

DISEÑO DE MICRODIETAS PARA EL LARVICULTIVO DE PEJELAGARTO *Atractosteus tropicus*, Gill 1863

Design of microdiets for the larviculture of tropical gar *Atractosteus tropicus*, Gill 1863

CA Frías-Quintana, CA Álvarez-González ✉, G Márquez-Couturier

(CAAG) Laboratorio de Acuicultura Tropical División Académica de Ciencias Biológicas. UJAT. 0.5 km. carretera Villahermosa - Cárdenas, Villahermosa 86139 Tabasco, México. alvarez_alfonso@hotmail.com

Artículo recibido: 29 de octubre de 2009, **aceptado:** 6 de noviembre de 2010

RESUMEN. Se evaluaron varios alimentos microparticulados en el crecimiento y supervivencia de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*, donde previamente se estudió el grado de hidrólisis (GH) y la liberación de aminoácidos totales (AALT) de diversos ingredientes, usando extractos multienzimáticos de larvas de tres edades (9, 15 y 31 días después de la eclosión). Los resultados muestran que en las tres edades los mayores GH's se obtuvieron para la harina de camarón y jaiba, mientras que la mayor AALT se obtuvo para el hidrolizado de pescado. A partir de estos resultados, se diseñaron cinco dietas elaboradas con 1) harina de pescado (DP), 2) harina de calamar (DCa), 3) combinación de la harina de cerdo y pollo (DR), 4) combinación de la harina de pescado con gluten de trigo (DP/T), 5) combinación de la mezcla de las harinas de cerdo y pollo con gluten de trigo (DR/T), además de una dieta para trucha (DCo). Previo a su evaluación *in vivo*, se les determinaron sus valores de GH y AALT a cada dieta, donde la DCa tuvo el mayor GH, mientras que la mayor AALT se obtuvo con la DR/T. La evaluación *in vivo*, de las dietas indica que las larvas alimentadas con la DP y DR tuvieron el mayor crecimiento y supervivencia (105 mm, 75% y 98 mm, 68% respectivamente) en comparación con los demás tratamientos. Los resultados indican que la utilización de alimentos diseñados en base a la fisiología digestiva permiten mejorar el crecimiento y la producción de juveniles de *A. tropicus*.
Palabras clave: *Atractosteus tropicus*, dietas, digestibilidad *in vitro*, aminoácidos, larvicultivo, crecimiento, supervivencia.

ABSTRACT. Several microparticulated diets (MPD) were evaluated with respect to the growth and survival of tropical gar *Atractosteus tropicus* larvae. Previously, the degree of hydrolysis (GH) and the total free amino acid content (AALT) of various ingredients were analysed, using multienzymatic extracts of larvae of three ages (9, 15 and 31 days after hatching). Results show that, for the three ages, the highest GHs were recorded for the shrimp and swimming crab meals, and the highest AALT was obtained for the hydrolysed fish. Considering these results, five diets were designed: 1) fish meal (DP), 2) squid meal (DCa), 3) a combination of pork and poultry meals (DR), 4) a combination of fish meal and wheat gluten (DP/T), 5) a combination of pork and poultry meals and wheat gluten (DR/T), and a trout diet (DCo). Previous to the *in vivo* evaluation, the values of GH and AALT were determined for each diet. The DCa recorded the highest GH, and the greatest AALT was recorded for the DR/T. The *in vivo* evaluation indicated that the larvae fed the DP and the DR obtained the greatest growth and survival (105 mm, 75% and 98 mm, 68% respectively), in comparison with the other treatments. The results indicate that the use of designed feeds based on digestive physiology makes it possible to improve the growth and production of *A. tropicus* juveniles.

Key words: *Atractosteus tropicus*, diets, *in vitro* digestibility, amino acids, larviculture, growth, survival.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en México específicamente en el Sureste, tienen un gran potencial, especialmente en las especies dulceacuícolas nativas entre las que

se encuentra el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*), donde su producción a escala comercial se ha visto limitado por diversos factores, entre los cuales destacan la carencia de estudios respecto al desarrollo de alimentos específicos para la especie, principalmen-

te durante la etapa larvaria, que permitan maximizar su crecimiento y supervivencia, e incrementar la producción de crías a escala masiva para la engorda ya sea por empresas sociales o privadas (Márquez-Couturier et al. 2006). En el ámbito de la alimentación y nutrición de *A. tropicus*, se han realizado una gran cantidad de estudios sobre la utilización de presas vivas, principalmente nauplios de *Artemia*, así como la adaptación al consumo de alimento artificial para trucha (Silver Cup), evaluando su crecimiento y supervivencia (Díaz & Otero 1991; García et al. 1997; Rodríguez et al. 1997; Hernández 1999; López et al. 2005; Márquez-Couturier et al. 2006; Álvarez-González et al. 2007). En este aspecto, los avances permiten mejorar la supervivencia de las larvas al usar presas vivas para obtener altas supervivencias (50 %); sin embargo, al utilizar el alimento artificial para trucha, solamente una parte de la población de larvas lo consumen, mientras que el resto al rechazarlo pueden morir por inanición o pueden presentar canibalismo. De esta manera, si se busca mejorar el proceso de producción de semilla, es fundamental desarrollar alimentos específicos para las larvas al utilizar la información sobre su capacidad digestiva y determinar el potencial de los diversos ingredientes. En este aspecto, los estudios de digestibilidad *in vitro* utilizan la técnica de pH-STAT (Dimes & Haard 1994), la cual simula las condiciones del tracto digestivo de los organismos y permite evaluar los diversos ingredientes (harinas y aceites) y seleccionar los más adecuados para formular dietas más eficientes (Alarcón et al. 2002), las cuales pueden utilizarse en el cultivo de los organismos. Algunos de estos estudios se realizan con éxito en diversos crustáceos (Casillas-Hernández 2002; Syama et al. 2003; Lemos et al. 2004), así como en las larvas y juveniles de peces marinos y dulceacuícolas, como son los de Alarcón et al. (2002) con la dorada (*Sparus aurata*), Oña et al. (2003) con el híbrido del dentón (*Dentex X Pagrus*), Álvarez-González (2003) con la cabrilla arenera (*Paralabrax maculatofasciatus*), Aguilera et al. (2005) con el catán (*Atractosteus spatula*), Ávalos-Sánchez (2006) con el pez blanco (*Chirostoma estor*) y Concha-Frías (2007) con el róbalo (*Centropomus undecimalis*), donde a partir de la digestibilidad de los ingredientes se pueden selec-

cionar los más adecuados para posteriormente probarlos *in vivo* en los organismos. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la digestibilidad *in vitro* de diversos ingredientes proteínicos, así como la evaluación *in vivo* de dietas artificiales diseñadas para mejorar el crecimiento, supervivencia e índices de calidad del alimento de larvas de *A. tropicus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se dividió en dos etapas: la primera parte comprendió la determinación de la digestibilidad *in vitro* de ingredientes proteínicos en diferentes edades de las larvas de *A. tropicus*, así como de varias dietas microparticuladas (DMP) usando el método de pH STAT, y la segunda parte consistió de la evaluación *in vivo* de las DMP específicamente diseñadas durante el larvicultivo de esta especie.

Etapa 1: Digestibilidad *in vitro* de ingredientes proteínicos

Reproducción y larvicultivo

Las larvas de *A. tropicus* se obtuvieron a partir de un desove inducido de reproductores (1 hembra 3.5 kg de peso promedio y 3 machos 1.5 kg de peso promedio) mediante una inyección intramuscular de la hormona LHRHa (35 $\mu\text{g kg de pez}^{-1}$) en la aleta pélvica y que se mantuvieron en tanques circulares de 2 000 L (0.6 m de alto por 2 m de diámetro). Los reproductores provenían de un lote que se mantiene con condiciones de cautiverio en el Laboratorio de Acuicultura Tropical en la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACBIOL-UJAT). Posterior al desove (16 horas post-inducción), los reproductores se retiraron de las tinas, para mantener únicamente los huevos hasta su eclosión (día 3 post-fertilización, 0 días después de la eclosión, DDE). Una vez realizada la eclosión, los eleuteroembriones se colocaron en 30 tanques de plástico circulares de 70 L, acoplados a un sistema de recirculación que consta de un reservorio de 1500 L que funciona como sedimentador de sólidos y filtro biológico, además de una bomba centrífuga de $\frac{3}{4}$ HP (Jacuzzi, JWPA5D-230A, Delavan WI, USA), un filtro de arena sílica (STA-RITE,

S166T, Delavan WI, USA), y dos termostatos de titanio (PSA, R9CE371, Delavan WI, USA). La calidad del agua del sistema se monitoreó diariamente durante todo el larvicultivo, se mantuvo un registro diario de la temperatura (29 °C), el oxígeno disuelto (6.43 mg L⁻¹) y el pH (6.7) mediante un oxímetro (YSI 85, Ohio, USA) y un potenciómetro (HANNA HI 991001, Romania, Europa) respectivamente. El esquema de alimentación, inició a partir de la absorción del vitelo (2 DDE) hasta los 17 DDE, donde se les proporcionó una alimentación a base de nauplios de *Artemia* (2-5 nauplios ml⁻¹), la cual se realizó cinco veces al día (8:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 18:00 h), y a partir del día 18 DDE se les proporcionó parcialmente alimento artificial para trucha (TD, Silver Cup, 45 % proteína y 16 % lípidos) mezclando la dieta con nauplios de *Artemia* congelados (30 % alimento artificial:70 % nauplio), para el día 19 DDE se mezcló 50 % de alimento artificial y 50 % de nauplio, para el día 20 DDE se les proporcionó una mezcla de 70 % de alimento artificial y 30 % de nauplio, y finalmente a partir del día 21 hasta el 31 DDE se les proporcionó el 100 % de alimento artificial utilizando la granulometría adecuada en relación al tamaño de la boca de las larvas (250-500, 500-750 y > 750 μm).

Toma de muestras y preparación de extractos multienzimáticos

Se tomaron muestras de larvas en cultivo a los 9 (50 ind tanque⁻¹), 15 (30 ind tanque⁻¹), y 31 (10 ind tanque⁻¹) DDE, las cuales se sacrificaron con una sobredosis (> 0.1 mg ml⁻¹) del anestésico metasulfonato de tricaina (MS-222, Argent, Redmond, WA, USA), para después disectarlas y preparar los extractos multienzimáticos. La extracción de las enzimas se realizó macerando en agua destilada (30 mg de tejido en base húmeda ml⁻¹) el paquete visceral (al disectar cabeza y cola de cada larva) del lote de larvas de cada edad, para lo cual se utilizó un homogenizador de tejidos (IKA, Ultra Turrax basic T18, North Chase, Wilmington, USA). Posterior a esto, las muestras se centrifugaron a 16,000 g por 30 min a 5 °C, se recuperó la parte acuosa y subdividió cada muestra en dos partes, a la primera se le ajustó el pH a 3.5 (activación de proteasas gástricas) y

la segunda a un pH de 8 (activación de proteasas alcalinas) respectivamente y se almacenaron a -20 °C hasta su utilización.

Posteriormente, se determinaron las unidades de actividad enzimática de proteasas ácidas (pepsina) por el método de Anson (1938) al emplear como sustrato hemoglobina (0.5 %) en una solución tampón Glicina-HCl 100 mM a pH 2. La proteasa alcalina se determinó con la técnica de Walter (1984) al utilizar caseína al 0.5 % en tampón Tris-HCl 50 mM, CaCl₂ 10 mM a pH 9 como sustrato. Las mezclas se incubaron a 37 °C durante 30 min la reacción se detuvo por adición de 0.5 ml de ácido tricloroacético (TCA, 20 %), se centrifugó a 14,000 rpm durante 15 min y la absorbancia de los productos de reacción se midió a 280 nm. La unidad de actividad enzimática (UAE ml de solución⁻¹) se definió como 1 μg de tirosina que se liberó por minuto, esto con base en el coeficiente de extinción molar (0.005) (Alarcón 1997).

Evaluación de la digestibilidad *in vitro* de ingredientes

Para la determinación de la digestibilidad *in vitro* se utilizaron diversos ingredientes proteínicos de origen animal y vegetal de uso común durante la fabricación de alimentos para acuicultura, con un contenido mínimo de 30 % de proteína cruda (Tabla 1). Con los extractos multienzimáticos, que se obtuvieron previamente, se determinó el grado de hidrólisis (GH) de los ingredientes proteínicos de acuerdo a la metodología propuesta por Saunders *et al.* (1972) y modificada por Dimes & Haard (1994), los valores de actividad se estimaron considerando la relación existente entre la actividad de proteasas totales. El grado de hidrólisis de cada ingrediente se determinó automáticamente con un pH-STAT (718 Stat Titrimo, Metrohm, Suiza), para lo cual se preparó una solución que contenía 40 mg de proteína en un volumen final de 5 ml (8 mg de proteína · ml de agua destilada⁻¹). La digestibilidad ácida (extractos multienzimáticos ajustados a pH 3.5) se evaluó por 15 min (900 s) donde se utilizó 50 UAE ml⁻¹, para lo cual se registró el gasto de HCl 0.1 N, antes de la aplicación del extracto multienzimático (tiempo 0) y cada 100 s, mientras que para la digestibilidad

Tabla 1. Porcentaje de proteína (%) de los ingredientes utilizados comúnmente en la fabricación de alimentos para acuicultura.
Table 1. Percentage of protein (%) in the ingredients commonly used in the preparation of feeds for aquaculture.

Ingredientes	Contenido de proteína (%)	Contenido de humedad (%)	Contenido de lípidos (%)
Caseína ^a	90	2	1.2
Hemoglobina ^b	90	2	< 1
Harina de sangre de pollo ^c	82	7.43	< 1
Gluten de trigo ^c	75	10	1
Harina de Calamar ^c	75	5	7
Harina de sangre de res ^c	72	4.39	< 1
Hidrolizado de pescado ^d	72	8	8
Harina de pollo ^c	65	4.5	13.5
Harina de pescado ^c	64.1	4.84	15
Harina de sangre de res ^c	64	4.76	< 1
Harina de sangre (Texcoco) ^c	64	5.04	< 1
Harina de carne y vísceras de pollo ^c	60	5.12	13
Harina de pescado (ACUA) ^c	56	3.40	12
Harina de cerdo ^c	54	8	13.5
Harina de soya ^c	49.2	6.02	0.5
Harina de jaiba ^c	30	4.85	1
Harina de camarón ^c	28	5	2

^a Hammarstein quality Casein, Research Organics # Catalogo 1082C, ^b Bovine erythrocytes USBiological # Catalogo H1850, ^c Proteínas marinas y agropecuarias S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, ^d Ferpac Internacional, S.A. de C.V., Querétaro, México.

alcalina se utilizaron 100 UAE ml⁻¹ y se evaluó la reacción durante 45 min (2700 s), con un ajuste de la solución proteínica a pH 8 y se registró nuevamente el gasto de NaOH 0.1 N, antes de aplicar el extracto multienzimático (tiempo 0) y cada 250 s. Ambas digestibilidades se mantuvieron a 37 °C. Durante las hidrólisis y en los mismos tiempos de consumo de HCl y NaOH, se tomaron 200 µl de la mezcla de reacción para determinar la concentración de aminoácidos libres totales los cuales se congelaron a -20 °C hasta su análisis. A partir del gasto de HCl (Fase ácida) y de NaOH (Fase alcalina) se determinó el grado de hidrólisis (GH), el cual se expresa como el porcentaje del número de enlaces peptídicos hidrolizados (h) con respecto al total de la proteína (htot). Donde el valor de (h) = Consumo de base en ml (Vb) x normalidad de la base (Nb) · 1 x (constante de disociación de los grupos α-NH₂ y α-COOH respectivamente)⁻¹ · 1 x (masa de proteína en la mezcla de reacción)⁻¹. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

Análisis de aminoácidos totales (AALT)

De la muestra tomada por cada tiempo de reacción durante las fases ácida y alcalina, se utili-

zaron 20 µl de la solución proteínica, la cual se fijó con 20 µl de una solución de ácido tricloro acético (TCA) al 12 % para realizar los análisis de aminoácidos libres totales de acuerdo a la técnica propuesta por Church *et al.* (1983). Esta técnica se basa en la unión de la parte amino terminal con el reactivo de o-phtaldialdehído (OPA). Se agregaron los 20 µl de la muestra con el reactivo OPA (80 mg de o-phtaldialdehído en 1 ml de metanol, 0.2 ml de β-mercaptoetanol, 50 ml de tetraborato de sodio al 0.1 M y 5 ml de SDS al 20 %, y llevar a 100 ml con agua destilada), se agitó vigorosamente y se determinó su absorbancia a 340 nm. Para determinar la concentración total de aminoácidos (µg ml⁻¹ de solución) de la mezcla de reacción, se realizó una curva patrón con l-leucina (0.5 mg ml⁻¹) con concentraciones crecientes de 0 a 20 µg ml⁻¹ para la determinación de la cantidad de aminoácidos libres totales en las muestras. Estos ensayos se realizaron por triplicado.

Formulación y fabricación de dietas

Una vez evaluados los ingredientes proteínicos, se seleccionaron los mejores en base a los valores más altos de GH y OPA, y se diseñaron las dietas

Tabla 2. Formulación de las dietas microparticuladas experimentales usadas durante la evaluación *in vivo* en larvas de *A. tropicus*.
Table 2. Preparation of the experimental microparticle diets used during the *in vivo* evaluation of *A. tropicus* larvae.

Ingredientes (g 100 g ⁻¹ dieta)	DP	DCa	DR	DP/T	DR/T	DCo
Harina de sardina ^a	54.61			22		
Harina de calamar ^a		54.17				
Harina de pollo ^a			41.99		15	
Harina de cerdo ^a			11.74		15	
Gluten de trigo ^a				21.9	19.27	
Pasta de soya ^a	20	20	20	20	20	
Aceite de sardina ^d	7.2	7.14	3.09	7.2	5.53	
Hidrolizado de pescado ^c	10	10	10	10	10	
Lecitina de soya ^e	3.6	3.6	3.6	3.6	3.6	
Harina de camarón ^a	3	3	3	3	3	
Harina de sangre de res ^a	2	2	2	2	2	
Grenetina ^f	2	2	2	2	2	
Oxido crómico ^g	1	1	1	1	1	
Premezcla de vitaminas ^h	1	1	1	1	1	
Premezcla de minerales ^h	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	
Vitamina C ⁱ	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	
Harina de sorgo 8-10 % ^b	0.01	0.51	0.86	5.72	2.02	
Composición química						
(g kg⁻¹ BS)						
Energía (cal g ⁻¹)	5569.2 ± 37.4	5239.9 ± 17.0	5147.1 ± 10.0	5138.7 ± 41.4	4893.6 ± 44.2	5667.9 ± 15.7
Proteína	51.5 ± 0.2	53.6 ± 0.3	40.6 ± 0.2	36.2 ± 0.1	39.8 ± 0.3	51.5 ± 0.4
Lípidos	18.9 ± 0.1	13.9 ± 0.1	16.1 ± 0.0	16.0 ± 0.1	13.9 ± 0.1	15.5 ± 0.4
Fibra	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.04 ± 0.1
Ceniza	16.5 ± 0.1	14.8 ± 0.1	10.8 ± 0.0	10.7 ± 0.1	13.7 ± 0.1	10.3 ± 0.0
ELN	12.1	16.5	31.5	36	31.5	21.7
Humedad	3.4 ± 0.1	5.6 ± 0.2	4.0 ± 0.1	3.8 ± 0.2	4.3 ± 0.2	4.7 ± 0.1

Dieta de harina de calamar (DCa); dieta para trucha (DCo); dieta de harina de pescado (DP); dieta de harina de pescado y gluten de trigo (DP/T); dieta de la mezcla de harinas de cerdo y pollo (DR); Dieta de la mezcla de harinas de cerdo y pollo con gluten de trigo (DR/T).

^a Proteínas marinas y agropecuarias S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, ^b GALMEX Comercializadora de Insumos Agrícolas S.A. de C.V., Villahermosa, Tabasco, México; ^c FERPAC; ^d Sigma-Aldrich # catalogo F-8020; ^e Pronat Ultra, Mérida, Yucatán, México; ^f D'gari, Productos alimenticios y dietéticos relámpago, S.A. de C.V., Tlalpan, México D.F., ^g Jalmek # Catalogo C5260-05; ^h Pedregal (para trucha Silver Cup), Toluca, Edo. Mex. México; ⁱ ROVIMIX® C-EC (Roche) agente activo de 35 %.

con la ayuda del paquete de formulación de alimentos balanceados MIXIT-WIN v 5.0. Se formularon cinco dietas prácticas: 1) Dieta de harina de pescado (DP), 2) Dieta de harina de calamar (DCa), 3) Dieta de mezcla de harina de cerdo y pollo (DR), 4) Dieta de harina de pescado y gluten de trigo (DP/T), y 5) Dieta de mezcla de harina de cerdo y pollo con gluten de trigo (DR/T) (Tabla 2), para lo cual todos los macroingredientes se tamizaron previamente (< 150 μm) y mezclaron con los microingredientes por 30 min en una batidora de rotación (BATHAMMEX^{MR} 178716, México), posteriormente se adicionó a la mezcla de 35-40 % de agua para después peletizar

la masa (5 mm de diámetro) en un molino de carne (TOROREY^{MR} M-22R1, N.L., México). Los pellets se cortaron manualmente y se secaron en un horno (CORIAT, HC-35-D, Zapopan, Jalisco, México) a 40 °C durante 12 h. Posteriormente, se molieron y tamizaron para mantener homogéneo el tamaño de las partículas de las DMP (Dietas Micro Particuladas), en tres grupos: 300-500 μm, 500-800 μm y 800-1000 μm de acuerdo al tamaño de boca de las larvas. Todos los alimentos se mantuvieron en congelación a -20 °C hasta su uso.

Evaluación *in vitro* de DMP's

Previo al estudio *in vivo*, tanto a una muestra de las cinco DMP, como al alimento extruido para trucha (Silver Cup, 52% de proteína y 16% de lípidos), se les realizaron análisis de digestibilidad *in vitro* y AALT, donde se utilizó las técnicas descritas anteriormente. Estos ensayos se realizaron por triplicado.

Etapa 2: Digestibilidad *in vivo*

Reproducción y larvicultivo

Para esta segunda fase se utilizaron 3600 larvas de *A. tropicus*, los cuales se obtuvieron de otro desove inducido. Las larvas recién eclosionadas, permanecieron en el tanque de desove hasta el 3er día después de la eclosión (3 DDE), y posteriormente se transfirieron a tanques de plástico circulares de 70 L en recirculación; con una temperatura constante de 29 °C, oxígeno disuelto de 6.43 mg L⁻¹ medidos con un oxímetro y pH de 6.7.

Diseño experimental y alimentación larvaria

Durante el estudio se probaron las cinco DMP experimentales, a las que previamente se les evaluó el GH y liberación de aminoácidos totales, para lo cual se diseñó un experimento de una vía simple completamente aleatorio tomando como factor las dietas experimentales, además de la dieta para trucha que se usó como control. Para este experimento, los eleuteroembriones (3 DDE) fueron sembrados en el mismo sistema de recirculación previamente descrito, colocando inicialmente 150 individuos para iniciar el proceso de adaptación a las DMP's. El proceso de adaptación al consumo de alimento artificial se basó en las recomendaciones de Márquez-Couturier *et al.* (2006), donde en los primeros 10 días se les suministraron nauplios de *Artemia* (2 g de quistes recién eclosionados) diarios, que se incrementó conforme el consumo y el crecimiento de las larvas, por lo que se mantuvo una densidad de presas de 2 a 5 nauplios ml⁻¹. De los 11 a los 13 DDE se les proporcionó una coalimentación de nauplios de *Artemia* y las DMP's realizando el mismo procedimiento anteriormente mencionado y a partir del día 14 DDE, se les proporcionó únicamente

las DMP's. El suministro de las DMP's se realizó diariamente agregando de 5 a 7 g de dieta por tanque. Antes de iniciar el estudio se cuantificó el total de larvas al final del periodo de adaptación a las DMP's y reajustando la densidad en cada tina para iniciar el experimento manteniendo un total de 50 larvas tina⁻¹. A las larvas durante el estudio se les proporcionaron las dietas experimentales a saciedad aparente cinco veces al día (8:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 18:00 h).

Evaluación del crecimiento y la supervivencia

El experimento tuvo una duración de 30 días a partir de los 16 DDE de las larvas, y se consideró este día como la biometría inicial y se registró el crecimiento cada 15 días. El crecimiento se evaluó al determinar el incremento en peso húmedo y la longitud total. Los muestreos para la evaluación del crecimiento se realizaron en la mañana antes de proporcionar el alimento, para lo cual cada larva se pesó con una balanza digital portátil (Ohaus HH120, precisión 120 g ± 0.1 g, Shenzhen, China) la longitud total (mm), se determinó con un vernier digital (EXXEL, CR2032, precisión 0.1 mm, China). Al final del experimento, se determinaron a partir del consumo de alimento por tina los siguientes parámetros de crecimiento y eficiencia del alimento: la tasa de crecimiento específica el peso (TCE), la supervivencia, el factor de conversión alimenticia (FCA), la tasa de eficiencia proteínica (TEP), el consumo diario de alimento (CDA), el consumo diario de proteína (CDP), el factor de condición (FC) y la ganancia en peso porcentual (GP%). Adicionalmente, al final del experimento se tomó una muestra de 10 peces de todos los tratamientos, que se sacrificaron con la misma sobredosis de MS-222, se congelaron a -20 °C y se liofilizaron (Labconco, LYPH LOCK 1 L, Kansas, Missouri, E.U.) para realizarles análisis de composición química en el Laboratorio de Bromatología del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste en La Paz, B.C.S., México de acuerdo con las metodologías descritas en el A.O.A.C (1995).

Análisis estadístico

Para la evaluación del crecimiento en peso y longitud de las larvas se utilizó un análisis de va-

rianza de (ANDEVA) una vía, al cumplir los postulados de normalidad (K-S) y homoscedasticidad (Levene) y para detectar las diferencias entre los tratamientos se utilizó la prueba *a posteriori* de Tukey. Para los valores de grado de hidrólisis (GH) y liberación de aminoácidos totales de las materias primas y las dietas experimentales, así como los datos de crecimiento, supervivencia e índices de calidad del alimento que se analizaron por medio de una prueba de Kruskal-Wallis y pruebas *a posteriori* de Nemenyi. Para todas las pruebas se utilizó un valor de significancia de 0.05, con el programa estadístico STATISTICA v. 7.0.

RESULTADOS

Digestibilidad *in vitro*

Los ingredientes que tuvieron valores superiores de GH (K-W, $H = 43.70$; $P = 0.0001$) en condiciones ácidas para los extractos enzimáticos de las larvas del día nueve DDE, fueron la harina de jaiba, harina de camarón, harina de pescado de ACUA, harinas de sangre de res, sin que se observaran diferencias entre ellas, mientras que en condiciones alcalinas usando los mismos extractos enzimáticos la harina de carne y vísceras de pollo, harina de pollo, harina de sangre de pollo, harina de calamar, harina de soya e hidrolizado de pescado generaron valores de GH significativamente superiores (K-W, $H = 41.56$; $P = 0.0003$) con respecto al resto de los ingredientes. Para las muestras de los extractos enzimáticos de las larvas de 15 DDE se obtuvieron GH mayores estadísticamente en comparación con la hemoglobina (K-W, $H = 43.10$; $P = 0.0002$) con los ingredientes de harina de jaiba, harina de camarón, harina de sangre de res, harina de pescado de ACUA y harina de sangre de res (Texcoco) en condiciones ácidas, mientras que en condiciones alcalinas no se encontraron diferencias significativas en los valores de GH entre los ingredientes (K-W, $H = 30.89$; $P = 0.0091$), aunque la harina de calamar, harina de pescado, harina de cerdo, harina de pollo e hidrolizado de pescado tuvieron los GH más altos. Por último, en la evaluación de los extractos enzimáticos de las larvas del día 31 en condiciones ácidas se detectaron diferencias significativas en los

valores de GH (K-W, $H = 45.14$; $P = 0.0001$) para los mismo ingredientes que los detectados para los días nueve y 15 DDE, además de incluirse la harina de pescado y harina de calamar. Mientras que para la hidrólisis alcalina los mayores valores de GH estadísticamente (K-W, $H = 40.76$; $P = 0.0003$) fueron detectados para la harina de pollo carne y vísceras, harina de pescado de ACUA, harina de pollo e hidrolizado de pescado en relación a la caseína usada como ingrediente control (Tabla 3).

Para la determinación de la liberación de aminoácidos totales (AALT) en la hidrólisis ácida y alcalina, para el día 9 de vida de las larvas, la mayoría de los ingredientes mostraron una alta liberación de aminoácidos (K-W, $H = 46.60$; $P = 0.0000$; K-W, $H = 46.77$, $P = 0.00001$ respectivamente), con referencia a la hemoglobina y caseína. Sin embargo, para el día 15 en condiciones ácidas los ingredientes que mayor liberación de aminoácidos tuvieron estadísticamente (K-W, $H = 46.76$; $P = 0.0000$) fueron el hidrolizado de pescado, la harina de cerdo, la harina de pescado y la harina de calamar, mientras que para la hidrólisis alcalina la mayoría de los ingredientes en relación al ingrediente control fueron estadísticamente mayores (K-W, $H = 46.63$; $P = 0.0000$). Finalmente, para el día 31 de vida de las larvas, la mayor liberación de aminoácidos estadísticamente (K-W, $H = 46.45$; $P = 0.0000$) se detectó con el hidrolizado de pescado y la harina de calamar en condiciones ácidas, mientras que en la hidrólisis alcalina 12 de los 16 ingredientes mostraron la mayor liberación de aminoácidos estadísticamente (K-W, $H = 46.88$; $P = 0.0000$) tomando como referencia la caseína (Tabla 4).

En cuanto a la determinación de GH de las dietas, solamente se detectaron diferencias significativas (K-W, $H = 15.98$; $P = 0.0069$) en la hidrólisis alcalina, donde se obtuvo un mayor GH con la DCa, tomando como referencia la DCo (Silver Cup), mientras que para la hidrólisis ácida no se encontraron diferencias estadísticas (K-W, $H = 9.37$; $P = 0.095$), aunque la DCo tuvo un mayor valor de GH en comparación con las otras dietas (Figura 1a). Para la determinación de aminoácidos libre totales (AALT) en las dietas en fase ácida se detectaron diferencias significativas (K-W, $H = 16.31$; $P =$

0.0060), donde la DR/T tuvo una mayor liberación de aminoácidos con $767.2 \mu\text{g ml}^{-1}$, seguida por la DP/T ($688.6 \mu\text{g ml}^{-1}$), DCo ($672.1 \mu\text{g ml}^{-1}$), DCa ($344.3 \mu\text{g ml}^{-1}$), DR ($252.3 \mu\text{g ml}^{-1}$), y por último la DP con $246 \mu\text{g ml}^{-1}$. Asimismo, la fase alcalina también mostró diferencias significativas (K-W, $H = 16.53$; $P = 0.0055$), donde la DR/T mostró una mayor liberación de aminoácidos totales con $594.3 \mu\text{g ml}^{-1}$, seguida por la DR ($478.7 \mu\text{g ml}^{-1}$), DP/T ($477.1 \mu\text{g ml}^{-1}$), DCa ($317.6 \mu\text{g ml}^{-1}$), DP ($289.3 \mu\text{g ml}^{-1}$), siendo la dieta control (DCo), la que tuvo menor liberación de aminoácidos con $235 \mu\text{g ml}^{-1}$ (Figura 1b).

Digestibilidad *in vivo*

Las larvas que se alimentaron con las dietas DP, DR, DP/T y DR/T fueron significativamente iguales entre ellas con relación al crecimiento en peso, donde la única diferencia significativa (ANDEVA $F = 4.59$; $P = 0.0141$) se mostró con las larvas alimentadas con la DP en relación a las alimentadas con la DCa y DCo (Figura 2a). Por otra parte, el crecimiento en longitud total mostró diferencias significativas (ANDEVA $F = 21.53$; $P = 0.00001$) donde las larvas alimentadas con la DP y DR fueron iguales entre ellas y diferentes al resto de los tratamientos (Figura 2b). En el caso de la supervivencia no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos (K-W, $H = 6.36$; $P = 0.2729$), fluctuando los valores entre 46 y 74 % al final del cultivo larvario.

Los índices obtenidos para determinar las variables de crecimiento y la eficiencia alimentaria de las larvas en los diferentes tratamientos se muestran en la Tabla 5; de esta forma, la ganancia en peso porcentual (GP %), mostró diferencias significativas (K-W, $H = 14.15$; $P = 0.0147$) donde las larvas alimentadas con la dieta de pescado fueron mayores a las alimentadas con la dieta de calamar; mientras que para el resto de los índices no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se pueden mencionar algunas tendencias donde la mayor supervivencia fue registrada para la DP (74.5 %) y el mayor factor de condición (FC, 0.36), mientras que en cuanto a la calidad del alimento se obtuvo una mayor tasa de eficiencia proteica (TEP,

2.85), en comparación con los otros tratamientos. Asimismo, las larvas alimentadas con la DR tuvieron una mayor tasa específica de crecimiento (TEC, 7.48), con un mayor consumo diario de alimento (CDA, 0.19) y una alta ganancia en peso porcentual (GP %, 320.49), mientras las larvas alimentadas con la DCa presentaron el mayor factor de conversión alimenticia (FCA, 5.38).

Los análisis químicos de proteína y extracto etéreo de los peces se muestran en la Tabla 6, donde se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para el nivel de proteína (ANDEVA $F = 287$; $P = 0.0000$), siendo las larvas alimentadas con la DCa las de mayor concentración (67.73 %) en comparación con los demás tratamientos, siendo las larvas alimentadas con la DP las de menor cantidad de proteína corporal (60.61 %). Para el extracto etéreo se detectaron diferencias significativas (ANDEVA $F = 67.51$; $P = 0.0001$), donde se separan dos grupos estadísticamente, las larvas alimentadas con la DR, DP/T y DR/T tuvieron las mayores concentraciones de lípidos corporales (9 a 11 %) comparadas con las larvas alimentadas con las dietas DP, DCa y DCo (5.7 a 7.1 %).

DISCUSION

Durante el estudio se evaluaron 16 ingredientes de origen proteínico tanto animal como vegetal, donde se utilizó la hemoglobina como fuente proteínica estándar para la fase ácida y la caseína para la fase alcalina, cuyos valores se utilizaron como ingredientes de referencia en relación al GH. En este sentido, las técnicas de digestibilidad *in vitro* se han utilizado para obtener información sobre la capacidad enzimática que tiene cada especie para degradar diferentes tipos de proteínas, a partir de la determinación del grado de hidrólisis de las distintas fracciones proteínicas durante el proceso de digestión (Dimes et al. 1994; Oña et al. 2003), lo que permite generar conocimientos sobre la capacidad digestiva de los organismos, y crear formulaciones de alta digestión y asimilación, y optimizar los costos que ocasiona la adquisición de alimento durante la producción en el cultivo intensivo (Tacon 1993). Además de que permite que los organismos

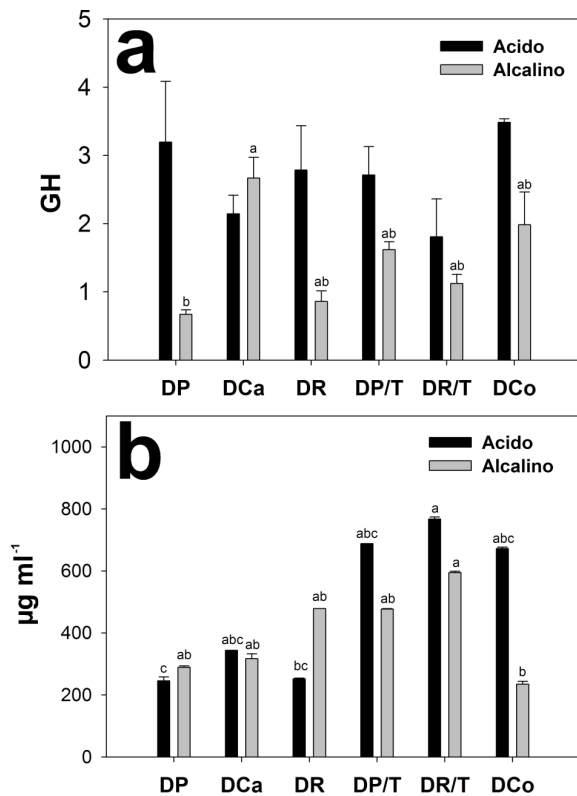


Figura 1. Valores de (a) GH (% ± DE) y (b) AALT (µg ml⁻¹ ± DE) de las dietas microparticuladas.
Figure 1. Values of (a) GH (% ± DE) and (b) AALT (µg ml⁻¹ ± DE) of the microparticle diets.

obtengan la energía necesaria para un crecimiento óptimo, con un mínimo de pérdidas por desechos de subproductos no digeribles. Los resultados obtenidos en la hidrólisis ácida para las tres edades de las larvas evaluadas (9, 15 y 31 DDE), muestran que la mayoría de las harinas, particularmente de origen proteínico animal, tuvieron valores de GH por encima de la hemoglobina, siendo los ingredientes que tuvieron los mayores GH's: harina de jaiba, camarón, pescado, sangres de res y calamar, lo que indica de acuerdo a esta técnica de digestibilidad *in vitro*, que estos ingredientes son eficientes al ser altamente hidrolizables por las enzimas digestivas en condiciones acidas, y por lo tanto fueron seleccionadas para la preparación de las dietas artificiales.

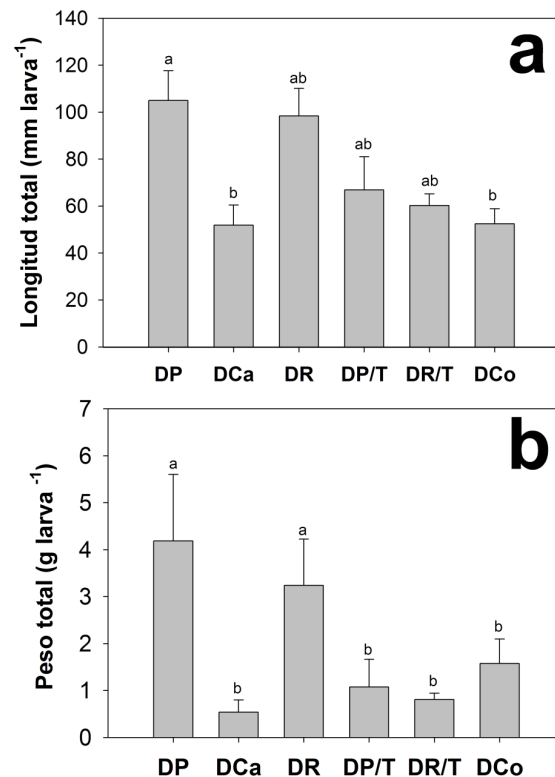


Figura 2. Crecimiento en longitud total (mm ± DE) y peso húmedo total (mg ± DE) de las larvas alimentadas con las dietas microparticuladas.
Figure 2. Growth in total length (mm ± DE) and total wet weight (mg ± DE) of the larvae fed the microparticle diets.

Por otra parte, en condiciones alcalinas de hidrólisis, los ingredientes que obtuvieron los valores más altos de GH en relación a la caseína fueron: harina carne y vísceras de pollo, harina de pollo, pescado, calamar, cerdo, soya, sangre de pollo e hidrolizado de pescado, mismas que también fueron seleccionadas para la fabricación de las dietas artificiales. Los ingredientes de origen proteínico animal tuvieron los valores más altos de GH de manera similar a lo reportado previamente en pruebas con especies como la dorada *Sparus aurata*, el pez disco *Symphysodum aequifasciata*, la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*, el híbrido de *Dentex x Pagrus*, y el róbalo blanco *Centropomus undecimalis* (Alarcón et al. 2002; Chong et al. 2002; Álvarez-González 2003;

Tabla 3. Valores finales de GH (% ± DE) de los ingredientes evaluados de larvas de *A. tropicus* en las tres edades (9, 15 y 31 días después de la eclosión).

Table 3. Final values of GH (% ± DE) of the ingredients evaluated for the *A. tropicus* larvae of the three ages (9,15 and 31 days after hatching).

Ingredientes	D9		D15		D31	
	Acida	Alcalino	Acida	Alcalino	Acida	Alcalino
Hemoglobina/Caseína	2.2 ± 0.4 ^{abc}	0.4 ± 0.0 ^{ab}	3.2 ± 0.3 ^{ab}	0.4 ± 0.1	2.00 ± 0.3 ^{ab}	0.7 ± 0.1 ^{ab}
H. Jaiba	47.9 ± 11.2 ^a	0.3 ± 0.0 ^{ab}	22.5 ± 6.4 ^a	0.2 ± 0.0	22.6 ± 1.2 ^a	0.2 ± 0.0 ^b
H. Camarón	14.0 ± 2.6 ^a	0.2 ± 0.1 ^{ab}	18.8 ± 5.1 ^a	0.2 ± 0.1	20.0 ± 2.5 ^a	0.2 ± 0.0 ^{ab}
H. Pescado	7.8 ± 1.9 ^{abc}	0.4 ± 0.1 ^{ab}	4.4 ± 1.4 ^{ab}	0.3 ± 0.1	11.8 ± 2.9 ^{ab}	1.0 ± 0.3 ^{ab}
H. Sangre de res	4.4 ± 1.0 ^{abc}	0.2 ± 0.0 ^{ab}	4.9 ± 1.0 ^{ab}	0.2 ± 0.1	5.2 ± 0.3 ^{ab}	0.3 ± 0.1 ^{ab}
H. Sangre (Texcoco)	3.0 ± 0.8 ^{abc}	0.1 ± 0.1 ^b	4.0 ± 1.0 ^{ab}	0.3 ± 0.1	3.9 ± 1.2 ^{ab}	0.4 ± 0.2 ^{ab}
H. Pollo carne y vísceras	1.4 ± 0.2 ^{abc}	3.3 ± 0.9 ^a	1.1 ± 0.4 ^{ab}	0.4 ± 0.2	2.7 ± 0.6 ^{ab}	3.0 ± 0.1 ^a
H. Pescado (Acua)	1.9 ± 0.6 ^{abc}	0.4 ± 0.1 ^{ab}	2.9 ± 1.0 ^{ab}	0.6 ± 0.1	2.0 ± 0.1 ^{ab}	0.5 ± 0.1 ^{ab}
H. Calamar	1.9 ± 0.5 ^{abc}	0.6 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.4 ^{ab}	0.7 ± 0.6	1.9 ± 0.8 ^{ab}	0.7 ± 0.1 ^{ab}
H. Cerdo	1.7 ± 1.0 ^{abc}	0.4 ± 0.1 ^{ab}	1.6 ± 0.3 ^{ab}	0.6 ± 0.2	1.5 ± 0.4 ^{ab}	0.5 ± 0.0 ^{ab}
H. Pollo	0.4 ± 0.1 ^c	0.8 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.4 ^{ab}	0.5 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^{ab}	0.9 ± 0.2 ^{ab}
H. Sangre de pollo	0.8 ± 0.3 ^{abc}	0.7 ± 0.3 ^{ab}	2.3 ± 0.7 ^{ab}	0.4 ± 0.1	1.4 ± 0.3 ^{ab}	0.6 ± 0.1 ^{ab}
H. Sangre de res prieto	1.4 ± 0.5 ^{abc}	0.2 ± 0.1 ^{ab}	0.8 ± 0.1 ^{ab}	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.1 ^{ab}	0.5 ± 0.2 ^{ab}
Hidrolizado de pescado	0.6 ± 0.1 ^{abc}	0.5 ± 0.1 ^{ab}	0.9 ± 0.1 ^{ab}	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.2 ^{ab}	0.8 ± 0.2 ^{ab}
H. Soya	0.9 ± 0.2 ^{abc}	0.6 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.3 ^{ab}	0.3 ± 0.1	0.6 ± 0.2 ^{ab}	0.5 ± 0.1 ^{ab}
Gluten de trigo	0.5 ± 0.2 ^{bc}	0.2 ± 0.1 ^{ab}	0.6 ± 0.2 ^b	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0 ^b	0.3 ± 0.1 ^{ab}

Superíndices diferentes entre líneas indican diferencias significativas (P < 0.05).

Oña et al. 2003; Concha-Frías 2007). En base a lo anterior Alarcón et al. (2002) evaluó el valor de GH de diferentes fuentes proteínicas que utilizó en los alimentos comerciales para *S. aurata*, y encontrando que los GH más altos se presentaron al usar el hidrolizado de pescado, la harina de sangre y la caseína, sin que se presentaran diferencias entre estos, mientras que Álvarez-González (2003), reportó que para juveniles de *P. maculatofasciatus* se obtuvieron valores altos de GH con la harina de sangre de res, la harina de langostilla, la harina de calamar y el hidrolizado de pescado. Asimismo, Concha-Frías (2007) obtuvo resultados similares a nuestro estudio con valores altos de GH ácido al usar los mismos ingredientes en juveniles de *C. undecimalis*, mientras que en condiciones alcalinas obtuvieron valores altos de GH con la harina de pescado, la harina de cerdo, la harina de pollo y dos harinas de sangre de res. Un aspecto relevante de nuestra investigación es el alto valor de GH que se tuvo con la harina de jaiba y la harina de camarón, los cuales pueden deberse a que estos ingredientes, poseen proteínas de alta afinidad para las enzimas digestivas presentes en *A. tropicus*, lo cual puede asociarse a los hábi-

tos alimenticios del pejelagarto, el cual se considera carnívoro oportunista, por lo que puede consumir crustáceos dulceacuícolas (Márquez et al. 2006). A pesar de lo anterior, la harina de crustáceos tiene un contenido de proteína significativamente inferior (< 30%), con respecto a harinas de pescado (> 50%), además de un alto contenido de cenizas y de quitina, lo cual puede provocar bajos coeficientes de digestibilidad al incluirlas en cantidades superiores al 15% (Álvarez-González 2003).

En condiciones alcalinas, el hidrolizado de pescado fue uno de los ingredientes que obtuvo mayor GH, donde se reporta que este ingrediente se elabora por un proceso de hidrólisis enzimática por lo que puede ser utilizado parcialmente, ya que un exceso puede provocar que la asimilación de aminoácidos, especialmente los aminoácidos esenciales se limite al presentarse una saturación de los canales de absorción de estas moléculas en los enterocitos, particularmente durante el cultivo de larvas, donde no sólo se requiere de cubrir las necesidades de proteína, sino también la cantidad correcta de aminoácidos esenciales (Álvarez-González 2003; Civera-Cerecedo et al. 2008). Es así que el valor de GH para

Tabla 4. Concentraciones de aminoácidos libres ($\mu\text{g ml}^{-1} \pm \text{DE}$) de los ingredientes evaluados en las tres edades (9,15 y 31 días después de la eclosión) de larvas de *A. tropicus*.

Table 4. Concentrations of free amino acids ($\mu\text{g ml}^{-1} \pm \text{DE}$) in the ingredients evaluated for the *A. tropicus* larvae of the three ages (9,15 and 31 days after hatching).

Ingredientes	D9		D15		D31	
	Acida	Alcalino	Acida	Alcalino	Acida	Alcalino
Hemoglobina/Caseína	481.1 \pm 4.1 ^{abc}	502.3 \pm 0.0 ^{abc}	533.0 \pm 2.4 ^{abc}	525.1 \pm 3.6 ^{abc}	901.6 \pm 2.7 ^{ab}	360.0 \pm 6.8 ^{abc}
H. Jaiba	651.6 \pm 5.4 ^{abc}	923.6 \pm 1.4 ^{abc}	221.7 \pm 4.7 ^{abc}	1224.7 \pm 2.7 ^{ab}	485.0 \pm 8.9 ^{ab}	1530.5 \pm 12.5 ^{ab}
H. Camarón	410.3 \pm 9.4 ^{abc}	644.6 \pm 2.7 ^{abc}	382.8 \pm 5.9 ^{abc}	690.2 \pm 5.4 ^{abc}	646.1 \pm 0.0 ^{ab}	639.1 \pm 0.0 ^{abc}
H. pescado (ACUA)	356.1 \pm 2.4 ^{bc}	626.5 \pm 1.4 ^{abc}	393.0 \pm 5.4 ^{abc}	542.4 \pm 0.0 ^{abc}	683.9 \pm 0.0 ^{ab}	337.2 \pm 0.0 ^{abc}
H. Sangre de res	329.4 \pm 1.4 ^c	407.2 \pm 7.6 ^{abc}	322.3 \pm 2.7 ^{abc}	521.2 \pm 2.4 ^{abc}	560.5 \pm 8.9 ^{ab}	310.5 \pm 9.8 ^{bc}
H. Sangre (Texcoco)	364.7 \pm 7.2 ^{abc}	363.2 \pm 4.1 ^c	316.8 \pm 5.4 ^{abc}	526.7 \pm 7.2 ^{abc}	683.1 \pm 13.0 ^{ab}	325.4 \pm 0.0 ^{abc}
H. Pollo carne y vísceras	518.8 \pm 8.2 ^{abc}	1003.8 \pm 9.5 ^{ab}	478.7 \pm 2.4 ^{abc}	389.1 \pm 8.5 ^{abc}	631.2 \pm 3.6 ^{ab}	1830.75 \pm 9.5 ^a
H. Pescado	661.1 \pm 1.4 ^{abc}	644.6 \pm 13.6 ^{abc}	1076.1 \pm 1.4 ^{abc}	797.1 \pm 4.1 ^{abc}	246.8 \pm 8.3 ^{ab}	525.9 \pm 6.2 ^{abc}
H. Calamar	474.0 \pm 9.4 ^{abc}	800.2 \pm 15.0 ^{abc}	595.1 \pm 9.5 ^{abc}	653.2 \pm 0.0 ^{abc}	924.4 \pm 8.5 ^a	507.0 \pm 8.5 ^{abc}
H. Cerdo	665.0 \pm 7.6 ^{abc}	721.6 \pm 0.0 ^{abc}	1087.9 \pm 1.4 ^{ab}	385.2 \pm 5.4 ^{bc}	245.3 \pm 4.7 ^{ab}	851.3 \pm 10.8 ^{abc}
H. Pollo	748.3 \pm 9.8 ^{abc}	767.2 \pm 2.7 ^{abc}	279.1 \pm 8.3 ^{abc}	755.4 \pm 1.4 ^{abc}	250.0 \pm 10.8 ^{ab}	719.3 \pm 4.1 ^{abc}
H. Sangre de pollo	669.7 \pm 10.8 ^{abc}	683.9 \pm 4.1 ^{abc}	175.3 \pm 6.8 ^{bc}	1147.7 \pm 1.4 ^{abc}	420.5 \pm 10.9 ^{ab}	1473.9 \pm 4.1 ^{abc}
H. Sangre de res prieto	1409.4 \pm 13.8 ^a	366.3 \pm 9.5 ^{bc}	291.6 \pm 4.9 ^{abc}	224.0 \pm 0.0 ^c	477.9 \pm 7.2 ^{ab}	282.2 \pm 6.8 ^c
Hidrolizado de pescado	1297.0 \pm 13.1 ^{abc}	1269.5 \pm 6.8 ^a	1654.7 \pm 13.0 ^a	1285.2 \pm 12.3 ^a	956.6 \pm 25.9 ^a	1211.3 \pm 1.4 ^{abc}
H. Soya	1339.5 \pm 0.0 ^{ab}	707.5 \pm 0.0 ^{abc}	216.2 \pm 1.4 ^{abc}	1044.7 \pm 4.1 ^{abc}	405.6 \pm 6.2 ^{ab}	1253.8 \pm 2.7 ^{abc}
Gluten de trigo	1050.2 \pm 1.4 ^{abc}	620.2 \pm 0.0 ^{abc}	134.4 \pm 0.0 ^c	948.0 \pm 0.0 ^{abc}	209.1 \pm 9.5 ^b	605.3 \pm 7.2 ^{abc}

Superíndices diferentes entre líneas indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

el hidrolizado de pescado fue similar al obtenido con el salmón del Atlántico *Salmo salar* al evaluar este ingrediente con varios tipos de proteasas alcalinas, donde estos autores mencionan que dependiendo del tipo y calidad del hidrolizado, se puede usar mientras no se excedan del 10% (Kristinsson & Rasco 2000a y b).

Por otra lado, los bajos valores de GH para los ingredientes proteínicos de origen vegetal se asocian a factores antinutricionales presentes en este tipo de ingredientes (inhibidores de tripsina) y que ocasiona inhibición del crecimiento al usarlo en cantidades superiores al 50% en dietas acuícolas (Moyano *et al.* 1998; Alarcón *et al.* 2001, 2002). Chong *et al.* (2002), reportan que al usar harina de soya y la harina de trigo en dietas para *S. aequifasciata* disminuyó la digestibilidad de las dietas, a pesar del alto contenido proteínico de los ingredientes, lo que se asocia a su contenido de inhibidores de tripsina y quimotripsina. Oña *et al.* (2005), reportan que el efecto de los inhibidores presentes en las harinas vegetales, sobre las proteasas digestivas fue mayor con respecto a la capacidad de digestibilidad para *D. dentex* y *P. pagrus*, donde la harina de soya afectó principalmente a las enzimas alcalinas al obtener valores bajos de

GH, lo cual fue similar a los resultados obtenidos en este estudio. De acuerdo a esto la utilización de ingredientes vegetales, a pesar de que pueden tener un alto contenido de proteína, puede ser peligroso especialmente en peces con hábitos carnívoros, por lo cual deben de evaluarse no solo *in vitro*, sino también *in vivo* para asegurar su asimilación y efecto en el crecimiento de los peces. Asimismo, se ha mencionado que las diferencias en los valores de GH entre los distintos ingredientes proteínicos, podrían estar relacionadas con varios factores como son: 1) el perfil de aminoácidos esenciales y no esenciales, 2) la proporción de aminoácidos esenciales y no esenciales presentes en las fuentes proteicas y 3) a las características de las estructuras terciarias de las proteínas, que puede variar su digestibilidad (Oña *et al.* 2003).

En el análisis de la liberación de aminoácidos totales (AALT), tanto en condiciones ácidas como alcalinas, el hidrolizado de pescado y la harina de pescado presentaron los valores más altos para las tres edades de las larvas en este estudio, aunque se debe mencionar que en el caso específico del hidrolizado, la tasa de liberación es menor comparada con la de harina de pescado, lo cual coincide con los resultados de Concha-Frías (2007) quien evaluó la

Tabla 5. Índices de eficiencia alimentaria (IEA), variables de crecimiento y porcentaje de supervivencia de las larvas de *A. tropicus* alimentadas con las dietas microparticuladas (Promedio \pm DE).

Table 5. Indices of feeding efficiency (IEA), growth variables and survival percentage of the *A. tropicus* larvae fed the microparticle diets (average \pm DE).

Índices	DP	DCa	DR	DP/T	DR/T	DCo
FCA	0.93 \pm 0.64	5.38 \pm 3.87	1.30 \pm 0.23	3.31 \pm 3.02	4.69 \pm 3.88	1.65 \pm 0.11
Sup (%)	74.54 \pm 11.27	50.84 \pm 12.34	68.06 \pm 9.94	51.35 \pm 32.94	46.70 \pm 22.21	46.49 \pm 11.81
TEC	7.04 \pm 0.35	5.37 \pm 1.53	7.48 \pm 0.70	5.66 \pm 0.60	6.40 \pm 1.40	6.05 \pm 0.97
FC	0.36 \pm 0.01	0.36 \pm 0.01	0.34 \pm 0.01	0.33 \pm 0.02	0.34 \pm 0.04	0.34 \pm 0.01
CDA	0.16 \pm 0.07	0.09 \pm 0.03	0.19 \pm 0.05	0.17 \pm 0.22	0.14 \pm 0.10	0.16 \pm 0.05
CDP	0.08 \pm 0.04	0.05 \pm 0.02	0.08 \pm 0.02	0.06 \pm 0.08	0.06 \pm 0.04	0.08 \pm 0.02
TEP	2.85 \pm 1.82	0.55 \pm 0.47	1.93 \pm 0.36	1.75 \pm 1.77	0.80 \pm 0.48	0.92 \pm 0.46
GP %	414.4 \pm 89.4 ^a	43.78 \pm 36.8 ^b	320.49 \pm 35.1 ^{ab}	99.48 \pm 60.8 ^{ab}	78.42 \pm 49.5 ^{ab}	150.89 \pm 47.7 ^{ab}

TCE = 100 (logaritmo natural del peso final – logaritmo natural del peso inicial) / número de días de experimentación. Supervivencia (S%) = el número de juveniles al final del experimento/ Eleuterioembriones en relación con el número inicial \times 100. FCA = (alimento consumido total en base seca, g/Ganancia en peso, g). TEP = (Ganancia en peso, g/Proteína consumida en BS, g). CDA = (alimento, g de materia seca) / número de peces / día). CDP = (ingesta de proteína, g) / tiempo (días) \times N (número final de peces). FC = Peso promedio final/Longitud total final³ \times 100. GP% = ((Peso promedio final – peso promedio inicial)/(Peso promedio final)) \times 100.

AALT del hidrolizado de pescado en juveniles de *C. undecimalis* en condiciones alcalinas (858 μ g ml⁻¹); este autor menciona que en el caso del hidrolizado, por su proceso de preparación (prehidrólisis) este ingrediente ya presentan altas concentraciones de aminoácidos libres, por lo cual aunque es hidrolizado por las exopeptidasas (amino y carboxipeptidasas) del pez, la tasa de liberación es baja de aminoácidos libres. Álvarez-González (2003) no recomienda el uso de hidrolizados en altas concentraciones en dietas para *Paralabrax maculatofasciatus*, debido a la alta disposición de aminoácidos tanto esenciales como no esenciales, lo que puede afectar el crecimiento y la supervivencia si se adicionan a las dietas más del 50% de hidrolizado, ya que los canales de absorción de aminoácidos se pueden saturar con aminoácidos no esenciales, y limitar la absorción de los esenciales, por lo cual es más recomendable utilizarlos como suplemento y no como la base de la proteína de la dieta (Kolkovski 2001; Civera-Cerecedo et al. 2008). Durante la fase alcalina se obtuvieron los valores más altos de AALT en comparación a los que se obtuvieron en la fase ácida en *A. tropicus*, lo cual indica que en el estómago se lleva a cabo la mayor parte de la hidrólisis proteínica con la liberación de péptidos principalmente y en el intestino la degradación final de estos péptidos y como consecuencia existe una mayor cantidad de aminoácidos

que libera y absorbe por acción de las exopeptidasas hacia el interior de los enterocitos (Moyano et al. 1998).

Los resultados de la digestibilidad *in vitro* de las dietas indicaron que los GH presentaron diferencias significativas durante la fase alcalina donde la DCa obtuvo un mayor GH, tomando la dieta de trucha (DCo) como control, aunque en el estudio *in vivo* las larvas alimentadas en base a la harina de calamar fueron las de menor crecimiento. En base a esto, los estudios realizados con las enzimas digestivas de *Oncorhynchus mykiss* muestran que los valores de GH y AALT obtenidos pueden diferir en relación a los obtenidos en condiciones reales de cultivo, puesto que no necesariamente reflejan la verdadera naturaleza de la fisiología digestiva de los organismos *in vivo*, donde se encuentran en juego otros factores que son eliminados cuando se realiza la evaluación con las enzimas digestivas *in vitro*, como son los propios tejidos del sistema digestivo que realizan el proceso de absorción, hormonas digestivas como la gastricina, la colecitoquinina y el glucagón que autorregulan los movimientos peristálticos y la absorción de nutrientes; sin embargo, con los estudios *in vitro*, se tiene una aproximación más clara de la hidrólisis de ciertos ingredientes proteínicos o alimentos por parte de las enzimas digestivas del organismo (Fenerci & Sener 2005), por lo

Tabla 6. Valores de proteína y lípidos corporales en juveniles de *A. tropicus* (promedio \pm DE) alimentados con las dietas experimentales.
Table 6. Values of body proteins and lipids of *A. tropicus* juveniles (average \pm DE) fed the experimental diets.

Nutriente (g kg ⁻¹ base seca)	Tratamientos					
	DP	DCa	DR	DP/T	DR/T	DCo
Proteína	60.61 \pm 0.29 ^c	67.63 \pm 0.24 ^a	63.48 \pm 0.23 ^b	63.54 \pm 0.31 ^b	63.64 \pm 0.14 ^b	63.93 \pm 0.05 ^b
Extracto Etéreo	6.73 \pm 0.29 ^b	7.10 \pm 0.00 ^b	11.08 \pm 0.48 ^a	11.07 \pm 0.00 ^a	9.30 \pm 0.00 ^a	5.70 \pm 0.40 ^b

Dieta de harina de pescado (DP); Dieta de harina de calamar (DCa); Dieta de la mezcla de harinas de cerdo y pollo (DR); Dieta de harina de pescado y gluten de trigo (DP/T); Dieta de la mezcla de harinas de cerdo y pollo con gluten de trigo (DR/T); Dieta para trucha (DCo).

que es necesario probar las dietas directamente con los organismos para asegurar su consumo y aprovechamiento. García-Ortega *et al.* (2002), sugiere que la estructura y el tamaño de las proteínas contenidas en las dietas, deben poseer una estructura menos compleja para obtener una mayor hidrólisis de los macronutrientes y asimilación de los micronutrientes, lo que permitirá mejorar su digestibilidad en condiciones *in vivo*, al consumirse por parte de las larvas, obteniendo así un mayor crecimiento en un menor periodo de tiempo. En este sentido, la técnica de digestibilidad *in vitro* aunque se ha utilizado ampliamente, su correlación con los estudios de digestibilidad *in vivo* no está relacionada de forma directa con los resultados esperados de crecimiento y supervivencia (Álvarez-González 2003), por lo cual ambos tipos de estudios se deben realizar, lo que permitirá obtener resultados más contundentes en relación al aprovechamiento del alimento. Es así que las diferencias entre los valores de GH y AALT obtenidos para el alimento de trucha (DCo), puede deberse al tipo de tecnología de fabricación (extrusión), haciéndolos más adecuados para la hidrólisis (Fenerci & Sener 2005) por parte de las enzimas digestivas al facilitar la unión enzima sustrato, mientras que las dietas experimentales fueron fabricadas por medio de un sistema de peletización, siendo más duras y compactas dificultando la unión del centro activo de la enzima con su sustrato lo cual ha sido demostrado para *D. labrax* (Fontagné *et al.* 2000). Si consideramos estos aspectos tanto en el tipo de ingredientes que contienen los alimentos como el proceso para su fabricación, la propia naturaleza del periodo larvario de los peces que presentan ontogenia indirecta (Balon 1984) implican asegurar dietas de alta

digestión y asimilación que permitan la acción de las enzimas y hormonas digestivas que aseguren la absorción de los nutrientes hidrolizados (Moyano *et al.* 1996; Sunde 2006, Zambonino-Infante & Cahu 2007). Es así que el uso de alimentos de alta digestibilidad diseñados en base a la fisiología digestiva son fundamentales para asegurar un mejor crecimiento y supervivencia larvaria, y que puedan proporcionarse aunque la morfología digestiva aun no este completamente desarrollada (Lauff & Hofer 1984), y permitirá una eficiente hidrólisis de las macromoléculas por parte de las enzimas digestivas (Dimes *et al.* 1994).

Los resultados que se obtuvieron de crecimiento, muestran que los organismos que se alimentaron con la DP (dieta basada en harina de pescado) obtuvieron un mayor crecimiento, lo cual es estadísticamente igual a la DR (dieta basada en harinas de pollo y cerdo) y mayores en comparación con los otros tratamientos, se recomienda por lo tanto el uso de harinas de pescado, subproductos de pollo y cerdo en dietas artificiales para el cultivo de larvas de *A. tropicus* a partir de nueve días después de la eclosión en adelante, iniciando con una coalimentación de tres días. Cabe mencionar que en el caso de la DCa (dieta basada en harina de calamar), aunque dio buenos valores de GH y AALT, al suministrarla a las larvas se aprovechó al mínimo, lo cual se comprueba por el alto FCA (5.38), cuyo valor indica una baja digestión y asimilación del alimento por parte del organismo, debido probablemente a la estructura terciaria más compleja que compone la proteína de la harina de calamar, ya que estar compuesta por proteínas fibrosas además de colágeno, que pueden limitar la formación del complejo enzima-sustrato

y por consecuencia la hidrólisis del ingrediente en el tracto digestivo de los peces en estudio, a pesar de tener un perfil de aminoácidos similar al de la harina de pescado (Córdova-Murueta & García-Carreño 2002). Los resultados del presente estudio, indican que el crecimiento larvario depende de varios aspectos, como son que el alimento cubra los requerimientos nutrimentales de la especie y que se relaciona con los ingredientes que se usen durante la fabricación, además de que dichos ingredientes sean digeribles y asimilables por el organismo, entre otros factores que se relacionan con al tecnología de fabricación del alimento (Tacon 1995). En el caso de las larvas de peces, se debe considerar la baja capacidad digestiva que presentan, ya que se detecta desde el momento de la apertura de la boca para algunas especies, no se encuentra en su máxima capacidad, por lo que su primera alimentación exógena será fundamental dependiendo del tipo y cantidad de alimento vivo, por lo que deberá proporcionarles los nutrientes necesarios para su posterior adaptación de alimento artificial.

Es así, que en diversos estudios se implementa el uso de alimento formulado en cultivos larvarios con la finalidad de reducir costos de producción de alimento vivo, donde se tiene la ventaja que en una dieta se pueden introducir nutrientes que no estén disponibles en el alimento vivo (Rosenlund *et al.* 1997; Civera-Cerecedo *et al.* 2004). De esta manera, los valores más bajos en el factor de conversión alimenticio (FCA), las mayores tasa de eficiencia proteínica (TEP) y tasas específicas de crecimiento (TEC) que se obtuvieron para las DP y DR, donde se observó una relación entre el nivel de proteína y el consumo de alimento, mientras más adecuada es la dieta para el crecimiento, menor cantidad de alimento es necesaria suministrar para producir una unidad de ganancia en peso (Koppe & Roem 1998); asimismo nos muestran que entre más afinidad hay entre las enzimas (proteasas), mejor será el aprovechamiento de la proteína, el nivel de proteína del alimento formulado, la eficiencia en el consumo de proteína del organismo disminuye (Watanabe 1988). Cabe mencionar que los índices de crecimiento de-

penden principalmente de las diferencias entre los peces muestran mayor o menor capacidad de asimilación proteínica, talla, edad, requerimientos nutricionales o peso inicial de los peces y el manejo técnico durante el cultivo (Cruz-Suárez *et al.* 2002), sin embargo estos índices no se han aplicado a estudios en larvas por lo que no es posible realizar su comparación con otros estudios.

En relación a la composición química proximal de los peces producidos al final del experimento, Se observan altas concentraciones de proteína en general para todos los tratamientos (mayores al 60 %), por lo que es mayor para DCa, mientras que la concentración de lípidos corporales muestra fluctuaciones que van desde 5.70 % a 11.01 %, donde los peces de la DP/T tuvieron la mayor concentración. En este aspecto, la determinación del requerimiento de lípidos en juveniles de *A. tropicus* (Huerta-Ortiz 2008), muestra valores parecidos para la proteína corporal de 64.6 y 61.9 %, aunque una mayor acumulación de lípidos corporales de 18.6 % y 20.8 % para un requerimiento de 10 y 15 % de lípidos respectivamente, aunque este estudio fue realizado en juveniles y no en larvas, por lo cual los valores en el contenido de lípidos son diferentes, mostrándose un mejor aprovechamiento de los nutrientes en estadios tempranos. En este aspecto, se debe resaltar que el uso de dietas microparticuladas que se diseñan en base a la capacidad digestiva de larvas de *A. tropicus*, permiten mejorar el crecimiento y la supervivencia de las larvas en comparación con la dieta de trucha utilizada tradicionalmente en su cultivo.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Programa Institucional de Superación Académica de la UJAT por las becas otorgadas durante la realización de esta investigación, así como Sonia Rocha y Dolores Astorga por su asistencia técnica en la realización de los análisis químicos proximales de proteína y lípidos de las larvas.

LITERATURA CITADA

- Aguilera GC, Mendoza R, Márquez G, Iracheta I (2005) Alligator gar (*Atractosteus spatula*) larval development and early conditioning to artificial diets. In: Memories of Aquaculture America New Orleans, Louisiana, EUA. pp 6.
- Alarcón FJ (1997) Procesos digestivos en peces marinos: Caracterización y aplicaciones prácticas. Tesis de Doctorado, Universidad de Almería, España. 187 pp.
- Alarcón FJ, Martínez T, Díaz M, Moyano F (2001) Characterization of digestive carbohydrase activity in the gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Hydrobiologia* 445: 199-204.
- Alarcón FJ, Moyano F, Diaz M, (2002) Evaluation of different protein sources for aqua feeds by an optimized pH-stat system. *J Sci Food Agric.* 82: 697-704.
- Álvarez-González CA (2003) Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: Serranidae). Tesis de doctorado, CICIMAR IPN, La Paz Baja California Sur, México. 180 pp.
- Álvarez-González CA, Contreras W, Castillo K, Santana O, Gallegos R (2007) Evaluation of commercial diets on tropical gar *Atractosteus tropicus* growth. In: Memories of Aquaculture America 2007, San Antonio, Texas, EUA. pp 835.
- Anson ML (1938) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 79-89.
- AOAC (1995) Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry, vol. I, 16th ed., Washington, D.C., USA. 1234 pp.
- Ávalos-Sánchez AM (2006) Digestibilidad *in vitro* de dietas con diferentes combinaciones de gigantes diseñadas para larvas y juveniles de pescado blanco del lago de Patzcuaro *Chirostoma estor* (Jordan, 1879). Tesis de licenciatura, U.M.S.N.H., Facultad de Biología, Morelia Michoacán, México. 52 pp.
- Balon EK (1984) Reflections on some decisive events in the early life of fishes. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113: 178-185.
- Casillas-Hernández RF, Magallon G, Portillo O, Carrillo H, Nolasco F, Vega-Villasante (2002) La actividad de proteasa, amilasa y lipasa durante los estadios de muda del camarón azul, *Litopenaeus stillostris*. *Rev. Invest. Mar.* 23 (1): 35-40.
- Civera-Cerecedo R, Álvarez-González CA, García-Gómez RE, Carrasco-Chávez V, Ortiz-Galindo JL, Rosales-Velázquez MO, Grayeb-Del Álamo TF, Moyano-López J (2008) Effect of micro-particulate diets on growth and survival of spotted sand bass larvae *Paralabrax maculatofasciatus* at two early weaning times. *Journal of the World Aquaculture Society.* 39(1): 22-36
- Civera-Cerecedo R, Álvarez-González CA, Moyano-López FJ (2004) Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. En. Cruz-Suárez, LE, Ricque-Marie D, Nieto-López MG, Villarreal D, Scholz U, González M (2004) Avances en nutrición acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de nutrición Acuícola, Hermosillo, Sonora, México, 87 pp.
- Concha-Frías B (2007) Evaluación de la capacidad digestiva de juveniles de *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) sobre diferentes ingredientes proteínicos. Tesis de maestría, Facultad de ciencias del mar, UCN, Coquimbo, Chile. 130 pp.
- Córdova-Murueta JH, García-Carreño FL (2002) Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture* 210: 371-384.

- Cruz-Suárez E, Ricque MD, Tapia-Salazar M, Martín-Saldivar LF, Guajardo BC, Nieto-López M, Salinas-Miller A (2002) Historia y estatus actual de la digestibilidad y algunas características fisicoquímicas de los alimentos comerciales para camarón usados en México. En: Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Gaxiola-Cortes MG, Simoes N (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola, Cancún, Q. R., México. pp. 1-21.
- Chong A, Hashim R, Bin-Ali A (2002) Inhibition of protease activities in *Discus Symphysodon* spp. By three plant meals. *Aquaculture International*. 10: 433-441.
- Church FC, Swaisgood H, Porter D, Catignani G (1983) Spectrophotometric assay using o-phthaldehyde for determination of proteolysis in milk proteins. *J. Dairy Sci.* 66: 1219-1227.
- Díaz MI, Otero B (1991) Evaluación del crecimiento de larvas y postlarvas del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* en base a su alimentación. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 83 pp.
- Dimes LE, Haard N (1994) Estimation of protein digestibility: Development of an *in vitro* method for estimating protein digestibility in salmonids. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A: 349-362.
- Dimes LE, Haard NF, Dong FM, Rasco BA, Forster IP, Fairgrieve WT, Arndt R, Hardy RW, Barrows FT, Higgs DT (1994) Estimation of protein digestibility: In vitro assay of protein in salmonid feeds. *Comp. Biochem. Physiol.* 108A: 363-370.
- Fenerci S, Sener E (2005) *in vivo* and *in vitro* protein digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) fed steam pressured or extruded feeds. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 5: 17-22.
- Fontagné S, Robin J, Corraze G, Bergot P (2000) Growth and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae fed from firstfeeding on compound diets containing medium-chain triacylglycerols. *Aquaculture* 190: 261-271.
- García J, Márquez G, Páramo S (1997) Utilización de alimento fresco y artificial en la sustitución de alimento vivo para la cría de larvas y postlarvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: Memorias de la Semana de Investigación y Divulgación Científica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa Tabasco, México. pp 61-64.
- García-Ortega A, Hernández C, Abdo-Delaparra I, González-Rodríguez B (2002) Advances in the nutrition and feeding of the bullseye buffer *Sphoeroides annulatus*. In: Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Gaxiola-Cortes MG, Simoes N (Eds). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, Cancún, Quintana Roo, México. 187-196 pp.
- Hernández VU (1999) Punto critico de no retorno en larvas de pejelagarto *A. tropicus* (Gill 1823). Tesis de licenciatura. División Académica de Ciencias Biológicas, UJAT, Villahermosa Tabasco, México. 46 pp.
- Huerta-Ortiz M (2008) Requerimientos de lípidos en larvas y juveniles del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. Tesis de maestría, División Académica de Ciencias Biológicas, UJAT, Tabasco, México. 122 pp.
- Kolkovski S (2001) Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 200: 181-201.
- Koppe W, Roem A (1998) Variación del perfil de aminoácido en harina de pescado. *En profundidad*. 243:18-19.
- Kristionsson HG, Rasco BA (2000a) Biochemical and functional properties of Atlantic salmon (*Salmo salar*) muscle proteins hydrolyzed with various alkaline proteases. *J. Agric. Food Chem.* 48: 657-666.

- Kristionsson HG, Rasco BA (2000b) Hydrolysis of salmon muscle proteins by an enzyme mixture extracted from Atlantic salmon (*Salmo salar*) pyloric caeca. *J. Food Biochem.* 24: 177-187.
- Lauff M, Hofer R (1984) Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture* 37: 335-346.
- Lemos DA, Navarrete del Toro JH, Córdova-Murueta FL, García-Carreño (2004) Testing feeds and feed ingredients for juvenile pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*: *in vitro* determination of protein digestibility and proteinase inhibition. *Aquaculture* 239: 307-321.
- López SD, Márquez G, Contreras W, Álvarez C (2005) Evaluation of commercial diets on growth and survival of tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles in captivity. In: *Memories de Aquaculture America*, New Orleans, Louisiana, EUA. pp 8.
- Márquez-Couturier G, Álvarez C, Contreras W, Hernández U, Hernández A, Mendoza R, Aguilera C, García T, Civera R, Goytortua E (2006) Avances en la alimentación y nutrición de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: *Memorias del VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, UANL, Monterrey, Nuevo León, México. pp. 446-523.
- Moyano FJ, Alarcón FJ, Díaz M (1998) Comparative biochemistry of fish digestive proteases applied to the development of *in vitro* digestibility assays. *Comp. Biochem. Physiol.* 5: 135-143.
- Moyano FJ, Díaz M, Alarcón FJ, Sarasquete MC (1996) Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiol. Biochem* 15: 121-130.
- Oña CF, Alarcón J, Díaz M, Abellán E (2003) Estudio comparativo de la degradación *in vitro* de proteínas por las proteasas estomacales de Denton (*Dentex dentex*), Pargo (*Pagrus Pagrus*) y el híbrido *Dentex x Pagrus*. En: *Memorias del II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura (CIVA)*, Univ. de Zaragoza, Zaragoza, España. pp. 540-549.
- Oña CF, Alarcón J, Díaz M, Abellán E (2005) Hidrólisis proteica *in vitro* de materias primas de diferente calidad por las proteasas intestinales de tres espáridos. En: *Memorias del X Congreso Nacional de Acuicultura*, Almería España. pp. 232-233.
- Rodríguez F, Márquez G, Páramo S (1997) Utilización del uso de cladóceros y nauplios de *Artemia* en la alimentación de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: *Memorias de la Semana de Investigación y Divulgación Científica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco*, Villahermosa Tabasco, México. pp. 72-77.
- Rosenlud G, Stoss J, Talbot C (1997) co-feeding marine fish larvae with inert and live diet. *Aquaculture* 155: 183-191.
- Saunders RM, Conner MA, Booth AN, Bickoff EM, Kohler GO (1972) Measurement of digestibility of alfalfa concentrates by *in vivo* and *in vitro* methods. *J. Ntr.* 103: 530-535.
- Sunde J (2006) Digestive protease activities, growth and feed utilization in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) Thesis doctoral, University of Bergen, Bergen, Norway, Noruega. 95 pp.
- Syama DJ, Ahamad AS, Ambasankar K, Singh P (2003) Effects of dietary protein level on its *in vitro* and *in vivo* digestibility in the tiger shrimp *Penaeus monodon* (Crustacea: Panaeidae). *Indian Journal of Marine Science* 32:151-155.
- Tacon AGJ (1993) Feed ingredients for warm water fish: fish meal and other processed feedstuffs. *FAO Fisheries Circular.* 845: 64 pp.
- Tacon AGJ (1995) Application of nutrient requirement data under practical conditions: special problems of intensive and semi-intensive fish farming. *J. Appl. Ichthyol.* 11: 205-214.

- Walter HE (1984) Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. En: H.J. Bergmeyer (ed) *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. V. Verlag Chemie. Weinham. pp. 270-277
- Watanabe T (1988) *Fish nutrition and mariculture*. JILCA. Tokio, Japan. pp. 233.
- Zambonino-Infante JL, Cahu CL (2007) Dietary modulation of some digestive enzymes and metabolic processes in developing marine fish: applications to diet formulation. *Aquaculture* 268: 98-105.