P. Verbost, A. Heijden, S. Bonga y G. Flik. 1995. Branchial chloride cells in larvae and juveniles of freshwater tilapia *Oreochromis mossambicus*. *J. Experim. Biol.* 198: 2177-2184.
- Miyashima. A., T. Kotani, H. Tawa y H. Fushimi. 2012. Relationship between oxygen consumption, growth and survival of larval fish. *Aquacult. Res.* 43: 679-687.
- Oikawa, S., M. Takemori y Y. Itazawa. 1992. Relative growth of organs and parts of a marine teleost, the porgy, *Pagrus major*, with special reference to metabolism-size relationship. *Japan. J. Ichthyol.* 39: 243-249.
- Oozeki, Y. y R. Hirano. 1994. Changes in oxygen consumption rate during development of larval Japanese whiting, *Sillago japonica*. *Japan. J. Ichthyol.* 41: 207-214.
- Pelster, B. 2008. Gas exchange. In: Finn, R. N., B. G. Kapoor y N. H. Enfield (eds). *Fish larval physiology*. Science Publishers, Enfield, England. pp. 91-117
- Rombough, P. J. 1988. Respiratory gas exchange, aerobic metabolism, and effects of hypoxia during early life. In: Hoar, W. S. y D. J. Randall (eds). *Fish physiology*, Vol. 11. The physiology of developing fish: Part A: Eggs and larvae. Academic Press, San Diego, USA. pp 59-114
- Rombough, P. J. 2007. Oxygen as a constraining factor in egg size evolution in salmonids. *Canad. J. Fish. Aquatic Sci.* 64: 692-699.

- Savage, V. M., J. F. Gillooly, W. H. Woodruff, G. B. West, A. P. Allen, B. J. Enquist y J. H. Brown. 2004. The predominance of quarter power scaling in biology. *Funct. Ecol.* 18: 257-282.
- Smith, K. L. y N. O Brown. 1983. Oxygen consumption of pelagic juveniles and demersal adults of the deep-sea fish *Sebastolobus altivelis*, measured at depth. *Mar. Biol.* 76: 325-332.
- Steinhausen, M. F., J. F. Steffensen y N. G. Andersen. 2005. Tail beat frequency as a predictor of swimming speed and oxygen consumption of saithe (*Pollachius virens*) and whiting (*Merlangius merlangus*) during forced swimming. *Mar. Biol.* 148: 197-204.
- Torres, J. J., R. I. Brightman, J. Donell y J. Harvey. 1996. Energetics of larval red drum, *Sciaenops ocellatus*. Part 1: oxygen consumption, specific dynamic action, and nitrogen excretion. *Fish. Bull.* 94: 756-765.
- Yagi, M. y S. Oikawa. 2014. Ontogenetic phase shifts in metabolism in a flounder *Paralichthys olivaceus*. *Scientific Reports* 4, 7135.
- West, G. B. y J. H. Brown. 2005. The origin of allometric scaling laws in biology from genomes to ecosystems: towards a quantitative unifying theory of biological structure and organization. *J. Experim. Biol.* 208: 1575-1592.
- Winberg, G. G. 1960. Rate of metabolism and food requirements of fishes. In: Fry F. E. J. y W. E. Ricker (eds). *Fisheries Research Board of Canada Translation Series* 194. Biological Station, Nanaimo, Canadá. Pp. 1-21.
- Zar J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA: 660 pp

CAPÍTULO 3. COMPOSICIÓN PROXIMAL Y PERFIL DE AMINOÁCIDOS DE ESTADIOS TEMPRANOS DEL PARGO

FLAMENCO *Lutjanus guttatus*

Artículo publicado en Rev. Bio. Mar. Ocean. 52(2): 325-332, 2017. DOI 10.4067/S0718-19572017000200011. Disponible en: <http://www.revbiolmar.cl/resumenes/v522/522-325.pdf>.

3.1. RESUMEN.

Los embriones y las larvas de los peces marinos utilizan los aminoácidos (AA) como fuente de energía para el metabolismo aeróbico y para mantener la osmolalidad de los fluidos corporales durante los primeros estadios de desarrollo. El perfil de AA de los huevos y larvas puede utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de aminoácidos esenciales (AAE). Conocer la evolución de la composición bioquímica de los primeros estadios de las larvas de peces proporciona una fuente valiosa para comprender mejor las necesidades nutricionales para el comienzo de la alimentación exógena; etapa donde se han reportado altas mortalidades por deficiencias nutricionales. El objetivo fue determinar la composición química proximal y perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo. Se tomaron muestras de los estadios mencionados y se determinó su contenido bromatológico y perfil de AA utilizando métodos estándar. El porcentaje de proteína fue significativamente mayor en las larvas sin vitelo y el de lípidos fue menor. El porcentaje de histidina, arginina y metionina fue mayor en los huevos y el resto de AAE fue mayor en las larvas sin vitelo. El porcentaje de taurina fue significativamente mayor en los huevos. Los datos obtenidos podrán utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE de las larvas de pargo flamenco al inicio de la alimentación exógena y coadyuvar a mejorar los protocolos de alimentación y al desarrollo de dietas balanceadas para mejorar el crecimiento y supervivencia de las larvas.

Palabras clave: Proteína, lípidos, aminoácidos, larvas, *Lutjanus guttatus*

3.2. ABSTRACT

During early development stages, embryos and larvae of marine fish use amino acids (AA) as an energy source for aerobic catabolism and for maintaining osmolality of body fluids. Amino acid profile of eggs and larvae can be used to determine essential amino acid requirements (EAA). Better understanding the evolution of biochemical composition can improve nutritional needs at the start of exogenous feeding during early stages of fish larvae; high mortalities from nutritional deficiencies have been reported at this stage. The aim of this study was to determine the proximate chemical composition and AA profile of eggs, newly hatched larvae and larvae at 4 days post-hatch (DDE). Samples of previously mentioned stages were taken and the proximate composition and AA profile were determined using standard methods. The percentage of protein was significantly higher in the larvae 4 DDE lower in lipids. The amount of histidine, arginine and methionine was higher in the eggs and the rest of EAA was higher in the larvae at 4 DDE. The percentage of taurine was significantly higher in the eggs. These findings may serve as a guideline of EAA requirements for spotted rose snapper larvae at the onset of exogenous feeding and contribute to better feeding protocols and develop balanced diets to improve larval growth and survival.

Key words: Protein, lipids, amino acids, larvae, *Lutjanus guttatus*

3.3. INTRODUCCIÓN

En la actualidad todavía existen muchas lagunas en el conocimiento del requerimiento nutricional de larvas de peces marinos. Las pequeñas longitudes y la dificultad en aceptar microdietas inertes dificultan el progreso en este sentido (Hamre *et al.*, 2013). Esta ausencia en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de las larvas es una de las causas de altas mortalidades y problemas de calidad comúnmente observados en la larvicultura marina (Conceição *et al.*, 2010). La clave para el éxito y expansión competitiva de la industria acuícola es la alta producción de larvas saludables y de calidad. Aunque actualmente ya se producen grandes cantidades de larvas de peces marinos de muchas especies (Castelló, 2011), los

porcentajes de supervivencia casi siempre son bajos o altamente variables. Además, los problemas de calidad como las deformidades del esqueleto siguen siendo el cuello de botella. Al menos, parte de estos problemas derivan de una nutrición subóptima (Conceição *et al.*, 2010). Las proteínas son nutrientes indispensables para la estructura y función de todos los organismos, incluidos los peces. Estos requieren una mezcla balanceada de aminoácidos esenciales (AAE) y no esenciales (Ibarz *et al.*, 2011). Numerosos investigadores han determinado el requerimiento cuantitativo de AAE para varias especies de peces (Monentcham *et al.*, 2010). La mayoría se han basado en estudios de dosis-respuesta que son costosos y largos, especialmente cuando se pretende determinar los requerimientos de los AAE (Ibarz *et al.*, 2011). Algunos autores utilizan la composición de aminoácidos (AA) del cuerpo completo o de los huevos de peces para estimar el requerimiento correspondiente a cada especie (Buentello *et al.*, 2011; Saavedra *et al.*, 2015). Este método es menos costoso y constituye una alternativa para estimar el requerimiento de AA (Monentcham *et al.*, 2010). Los AA son los precursores de muchas vías para la síntesis de componentes biológicos, formando proteínas y pueden usarse como sustratos para producir energía (Wu, 2009; Finn y Fyhn, 2010). La deficiencia de uno o más AA altera la síntesis de proteínas y el crecimiento (Conceição *et al.*, 1998). Además, el perfil de AA puede estar asociado con la calidad de huevos (Seoka *et al.*, 2004) flotabilidad, rango de fertilización y viabilidad, así como, el estado nutricional de las larvas y actividad metabólica (Kwasek *et al.*, 2009) y su requerimiento nutricional (Dabrowski *et al.*, 2005). Los AA frecuentemente son monitoreados en la ontogenia de los peces para comprender el metabolismo de los mismos y como un indicador de la calidad nutricional de reproductores y huevos (Sink *et al.*, 2010). Para alcanzar el éxito en el desarrollo embrionario y larval, es necesario en la dieta un perfil de AA adecuado para el crecimiento del pez. Al igual que otras especies de peces marinos, el pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) tiene cambios morfológicos importantes y eventos fisiológicos como el consumo de la gota de aceite y vitelo, primera alimentación, desarrollo del sistema digestivo y metamorfosis antes de que el proceso de digestión se lleve a cabo normalmente (Abdo de la Parra *et al.*, 2015). Estos eventos están relacionados a cambios nutricionales, incluyendo cambios ontogénicos en el

perfil de AA y la actividad de enzimas digestivas. Los AA libres son producidos por la hidrólisis de la proteína del vitelo (Song *et al.*, 2016) y actúan como reguladores osmóticos y como sustratos de energía para el desarrollo así como para la síntesis de proteínas (Finn *et al.*, 1996). El pool de AA libres es consumido progresivamente después de la fertilización en la mayoría de los peces y el uso preciso de la secuencia varía con la especie (Song *et al.*, 2016). El perfil de AA de la proteína también sufre cambios específicos en cada especie durante el desarrollo larval; por ejemplo las larvas *Piaractus mesopotámica* utilizan ciertos AA como la lisina y metionina y retienen otros para el desarrollo de estadios tardíos, tales como la histidina y triptófano; lo cual deja una diferencia en el perfil de AA de la larva (Portella *et al.*, 2013). Estos cambios en el perfil de AA de las larvas de peces tienen importantes implicaciones en términos de requerimientos de AA. Conceição *et al.* (2003, 2010) sugieren que el perfil de AAE de las larvas de peces pueden utilizarse como un estimado preliminar del requerimiento de AA. El presente estudio se realizó para determinar el contenido proximal y el perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo de pargo flamenco *Lutjanus guttatus* para coadyuvar a determinar el requerimiento de AAE de las larvas y poder optimizar los protocolos de alimentación y desarrollar dietas con un adecuado perfil de AAE.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Obtención y manejo de huevos fertilizados y larvas

Los huevos fertilizados de *Lutjanus guttatus* (100 mL) se obtuvieron de la planta piloto para la producción de juveniles marinos del CIAD, Unidad Mazatlán; se lavaron con agua destilada y se congelaron a -4°C para su posterior análisis. Otra muestra del mismo lote de huevos (200 mL) se incubó en un tanque circular de fibra de vidrio con agua de mar a 35 ups y 28°C. Posteriormente, se tomó una muestra de larvas recién eclosionadas, las cuales se lavaron con agua destilada y se congelaron para determinar el contenido bromatológico y perfil de aminoácidos. El resto de las larvas se mantuvieron en el mismo tanque de incubación bajo las mismas condiciones y se colectaron cuando consumieron en su totalidad la gota de aceite y vitelo, antes de

iniciar la alimentación exógena (4 DDE). Las larvas obtenidas se enjuagaron con abundante agua destilada y se congelaron para su análisis posterior.

3.4.2. Morfometría de huevos y larvas

Una muestra de 50 huevos fertilizados se observó en un microscopio ocular Olympus® CX31 con el objetivo 4X equipado con un micrómetro ocular 10X/20 para determinar el diámetro del huevo y de la gota de aceite de cada uno los huevos.

Se tomaron 50 larvas recién eclosionadas para determinar su longitud total (LT), diámetro de la gota de aceite y tamaño del vitelo. Cada una se colocó mediante una pipeta Pasteur en un portaobjetos y se observó bajo el mismo microscopio ocular Olympus® anteriormente descrito. Las larvas sin vitelo (50) se midieron con un vernier digital con precisión de 0.01 ± 0.03 mm.

3.4.3. Análisis químico proximal

Tanto a los huevos como a las larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo se les determinó su composición proximal mediante las técnicas propuestas por la AOAC (2011); para determinar humedad las muestras se colocaron en una estufa a 105°C por 12 h y hasta peso constante; las cenizas se obtuvieron por calcinación de las muestras en una mufla a 550 ± 50 °C por un periodo de 12 h. El contenido de nitrógeno se obtuvo por combustión y cromatografía de gases mediante la técnica carbono-hidrogeno-nitrógeno mediante el equipo Thermo Scientific FLASH 2000 y el resultado se multiplicó por 6.25 para obtener el porcentaje de proteína de la muestra y las grasas se obtuvieron mediante extracción con éter de petróleo utilizando un equipo micro Soxhlet®. Cada análisis se corrió por triplicado.

3.4.4. Perfil de AA en huevos y larvas

Previo a la determinación del perfil de AA de cada uno de los estadios, las muestras se desgrasaron, hidrolizaron y derivatizaron. Para la hidrólisis se pesó 1 mg de cada muestra y se colocaron en tubos para hidrólisis (Pierce 29560) y se les adicionó 3 mL de HCl 6M. Se aplicó vacío durante 3 min; posteriormente, los tubos se colocaron en baño seco a 150°C durante 6 h y se enfriaron a temperatura ambiente.

El hidrolizado se transfirió a un matraz balón de 5 mL y el volumen del hidrolizado se igualó con agua. La muestra se evaporó en un Roto vapor® a 65°C (Brinkmann Buchi RE 121). Una vez evaporada la muestra se agregaron 3 mL de agua y se evaporó nuevamente. Para recuperar la muestra del matraz balón, se agregó 1 ml de Buffer de citrato de sodio 0.2N, pH 2.2 y se transfirió a un tubo eppendorf color ámbar. Para derivatizar se tomaron 70 µL de la muestra hidrolizada y se le agregaron 70 µL de reactivo OPA. La mezcla se dejó reposar por 2 min, posteriormente se filtra (0.2 µm) y se inyectó al cromatógrafo. El perfil de AA se determinó de acuerdo a Vázquez-Ortiz *et al.* (1995), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Thermo Scientific Accela) equipado con un detector de fluorescencia (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000). La separación de AA se realizó en una columna Microsorb (100-3 C18 100 X 4.6 mm). Se utilizó metanol como fase móvil y la solución buffer fue acetato de sodio (0,1M) a un flujo de 1.2 mL min⁻¹. La identificación se realizó usando un λ de 340 nm y emisión de 455 nm, acorde al tiempo de retención de los estándares. Cada vez que se procesó una muestra se corrió un estándar con una mezcla de 16 aminoácidos de concentración conocida, para obtener un factor para cada uno de los AA. Cada muestra fue analizada por triplicado y el contenido de cada AA fue expresado en porcentaje del monto total de muestra analizada (gAA 100 g de muestra⁻¹).

3.4.5. Análisis estadístico

Se verificó la normalidad (prueba de Bartlett) y homocedasticidad (prueba de Levene) de los resultados obtenidos tanto de los análisis bromatológicos como del perfil de AA de los diferentes estadios; al ser normales y homocedásticos, se analizaron mediante un Análisis de Varianza de una vía (ANDEVA, STATGRAPHICS Plus 5.1) ($P < 0.05$). Para determinar las diferencias significativas entre estadios se aplicaron pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey ($P < 0.05$).

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Morfometría de huevos y larvas

El diámetro de los huevos fertilizados fue de 752 ± 40.64 µm y la gota de aceite midió alrededor de 0.123 ± 0.004 mm de diámetro. Los huevos fertilizados viables

fueron transparentes y flotaron en la superficie del agua. Los huevos no viables no flotaron y se observaron opacos. La eclosión inició 19 h después de la fertilización. La longitud total (LT) de las larvas recién eclosionadas fue de 1.9 ± 0.1 mm y el diámetro de la gota de aceite fue de 0.115 ± 0.01 mm. Las larvas sin vitelo midieron 2.53 ± 0.10 mm de LT. Las medidas morfométricas de huevos y larvas observadas en este estudio son similares a las reportadas por otros autores para la misma especie, bajo condiciones controladas (Boza-Abarca *et al.*, 2008; Alvarez-Lajonchere *et al.*, 2011).

3.5.2. Análisis químico proximal.

La composición bromatológica en peso seco de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo se presenta en la Cuadro 4. Se observó que el porcentaje de proteína total aumentó en las larvas sin vitelo, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($F_{(2,8)} = 8891.1$, $P = 0.0001$), en cambio el porcentaje de lípidos totales fue mayor en los huevos fertilizados ($F_{(2,8)} = 189.5$, $P = 0.0001$) y no hubo diferencias significativas entre las larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo (4 DDE).

En general, los huevos pelágicos de peces marinos, como es el caso del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*, se desarrollan como un sistema casi completamente cerrado, solo los gases respiratorios y calor se intercambian libremente y solamente existe intercambio de cantidades insignificantes de solutos y agua entre el medio ambiente y el huevo debido a la baja permeabilidad de la superficie de la membrana de los huevos (Ronnestad *et al.*, 1993) Los huevos desovados deben contener una reserva endógena de todos los nutrientes necesarios, presentes principalmente en el vitelo, para la homeostasis y desarrollo embrionario (Ohkubo y Matsubara, 2002, Syama *et al.*, 2003), y hasta que inicie la alimentación exógena las larvas dependen completamente del contenido nutricional del vitelo (Gunasekera *et al.*, 1999). Las proteínas son las biomoléculas más abundantes; representando en varias especies, más del 50% del contenido total de nutrientes presentes en el vitelo (Zavala, 2011), como fue el caso en el presente estudio; donde el porcentaje de proteína en las larvas representó más del 60% del total de nutrientes presentes. Los lípidos totales son el siguiente componente más abundante de las reservas del vitelo en la mayoría de los

peces marinos y se encuentran principalmente en los glóbulos de aceite (Zavala, 2011). En el pargo flamenco, el porcentaje de lípidos disminuyó significativamente al eclosionar la larva. En otras especies de peces como *Gadus morhua* (Finn *et al.*, 1995) y *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta y Capuzzo, 1982) se ha observado que al momento de la primera alimentación de la larva, la cantidad de lípidos decrece. Zavala (2011) menciona que antes de la eclosión, para la producción de energía se consumen principalmente los carbohidratos, después los lípidos y por último las proteínas. Por el contrario, después de la eclosión, durante el periodo de alimentación endógena, los lípidos neutros derivados del glóbulo de aceite son la principal fuente de energía (Ronnestad *et al.*, 1992, 1994). Los datos obtenidos en el presente estudio respecto a los cambios bioquímicos en huevos y larvas son similares a los reportados para otras especies de peces como *Lutjanus campechanus* (Williams *et al.*, 2004), *Scophthalmus rhombus* (Cruzado *et al.*, 2013), *Heterotis niloticus* (Monentcham *et al.*, 2010), *Maccullochella peelii* y *M. macquariensis* (Gunasekera *et al.*, 1999), *Lates calcarifer* (Syama *et al.*, 2003), entre otras.

Cuadro 4. Resultados del análisis proximal en base seca de los diferentes estadios evaluados del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*).

Estadio	Humedad (%)	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)
Huevos fertilizados	82,9 ± 0,2 ^a	43,54 ± 0,33 ^a	8,66 ± 0,07 ^b	ND
Larvas recién eclosionadas	92,54 ± 0,1 ^b	61,20 ± 0,11 ^b	3,73 ± 0,08 ^a	7,97 ± 0,17
Larvas sin vitelo (4 DDE)	92,3 ± 0,2 ^b	65,5 ± 0,1 ^c	3,08 ± 0,06 ^a	11,54 ± 0,2

Los valores representan la media ± la desviación estándar (N= 3). Los superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0.05$)

3.5.3 Perfil de AA en huevos y larvas

Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el perfil de AA entre los huevos fertilizados y los estadios larvales evaluados (Cuadro 5). La histidina, arginina y metionina presentaron mayor porcentaje en los huevos, en comparación con los

porcentajes observados para larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo. El porcentaje del resto de los AAE fue mayor en las larvas que consumieron el vitelo y la gota de aceite ($P < 0.05$) (Cuadro 3). En cuanto a los aminoácidos no esenciales (AANE), solo la taurina presentó un mayor porcentaje en los huevos ($F_{(2,7)} = 63.92$, $P = 0.0003$). Los valores de serina y glicina no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los estadios evaluados. El glutamato ($F_{(2,7)} = 13.26$, $P = 0.01$) y aspártico ($F_{(2,7)} = 12.28$, $P = 0.0118$) fueron estadísticamente iguales en los dos estadios larvales evaluados y significativamente mayores a las cantidades presentes en los huevos fertilizados. La alanina fue significativamente mayor en las larvas sin vitelo ($F_{(2,7)} = 70.80$, $P = 0.0002$) y en cambio la tirosina fue significativamente más alta en las larvas recién eclosionadas ($F_{(2,7)} = 45.64$, $P = 0.0006$).

Es difícil determinar el requerimiento de AA de las larvas de peces debido a la poca aceptabilidad de las dietas formuladas y la dificultad para manipular el perfil de AA en el alimento vivo (Conceição *et al.*, 2010; Hamre *et al.*, 2013); por lo cual, se ha propuesto utilizar el perfil de AAE del carcas o músculo de los peces como un buen índice de requerimiento de AAE, tanto para las larvas, como para peces juveniles y adultos (Conceição *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2013; Saavedra *et al.*, 2015). Sin embargo, aunque el perfil de AAE de juveniles es constante entre las especies, algunas presentan cambios ontogénicos en el perfil de AA durante el desarrollo larval (Gunasekera *et al.*, 1999; Ohkubo y Matsubara, 2002; Syama *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2005; Conceição *et al.*, 2010; Monentcham *et al.*, 2010; Cruzado *et al.*, 2012, Saavedra *et al.*, 2015; Song *et al.*, 2016). Especies con metamorfosis bien definida presentan cambios más pronunciados en el perfil de AA durante la ontogenia, que las especies con metamorfosis más leve (Pinto *et al.*, 2010). Los cambios en el perfil de AA durante la ontogenia probablemente se reflejarán en el requerimiento de AAE aun cuando estos cambios sean muy pequeños; por ejemplo, en las larvas de *Clarias gariepinus* al disminuir el 0.5% de metionina en el perfil de AAE, aumenta en 0.2 veces el requerimiento de este aminoácido (Conceição *et al.*, 1998). Las variaciones en el perfil de AA durante el desarrollo larval de las diferentes especies de peces pueden estar asociadas al crecimiento alométrico de las larvas, ya que el desarrollo de los diferentes órganos y tejidos ocurre a diferentes tiempos durante la ontogenia de cada

especie (Conceição *et al.*, 1997, 2003; Hamre *et al.*, 2013). Durante el desarrollo de las larvas de *Psetta maxima* el porcentaje de valina, isoleucina y treonina tiende a incrementarse, y la lisina, fenilalanina y arginina disminuyen (Conceição *et al.*, 1997). En larvas de *Lutjanus campechanus* disminuyó el porcentaje de isoleucina, valina y arginina y los valores de triptófano y fenilalanina aumentaron (Hastey *et al.*, 2010). Para *Sparus aurata* se reportó que al final de la alimentación endógena los AAE predominantes fueron leucina, isoleucina, metionina y valina (Naz, 2009). En el presente trabajo, los valores de histidina, arginina y metionina disminuyeron al eclosionar la larva y el valor del resto de los AAE aumentó conforme se desarrolló la larva de *L. guttatus*. Se ha sugerido que los AA en huevos pelágicos es la principal fuente para la producción de energía durante el desarrollo embrionario de varias especies como *Sparus aurata* (Ronnestad *et al.*, 1994, Naz, 2009), *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta y Capuzzo, 1982), *Verasper moseri* (Ohkubo y Matsubara, 2002), *Scophthalmus rhombus* (Cruzado *et al.*, 2012), entre otras. Además, los primeros estadios larvales de los peces marinos tienen alto requerimiento de AA, debido en parte a las altas tasas de crecimiento comparada con los estadios adultos y a la necesidad de más AA que proporcionen energía para las larvas (Conceição *et al.*, 2010). Las larvas de peces tienen un estricto control sobre el metabolismo de los AA, utilizando preferentemente los AANE para la producción de energía y los AAE para el crecimiento. Sin embargo, Song *et al.* (2016) reportaron que las larvas de *Platichthys stellatus* agotaron más rápidamente las reservas de AAE que los AANE, lo cual puede estar asociado a que las larvas de este lenguado utilizan los AAE para la organogénesis.

En el presente estudio se observó que la taurina se encontró en mayor porcentaje en los huevos que en los demás estadios evaluados. La taurina se ha reportado como un importante aminoácido para la regulación osmótica en peces marinos, específicamente en el mantenimiento de la osmolalidad del fluido corporal (Aragao *et al.*, 2010). Pinto *et al.* (2010) observaron que para las larvas de *Solea senegalensis*, la taurina puede ser necesaria para la metamorfosis y crecimiento. Portella *et al.* (2013) mencionaron que la taurina juega un rol principal en la regulación de la presión osmótica en las especies marinas. En base a los presentes resultados

se puede sugerir que las larvas de pargo flamenco también utilizan la taurina para el crecimiento y metamorfosis de la larva.

Los estadios tempranos de los peces marinos involucran procesos complejos para la diferenciación y el crecimiento. Conocer la evolución de la composición bioquímica de los primeros estadios de estos organismos proporciona una fuente valiosa para comprender mejor las necesidades nutricionales para el comienzo de la alimentación exógena (Hamre *et al.*, 2013). El perfil de AA de los huevos y larvas puede utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE. Sin embargo, este análisis solo considera el requerimiento de AA para la síntesis de proteínas, no el requerimiento para las demandas metabólicas de rutina o para fines distintos a la síntesis de proteínas (Conceição *et al.*, 2010).

Cuadro 5. Perfil de aminoácidos en huevos fertilizados, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*).

Aminoácido Esenciales (g AA 100g de muestra ⁻¹)	Huevos fertilizados	Larvas recién eclosionadas	Larva sin vitelo (4 DDE)
Histidina	5.29 ± 1.13 ^b	2.68 ± 0.19 ^a	1.96 ± 0.23 ^a
Arginina	9.19 ± 0.41 ^b	4.56 ± 0.87 ^a	3.64 ± 0.30 ^a
Treonina	2.47 ± 0.23 ^a	2.2 ± 0.19 ^b	3.37 ± 0.07 ^c
Metionina	1.72 ± 0.29 ^b	0.13 ± 0.03 ^a	0.16 ± 0.01 ^a
Valina	1.92 ± 0.75 ^a	2.54 ± 0.25 ^{ab}	3.58 ± 0.12 ^c
Fenilalanina	1.92 ± 0.28 ^a	2.95 ± 0.01 ^b	3.48 ± 0.01 ^c
Isoleucina	1,27 ± 0,18 ^a	1,80 ± 0,14 ^b	2,41 ± 0,05 ^c
Leucina	3.93 ± 0.26 ^a	5.70 ± 0.17 ^b	6.28 ± 0.04 ^c
Lisina	2.48 ± 0.69 ^a	5.99 ± 0.55 ^b	7.64 ± 0.18 ^c
Aminoácidos no			
Aspártico	1.60 ± 0.65 ^a	5.12 ± 1.18 ^b	4.17 ± 0.59 ^b
Alanina	3.66 ± 0.23 ^a	4.74 ± 0.17 ^b	5.73 ± 0.11 ^c
Glutamato	5.60 ± 1.58 ^a	9.34 ± 0.86 ^b	10.59 ± 0.44 ^b
Serina	3.64 ± 0.30	4.04 ± 0.20	3.94 ± 0.22
Glicina	3.38 ± 1.15	3.92 ± 0.79	5.17 ± 0.46
Tirosina	1.53 ± 0.32 ^a	3.16 ± 0.04 ^c	2.18 ± 0.02 ^b
Taurina	6.01 ± 0.83 ^b	1.57 ± 0.30 ^a	1.17 ± 0.01 ^a

Los resultados son la media ± la desviación estándar (N= 3). Superíndices diferentes en los renglones denotan diferencias significativas ($P < 0.05$).

3.6. CONCLUSIONES

El presente trabajo es el primer reporte que describe el contenido bromatológico y perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo (4 DDE) de *L. guttatus*.

Las variaciones encontradas en el perfil de AA en los estadios evaluados son similares a los reportados para otras especies de peces marinos.

Los datos obtenidos podrán utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE de las larvas de pargo flamenco y coadyuvar a optimizar los protocolos de alimentación y el desarrollo de dietas balanceadas para mejorar el crecimiento y supervivencia de las larvas.

Se necesitan más estudios para definir el perfil dietético ideal de AAE para larvas de *L. guttatus* sobre los factores que pueden afectar la biodisponibilidad de los AAE tales como la temperatura y salinidad. Así como, evaluar el impacto de una dieta desbalanceada en AAE sobre el crecimiento y supervivencia de las larvas de pargo flamenco.

3.7. LITERATURA CITADA

- Abdo de la Parra, M. I, L. E. Rodríguez Ibarra, G. Rodríguez-Montes de Oca y L. Ibarra-Castro. 2015. Conocimiento del estado actual de la larvicultura del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*). LAJAR 43(3): 415-423
- Álvarez-Lajonchère, L, L. Ibarra-Castro y N. García-Aguilar. 2011. Reproducción controlada. En: Álvarez-Lajonchère L. S. y A. Puello-Cruz (eds). El pargo flamenco: *Lutjanus guttatus*. Producción controlada de huevos, larvas y juveniles. Clave Editorial, México. pp. 25-58
- Aragao, C., B. Costas, L. Vargas-Chacoff, I. Ruíz-Jarabo, M. T. Dinis, J. M. Mancera y L. E. C. Conceição. 2010. Changes in plasma amino acid levels in a euryhaline fish exposed to different environmental salinities. Amino Acids 38: 311-317.
- Boza-Abarca, J., E. Calvo-Vargas, N. Solís-Ortiz y J. Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. Cienc. Mar. 34: 239-252.

- Brown, M. R., S. C. Battaglione, D. T. Morehead y M. Brock. 2005. Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris leneata*). *Aquacult.* 248: 263-274.
- Buentello, J. A., C. Pohlenz, D. Margulies, V. P. Scholey, J. B. Wexler, D. Tovae-Ramírez, W. H. Neill, P. Hinojosa-Baltazar y D. M. Gatlin III. 2011. A preliminary study of digestive enzyme activities and amino acid composition of early juvenile yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Aquacult.* 312: 205-211.
- Castelló, F.C. 2011. Situación actual de la acuicultura. En: Castelló, F.C. (ed). *Piscicultura marina en Latinoamérica*. Universitat de Barcelona, Barcelona, España. pp. 13-17
- Cetta, C.M. y J. M. Capuzzo. 1982. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar. Biol.* 71: 327-337.
- Conceição, L. E. C., T. van der Meeren, J. A. Verret, M. S. Evjen, D. F. Houlihan y H. J. Fyhn. 1997. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or *Artemia*. *Mar. Biol.* 129: 255-265.
- Conceição, L. E. C., R. Ozorio, E. A. Surud y J. A. Verreth. 1998. Amino acids profiles and amino acid utilization in larval African catfish (*Clarias gariepinus*): effects of ontogeny and temperature. *Fish Physiol. Biochem.* 19: 43-57.
- Conceição, L. E. C., H. Grasdalen y I. Rønnestad. 2003. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquacult.* 227: 221-232.
- Conceição, L. E. C., C. Aragao y I. Rønnestad. 2010. Protein metabolism and amino acid requirements in fish larvae. En: Cruz-Suárez L. E., D. Ricque, D. Tapia, M. Nieto, D. Villarreal y J. Gamboa (eds). *Avances en nutrición acuícola*. Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, N.L. México. pp. 250-263.
- Cruzado, I. H., E. Rodríguez, M. Herrera, A. Lorenzo y E. Almansa. 2013. Changes in lipid classes, fatty acids, protein and amino acids during egg development and yolk-sac larvae stage in brill (*Scophthalmus rhombus* L.). *Aquacult. Res.* 44(10): 1568-1577.
- Dabrowski, K., B. F. Terjensen, Y. Zhang, J. M. Phang y K. J. Lee. 2005. A concept of dietary dipeptides: a step to resolve the problem of amino acid availability in the early life of vertebrates. *The Journal of Experimental Biology* 208: 2885-2894.
- Finn, R. N., H. J. Fyhn y R. J. Henderson. 1996. The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk-sac larvae of

- turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comparative Biochemistry Physiology* 115(2): 133-151.
- Finn, R. N. y H. J. Fyhn. 2010. Requirement for amino acids in ontogeny of fish. *Aquacult. Res.* 41: 684-716.
- Gunasekera, R. M., S. S. De Silva y B. A. Ingram. 1999. The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquarensis* and Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquat. Liv. Res.* 12(4): 255-261.
- Hamre, K., M. Yúfera, I. Rønnestad, C. Boglione, L. E. C. Conceicao y M. Izquierdo. 2013. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquacult.* 5(1): 526-558.
- Hastey, R. P., R. P. Phelps, D. A. Davis y K. A. Cummins. 2010. Changes in free amino acids profile of red snapper *Lutjanus campechanus*, eggs, and developing larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 36: 473-481.
- Ibarz, A., J. Blanco y J. Fernández. 2011. Bases metabólicas de la nutrición. En: Castelló FC (ed). *Piscicultura marina en Latinoamérica*. Universitat de Barcelona, Barcelona, España. pp. 96-111.
- Kwasek, K., Y. Zhang, P. Hliwa, P. Gomulka, T. Ostaszewska y K. Dabrowski. 2009. Free amino acids as indicators of nutritional status of silver bream (*Vimba vimba*), when using commercial and purified diets. *Comp. Biochem. Physiol.* 153: 113-119.
- Li, W., Q. Ai, K. Mai, W. Xu, Y. Luo y Y. Zhang. 2013. Effects of dietary amino acid patterns on growth and protein metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquacult.* 406: 1-8.
- Monentcham, S. E., B. Whatelet, V. Pouomogne y P. Kestemont. 2010. Egg and whole-body amino acid profile of African bonytongue (*Heterotis niloticus*) with an estimation of their dietary indispensable amino acid requirements. *Fish Physiol. Biochem.* 36: 531-538.
- Naz, M. 2009. Ontogeny of biochemical phases of fertilized eggs and yolk sac larvae of Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). 2009. *Turkish J. Fish. Aqua. Sci.* 9: 77-83
- Ohkubo, N. y T. Matsubara. 2002. Sequential utilization of free amino acids, yolk proteins and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of barfin flounder *Verasper moseri*. *Mar. Biol.* 140: 187-196.

- Pinto W, L Figueira, L Ribeiro, M Yúfera, MT Dinis & C Aragao. 2010. Dietary taurine supplementation enhances metamorphosis and growth potential of *Solea senegalensis* larvae. *Aquacult.* 309: 159-164.
- Portella, M. C., R. Takata y N. J. Leitão. 2013. Free amino acids in Pacu, *Piaractus mesopotamicus*, eggs and larvae. *JWAS* 44(3): 425-434.
- Rønnestad I, HJ Fyhn & K Gravingen. 1992. The importance of free amino acids to energy metabolism of eggs and larvae turbot (*Scophthalmus maximus*). *Marine Biology* 114: 517-525.
- Rønnestad. I., E. P. Groot y H. J. Fyhn. 1993. Compartmental distribution of free amino acids and protein in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hipoglossus*). *Mar. Biol.* 116: 349-354.
- Rønnestad, I., W. M. Koven, A. Tandler, M. Harel y H. J. Fyhn. 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of Gilthead Sea bream (*Sparus aurata*). *Mar. Biol.* 120: 187-196.
- Saavedra. M., A. Cadeias-Mendes, S. Castanho, B. Teixeira, R. Mendes y P. Pousao-Ferreira. 2015. Amino acid profile of meagre (*Argyrosomus regius*) larvae: Towards the formulation of an amino acid balance diet. *Aquaculture* 448: 315-320.
- Seoka, M., S. Yamada y H. Kumai. 2004. Free amino acids in Japanese eel eggs obtained by hormonal inducement. *JFB.* 65(2): 592-596.
- Sink, T. D., R. T. Lochmann, C. Pohlenz, A. Buentello y D Gatlin III. 2010. Effects of dietary protein source and protein-lipid source interaction on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg production and quality, and fry hatching percentage and performance. *Aquaculture* 298: 251-259.
- Song, Z., W. Jiying, Q. Hongjin, L. Peiyu, Z. Limin y X. Bin. 2016. Ontogenetic changes in digestive enzyme activities and the amino acid profile of starry flounder *Platichthys stellatus*. *Chinese J Ocean. Limn.* 34(5): 1013-1024.
- Syama-Dayal, J., A. Ahamad, A. R. Thirunavukkarasu, M. Kailasam y R. Subburaj. 2003. Nutrient and amino acid profiles of egg and larvae of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Fish Physiol. Biochem.* 29: 141-147.
- Vázquez-Ortiz, F., G. Caire, I. Higuera-Ciapara y G. Hernández. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *J Liquid Chromat. Rel. Tech.* 18: 2059-2068.

- Williams, K. N., N. Papanikos, R. Phelps y J. Shardo. 2004. Development, growth and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. Mar. Ecol. Prog. 275: 231-239.
- Wu, G. 2009. Amino acids: metabolism, functions and nutrition. Amino Acids 37: 1-17.
- Zavala, I. 2007. Efecto de la temperatura, intensidad de luz, tipo y densidad de presa en la eficiencia alimenticia durante la ontogenia inicial del huachinango del pacífico (*Lutjanus peru*). Tesis de Maestría, CCIMAR-IPN, La Paz, 52 pp.
- Zavala, I. 2011. Caracterización bioquímica del consumo de reservas vitelinas en peces teleósteos de ontogenia indirecta. Rev. Electrónica de Veterinaria 12(3): 1-32.

CAPÍTULO 4. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA TASA DE CONSUMO DEL VITelo Y GOTA DE ACEITE EN LAS LARVAS DEL PARGO FLAMENCO *Lutjanus guttatus* (PERCIFORMES:LUTJANIDAE)

Artículo aceptado en la Revista de Biología Marina y Oceanografía.

4.1. RESUMEN

El vitelo es la principal fuente de energía para los huevos y larvas vitelinas de peces marinos. La temperatura juega un papel dominante en la eficiencia de la conversión del vitelo en tejido corporal y afecta el tamaño que puede alcanzar la larva en la primera alimentación. En el presente trabajo se evaluó el efecto de diferentes temperaturas sobre el consumo del saco vitelino y la gota de aceite de *Lutjanus guttatus* para determinar la temperatura adecuada de cultivo de los primeros días de las larvas. Los huevos fertilizados de pargo flamenco se colocaron en tinas de plástico de 20 L a diferentes temperaturas (22, 25, 28 y 31°C) con tres replicas por tratamiento. Se determinó el tiempo y porcentaje de eclosión, la longitud total (LT), consumo de vitelo y gota de aceite a las 0, 24, 48 y 72 horas después de la eclosión (HDE). Los huevos incubados a 22°C no eclosionaron. El tiempo de eclosión fue significativamente ($P < 0.05$) más corto en los huevos incubados a 31°C. No hubo diferencias en el porcentaje de eclosión entre los tratamientos. Las larvas a 31°C presentaron una talla mayor ($P < 0.05$) a las larvas a 25°C al eclosionar y 24 HDE. El consumo del vitelo y de la gota de aceite también fue mayor en las larvas a 31°C en los tiempos de 0 y 24 HDE; sin embargo, las larvas a 25°C no sobrevivieron a las 48 HDE. Las larvas a 31°C no sobrevivieron a las 72 HDE. Se concluyó que la temperatura para la incubación y cultivo de larvas vitelinas del pargo flamenco se debe llevar a cabo alrededor de los 28°C para un adecuado crecimiento, supervivencia y consumo de sus reservas energéticas.

Palabras clave: larvas de pargo flamenco, eclosión, crecimiento, reservas energéticas.

4.2. ABSTRACT

Yolk is the main energy source for eggs and marine fish larvae. Temperature is a key factor in determining the efficiency of yolk conversion into body tissues, which can affect the size larvae reach at first feeding. In this work, we evaluate the effect of different temperatures on the consumption of the yolk sac and oil droplet by *Lutjanus guttatus* in order to determine the most adequate culture temperature during the first days after hatch. The fertilized eggs were placed in 20 L plastic tanks at different temperatures (22, 25, 28 and 31 ° C) with three replicates per treatment. Time and percentage of hatching, total length (TL), consumption of yolk and oil droplet at 0, 24, 48 and 72 h after hatching (HAH) were determined. Eggs incubated at 22 ° C did not hatch while hatching time in eggs incubated at 31 ° C decreased significantly ($P < 0.05$). No differences were observed in hatching percentages between treatments. Larvae reared at 31° C were larger ($P < 0.05$) than those reared at 25° C at 0 and 24 HAH. The consumption of the yolk and the oil droplet was also greater in larvae reared at 31° C at 0 and 24 HAH; however, larvae at 25° C did not survive at 48 HAH neither did larvae reared at 31° C at 72 HAH. The optimal temperature for incubation and larval culture of *L. guttatus* at a yolk sac stage was achieved at about 28° C, which would provide adequate growth, survival and consumption of its energy reserves

Key words: snapper larvae, hatch, growth, energy reserves.

4.3. INTRODUCCIÓN.

En los huevos de los peces teleósteos, como el pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*), se forma un saco vitelino extraembrionario y éstos son considerados como un sistema semicerrado dónde solo se lleva a cabo un intercambio de gases (Heming y Buddington, 1988); por lo tanto, el vitelo es la principal fuente de energía, de hormonas y enzimas durante la embriogénesis y el periodo de nutrición endógena de las larvas (Kamler, 1992; Kamler, 2008). Los principales componentes del vitelo son las plaquetas de vitelo ricas en lipoproteínas y fosfoproteínas y las gotas de aceite que son principalmente lípidos neutrales con una alta proporción de ácidos grasos mono insaturados (Heming y Buddington, 1988). La tasa de absorción del vitelo y eficiencia

de utilización de las reservas vitelinas, son importantes para determinar el desarrollo temprano, crecimiento y supervivencia de las larvas hasta el inicio de la alimentación exógena (Heming y Buddington, 1988). Al periodo del paso de la alimentación endógena a exógena se le conoce como “periodo crítico” en el desarrollo larval y la mortalidad puede ser muy alta (Hardy y Livak, 2004). La tasa de absorción del vitelo es baja al principio de la ontogenia y se incrementa poco a poco. Después de la eclosión, la absorción es más rápida que en los embriones (Kamler, 1992), debido a que las larvas presentan tasas metabólicas más altas. La tasa absoluta de utilización de vitelo disminuye después del estadio de nado como resultado de una cantidad limitada de contenido de vitelo (Kamler, 1992; Jaroszewska y Dabrowski, 2011). Se ha demostrado que tanto la eficiencia, como la tasa de consumo del vitelo y de la o las gotas de aceite, son específicas de cada especie y dependen también, de factores abióticos como la temperatura, luz, concentración de oxígeno disuelto en el agua y la salinidad (Blaxter, 1992; Jaroszewska y Dabrowski, 2011). Dentro de los factores ambientales, la temperatura se considera el más importante (Kamler, 2002; Pittman *et al.*, 2013). La temperatura juega un papel dominante en la eficiencia de la conversión del vitelo en tejido corporal (Jaworski y Kamler, 2002), y afecta el tamaño que puede alcanzar la larva en la primera alimentación (Kamler, 2008) debido a su importancia en el control de los procesos fisiológicos (Blaxter, 1992). El consumo lento o rápido del vitelo puede ser determinante en el desarrollo y supervivencia de las larvas. Varios autores han demostrado que la eficiencia en el consumo del vitelo y las gotas de aceite es mayor en las larvas de peces marinos cultivadas dentro de los rangos óptimos de temperatura de cada especie, y disminuye cuando se cultivan fuera del rango óptimo (Fukuhara, 1990; Kaminski *et al.*, 2006; Peña *et al.*, 2014; Barón-Aguilar *et al.*, 2015; Estrada-Godínez *et al.*, 2015; Hui *et al.*, 2015; Guevara-Fletcher *et al.*, 2017), entre otros. En temperaturas mayores a la óptima las larvas eclosionarán en estadios prematuros y con sacos vitelinos más pequeños (Hempel, 1979; Yoseda *et al.*, 2006; Azocar *et al.*, 2014); a temperaturas menores se incrementa la incidencia de deformidades y altas mortalidades antes de completar la reabsorción del saco vitelino (Hart y Purser, 1995; Das *et al.*, 2006; Petereit *et al.*, 2008; Brown *et al.*, 2011; Maslova, 2011; Pittman *et al.*, 2013), por lo que es necesario identificar la temperatura adecuada

para que se lleve a cabo eficientemente la reabsorción del vitelo de las larvas de cada una de las especies en cultivo.

El pargo flamenco *Lutjanus guttatus* es una especie con alta demanda en algunos países de Latinoamérica; las investigaciones sobre su reproducción artificial se iniciaron hace varios años en Colombia (Valverde y Boza, 1999), Panamá (Cano, 2003), Costa Rica (Boza-Abarca et al., 2008), Ecuador (Benetti y Wilson, 1996) y México (García-Ortega et al., 2005). Hasta la fecha, en México, uno de los cuellos de botella para el cultivo del pargo flamenco a gran escala, es la producción masiva de juveniles de calidad (Alvarez-Lajonchère et al., 2012). En la larvicultura del pargo flamenco en la planta piloto de producción de peces marinos del CIAD, Mazatlán, se han observado altas mortalidades de las larvas al pasar de la alimentación endógena a exógena.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de diferentes temperaturas sobre el consumo y tasa de absorción del saco vitelino y la gota de aceite de *L. guttatus*, para determinar la temperatura adecuada de cultivo de las larvas vitelinas de esta especie y aumentar la supervivencia de las mismas durante el periodo de alimentación endógena, con el fin de coadyuvar al mejoramiento del protocolo de cultivo larvario.

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1. Obtención de los huevos fertilizados.

Los huevos fertilizados de pargo flamenco se obtuvieron de la planta piloto para la producción de peces marinos del CIAD, Unidad Mazatlán, mediante los protocolos establecidos en la misma (Ibarra-Castro y Alvarez-Lajonchère, 2011).

4.4.2. Diseño experimental.

Se evaluaron cuatro temperaturas (22, 25, 28 y 31 °C) con tres replicados cada una. En tinas de plástico transparente conteniendo 15 litros de agua de mar filtrada por UV, se colocaron dos ml de huevos fertilizados de pargo flamenco (alrededor de 2500 huevos) y se incubaron a la temperatura deseada. Las tinas del tratamiento de 22 °C se colocaron en un cuarto climatizado a 22 °C; el resto de los tratamientos se

colocó en un laboratorio climatizado a 25 °C y para obtener las temperaturas de 28 y 31 °C a cada contenedor se le colocó un termostato (Termal, 300 watts), el cual se reguló para obtener la temperatura deseada; cada contenedor contó con aireación para mantener el oxígeno disuelto en el agua a 5 ppm. La temperatura de cada contenedor se monitoreo cada cuatro horas. El cultivo se llevó a cabo sin recambio de agua; solo en el caso de que la temperatura aumentara se agregaba agua de mar filtrada hasta alcanzar la temperatura evaluada.

4.4.3. Porcentaje y tiempo de eclosión.

Se determinó el tiempo de eclosión por observación directa de cada uno de los replicados y el porcentaje de eclosión (%E) mediante la fórmula: %E = Larvas eclosionadas/ huevos incubados*100.

4.4.4. Crecimiento, Tasa de Consumo del vitelo y de la gota de aceite.

Se tomaron muestras de larvas al eclosionar (0h), 24, 48 y 72 h después de la eclosión (DE) de cada tratamiento. Cada larva muestreada se anestesió con 2-phenoxyethanol a una concentración de 0.1 ml L y se colocó, mediante una pipeta Pasteur, en una laminilla excavada para observarlas en un microscopio con el objetivo 4X adaptado con un micrómetro ocular de 25 µm para medirlas y determinar la longitud total (LT), el volumen del saco vitelino y de la gota de aceite mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{Volumen del saco vitelino (VSV mm}^3\text{)} = (\pi/6) LH^2$$

Donde: L es la longitud y H es el ancho del saco vitelino (Blaxter y Hempel, 1966),

$$\text{Volumen de la gota de aceite (VGA mm}^3\text{)} = 4/3 \pi r^3$$

Donde: r es el radio de la gota lipídica (Williams *et al.*, 2004).

Para determinar la tasa de consumo del vitelo y de la gota de aceite se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{TCV} = (V_i - V_f) / V_i * 100,$$

Donde: TCV es la tasa de consumo final, V_i es el volumen inicial al eclosionar y V_f es el volumen final a un tiempo determinado (Hui *et al.*, 2015).

4.4.5. Análisis estadístico.

Los resultados de porcentaje fueron transformados a arcoseno para su posterior análisis. A todos los resultados se les determinó la normalidad de su distribución (prueba de Bartlett) y la homocedasticidad de su varianza (prueba de Levene); los datos normales se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) ($P < 0.05$) y las diferencias significativas entre los tratamientos se determinaron por pruebas de comparación múltiple de rangos de Tukey ($P < 0.05$); los datos que no presentaron distribución normal se analizaron mediante una prueba de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$) (Zar, 1996). Se identificaron los modelos de regresión que se ajustaron mejor para describir la relación empírica entre el consumo del vitelo y de la gota de aceite en cada temperatura, a través del tiempo (HDE). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa Statgraphics Plus 5.1.

4.5. RESULTADOS y DISCUSIÓN

4.5.1. Tiempo y porcentaje de eclosión

En los huevos incubados a 22 °C no hubo eclosión, el embrión se desarrolló hasta la etapa de formación de órganos y cola, pero no eclosionaron. En el resto de los tratamientos evaluados, el porcentaje de eclosión no fue estadísticamente significativo entre sí, (ANOVA, $P > 0.05$) (Cuadro 6); sin embargo, el tiempo de eclosión si fue significativamente diferente (Tukey, $P < 0.05$) entre las temperaturas evaluadas; las larvas incubadas a 31 °C iniciaron a eclosionar a las 14 HDF, las larvas incubadas a 28 °C eclosionaron a las 16 HDF y las larvas a 25 °C eclosionaron 19 HDF.

Los resultados del presente estudio demostraron que las temperaturas de incubación tuvieron un efecto sobre el desarrollo y eclosión de los embriones de *L. guttatus*; a alta temperatura (31 °C) se incrementó el desarrollo del embrión y se aceleró el proceso de eclosión, mientras que a baja temperatura (22 °C) el embrión empezó a desarrollarse en las primeras horas DF, pero antes de la eclosión cesó su desarrollo y se presentó el 100% de mortalidad. Se ha demostrado que los estadios tempranos de los huevos de peces marinos antes de que el embrión esté

completamente formado, son muy sensibles a los cambios del medio ambiente como temperatura, salinidad y oxígeno disuelto en el agua de cultivo; dentro de estos factores abióticos, la temperatura es determinante en el desarrollo de los embriones y larvas de peces, afectando tanto la eclosión como la supervivencia (Stickney, 2000; Jaroszewska y Dabrowski, 2011). Se ha observado que a bajas temperaturas (17 – 22 °C) los embriones de especies subtropicales o tropicales no completan su desarrollo, no eclosionan o eclosionan con muy baja supervivencia y presentan malformaciones, mientras que a temperaturas altas (30 – 32 °C) se acelera la eclosión (Kamler, 1992; Gracia-López *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2010; Brown *et al.*, 2011; Abdo de la Parra *et al.*, 2012; Ahn *et al.*, 2012; Peña *et al.*, 2014).

Cuadro 6. Resultados de porcentaje y tiempo de eclosión y longitud total de las larvas de *L. guttatus* en las diferentes temperaturas evaluadas.

Tiempo (HDE)	Temp °C	% E	Tiempo de E (HDF)	LT (mm)
0	21	No	eclosionaron	
0	25	79.5±21.0	19.2±0.14 ^a	1.67±0.13 ^a
0	28	84.3±12.5	15.3±0.1 ^b	1.76±0.16 ^{ab}
0	31	96.1±1.9	13.1±0.1 ^c	1.84±0.27 ^b
24	25			2.38±0.13 ^a
24	28			2.44±0.23 ^{ab}
24	31			2.48±0.09 ^b
48	25			N/D
48	28			2.44±0.09 ^a
48	31			2.54±0.09 ^b
72	28			2.6±0.1
72	31			N/D

Promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes entre columnas muestran las diferencias significativas (P<0.05) HDE: Horas después de la eclosión, HDF: Horas después de la fertilización, E: Eclosión, LT: Longitud total. N/D: No determinado debido a 0% de supervivencia.

En trabajos previos con *L. guttatus* se ha reportado que la eclosión inicia entre las 15 y 17 HDF, dependiendo de la temperatura, para concluir tres o cuatro HDF (Boza-Abarca *et al.*, 2008; Abdo de la Parra *et al.*, 2010; Ibarra-Castro *et al.*, 2012.). El porcentaje de eclosión no fue diferente a 25, 28 o 31 °C; lo cual fue similar a lo reportado para *L. peru* (Peña *et al.*, 2014; Estrada-Godínez *et al.*, 2015) y *Mycteroperca rocaea* (Gracia-López *et al.*, 2004) donde no obtuvieron diferencias significativas en el porcentaje de eclosión entre temperaturas de 24 a 30 °C y sugieren que la temperatura a la cual los reproductores son mantenidos antes y durante el desove puede determinar la tolerancia a la temperatura de los huevos desovados. El conocimiento sobre el efecto de la temperatura del agua durante la incubación del huevo en el desarrollo del embrión y eclosión de las larvas de peces marinos producidos en cautiverio a gran escala, podría ser una forma de optimizar los procedimientos en la acuicultura.

4.5.2. Crecimiento, Consumo del saco vitelino y de la gota de aceite

Como se muestra en el cuadro 6, las larvas recién eclosionadas (0 HDE) a 31 °C fueron significativamente (Tukey, $P < 0.05$) más grandes en su LT que las larvas eclosionadas a 25°C; las larvas eclosionadas a 28 °C no presentaron diferencias significativas en su LT (Tukey, $P < 0.05$) con respecto a las larvas eclosionadas a 31 y 25 °C. A las 24 HDE las larvas mantenidas a 31 °C presentaron mayor LT que las larvas cultivadas a 25 °C (Tukey, $P < 0.05$); las larvas a 28 °C no presentaron diferencias significativas en su LT con las larvas del tratamiento de 25 °C (Tukey, $P < 0.05$). A las 48 HDE las larvas en 25 °C no sobrevivieron; sin embargo, a las 72 HDE las larvas en 31 °C tampoco sobrevivieron, solo las larvas a 28 °C, presentando una LT de 2.6 mm.

La absorción de las reservas endógenas es mayor con el incremento de la temperatura (Cuadro 7), el volumen del vitelo y de la gota de aceite en las larvas eclosionadas a 31°C, tanto al eclosionar como a las 24 HDE fue significativamente menor ($P < 0.05$) a las larvas eclosionadas y mantenidas a 28 y 25 °C; a las 48 HDE no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en el volumen del vitelo y gota e aceite en las larvas cultivadas a 28 y 31°C. La tasa de consumo tanto del vitelo como

de la gota de aceite a las 24 HDE fue significativamente mayor (Tukey, $P < 0.05$) en las larvas a 31 °C. Sin embargo, a las 48 HDE no se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la tasa de consumo de las reservas endógenas entre las larvas a 31 y 28 °C. A las 72 HDE las larvas cultivadas a 28 °C consumieron totalmente su vitelo y gota de aceite. Dado que las larvas a 25 y 31 °C no sobrevivieron a las 72 HDE, solo se muestra la relación empírica entre el volumen del vitelo y de la gota de aceite de las larvas a 28 °C durante el tiempo de experimentación. El modelo que mejor se ajustó a los resultados obtenidos en relación al consumo de vitelo fue el de raíz cuadrada-X (Fig. 11); para el consumo de la gota de aceite el modelo que mejor se ajustó fue el de Y-inversa X^2 (Fig.12).

Cuadro 7. Resultados de VSV, TCV, VGA, TCGA, en las larvas de *L. guttatus* obtenidas en las diferentes temperaturas evaluadas.

Tiempo (HDE)	Temp °C	VSV (mm ³)	TCV (%)	VGA (mm ³)	TCGA (%)
0	21	N/D	N/D	N/D	N/D
0	25	0.090±0.06 ^b		0.00082±0.0002 ^b	
0	28	0.086±0.124 ^b		0.00078±0.0002 ^{ab}	
0	31	0.073±0.008 ^a		0.00068±0.0002 ^a	
24	25	0.025±0.014 ^b	72.22±1.4 ^a	0.00029±0.00019 ^b	64.63±1.0 ^a
24	28	0.022±0.015 ^a	74.41±1.5 ^a	0.00024±0.00025 ^b	69.23±1.2 ^a
24	31	0.009±0.007 ^a	87.67±1.1 ^b	0.000072±0.00007 ^a	89.41±1.0 ^b
48	25	N/D	N/D	N/D	N/D
48	28	0.00075±0.0006	99.12	0.0000076±0.000001	99.02
48	31	0.00070±0.0002	99.04	0.0000064±0.000002	99.05
72	28	Sin vitelo		Sin gota de aceite	
72	31				

Promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes entre columnas muestran las diferencias significativas ($P < 0.05$). HDE: Horas después de la eclosión.

El tamaño que alcancen las larvas de peces al momento de la absorción total del saco vitelino, cuando se lleva el cambio de alimentación endógena a exógena, es muy importante para su supervivencia, ya que las larvas de mayor tamaño durante este periodo de transición pueden aumentar su capacidad para competir por el alimento y evitar la depredación (Blaxter y Hempel, 1963; Johns *et al.*, 1981; Heming y Buddington, 1988). Se ha demostrado que la tasa de crecimiento en las larvas de peces se acelera al aumentar la temperatura (Kaminski *et al.*, 2006; Yoseda *et al.* 2006). En el presente estudio las larvas de pargo flamenco presentaron mayor talla (LT) a mayor temperatura; sin embargo, la supervivencia también fue afectada con la temperatura; en las temperaturas extremas evaluadas (25 y 31 °C) las larvas no sobrevivieron a las 48 y 72 HDE, respectivamente; lo cual también ha sido observado en otras especies de peces (Baraginao, 1986; Shi *et al.*, 2010; Prokesová *et al.*, 2015).

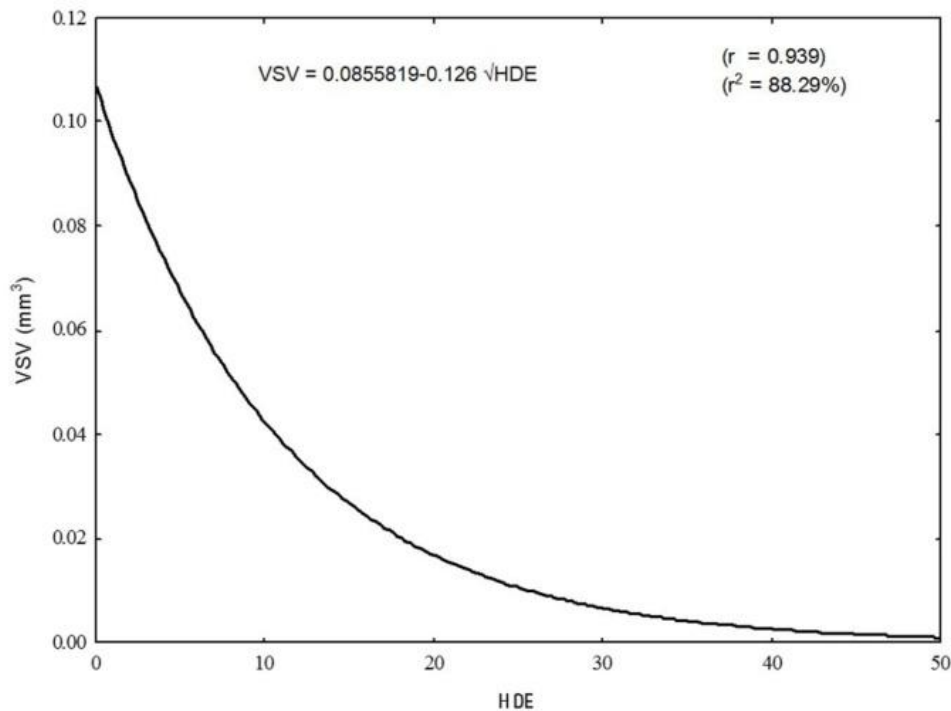


Figura 10. Volumen del saco vitelino de las larvas de *L. guttatus* a 28°C y a diferentes horas después de la eclosión.

Las reservas nutricionales se acumulan en el huevo (vitelo y gota de aceite) durante la maduración del ovocito en el ovario de las hembras de peces y tienen una doble función: formación de estructuras durante el desarrollo del embrión y mantenimiento del metabolismo energético (Blaxter y Hempel, 1966). El vitelo está compuesto de 90% de agua, 50-85% de proteína en peso seco, 12-15% de lípidos y menos de 1% de carbohidratos (Heming y Buddington, 1988). La fase de nutrición endógena en los peces, es la primera de las tres fases de adquisición de nutrientes, antes de que se lleve a cabo la alimentación exógena. La duración del periodo de nutrición endógena es muy variable entre las especies (Jaroszewska y Dabrowski, 2011). Tanto la tasa de absorción como la eficiencia de utilización del vitelo son determinantes en el desarrollo inicial, crecimiento y supervivencia de las larvas de peces. Son afectados por un número de factores tales como la temperatura, la luz, la concentración de oxígeno y la salinidad (Heming y Buddington, 1988).

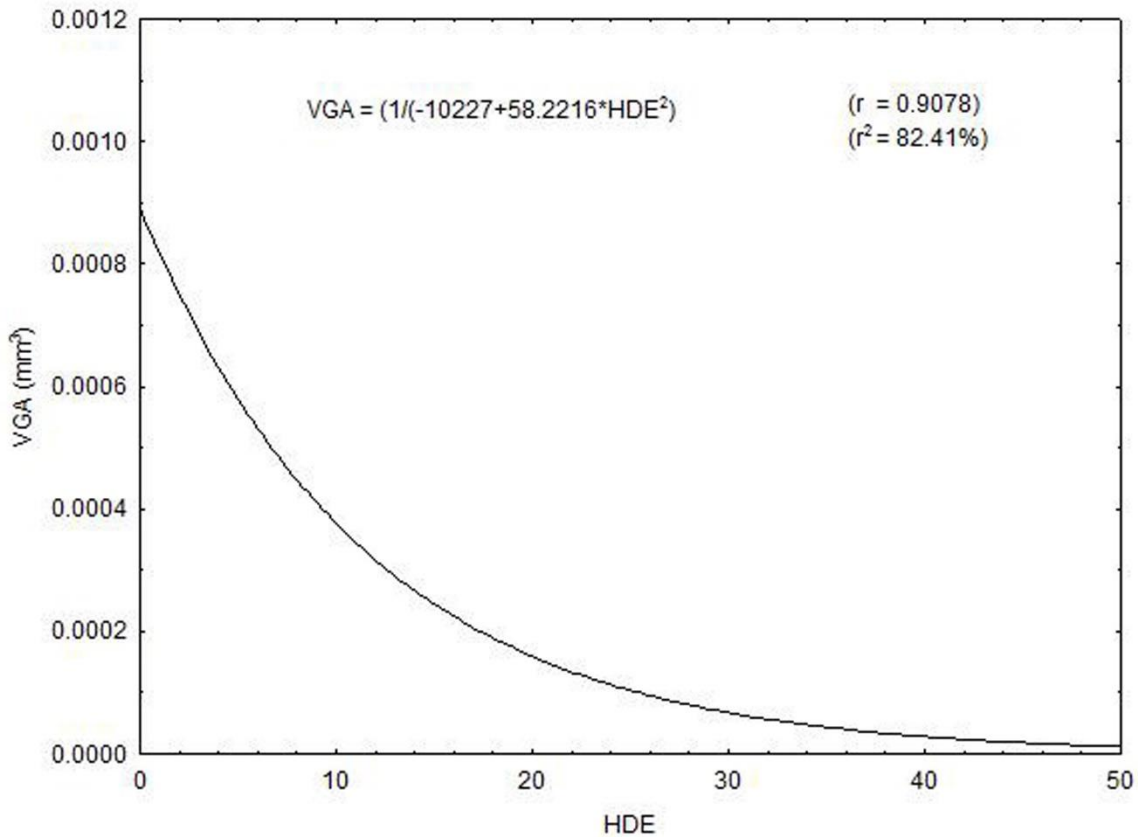


Figura 11. Volumen de la gota de aceite de las larvas de *L. guttatus* a 28°C y a diferentes horas después de la eclosión.

De manera general, el consumo de vitelo se ha caracterizado en muchos teleósteos por presentar tres fases de absorción. La primera fase, también llamada fase de pre-eclosión, es caracterizada por un suave pero constante incremento en la tasa de absorción de vitelo, donde el saco de vitelo y el glóbulo de aceite son consumidos en aproximadamente la misma proporción (Kamler, 2008). Justo un poco antes y al momento de la eclosión, la tasa de absorción de vitelo se incrementa rápidamente, probablemente en respuesta al aumento de la superficie de absorción debido a los cambios en la forma del saco vitelino o bien al aumento en la actividad metabólica del sincitio (Kamler, 1992). Esto marca el inicio de la segunda fase o fase posteclosión, y es caracterizada por una relativamente alta y constante tasa de absorción. Dado que se aproxima el agotamiento del saco de vitelo, su tasa de absorción disminuye, probablemente en respuesta a la disminución de la superficie del

área de absorción por el encogimiento del saco de vitelo o al cambio en la composición del vitelo (Kamler, 2008). De esta forma da inicio la tercera fase o fase terminal de absorción, en la cual, el glóbulo de aceite es preferentemente consumido (Heming y Buddington, 1988). Este patrón de consumo de reservas vitelinas fue observado en el presente trabajo, en las primeras 24 HDE la tasa de consumo del vitelo por las larvas fue superior al 70% en las tres temperaturas evaluadas; posteriormente la tasa de absorción fue más lenta. En cambio, la tasa de consumo de la gota de aceite fue menor en las primeras 24 HDE a 25 y 28 °C (64 y 69%, respectivamente) que la tasa de consumo de vitelo; este mismo patrón se ha reportado para diferentes especies como *Chanos chanos*, *Lates calcarifer*, *Siganus guttatus* (Bagarinao, 1986); *Lutjanus campechanus* (Williams *et al.*, 2004), *Pagrus pagrus* (Aristizabal, 2006), *L. peru* (Peña *et al.*, 2014; Estrada-Godínez *et al.*, 2015), *C. undecimalis* (Barón-Aguilar *et al.*, 2015), *M. merluccius* (Guevara-Fletcher *et al.*, 2017), entre otras. Las proteínas del vitelo se consumen más rápido para desarrollar funciones específicas como formación de tejido y los lípidos se preservan como reserva de energía, reguladores hormonales, etc. (Kamler, 2008). Los factores que afecten la actividad metabólica del sincitio también afectan, de manera directa, la tasa de absorción del vitelo. Esta, se incrementa por el efecto de la temperatura fuera del rango óptimo de la especie (Heming y Buddington, 1988; Kamler, 2002; Pittman *et al.*, 2013). Además, el efecto de la temperatura sobre la eficiencia en la utilización del vitelo no presenta un patrón definido ya que la temperatura tiene un efecto especie-específico, por ejemplo en la cabrilla sardinera (Gracia-López *et al.*, 2004), robalo (Barón-Aguilar *et al.*, 2015) y huachinango (Peña *et al.*, 2014; Estrada-Godínez *et al.*, 2015), las larvas presentaron una mayor longitud a baja temperatura y el consumo de vitelo y gota de aceite fue mayor a temperaturas altas; en otras especies como la merluza (Guevara-Fletcher *et al.*, 2017) la mayor longitud se presentó en la temperatura más alta así como el consumo de vitelo y gota de aceite, como fue el caso en el presente estudio; sin embargo, existen otros factores que podrían afectar los parámetros evaluados en este estudio, los cuales no fueron considerados, como por ejemplo, el choque térmico que pudieron recibir los huevos al momento de la transferencia del tanque de colecta al sistema de experimentación,

como lo mencionan Prokesova *et al.* (2015). No existen trabajos publicados hasta la fecha, que evalúen este efecto en los huevos de pargo flamenco.

4.6. CONCLUSIONES

Este trabajo demostró la influencia de la temperatura sobre el tiempo de eclosión, talla, supervivencia, consumo del vitelo y gota de aceite de las larvas de pargo flamenco. De acuerdo a los resultados obtenidos, se infiere que la temperatura para la incubación y cultivo de larvas vitelinas del pargo flamenco se debe llevar a cabo alrededor de los 28°C para un adecuado proceso de eclosión, crecimiento y consumo de sus reservas energéticas y puedan lograr una exitosa transición a la alimentación exógena.

4.7. LITERATURA CITADA

- Abdo de la Parra, M. I., L. E. Rodríguez Ibarra, F. Campillo-Martínez, B. Velasco-Blanco, N. García-Aguilar, L. Álvarez-Lajonchère y D. Voltolina. 2010. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento y supervivencia larval del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). *Rev. Biol. Mar. Ocean.* 45(1): 141-146.
- Abdo-de la Parra, M. I., I. Martínez-Rodríguez, B. González-Rodríguez, L. E. Rodríguez-Ibarra, N. Duncan y C. Hernández. 2012. Efecto de la temperatura y salinidad del agua en la incubación de huevos de botete diana *Sphoeroides annulatus*. *Rev. Biol. Mar. Ocean.* 47(1): 147-153.
- Ahn, H., Y. Yamada, A. Okamura, N. Hori, N. Mikawa, S. Tanaka, y K. Tsukamoto. 2012. Effect of water temperature on embryonic development and hatching time of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquacult.* 330-333: 100-105.
- Alvarez-Lajonchere, L. S., M. I. Abdo de la Parra, L. E. Rodríguez Ibarra, G. Velasco Blanco, A. Puello Cruz, B. González- Rodríguez, A. Ibarra Soto y L. Ibarra Castro. 2012. The Scale-up of Spotted Rose Snapper, *Lutjanus guttatus*, Larval Rearing at Mazatlan, Mexico. *JWAS.* 43(3): 411-421.
- Aristizabal, O. E. 2006. Consumo de oxígeno, crecimiento y utilización del alimento durante el desarrollo larval del besugo *Pagrus pagrus* (linné 1758) (pisces: sparidae). *Rev. Biol. Mar. Ocean.* 41(2): 209-222.

- Azocar, C., G. Claramunt, F. Yañez y M. Futagawa. 2014. Efecto de la temperatura sobre el desarrollo embrionario y larval de *Graus nigra* (Kyphosidae) del norte de Chile. *Rev. Biol. Mar. Ocean.* 49(1): 11-122
- Baraginao T. 1986. Yolk resorption, onset of feeding and survival potential of larvae of three tropical marine fish species reared in hatchery. *Mar. Biol.* 91: 449-459
- Barón-Aguilar, C., C. Rhody, N. P. Bremman, K. L. Main, E. B. Peebles y F. E. Muller-Karger. 2015. Influence of 72alabar72ure on yolk resorption in common snokk *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) larvae. *Aquacult. Res.* 46: 1679-1687.
- Benetti, D. y E. Wilson. 1996. Estado actual y perspectivas del cultivo de peces marinos en el Ecuador. In: A. Silva y G. Merino (eds.). *Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso Latinoamericano de Acuicultura. 2º Simposio Avances y Perspectivas de la Acuicultura en Chile.* Coquimbo, pp. 5-14.
- Blaxter, J. H. S. 1992. The effect of temperature on larval fishes. *Netherl. J. Zool.* 42: 336–357
- Blaxter, J. H.S, y G. Hempel. 1966. Utilization of yolk by herring larvae. *J. Mar. Biol.* 46: 219–234
- Boza-Abarca, J., E. Calvo-Vargas, N. Solís-Ortiz y J. Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. *Cienc. Mar.* 34: 239-252.
- Brown, C. A., C. T. Gothreaux, y C. C. Green. 2011. Effects of temperature and salinity during incubation on hatching and yolk utilization of Gulf *killifish* *Fundulus grandis* embryos. *Aquacult.* 315: 335–339
- Cano, A. 2003. Reproduction in captivity and cultivation of the Pacific rose spotted snapper *Lutjanus guttatus* in the Republic of Panama. *World Aquaculture 2003. Proceedings WAS.* Pp. 153.
- Das, T., P. Chakraborty, P. S. Manush, S. M. Dalvi, K. Sarma y S. C. Mukherjee. 2006. Thermal dependence of embryonic development and hatching rate in *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Aquacult.* 255: 536–541
- Estrada-Godínez, J. A., L. D. Moreno-Figueroa, M. Maldonado-García, J. C. Pérez-Urbiola, J. Romero-Rodríguez y A. Audelo-Naranjo. 2015. *LAJAR.* 43(1): 137-145
- Fukuhara, O. 1990. Effects on temperature on yolk utilization, initial growth and behavior of unfed marine fish larvae. *Mar. Biol.* 106: 169-174.
- García-Ortega, A., I. Abdo de la Parra, N. Duncan, E. Rodríguez-Ibarra, G. Velasco, B. González-Rodríguez, A. Puello-Cruz y I. Martínez-Rodríguez. 2005. Larval

- rearing of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions. In: C.I. Hendry, G. Van Stappen, M. Willey y P. Sorgeloos (eds.). Larvi fish and shellfish larviculture Symposium EAS. Pubn. 36. Bélgica. Pp. 172-175.
- Gracia-López, V., M. Kiewek-Martínez y M. Maldonado-García. 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquacult.* 237: 485-498.
- Guevara-Fletcher, C., O. Alvarez, J. Sánchez y J. Iglesias. 2017. The effect of temperature on the development of yolk-sac larvae of European hake (*Merluccius merluccius* L.) under laboratory conditions. *Aquacult. Res.* 48(4): 1392-1405
- Hardy, R. S. y M. Livak. 2004. Effects of temperature on the early development, growth and survival of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus*, yolk sac larvae. *Environ. Biol. Fish.* 70: 145-154
- Hart, P. R. y G. J. Purser. 1995. Effects of salinity and 73alabar73ure on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea 73alabar73* Gunter, 1862). *Aquacult.* 136: 221-230
- Heming T. A. y R. K. Buddington. 1998. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Hoar, W.S. y D. J. Randall. *Fish Physiology*. Vol XI The physiology of developing fish. Part A. Eggs and Larvae. Academic Press, Inc. San Diego, USA: pp: 408-447
- Hempel, G. 1979. Early life history of marine fish, Washington Sea Grant Publication. University of Washinton Press. Seattle, USA. 70 p
- Hui, W., L. Guodong, L. Jiahui, Y. Hongshuai, Q. Jun y X. Pao. (2015). Combined effects of temperature and salinito n yolk utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquacult. Res.* 46: 2418-2425
- Ibarra-Castro, L y L. Álvarez-Lajonchère. (2011). GnRha-induced multiple spawns and volition spawning of captive Spotted Rose Snapper, *Lutjanus guttatus*, at Mazatlan, Mexico. *JWAS*: 42(4): 564-574.
- Ibarra-Castro, L., L. Muñoz-Meza y L. Álvarez-Lajonchère. 2012. Estudios sobre el manejo e incubación de huevos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Pisces, Lutjanidae). *Hidrobiol.* 22 (1): 49-57.
- Jaroszewska, M. y K. Dabrowski, K. 2011. Utilization of yolk: transition from endogenous to 73alabar73u nutrition in fish. In: *Larval Fish Nutrition* (Ed. Holt, G. J.). John Wiley & Sons. UK. Pp. 183-218

- Jaworski, A. y E. Kamler. 2002. Development of a bioenergetics model for fish embryos and larvae during the yolk feeding period. *J. Fish Biol.* 60: 785–809.
- Johns, D. M., I. Howell y G. Klein-MacPhee. 1981. Yolk Utilization and Growth to Yolk-Sac Absorption in Summer Flounder (*Paralichthys dentatus*) Larvae at Constant and Cyclic Temperatures. *Mar. Biol.* 63: 301-308.
- Kaminski, R., E. Kamler, M. Korwin-Kossakowski, L. Myszkowski y J. Wolnicki. 2006. Effects of different incubation temperatures on the yolk-feeding stage of *Eupallasella percnurus* (Pallas). *J. Fish Biol.* 68: 1077-1090.
- Kamler, E. 1992. Early life history of fish. An energetics approach. Chapman and Hall. London. UK. 267 p.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews Fish Biol. Fish.* 12: 79–103.
- Kamler, E. 2008. Resource allocation in yolk-feeding fish. *Reviews Fish Biol. Fish.* 18: 143-200.
- Maslova, O. N. 2011. Dynamics of chemical composition of the black sea gray mullet *Mugil cephalus* in the period of early yolk-sac and its dependence on salinity. *J. Ichthyol.* 51(5): 382-391.
- Peña, R., S. Dumas, I. Zavala-Leal y M. Contreras-Olguín. 2014. Effect of incubation on the embryonic development and yolk-sac larvae of the pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). *Aquacult. Res.* 45: 519-527.
- Petereit, C., H. Haslob, G. Kraus y C. Clemmesen. 2008. The influence of temperature on the development of Baltic Sea sprat (*Sprattus sprattus*) eggs and yolk sac larvae. *Mar. Biol.* 154: 295–306
- Pittman, K., M. Yúfera, M. Pavlidis, A. J. Geffen, W. Koven, L. Ribeiro, J. L. Zambonino-Infante y A. Tandler. 2013. Fantastically plastic: fish larvae equipped for a new world. *Reviews Aquacult.* 5(1): 224-267.
- Prokesová, B., B. Drozd, J. Kouril, V. Stejskal y J. Matousek. 2015. Effect of water temperature on early life history of African sharp-tooth catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) *J. Appl. Ichthyol.* 31(2): 18–29.
- Shi, Y-H., G-Y. Zhang, Y-Z. Zhu, J-Z. Liu y W-L. Zang. 2010. Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquacult. Res.* 41(12): 1741-1747.

- Stickney, R. R. 2000. Temperature. En Stickney, R. R (ed). Encyclopedia of Aquaculture. John Willey & Sons, New York. USA. Pp: 929-934
- Valverde, S. y J. Boza. 1999. Inducción al desove en hembras del pargo mancha, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). Uniciencia. 15-16: 65-69.
- Williams, K., N. Papanikos, R.P. Phelps y J. D. Shardo. 2004. Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus camperechanus* larvae. Mar. Ecol. Prog. Series. 275: 231-239
- Yoseda, K., S. Dan, T. Sugaya, K. Yokogi, M. Tanaka y S. Tawada. 2006. Effects of 75alabar75ure and delayed initial feeding on the growth of 75alabar grouper (*Epinephelus malabricus*) larvae. Aquacult. 256: 192-200.
- Zavala I. 2011. Caracterización bioquímica del consumo de reservas vitelinas en peces teleósteos de ontogenia indirecta. Rev. Elect. Vet. 12 (3): 1-32.
- Zar J. H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall, Upper Saddle River, USA: 660 pp

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENEALES Y PERSPECTIVAS

5.1. CONCLUSIONES GENERALES

5.1.1. Oxígeno

El consumo de oxígeno por las larvas de *L. guttatus* es mayor en los primeros 5 días de edad, lo cual coincide con la absorción del saco vitelino, apertura de la boca y el inicio de la alimentación exógena, lo cual sugiere, que en esta etapa las larvas requieren más energía para llevar a cabo estos procesos fisiológicos. El consumo de oxígeno aumentó ligeramente los días 14, 19 y 30 DE, asociado con en el momento de preflexión, flexion y postflexión, indicando que las demandas metabólicas en estos cambios morfológicos son mayores. La tasa de consumo de oxígeno disminuyó con el incremento de la biomasa de las larvas, demostrando que los organismos con menor biomasa consumen más oxígeno por unidad de masa.

Estos resultados serán de utilidad para poder calcular el consumo de oxígeno en el cultivo masivo de larvas de pargo flamenco y aumentar la supervivencia, asegurando una adecuada concentración de oxígeno disuelto en el agua, sobre todo durante el periodo comprendido entre el consume del saco vitelino, inicio de la alimentación exógena, preflexión, flexion y postflexión de la notocorda.

5.1.2. Composición proximal y perfil de aminoácidos.

El contenido total de lípidos fue mayor en los huevos fertilizados y disminuyó en las larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo; en cambio el contenido de proteína fue mayor en las larvas sin vitelo. Estos cambios en la composición bioquímica en huevos y larvas de *L. guttatus* son similares a otras especies de teleosteos. Estos resultados de los cambios en la composición bioquímica de los primeros estadios de larvas de pargo flamenco serán de gran ayuda para comprender mejor las necesidades nutricionales para el comienzo de la alimentación exógena.

La concentración de histidina, arginina y metionina fue mayor en los huevos, disminuyendo conforme el desarrollo de la larva; la cantidad de el resto de los AEE fue mayor en las larvas sin vitelo. En cuanto a los AANE, la concentración de taurina en

los huevos fue mayor que en los estadios larvales evaluados al contrario del resto de los AANE analizados.

Los resultados en el perfil de aminoácidos de huevos y larvas en los primeros estadios de *L. guttatus* obtenidos en el presente trabajo pueden ser considerados para poder formular dietas que cubran sus requerimientos de AA.

5.1.3. Consumo de las reservas energéticas

El presente trabajo, demostró el efecto de la temperatura sobre la incubación, tiempo de eclosión, talla, supervivencia, consumo del vitelo y gota de aceite de las larvas de *Lutjanus guttatus*.

Los huevos incubados a 22°C no eclosionaron, en el resto de los tratamientos evaluados se obtuvieron similares porcentajes de eclosión; sin embargo, las larvas incubadas a 31°C iniciaron a eclosionar antes que el resto de los otros tratamientos, presentando mayor LT que las larvas a 25°C. Las larvas a 25 y 31°C no sobrevivieron a las 48 y 72 HDE, respectivamente. La tasa de absorción de las reservas endógenas se incrementó con la temperatura.

Los resultados obtenidos sugieren que la temperatura para la incubación y cultivo de larvas vitelinas del pargo flamenco se debe llevar a cabo a los 28°C para lograr la sobrevivencia del embrión, eclosión, crecimiento y consumo adecuado de sus reservas energéticas y puedan lograr una exitosa transición a la alimentación exógena.

5.2. PERSPECTIVAS.

Aunque ya se han logrado avances muy significativos en el cultivo larvario del pargo flamenco en el CIAD, Mazatlán, produciendo miles de juveniles, aún es necesario optimizar algunos procesos de la tecnología de producción. En este sentido, se propone, entre otros aspectos:

1. Mejorar la nutrición de los reproductores para aumentar la calidad de los gametos obtenidos y en consecuencia incrementar la supervivencia de las larvas producidas.
2. Implementar un programa de selección de reproductores.

3. Determinar los procesos de la biología del desarrollo (organogénesis, esqueletogénesis, conducta, etc.) que permitirán determinar los requerimientos biológicos de las larvas para poder proponer protocolos de cultivo en los que se logre la máxima supervivencia posible y obtener juveniles de buena calidad.
4. Diseñar y evaluar un sistema de soporte de vida en circuito cerrado para la larvicultura, que permita manipular temperatura, luz, etc.
5. Evaluar el rotífero *Proales similis* en la primera alimentación de las larvas.
6. Evaluar dietas micro encapsuladas diseñadas específicamente para la especie adicionadas con pre y probióticos.
7. Implementar un programa de repoblación de juveniles de pargo flamenco, en las costas del Pacífico Mexicano.