



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**EFECTO DE DIFERENTES SECUENCIAS  
ALIMENTARIAS EN LA SUPERVIVENCIA Y  
CRECIMIENTO DE LARVAS DEL  
HUACHINANGO DEL PACÍFICO (*Lutjanus peru*)**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA**

**ULISES AMADOR MARRERO**

**LA PAZ, B.C.S., JUNIO DEL 2019**



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 31 del mes de Mayo del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

**“EFECTO DE DIFERENTES SECUENCIAS ALIMENTARIAS EN LA SUPERVIVENCIA  
Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL HUACHINANGO DEL PACÍFICO (*Lutjanus peru*)”**

Presentada por el alumno:

AMADOR Apellido paterno	MARRERO materno	ULISES nombre(s)							
		Con registro: <table border="1"><tr><td>B</td><td>1</td><td>7</td><td>0</td><td>6</td><td>4</td><td>8</td></tr></table>	B	1	7	0	6	4	8
B	1	7	0	6	4	8			

Aspirante de:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

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

### LA COMISION REVISORA

Director(a) de Tesis

DRA. SILVIE DUMAS

DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS

M en C. GUSTAVO DE LA CRUZ AGÜERO

DR. RENATO PEÑA MARTÍNEZ

M en C. MAURICIO CONTRERAS OLGÚIN

### PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO



I.P.N.  
CICIMAR  
DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 05 del mes de Junio del año 2019

El (la) que suscribe BIÓL. ULISES AMADOR MARRERO Alumno (a) del Programa  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B170648 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DRA. SILVIE DUMAS

y cede los derechos del trabajo titulado:

"EFECTO DE DIFERENTES SECUENCIAS ALIMENTARIAS EN LA SUPERVIVENCIA

Y CRECIMIENTO DE LARVAS DEL HUACHINANGO DEL PACÍFICO (*Lutjanus peru*)"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: uamadmarrero@gmail.com - silviedumas@hotmail.com

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**BIÓL. ULISES AMADOR MARRERO**

*Nombre y firma del alumno*

## **DEDICATORIA**

A mis padres y a mi hermano, por quienes soy.

En especial a mi esposa, porque es mi felicidad, porque ha estado aquí a mi lado apoyándome en todo momento. Te amo un infinitillón.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Politécnico Nacional y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, por la oportunidad que me brindaron de poder cursar esta Maestría de excelencia, con muy buenos profesores que contribuyeron tanto a mi formación personal como académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI) del Instituto Politécnico Nacional, por las becas otorgadas.

A mi directora de tesis la Dra. Silvie Dumas, por confiar en mí, por darme la oportunidad de ser su estudiante, por sus enseñanzas, por su apoyo, por su paciencia. A usted Dra. Muchas gracias.

Al M. en C. Mauricio Contreras por su apoyo en los experimentos, por sus consejos y por sus aportes al documento de tesis.

Al personal de la Unidad Piloto de Maricultivo: Dra. Silvie Dumas, M. en C. Mauricio Contreras, Biol. Laura Flores Montijo y el Dr. Renato Peña.

A mis compañeros de estudio Itzi y Jorge por su ayuda.

Al comité revisor, Dr. Renato Peña, Dr. Rogelio González Armas y M. en C. Gustavo de La Cruz Agüero, por su tiempo y comentarios en sus revisiones.

En general muchas gracias a todas aquellas personas que de una forma u otra me han ayudado a poder concluir esta tesis de maestría.

## ÍNDICE

RELACIÓN DE FIGURAS .....	IV
RELACIÓN DE TABLAS .....	VI
GLOSARIO DE TÉRMINOS.....	VII
RESUMEN .....	IX
ABSTRACT .....	X
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1 Antecedentes .....	4
1.2 Justificación .....	7
2. HIPÓTESIS .....	8
2.1 Hipótesis 1 .....	8
2.1.1 Objetivo general 1 .....	8
2.1.2 Objetivos específicos .....	8
2.2 Hipótesis 2 .....	9
2.2.1 Objetivo general 2 .....	9
2.2.2 Objetivos específicos .....	9
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	10
3.1 Desove .....	10
3.2 Sistema de crianza .....	10
3.3 Siembra en tanques .....	11
3.4 Cultivo de microalgas .....	11
3.5 Cultivo de las presas .....	12
3.5.1 Rotíferos .....	12
3.5.2 Copépodos .....	12
3.5.3 <i>Artemia</i> sp.....	12
3.6 Calendario de alimentación .....	13
3.6.1 Exp.1 .....	13
3.6.2 Exp.2 .....	15
3.7 Condiciones de cultivo .....	16
3.8 Densidades de presas .....	16
3.9 Eficiencia alimenticia .....	17
3.10 Eficiencia alimenticia en coalimentación .....	18
3.11 Índice de selectividad de Ivlev (1961) .....	19
3.12 Ancho de la boca (AB) de la larva .....	20

3.13 Longitud total (LT) .....	20
3.14 Supervivencia .....	21
3.15 Análisis Estadísticos .....	21
4. RESULTADOS .....	23
4.1 Experimento 1.....	23
4.1.1 Desove.....	23
4.1.2 Eficiencia alimenticia en la primera alimentación ( <i>P. crassirostris</i> ).....	23
4.1.2.1 Incidencia alimenticia.....	23
4.1.2.2 Intensidad alimenticia.....	23
4.1.3 Eficiencia alimenticia en la coalimentación.....	23
4.1.3.1 Transición entre la primera presa ( <i>P. crassirostris</i> ) y la segunda presa ( <i>B. rotundiformis</i> o <i>P. euryhalinus</i> ).....	23
4.1.3.1.1 Incidencia alimenticia en coalimentación.....	23
4.1.3.1.2 Intensidad alimenticia en coalimentación.....	26
4.1.3.2 Transición de la segunda presa ( <i>B. rotundiformis</i> o <i>P. euryhalinus</i> ) a la tercera presa (nauplios de <i>Artemia</i> sp.).....	28
4.1.3.2.1 Incidencia alimenticia en coalimentación.....	28
4.1.3.2.2 Intensidad alimenticia en coalimentación.....	29
4.1.4 Índice de selectividad de Ivlev.....	31
4.1.6 Longitud total (LT).....	33
4.1.7 Ancho de boca (AB).....	33
4.1.8 Supervivencia.....	34
4.2 Experimento 2.....	36
4.2.1 Desove.....	36
4.2.2 Incidencia alimenticia en la primera alimentación ( <i>P. crassirostris</i> ).....	36
4.2.3 Eficiencia alimenticia en coalimentación ( <i>P. crassirostris</i> y <i>B. rotundiformis</i> ).....	36
4.2.3.1 Incidencia alimenticia en coalimentación.....	36
4.2.3.2 Intensidad alimenticia en coalimentación.....	37
4.2.4 Índice de selectividad de Ivlev.....	39
4.2.5 Longitud total (LT).....	39
4.2.6 Ancho de boca (AB).....	40
4.2.7 Supervivencia.....	41
1. DISCUSIÓN.....	43

5.1 Primera alimentación.....	43
5.2 Transición de la primera a la segunda presa.....	44
5.3 Transición de la segunda a la tercera presa.....	46
5.4 Iluminación y microalgas.....	47
5.6 Crecimiento y supervivencia.....	49
6. CONCLUSIONES.....	51
7. RECOMENDACIONES.....	52
8. BIBLIOGRAFÍA.....	53

## RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de filtración a) “tipo tambor” b) “tipo columna”.....	11
Figura 2. Calendario de alimentación del Exp.1 .....	14
Figura 3. Calendario de alimentación del Exp.2 .....	15
Figura 4. Puntos de referencia para medir el ancho de la boca de larvas de <i>L. peru</i> .....	20
Figura 5. Puntos de referencia para la medición de la LT .....	21
Figura 6. Exp.1. Incidencia alimenticia comparada para cada día durante la coalimentación. a) Rot; por tipo de presa: <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> , y mezcla de ambas presas, b) Pseudo; por tipo de presa: <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> , y mezcla de ambas presas.....	25
Figura 7. Exp.1. Intensidad alimenticia comparada para cada día de coalimentación. a) Rot; por tipo de presa: <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> , b) Pseudo; por tipo de presa: <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> .....	27
Figura 8. Exp.1. Incidencia alimenticia a los 18 y 22 DDE. a) Rot19 y Rot23; por tipo de presa: <i>Brachionus rotundiformis</i> y <i>Artemia</i> sp., y la mezcla de ambas presas, b) Pseudo19 y Pseudo23; por tipo de presa: <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> y <i>Artemia</i> sp. y la mezcla de ambas presas.....	29
Figura 9. Exp.1. Intensidad alimenticia a los 18 y 22 DDE. a) Rot19 y Rot23; por tipo de presa: <i>Brachionus rotundiformis</i> y <i>Artemia</i> sp., b) Pseudo19 y Pseudo23; por tipo de presa: <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> y <i>Artemia</i> sp.....	30
Figura 10. Exp.1. Índice de selectividad de Ivlev. a) Rot; entre <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> . b) Pseudo; entre <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> .....	31

Figura 11. Exp.1. Índice de selectividad de l <sup>v</sup> lev. a) Rot19 y Rot23; entre <i>Brachionus rotundiformis</i> y <i>Artemia</i> sp. b) Pseudo19 y Pseudo23; entre <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> y <i>Artemia</i> sp.....	32
Figura 12. Exp.1. Supervivencia, desde el inicio del sifoneo ( 9 DDE) hasta los 17 DDE.....	35
Figura 13. Exp.1. Supervivencia, a los 27 DDE, día final del Exp.1.....	35
Figura 14. Exp.2. Incidencia alimenticia por tipo de presa ( <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> ) y la mezcla de ambas presas. a) A los días 7 (D7) y 8 (D8). Al segundo día del suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga.....	37
Figura 15. Exp.2. Intensidad alimenticia por tipo de presa ( <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> ) y por día. a) A los días 7 (D7) y 8 (D8). b) Al segundo día del suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga.....	38
Figura 16. Exp.2. Índice de selectividad de l <sup>v</sup> lev entre nauplios de <i>Parvocalanus crassirostris</i> y <i>Brachionus rotundiformis</i> . En los días 7 (D7) y 8 (D8); y al día 10 (D10), segundo día de suministrar una Alta concentración y una Baja concentración de microalgas.....	39
Figura 17. Exp.2. Modelo de regresión lineal entre los valores puntuales del ancho de boca y longitud total de las larvas.....	41
Figura 18. Exp.2. Supervivencia, en Alta concentración y Baja concentración de microalga, desde el inicio del sifoneo (10 DDE), hasta el día final del Exp.2 (20 DDE).....	42

## RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones de cultivo para los experimentos 1 y 2 .....	16
Tabla 2. Exp.1. Longitud total de las larvas por días.....	33
Tabla 3. Exp.1. Ancho de la boca de las larvas por días.....	34
Tabla 4. Exp.2. Longitud total de las larvas en días después de la eclosión, durante el suministro de una Alta concentración y Baja concentración de microalga.....	40
Tabla 5. Exp.2. Ancho de la boca de las larvas en días después de la eclosión, durante el suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga.....	40

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

**Ácidos grasos poliinsaturados:** Ácidos grasos con 20 o más carbonos y tres o más dobles enlaces (insaturaciones) (Gunstone *et al.*, 1994).

**ARA:** Ácido araquidónico, ácido graso poliinsaturado, esencial de la serie omega-6, formado por una cadena de 20 carbonos con cuatro dobles enlaces.

**Baño maría:** Técnica para calentar una materia de forma indirecta y uniforme, donde dicha materia se coloca dentro de un recipiente, que a su vez se sumerge en el seno de una masa de agua (De Jaime-Lorén, 2003).

**Conos:** Células fotorreceptoras que codifican para diferentes longitudes de onda, son las responsables de la percepción del color (Leeson *et al.*, 1990).

**DHA:** Ácido docosahexaenoico, ácido graso esencial de la serie omega-3, formado por 22 carbonos con 6 dobles enlaces.

**Eclosión:** Proceso en el cual se rompe el corion que cubre el huevo y emerge la larva vitelina (Balon, 1975).

**Eficiencia alimenticia:** Término que se emplea para evaluar la alimentación, implica la determinación de la incidencia e intensidad alimenticia (Yin & Blaxter, 1987).

**Eficiencia alimenticia en coalimentación:** Implica la determinación de la incidencia e intensidad alimenticia en coalimentación.

**EPA:** Ácido eicosapentaenoico, ácido graso poliinsaturado, esencial de la serie omega-3 formado por 20 carbonos con cinco dobles enlaces.

**Fototaxis:** Movimientos de locomoción de un organismo en respuesta a un estímulo luminoso (Abercrombie *et al.*, 1962). La fototaxis es positiva cuando el organismo se acerca al estímulo luminoso y es negativa cuando el organismo se aleja del estímulo luminoso.

**Glóbulo de aceite:** Lisosomas modificados que adquieren forma esférica y que se forman al fusionarse las vesículas de vitelo. Sirve inicialmente como una

estructura de flotación o equilibrio y que al consumirse es utilizado como recurso potencial de energía (Carrillo & Zanuy, 1993).

**Incidencia alimenticia:** Porcentaje de larvas de una determinada muestra, que presentan alimento en el tubo digestivo (Yin & Blaxter, 1987).

**Intensidad alimenticia:** Cantidad promedio de presas presentes en el tubo digestivo de las larvas (Yin & Blaxter, 1987), considerando solamente las larvas que presentaron alimento.

**Incidencia alimenticia en coalimentación:** Porcentaje de larvas de una determinada muestra que presentan alimento en el tracto digestivo, diferenciando los tipos de presa o la mezcla de ellas ofrecidas durante el periodo de coalimentación.

**Larva:** Etapa de desarrollo que abarca desde la eclosión hasta que los peces se transforman en juveniles. (Miller & Kendall, 2009).

**Nauplio:** La forma larvaria más simple de los crustáceos (Tucker, 1998), este trabajo hace referencia a copépodos y artemias.

**Ontogenia:** Comprende la serie de cambios morfofisiológicos que se dan durante el ciclo de vida de los animales (Balon, 1975).

**Periodo de primera alimentación:** Se considera desde el momento en que la ingestión de alguna presa es registrada por parte de la larva de pez hasta el momento en el que el crecimiento es detectado. La característica principal es que la fuente de energía y nutrientes para continuar con el desarrollo de la larva, cambia de la reserva de vitelo proporcionada por la madre a la ingestión de presas y/o partículas presentes en el agua o suministradas como alimento (Yúfera & Darias, 2007).

**Rotífero:** Animales metazoarios, microscópicos, filtradores no selectivos, que se alimentan de materia orgánica particulada en la columna de agua y también de organismos planctónicos, son utilizados como alimento vivo en la crianza larvaria de peces de distintas especies (Villamil-Díaz *et al.*, 2012).

## Resumen

El huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*, es una especie que tiene un gran interés comercial en el mercado nacional e internacional. Recientemente con la utilización del nauplio del copépodo *Parvocalanus crassirostris* se logró superar la etapa crítica de la primera alimentación de las larvas. Sin embargo, en la crianza larvaria se obtiene una baja supervivencia. Además, el calendario de alimentación propuesto actualmente involucra una segunda especie de copépodo (*Pseudodiaptomus euryhalinus*). Los objetivos del presente trabajo fueron comparar dos diferentes secuencias de alimentación y dos diferentes concentraciones de microalga en el cultivo larvario de *L. peru*, realizándose dos experimentos. En ambos experimentos nauplios del copépodo *P. crassirostris* se suministraron como primera presa desde el día 3 al día 9 o 10. En el Experimento 1 (Exp.1) se comparó el uso del rotífero *Brachionus rotundiformis* y del copépodo *P. euryhalinus* como segunda presa a partir del día 6. Nauplios de *Artemia* sp. fueron suministrados como tercera presa desde el día 17 o 21 hasta el día 27. Con base en los resultados obtenidos, en el Experimento 2 (Exp.2) solamente se utilizó *B. rotundiformis* como segunda presa. El tratamiento consistió en utilizar la técnica de “agua verde” con dos concentraciones de microalga *Nannochloropsis oculata*, una Baja concentración (300 000 cel/mL) y una Alta concentración (1 000 000 cel/mL) que se agregaron a los tanques a partir del día 9. Se evaluó la eficiencia alimenticia en el periodo de primera alimentación y durante la coalimentación con la segunda y tercera presa, el índice de selectividad de Ivlev, el ancho de boca (AB), la supervivencia y el crecimiento. Al día 5 después de la eclosión en ambos experimentos se alcanzó el 100% de incidencia alimenticia. En el Exp.1 no se obtuvo diferencias significativas ( $p>0.05$ ) para la longitud total (LT) ni para el porcentaje de supervivencia de las larvas, al utilizar *B. rotundiformis* o *P. euryhalinus* al día 27 ( $p>0.05$ ). En el Exp. 2 al día 20 no se encontraron diferencias ( $p>0.05$ ) en la supervivencia, sin embargo se observó una LT significativamente superior ( $p<0.05$ ) para una Alta concentración de microalga. El AB no tuvo un crecimiento significativo entre el día 3 y 6 ( $p>0.05$ ); y se ajustó mediante un modelo de regresión lineal con la LT ( $R^2 = 0.89$ ). Los resultados obtenidos nos permiten concluir que el rotífero *B. rotundiformis* puede utilizarse como segunda presa en el cultivo larvario de *L. peru*, así como que la utilización una Alta concentración de microalgas como agua verde, mejora el crecimiento de las larvas. El fácil manejo del rotífero comparado con copépodos será más atractivo para los inversionistas interesados en implementar laboratorios de producción de huachinango.

## Abstract

The Pacific red snapper *Lutjanus peru*, is a species with a great commercial interest in the national and international market. Recently, with the use of the copepod naupli *Parvocalanus crassirostris*, it has been possible to overcome the critical stage of the first feeding. However, a low survival is still obtained in larval rearing. Feeding regime currently used in our laboratory involves a second species of copepod (*Pseudodiaptomus euryhalinus*). The aims of this study were to compare two different feeding sequences and two different microalgae densities in *L. peru* larval rearing, carrying out two experiments. In both experiments *P. crassirostris* nauplii were offered as first prey from day 3 to day 9 or 10. In Exp.1 the use of the rotifer *B. rotundiformis* and the copepod *P. euryhalinus* as second preys was compared from day 6. *Artemia* sp. nauplii were offered as third prey from day 17 or 21 until day 27. Based on the results obtained, only *B. rotundiformis* was used as second prey in Exp.2 and treatment consisted in two densities of microalgae *N. oculata*, Low (300,000 cells/ml) and High (1,000,000 cells/ml) added to the rearing tanks from day 9. Feeding efficiency during first feeding and cofeeding, Ivlev selectivity index, mouth width (MW), survival and growth were evaluated. On day 5 in both experiments, 100% of feeding incidence was reached. In Exp. 1 at day 27, no significant differences ( $p > 0.05$ ) in total length (TL) and survival was observed when *B. rotundiformis* or *P. euryhalinus* were compared. In Exp. 2, there was no difference of survival ( $p > 0.05$ ) between the microalgae concentration but a significantly higher TL at day 20 ( $p < 0.05$ ) was observed in High microalgae concentration. The MW did not show a significant increase between day 3 and 6 ( $p > 0.05$ ) and showed an adjustment to a linear regression model with TL ( $R^2 = 0.89$ ). These results allow us to conclude that rotifer *B. rotundiformis* can be used as the second prey in *L. peru* larval rearing, as well as a High concentration (1,000,000 cells/ml) of microalgae as green water. The easy handling of rotifers compared to copepods will be more attractive for investors interested in implementing hatcheries for Pacific red snapper production.

## 1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura de peces marinos se ha desarrollado a nivel mundial desde mediados del pasado siglo (Ikenoue & Kafuku, 1992), como una forma alternativa a las pesquerías para producir proteína de origen marino. Al ser una fuente adicional en la producción de alimento, constituye un aporte a la economía de los países que la practican generando empleos y divisas. Además, con el cultivo de peces marinos se puede ayudar a la recuperación de las poblaciones silvestres que se encuentran bajo sobreexplotación pesquera, mediante la liberación de juveniles al ecosistema (Saillant *et al.*, 2013).

En varios países ya se tiene bien establecida la biotecnología de producción de especies de peces marinos como son el sabalote (*Chanos chanos*) y barramundi (*Lates calcarifer*) en el sur este de Asia; en Japón, el pargo japonés (*Pagrus major*); en el Mediterráneo, la lubina (*Dicentrarchus labrax*) y dorada (*Sparus aurata*) y en Estados Unidos, la corvina (*Sciaenops ocellatus*) (Tucker, 1998). En México, esta actividad se ha desarrollado engordando juveniles extraídos del medio natural ya que por mucho tiempo no había laboratorios de producción de crías a nivel comercial. Con el afán de organizar esta actividad, se consideran alrededor de 5 especies potenciales para su desarrollo: *Seriola lalandi*, *Seriola rivoliana*, *Totoaba maldonadii*, *Lutjanus guttatus* y *L. peru*.

Para lograr un exitoso cultivo de peces marinos es necesario dominar los procesos de producción de alimento vivo (microalgas, rotíferos y/o copépodos), el manejo de adultos y reproducción en cautiverio, la crianza larvaria y obtención de juveniles en cantidades suficientes que luego se engordarán en jaulas o estanques. Dentro de estos procesos, el más complejo es la crianza larvaria, considerándose como una etapa crítica por la elevada mortalidad que generalmente se presenta. Por ejemplo, se han reportado mortalidades tan elevadas como 93.6% para la breca *Pagellus erythrinus* (Klaoudatos *et al.*, 2004), 98.5 % en la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosacea* (Gracia-López *et al.*, 2005) y 99.5% en el pargo lunarejo *L. guttatus* (García-Ortega *et al.*, 2005).

El mayor pico de mortalidad larvaria se reporta en la transición de la alimentación endógena a la alimentación exógena (Hunter, 1981), una vez que las larvas han consumido la mayor parte de sus reservas alimenticias (vitelo y glóbulo de aceite)

(alimentación endógena) y pasan a alimentarse de presas vivas (alimentación exógena). Esto se debe a que al inicio de la primera alimentación las larvas tienen limitaciones morfológicas y fisiológicas que les dificulta detectar, capturar e ingerir el alimento que garantice su desarrollo y supervivencia (Rivas, 2014). El éxito durante la alimentación exógena entre otros aspectos depende de las características de la presa y las condiciones del cultivo. Algunos factores relacionados con el alimento exógeno son el tipo de presa, la densidad en que se suministran (Gulbrandsen, 1991), su calidad nutricional (composición bioquímica) (Rivas, 2014), el tamaño (Hunter, 1981), la apariencia, conducta de nado, posible olor o sabor y digestibilidad (Tucker, 1992).

Dentro de estos factores, el tamaño de la presa es quizás el más importante para la supervivencia de las larvas. Según Hunter (1984), la talla óptima del ancho de la presa es cercana a un 25% del ancho de la boca de las larvas en el momento de dar inicio la primera alimentación ya que con ello se garantiza la ingesta de alimento y esa relación se incrementa a un 50% en los días posteriores; cuando la presa es mayor a estas proporciones, se complica su ingesta y la larva corre el riesgo de morir por inanición aún en presencia de comida. La calidad nutricional de las presas también es importante, ya que necesitan tener una composición bioquímica adecuada para que las larvas tengan un buen desarrollo. Por ejemplo, deben presentar contenidos adecuados de ácidos grasos poliinsaturados (ARA, EPA y DHA), ya que las larvas son incapaces de producirlos y son componentes esenciales para el desarrollo del su sistema nervioso y visual (Rivas, 2014).

Por su parte, las condiciones del cultivo involucran tanto factores bióticos como abióticos. La incorporación de microalgas a los tanques de cultivo larvario, conocida como técnica de “agua verde”, es uno de los factores bióticos más importantes. Ésta técnica mejora las funciones digestivas de la larva (Cahu *et al.*, 1998; Lazo *et al.*, 2000) y ayuda a mantener el valor nutricional de la presa (Reitan *et al.*, 1997). Además, el uso de microalgas pudiera mejorar el contraste entre la presa y en el tanque de cultivo, ayudando a la larva a ser más eficiente en la depredación (Cobcroft *et al.*, 2001).

Entre los factores abióticos resaltan la intensidad de la luz, el fotoperiodo, el color del tanque, la temperatura, la salinidad, el oxígeno disuelto en el agua y la

concentración de desechos nitrogenados, en particular el amonio. La intensidad de la luz es un factor primordial, ya que las larvas de peces marinos son mayormente depredadores visuales (Hunter, 1981) y necesitan una intensidad de luz, que junto al color del tanque les permita detectar las presas.

Durante el cultivo de larvas de peces marinos, generalmente es necesario proporcionar dos o más presas de diferentes tallas, ya que con el crecimiento de las larvas, surge la necesidad de suministrarle una presa de mayor tamaño. Entre las presas más utilizadas se encuentran los rotíferos y nauplios de copépodos con tallas más pequeñas; y la *Artemia* sp. con talla más grandes (Dhont *et al.*, 2013). Los copépodos son las presas naturales de las larvas de peces marinos y además de su pequeño tamaño, tienen una composición bioquímica más cercana a las necesidades nutricionales de las larvas (contenido adecuado de ácidos grasos poliinsaturados). Sin embargo, el cultivo de copépodos es más complejo que el de otras presas como los rotíferos. Los rotíferos y nauplios de *Artemia* sp. pueden ser enriquecidos con emulsiones lipídicas comerciales (Rivas, 2014) para aumentar su contenido de ácidos grasos. En este sentido, Hernández-Alarcón (2016) evaluó los perfiles de ácido grasos en el rotífero *B. rotundiformis* cultivado con diferentes dietas y reportó perfiles adecuados de DHA y EPA con la utilización de la dieta comercial Orión.

La supervivencia y el crecimiento son variables zootécnicas que nos permiten evaluar el éxito de una dieta (Kolkovski *et al.*, 1993; Koven *et al.*, 2001; Dionicio-Acedo *et al.*, 2017). Además, es importante conocer el crecimiento de las larvas ya que en algunas especies de peces se ha reportado su relación con el tamaño de la boca (Timmerman *et al.*, 2000; Hseu *et al.*, 2004), lo cual da una idea de a qué talla se puede hacer el cambio de presa a una más grande y que tamaño debiera tener esta nueva presa.

Con base en lo anterior, en el presente trabajo se pretende determinar en larvas de *L. peru* que relación se establece entre el tamaño de la boca y la longitud total (LT) a manera de proponer un calendario de alimentación conforme a la capacidad de la larva para atrapar e ingerir presas de diferentes tamaños, así como contrastar la utilización de diferentes presas (copépodo o rotífero), el

momento adecuado para el suministro de nauplios de *Artemia* sp. y dos diferentes condiciones de cultivo en cuanto a concentración de microalgas.

## 1.1 Antecedentes

La familia Lutjanidae es uno de los grupos de peces con mejor aceptación en el mercado a nivel mundial, además históricamente ha sido muy importante para la pesca artesanal del Pacífico mexicano, destacándose en este grupo el huachinango del Pacífico (Madrid-Vera, 1990). Un problema que presenta la pesquería de *L. peru*, es que el esfuerzo pesquero recae principalmente sobre organismos que no han alcanzado la edad de la primera madurez, lo que puede llevar al recurso a condiciones críticas de sobre-explotación (Díaz-Uribe *et al.*, 2004).

El huachinango del Pacífico, por la calidad de su carne y su apariencia, tiene un gran interés comercial en el mercado nacional e internacional. Recientemente se han realizado algunos estudios para mejorar el proceso de engorda de los juveniles (Castillo-Vargasmachuca *et al.*, 2013, Reyes-Becerril *et al.*, 2014). Esto debido a que la especie ha demostrado tener un gran potencial para el cultivo, al adaptarse con facilidad a las condiciones de engorda en jaulas flotantes y presentar una buena tasa de crecimiento (1.49 cm/mes y 84 g/mes) (Avilés-Quevedo *et al.*, 1996). A pesar de todo esto, actualmente se conoce poco sobre su cultivo.

Desde principios de los años 2000 se han realizado algunos trabajos para lograr completar el ciclo de cultivo de *L. peru*. Ejemplo de esto es que en el CICIMAR-IPN se alcanzó la maduración gonádica mediante un régimen foto-térmico (Dumas *et al.*, 2004) y la maduración final y posterior desove mediante el uso de hormonas (Dumas *et al.*, 2004; Pelcastre-Campos, 2006). Una vez logrados los desoves se realizaron algunos estudios para conocer mejor la etapa larvaria en aspectos relacionados con: las condiciones de incubación (Peña *et al.*, 2012), el desarrollo estructural de los ojos y la boca de la larva hasta la primera alimentación (Zavala-Leal *et al.*, 2015), el efecto de las condiciones de cultivo sobre la primera alimentación (Zavala-Leal *et al.*, 2013), el comportamiento alimenticio de la larva (Peña & Dumas, 2015) y la organogénesis del sistema digestivo de la larva (Peña *et al.*, 2016). Esto mayormente porque el cultivo larvario y la obtención de

juveniles han presentado muy poca o nula supervivencia (Duncan *et al.*, 2002; Dumas *et al.*, 2014), principalmente por no haber encontrado una presa adecuada para la primera alimentación, debido al pequeño tamaño de la boca de las larvas.

Los nauplios de copépodos han demostrado tener un tamaño adecuado para utilizarse como presas en larvas de peces con una boca pequeña (Chesney, 2005). Russo *et al.* (2009), evaluaron en las larvas de *Epinephelus marginatus* (ancho de boca de la larva (AB) de 259  $\mu\text{m}$ ), mediante el índice de selectividad de Ivlev, la preferencia por diferentes presas como los nauplios del copépodo *Acartia clausi* (ancho de 130  $\mu\text{m}$ ), el rotífero *B. plicatis* (ancho de 160  $\mu\text{m}$ ) y larvas trocóforas de bivalvos (ancho de 180  $\mu\text{m}$ ). El trabajo se basó en un análisis tridimensional (ancho, largo y profundidad) de las diferentes presas, y el tamaño de la boca de las larvas. Estos autores reportan que el AB fue el factor limitante para la selección de las presas, siendo las presas más pequeñas como los nauplios de copépodo, las preferidas durante los primeros días. Doi *et al.* (1997), evaluaron para la primera alimentación de larvas de *L. argentimaculatus* con un AB de 166-188  $\mu\text{m}$ , el suministro de nauplios del copépodo *A. sinjiensis* con un ancho de 58  $\mu\text{m}$  y el rotífero *Brachionus* sp. con un ancho de 117  $\mu\text{m}$ . Estos autores reportan el consumo de nauplios del copépodo desde el momento que se abrió la boca de las larvas, pero el consumo de rotíferos fue hasta 3 días después, cuando el AB era aproximadamente de 250  $\mu\text{m}$ .

Dumas *et al.* (2014) identificaron que el nauplio del copépodo *Parvocalanus crassirostris* es suficientemente pequeño para ser ingerido por la larva de *L. peru* en los primeros días de cultivo. De esta manera, se logró superar exitosamente la primera alimentación de *L. peru*, utilizando los nauplios del copépodo *P. crassirostris* (Taylor-Cota, 2017). Este autor reporta un ancho de boca (AB) para las larvas de *L. peru* en la primera alimentación de  $197.81 \pm 8.81 \mu\text{m}$  y un ancho para el nauplio I de *P. crassirostris* de  $43 \pm 3 \mu\text{m}$  (20% del AB de la larva), lo que lo coloca como una presa suficientemente pequeña para ser ingerida por la larva en los primeros días de cultivo. Así, utilizando los nauplios de *P. crassirostris*, este autor obtuvo a los 15 días después de la eclosión (DDE) valores de supervivencia de aproximadamente 30%.

Un problema reportado en el trabajo de Taylor-Cota (2017), fue una alta mortalidad de las larvas entre los 14 y 17 DDE, disminuyendo la supervivencia hasta 1.1% a 30 DDE. Una alta mortalidad sobre estas fechas también ha sido reportada por otros autores para la familia Lutjanidae (Lim *et al.*, 1985; Bonlipatanon, 1988; Emata *et al.*, 1994; Boza-Abarca, 2008). Pero generalmente los porcentajes de supervivencia reportados para las familias Lutjanidae y Serranidae varían entre especies y algunos no son elevados, como ejemplos tenemos: los pargos *L. analis* (14% a 38 DDE) (Watanabe *et al.*, 1998), *L. johnii* (25-35% a 40 DDE) (Schipp *et al.*, 2001), *L. argentimaculatus* (21% a 50 DDE ) (Leu *et al.*, 2003), *L. campechanus* (2.4% a 28 DDE) (Rhodes & Phelps, 2008), *L. guttatus* (1.5% a 67 DDE) (Boza-Abarca *et al.*, 2008), el mero *Epinephelus coioides* (3.4% a 36 DDE) (Toledo *et al.*, 1999), la cabrilla *Mycteroperca rosacea* (0.5% a 40 DDE) (Gracia-López *et al.*, 2005) y el mero *Epinephelus marginatus* (1-8% a 33 DDE) (Russo *et al.*, 2009).

## 1.2 Justificación

Se han logrado avances sustanciales en el desarrollo del cultivo del huachinango del Pacífico en los últimos tiempos, aunque aún falta mucho por conocer. El encontrar una presa adecuada para la primera alimentación (nauplios de *P. crassirostris*), ha permitido obtener juveniles en cautiverio de una forma regular. En el calendario de alimentación larvaria propuesto por Taylor-Cota (2017), se suministran nauplios de *P. crassirostris* en la primera alimentación y como segunda presa se ofrecen nauplios del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* (más grandes que los anteriores). No obstante, la complejidad que representa utilizar dos especies de copépodos en el cultivo larvario del huachinango, pudiera desalentar a los productores que se interesen en cultivar esta especie.

Hasta el momento, el rotífero *Brachionus rotundiformis* se ha utilizado en la primera alimentación de las larvas de *L. peru*, sin obtener buenos resultados (Duncan *et al.*, 2002; Zavala-Leal *et al.*, 2013; Dumas *et al.*, 2014; Taylor-Cota, 2017). Esto pudiera deberse a que el ancho del rotífero ( $134 \pm 11 \mu\text{m}$  equivalente al 67% del AB de las larvas), no es el adecuado para la primera alimentación. Sin embargo, aún no se ha evaluado suministrar *B. rotundiformis* como segunda presa, una vez que las larvas están más desarrolladas y presentan un AB mayor, para poder consumirlo. Al sustituir a *P. euryhalinus* por una presa más fácil de producir como *B. rotundiformis* (cultivado con una dieta comercial rica en DHA y EPA), y durante un mayor periodo de tiempo, permitirá establecer un calendario de alimentación más sencillo de implementar tanto a escala experimental como industrial.

Otro problema que se presentó en el estudio de Taylor-Cota (2017), fue la elevada mortalidad registrada durante los 14 a 17 DDE. El autor describe para esos días un comportamiento anómalo de las larvas que comenzaba al encender las luces, donde se golpeteaban en el fondo del tanque. Este evento coincide con el comienzo del recambio de agua, el cese del suministro de microalga y el inicio del sifoneo (se retira materia orgánica acumulada del fondo del tanque y se aclara). Naas *et al.* (1996), plantean que un tanque con paredes negras y fondo blanco (como el utilizado por Taylor-Cota (2017) y en el presente trabajo), se establece un gradiente de iluminación positivo hacia el fondo, especialmente en agua clara,

que pudiera atraer a las larvas por su conocida fototaxis, convirtiendo el fondo del tanque en una trampa. La adición de microalgas pudiera mejorar la situación al atenuar la penetración vertical de la luz, disminuyendo el gradiente de iluminación hacia el fondo, en este periodo crítico para las larvas.

Por lo antes expuesto, y en aras de realizar aportes a la obtención de una tecnología eficiente y sencilla para el cultivo de *L. peru*, es importante conocer la secuencia y los periodos de tiempo en que se deben suministrar los diferentes tipos de presas; y las condiciones de cultivo que propicien una mayor supervivencia. Por lo cual, este trabajo se ha planteado las siguientes **hipótesis**:

## **2. HIPÓTESIS**

### **2.1 Hipótesis 1**

La prolongación del periodo de suministro de la segunda presa y la sustitución de la misma (actualmente nauplios del copépodo *P. euryhalinus*) por el rotífero *B. rotundiformis* cultivado con RotiGrow, tendrá un efecto igual o superior sobre el crecimiento y la supervivencia de las larvas de *L. peru*, en cultivo.

#### **2.1.1 Objetivo general 1**

Evaluar el efecto de dos secuencias y duración de suministro de presas en la supervivencia y crecimiento de larvas de *L. peru*.

#### **2.1.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la eficiencia alimenticia durante la primera alimentación.
- Evaluar y comparar la incidencia alimenticia, intensidad alimenticia y selectividad en coalimentación, en diferentes secuencias alimentarias.
- Evaluar y comparar el crecimiento de las larvas en las diferentes secuencias alimentarias.
- Determinar y comparar el ancho de la boca de las larvas a diferentes tiempos del desarrollo.
- Determinar y comparar la supervivencia larvaria entre las diferentes secuencias alimentarias.

## **2.2 Hipótesis 2**

La utilización de una mayor concentración de microalga como agua verde, tendrá un efecto favorable en el crecimiento y la supervivencia de las larvas.

### **2.2.1 Objetivo general 2**

Evaluar el efecto de dos concentraciones de microalga (300 000 cel/ml y 1 000 000 cel/ml) en la supervivencia y crecimiento de larvas de *L. peru*.

### **2.2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la incidencia alimenticia durante la primera alimentación.
- Evaluar y comparar la incidencia alimenticia, intensidad alimenticia y selectividad en los periodos de coalimentación en dos concentraciones de microalga.
- Evaluar y comparar el crecimiento de las larvas con dos concentraciones de microalga.
- Determinar y comparar el ancho de la boca de las larvas a diferentes tiempos del desarrollo y relacionarlo con la longitud total.
- Determinar y comparar la supervivencia larvaria en dos concentraciones de microalga.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

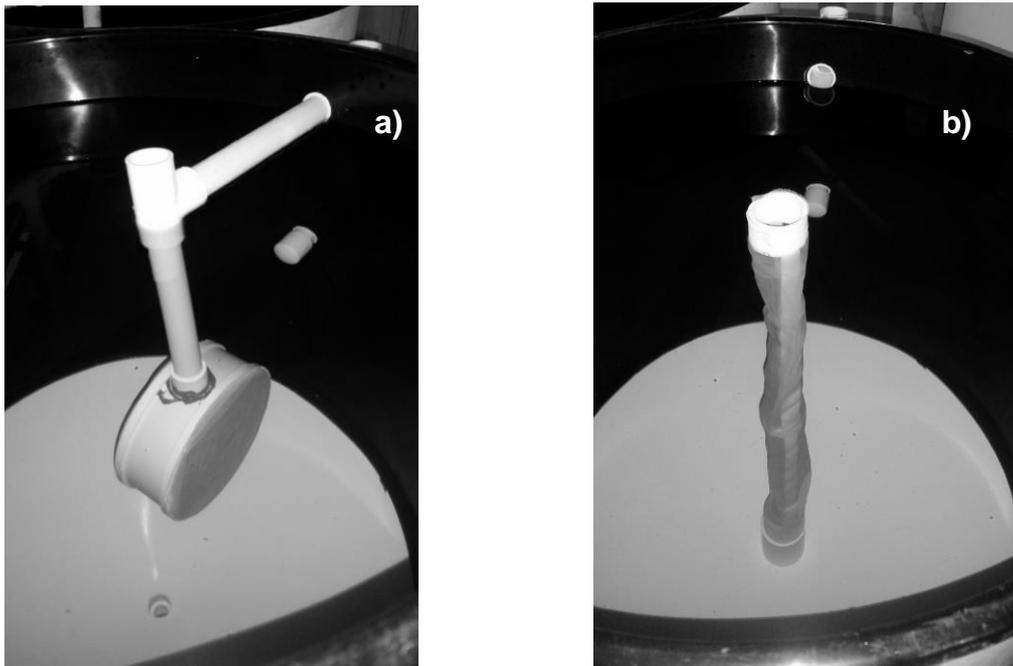
#### **3.1 Desove**

Se realizaron dos experimentos referidos en lo subsecuente como experimento 1 (Exp.1) y experimento 2 (Exp.2). Los desoves fueron donados por la empresa Earth Ocean Farms ubicada en Puerto Pichilingue, B.C.S. obteniéndose de reproductores en cautiverio que desovan espontáneamente. El primer desove se adquirió el 4 de noviembre del 2017 (Exp.1) y el segundo desove el 5 de septiembre del 2018 (Exp. 2). Una vez recolectados los huevos se colocaron en una bolsa plástica con 10 litros de agua de mar filtrada y esterilizada (previamente clorada durante 24 horas con 5 mg/L de cloro y neutralizada con 4 mg/L de tiosulfato de sodio). A la bolsa se le inyectó oxígeno y se puso en una hielera para transportarse a la Unidad Piloto de Maricultivos (UPIMA) en el CICIMAR-IPN.

Una vez en el laboratorio, se separaron los huevos viables (huevos flotantes) de los no viables (huevos que se hunden) y se estimó el volumen de huevos viables. Los desoves fueron depositados en una tolva cilindro cónica de 130 L de volumen, a  $26.0 \pm 0.5$  °C con aireación y recambio de 45 L/hora con agua de mar filtrada. Para estimar el porcentaje de eclosión una vez sembrada la tolva, se homogenizó y se extrajeron tres muestras de 100 mL que se colocaron en bolsas Ziploc® con dos litros de agua de mar filtrada y esterilizada como ya se describió. Luego se inyectó aire a las bolsas y se colocaron en baño María con las mismas condiciones de temperatura que la tolva de incubación. Pasadas 24 h se evaluó el porcentaje de eclosión.

#### **3.2 Sistema de crianza**

Se utilizó un sistema de recirculación cerrada para crianza larvaria. El mismo consiste de 16 tanques de fibra de vidrio con 200 L de capacidad máxima, un reservorio de agua de 1 000 L, una bomba centrífuga de 1/8 Hp, filtro rápido de arena, filtro biológico, columna de bioesferas y lámpara ultravioleta. Los tanques de cultivo utilizados tienen una forma cilindro cónica (67 cm de alto y 60 cm de diámetro), con paredes negras y fondo blanco. En cada tanque se colocó una manguera para aireación y un mecanismo para filtrar el agua “tipo tambor” para el Exp.1 y “tipo columna” para el Exp.2 con malla de 200  $\mu\text{m}$  (Figura 1).



**Figura 1.** Mecanismos de filtración a) “tipo tambor” b) “tipo columna”.

### **3.3 Siembra en tanques**

Al eclosionar las larvas, se homogenizó la tolva de incubación y se evaluó la densidad de larvas para calcular el volumen de siembra. Los tanques de cultivo con anterioridad fueron desinfectados y llenados con 100 L de agua filtrada y esterilizada. La densidad de siembra fue de 50 larvas/L, teniendo unas 5 000 larvas/tanque en ambos experimentos. Las larvas permanecieron en los tanques en oscuridad y sin alimento hasta 3 DDE.

### **3.4 Cultivo de microalgas**

El cultivo de las microalgas se realizó a una temperatura controlada (24 °C) en columnas de 350 L, utilizando como medio de cultivo f/2 (Guillard & Ryther, 1962) con aireación vigorosa y un fotoperiodo de 18:6 (Luz:Oscuridad) provisto con lámparas fluorescentes. Las especies de microalgas cultivadas fueron *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica* y *Cheatoceros calcitrans*.

### **3.5 Cultivo de las presas**

#### **3.5.1 Rotíferos**

Se utilizó la especie *B. rotundiformis* cultivada con la dieta comercial RotiGrow-OneStep® (Reed Mariculture, CA, USA). El cultivo se llevó a cabo en tolvas cilindro cónicas, con un volumen de 80 litros de agua de mar y una densidad de siembra de 500 rot/mL, según las instrucciones del proveedor. Cada día se realizó la evaluación del cultivo de rotíferos, para verificar el crecimiento de la población y el ajuste de la ración diaria. Por millón de rotífero en cultivo, cada día se preparó 1 mL de la dieta comercial que se diluyó en 900 mL de agua de mar, conservándolo en refrigerador y suministrándolo en tres raciones diarias. Cada tercer o cuarto día se cosechó una tolva utilizando un tamiz de luz de malla de 50 µm.

#### **3.5.2 Copépodos**

El copépodo *P. euryhalinus* se cultivó en tolvas cilindro cónicas con 130 L de capacidad a una temperatura de  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se les proporcionó diariamente una mezcla de microalgas (*C. calcitrans* y *T. suecica*; 9:1) a una concentración de 1 000 000 células/mL. En cuanto al copépodo *P. crassirostris*, se cultivó en contenedores plásticos de 1 000 L de capacidad a una temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ . Se alimentaron diariamente con las microalgas *I. galbana* y *T. suecica* (7:3) a una concentración de 70,000 a 100,000 células/ml. La cosecha de los nauplios se llevó a cabo con unas redes con luz de malla de 180, 100 y 40 µm, siendo los dos primeros para poder separar los adultos y copepoditos de los nauplios.

#### **3.5.3 Artemia sp.**

Cada día se colocaron 20 g de quistes de *Artemia* sp. dentro de un recipiente de vidrio y se adicionó un litro de agua dulce, 1 g de cloro en polvo y se puso aireación moderada, esperando a que los quistes cambiaran a una coloración anaranjada. Luego se enjuagaron y se colocaron en una tolva de 130 L de capacidad con agua de mar y aireación vigorosa. Transcurridas 18 horas se colocaron en un contenedor con 18 L de agua de mar, a una densidad de 250 nauplios/mL y se agregaron 14 g de la emulsión Spresso-Selco® (Inve

Aquaculture, UT, USA) con aireación moderada. Diez horas después de estar en este medio enriquecedor, se enjuagaron para utilizarse como alimento.

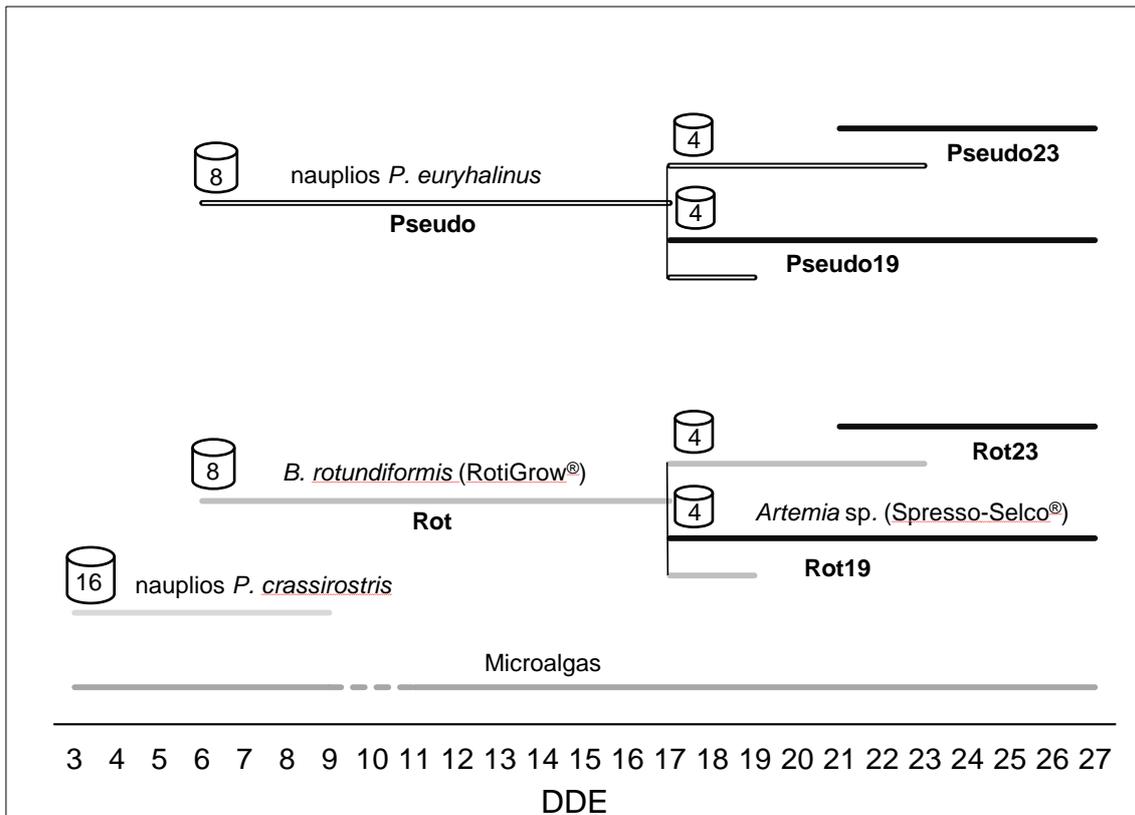
### **3.6 Calendario de alimentación**

En ambos experimentos, el alimento y las microalgas se suministraron a partir de los 3 DDE, una vez que se observó boca y ano abiertos, y el ojo pigmentado. Estas características son las que indican que la larva puede ubicar e ingerir las presas, comenzando a alimentarse exógenamente (Zavala-Leal *et al.*, 2013).

#### **3.6.1 Exp.1**

En el Exp.1 se sembraron 16 tanques. En todos los tanques se suministraron nauplios de *P. crassirostris* desde los 3 hasta los 9 DDE. A partir del día 6 se suministró como segunda presa *B. rotundiformis* en 8 tanques y nauplios de *P. euryhalinus* en los otros 8 tanques, los cuales se denominarán como Rot y Pseudo, respectivamente. Se tuvo así un periodo de coalimentación de 4 días desde el día 6 hasta el día 9, con *P. crassirostris* y *B. rotundiformis* en Rot; y *P. crassirostris* y *P. euryhalinus* en Pseudo (Figura 2)

A partir del día 17 (Rot 19) en 4 de los tanques que recibieron rotíferos se inició la coalimentación con una tercera presa que fueron nauplios de *Artemia* sp.; y en los 4 tanques restantes se inició la coalimentación con nauplios de *Artemia* sp. a partir del día 21 (Rot23). De igual forma se ofreció nauplio de *Artemia* sp. en los tanques donde se suministró *P. euryhalinus* (Pseudo19 y Pseudo23). En ambos casos, la coalimentación duró 3 días (días 17,18 y 19; días 21, 22 y 23) y el experimento se dio por finalizado el día 27 (Figura 2).

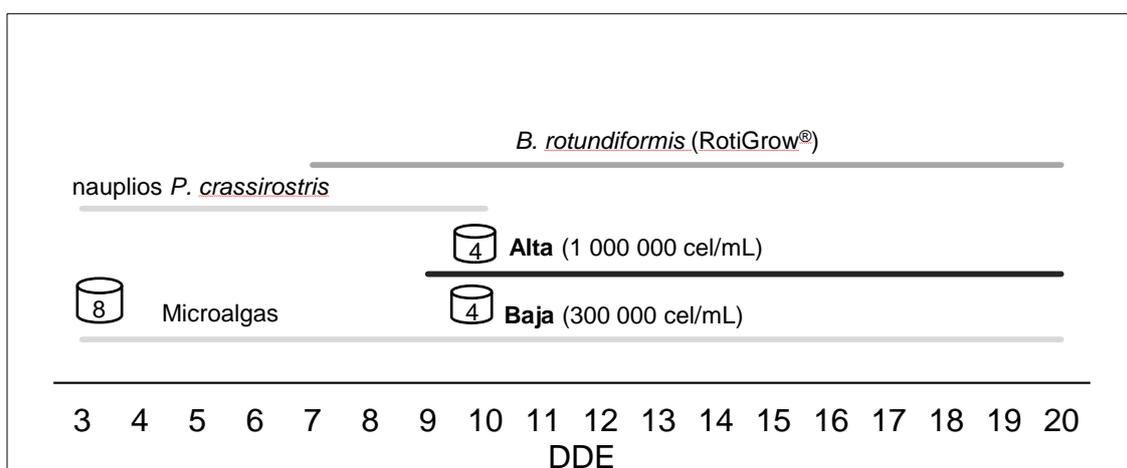


**Figura 2.** Calendario de alimentación del Exp.1

A partir de los 3 DDE y hasta el día 9, los tanques se mantuvieron sin flujo y diariamente se suministraron 300 000 cel/mL de mezcla de microalga, determinándola mediante un contador XpertCount® (XpertSea, QC, CA). Esta mezcla consistió en aproximadamente 120 000 cel/mL entre *I. galbana*, *T. suecica* y *C. calcitrans* en proporción 2:1:1 respectivamente y 180 000 cel/mL de *N. oculata*. Al día 9 se realizó el primer sifoneo y se empezó a disminuir la concentración de microalgas con el inicio del flujo nocturno. Al encender las luces del día 11 se observaron conductas de nado errático y golpeteo de las larvas contra las superficies blancas como el fondo y los filtros. Para tratar de contrarrestar esta conducta se aumentó nuevamente la concentración de microalga a 300 000 cel/mL utilizando una pasta de *N. oculata* (Reed Mariculture, CA, USA) y se disminuyó la intensidad de la luz de 1 000 lux a 400 lux. Para determinar la intensidad de la luz se utilizó un fotómetro Foot Candle Lux Meter, modelo 407026 (Extech-Instruments, NH, USA).

### 3.6.2 Exp.2

Con base en lo observado en el experimento anterior, al evaluar que las larvas de huachinango ingieren el rotífero como segunda presa, se planteó un segundo experimento únicamente con el rotífero como segunda presa, pero a diferente concentración de microalga. En el Exp.2 se sembraron 8 tanques en el mismo sistema de cultivo utilizado en el Exp.1. Se suministraron nauplios de *P. crassirostris* desde el día 3 hasta el día 10 y a partir del día 7 se suministró *B. rotundiformis* hasta el día 20. En este experimento, el periodo de coalimentación fue desde los 7 hasta los 10 DDE. Desde el día 3 y hasta el día 8, en todos los tanques se suministró 300 000 cel/mL de microalga en una mezcla como la descrita en el Exp.1, determinando también las concentraciones mediante un contador Xpertcount® (XpertSea, QC, CA). A partir del día 9 y hasta el día 20, los 8 tanques se dividieron en dos. Cuatro tanques recibieron diariamente una concentración de *N. oculata* de 300 000 cel/mL (Baja concentración de microalga) y en cuatro tanques se suministró 1 000 000 cel/mL de la microalga *N. oculata* (Alta concentración de microalga) (Figura 3). Los tanques se mantuvieron sin flujo hasta el día 9 cuando inició un flujo nocturno de 600 mL/min y a partir del día 10 inició el sifoneo. La intensidad de la luz se mantuvo en 500 lux durante todo el experimento.



**Figura 3.** Calendario de alimentación del Exp.2

### 3.7 Condiciones de cultivo

Los parámetros fisicoquímicos del agua en los tanques de cultivo (Tabla 1) se monitorearon diariamente. Para determinar la temperatura, el oxígeno disuelto y la salinidad se utilizó un multiparámetro smarTROLL Multiparameter Handheld (In-Situ Inc., CO, USA). El amonio y el nitrito fueron determinados mediante kits colorimétricos comerciales Saltwater master test kit (API Marine Inc., FL, USA)

**Tabla 1.** Condiciones de cultivo para los experimentos 1 y 2.

	Exp.1	Exp.2
Temperatura (°C)	25.9 ± 0.2	25.6 ± 0.8
Oxígeno disuelto mg/L	5.8 ± 0.6	5.5 ± 0.7
Salinidad (UPS)	36 ± 0.4	37.2 ± 0.4
Amonio(NH <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) (ppm)	0.3 ± 0.2	0.2 ± 0.2
Nitrito (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	–	0
Fotoperiodo	12 L /12 O	12 L /12 O
Intensidad de luz (lux)	1 000 (D3-D10) 400 (D11-D27)	500
Agua verde (cel/ml)	300 000	(D3-D8) 300 000 (D9) 300 000 (D9) 1 000 000

### 3.8 Densidades de presas

El alimento se suministró en las mañanas temprano. En el Exp.1 a los 3 DDE se suministraron 3.5 nauplios/mL de *P. crassirostris* y se mantuvo aproximadamente esta densidad hasta el inicio del suministro de la segunda presa al día 6 (*B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*), donde la densidad de naulios de *P. crassirostris* se fue disminuyendo progresivamente. Al día 6 se suministraron 2 rot/mL en Rot y 2 nauplios/mL de *P. euryhalinus* en Pseudo, y las densidades de estas presas fueron aumentando progresivamente durante la coalimentación hasta alcanzar densidades promedio de 10 rot/mL de *B. rotundiformis* y de 2.5 nauplios/mL de *P.*

*euryhalinus*. Al inicio del suministro de la *Artemia* sp., tanto al día 17 como 21, se comenzó suministrando a 1 nauplio/ml de *Artemia* sp., hasta alcanzar progresivamente 2 nauplios/mL y tanto las densidades de *B. rotundiformis* como de *P. euryhalinus*, se fueron disminuyendo progresivamente durante la coalimentación con la *Artemia* sp.

En el Exp.2 a los 3 DDE se suministró una densidad de 6 nauplios/mL de *P. crassirostris*, manteniendo esa densidad aproximada hasta el día 7, donde se fue disminuyendo progresivamente al inicio de la coalimentación con *B. rotundiformis*. Por su parte *B. rotundiformis* al día 7 se suministró a una densidad de 2 rot/mL, la cual fue aumentando progresivamente hasta alcanzar 10 rot/mL para el día 10 al final de la coalimentación, densidad que se mantuvo por el resto del Exp.2 hasta los 20 DDE.

### 3.9 Eficiencia alimenticia

La eficiencia alimenticia está definida por la incidencia alimenticia y la intensidad alimenticia. La incidencia alimenticia es el porcentaje de larvas de la muestra que presentaron alimento en el tracto digestivo. La intensidad alimenticia, es la cantidad promedio de presas ingeridas por larva, teniendo en cuenta solo aquellas larvas con alimento (Yin & Blaxter, 1987).

$$\text{Incidencia Alimenticia} = \frac{\text{No. de larvas con alimento}}{\text{No. total de larvas de la muestra}} * 100$$

$$\text{Intensidad Alimenticia} = \frac{\sum \text{No. de presas en el tracto digestivo}}{\text{No. de larvas con alimento}}$$

En la evaluación de la eficiencia alimenticia las larvas de los tanques fueron tomadas aleatoriamente, colocadas en cajas Petri y anestesiadas con 2-fenoxietanol (4ppm). Mediante el uso de un estereoscopio, se observó la presencia o ausencia de alimento. Para determinar la intensidad alimenticia fue necesario diseccionar el tracto digestivo de las larvas y contabilizar el número de presas.

En el Exp.1 se muestrearon 10 larvas por tanque en 6 tanques (60 larvas en total) seleccionados al azar, desde el día 3 (inicio de la alimentación exógena) hasta que las larvas alcanzaron un 100% de la incidencia alimenticia. En el día 3 se esperó 6 horas después de adicionar el alimento siguiendo el criterio propuesto por Zavala-Leal *et al.* (2013) para comenzar el muestreo y el resto de los días se esperó solo dos horas. En el Exp.2 del día 3 al 5, solamente se evaluó la incidencia alimenticia y no la intensidad alimenticia.

### **3.10 Eficiencia alimenticia en coalimentación**

Durante los días de coalimentación en ambos experimentos se realizó el muestreo y disección de larvas para evaluar el consumo de las diferentes presas que se le suministraron. Para el Exp.1, se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) en Rot y en Pseudo, a los 6, 7, 8 y 9 DDE. También se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) en Rot19 y en Pseudo19, a los 18 DDE; y en Rot23 y en Pseudo23, a los 22 DDE. En el Exp.2 se muestrearon 40 larvas entre los 8 tanques (5 por tanque) en los días 7 y 8. Siendo baja la supervivencia, se optó por muestrear 10 larvas (5 por tanque) al día 10, en los tanques con Baja concentración de microalga y en los tanques con Alta concentración de microalga.

### **3.11 Índice de selectividad de Ivlev (1961)**

Este índice evalúa la preferencia que tienen las larvas por las presas, utilizando los datos de consumo de presas y la concentración de presas en el tanque. Su cálculo es independiente para cada presa y tiene un rango de valores desde -1 hasta 1, donde 1 indica que hay una máxima selección sobre la presa, 0 indica que la presa se consume proporcionalmente a la cantidad presente en el tanque y -1 refleja que no hubo consumo de la presa en cuestión. Los datos para realizar el cálculo se tomaron de los muestreos que se evaluaron para la eficiencia alimenticia en coalimentación. La fórmula para obtener el índice fue la siguiente:

$$E = \frac{r_i - p_i}{r_i + p_i}$$

$r_i$ : % de la presa en la larva  
 $p_i$ : % de la presa en el tanque

Ejemplo hipotético del cálculo del Índice de Ivlev.

Se suministran en el tanque:

- 8 rotíferos/mL
- 2 copépodos/mL

El porcentaje de las presas en el tanque **pi** es:

- **pi**(rotífero) = 80%
- **pi**(copépodo) = 20%

Se analiza el contenido estomacal y se encuentran:

- 2 rotíferos
- 3 copépodos

El porcentaje de cada presa en el estómago **ri** es:

- **ri**(rotífero) = 40%
- **ri**(copépodo) = 60%

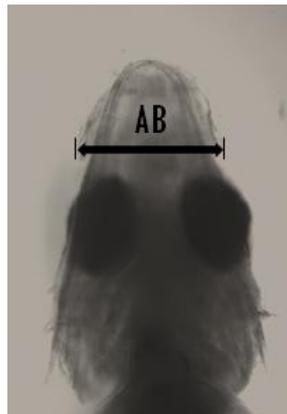
$$E(\text{rotífero}) = \frac{\mathbf{ri}(\text{rotífero}) - \mathbf{pi}(\text{rotífero})}{\mathbf{ri}(\text{rotífero}) + \mathbf{pi}(\text{rotífero})} = \frac{40 - 80}{40 + 80} = -0.16$$

$$E(\text{copépodo}) = \frac{\mathbf{ri}(\text{copépodo}) - \mathbf{pi}(\text{copépodo})}{\mathbf{ri}(\text{copépodo}) + \mathbf{pi}(\text{copépodo})} = \frac{60 - 20}{60 + 20} = 0.5$$

### 3.12 Ancho de la boca (AB) de la larva

El AB se determinó según la metodología propuesta por Russo *et al.* (2009). Para esto, las larvas muestreadas fueron anestesiadas previamente con 2-fenoxietanol y fijadas en formol al 5%. Posteriormente se colocaron las larvas en posición ventral y se les tomaron fotos utilizando una cámara digital Infinity 1 (Lumenera Corporation, ON, CA), ajustada a un estereoscopio Olympus. Con las fotos y la

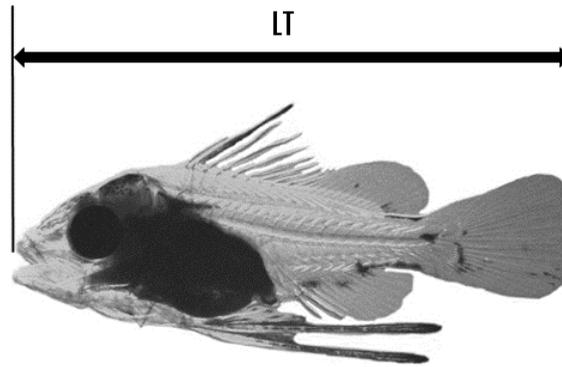
ayuda del programa ImagePro Plus v4.5 se realizaron las mediciones, las cuales tuvieron como referencia la cara externa de la articulación mandíbula-maxilar, como se muestra en la Figura 4. En el Exp.1 se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) en Rot y en Pseudo a los 3, 6, 11 y 16 DDE; de igual forma se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) en Rot19, Cop19, Rot23 y Cop23 a los 20 y 27 DDE. Para el Exp.2 se muestrearon 40 larvas (5 por tanque) los días 3 y 6; y 15 larvas (5 por tanque) en Alta concentración y en Baja concentración de microalga a los 9, 12, 15 y 20 DDE.



**Figura 4.** Puntos de referencia para medir el ancho de la boca de larvas de *L. peru*.

### **3.13 Longitud total (LT)**

La LT se determinó midiendo desde el extremo de la mandíbula superior hasta la punta de la aleta caudal (Figura 5). Para esto las larvas se anestesiaron con 2-fenoxietanol en una caja Petri, se pusieron en posición lateral y se tomaron fotos que se midieron con los mismos instrumentos descritos para el AB. En el Exp.1 se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) en Rot y en Pseudo los días 0, 3, 5, 12, 16. Para Rot19, Pseudo19, Rot23 y Pseudo23 también se muestrearon 30 larvas (10 por tanque) a los 20 y 27 DDE. Para el Exp.2 se muestrearon 40 larvas (10 larvas por tanque) a los 0, 3, 6, 9, 12, 15 y 20 DDE.



**Figura 5.** Puntos de referencia para la medición de la LT.

### **3.14 Supervivencia**

Se realizó un primer sifoneo de limpieza en el Exp.1 al día 9 y en el Exp.2 al día 10. Las larvas muertas de estos sifoneos no se contaron, debido al estado de desintegración que tenían. A partir de entonces se sifonearon los tanques en días alternos, contabilizando las larvas muertas en el fondo y se contaron las larvas vivas a 27 DDE, al final del Exp.1, así como a 20 DDE en el Exp.2. Con estos datos y considerando las 5 000 larvas por tanque sembradas inicialmente como 100%, se calculó el porcentaje de supervivencia por día. Este cálculo se realizó considerando que las larvas vivas en determinado día fueron la sumatoria de las larvas muertas extraídas mediante el sifón en los días posteriores al día en cuestión, más las larvas vivas en el tanque al final del experimento. Por ejemplo, para el día 21 (Exp.1) las larvas vivas fueron la sumatoria de las larvas muertas extraídas mediante el sifón los días 23, 25 y 27; más las larvas vivas al día 27.

### **3.15 Análisis Estadísticos**

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el software estadístico Statistic Versión 10.0 de Statsoft. A los datos obtenidos de la LT por día y por tratamiento, y al consumo promedio de presas se les aplicó una prueba de Shapiro Wilk y de Levene para determinar si cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, respectivamente. Cuando los datos cumplieron los supuestos se les aplicó un ANOVA de una vía y cuando no cumplieron, se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En caso de encontrar diferencias significativas se realizó una prueba a posteriori de Tukey

para los ANOVAs o una prueba de comparación múltiple de rangos para los Kruskal-Wallis. Tanto los porcentos de supervivencia como los de consumo de presa, se transformaron a arcoseno de raíz cuadrada y se les aplicó un ANOVA de una vía. En el Exp.2, con los datos de AB y de LT se realizó una regresión lineal para determinar si existe relación entre estas variables.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1 Experimento 1**

#### **4.1.1 Desove**

Del desove del Exp.1 se obtuvieron 210 mL = 468 300 de huevos viables, con un porcentaje de eclosión de  $87.8 \pm 5.3\%$ .

#### **4.1.2 Eficiencia alimenticia en la primera alimentación (*P. crassirostris*).**

##### **4.1.2.1 Incidencia alimenticia**

A los 3 DDE, primer día de alimentación exógena, en el Exp.1 la incidencia alimenticia fue de  $73.7 \pm 21.7\%$ . A los 4 DDE, aumentó a un  $93.3 \pm 12.1\%$ , alcanzándose el 100% de las larvas con alimento en el tracto digestivo a los 5 DDE.

##### **4.1.2.2 Intensidad alimenticia**

En el Exp.1 a los 3 DDE se encontró un promedio de  $4.0 \pm 1.6$  nauplios en el tracto digestivo de aquellas larvas que ingirieron alimento. A los 4 DDE este valor incrementó a  $4.5 \pm 1.3$  nauplios y para el día 5 se registraron  $5.2 \pm 0.4$  nauplios.

#### **4.1.3 Eficiencia alimenticia en la coalimentación.**

##### **4.1.3.1 Transición entre la primera presa (*P. crassirostris*) y la segunda presa (*B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*).**

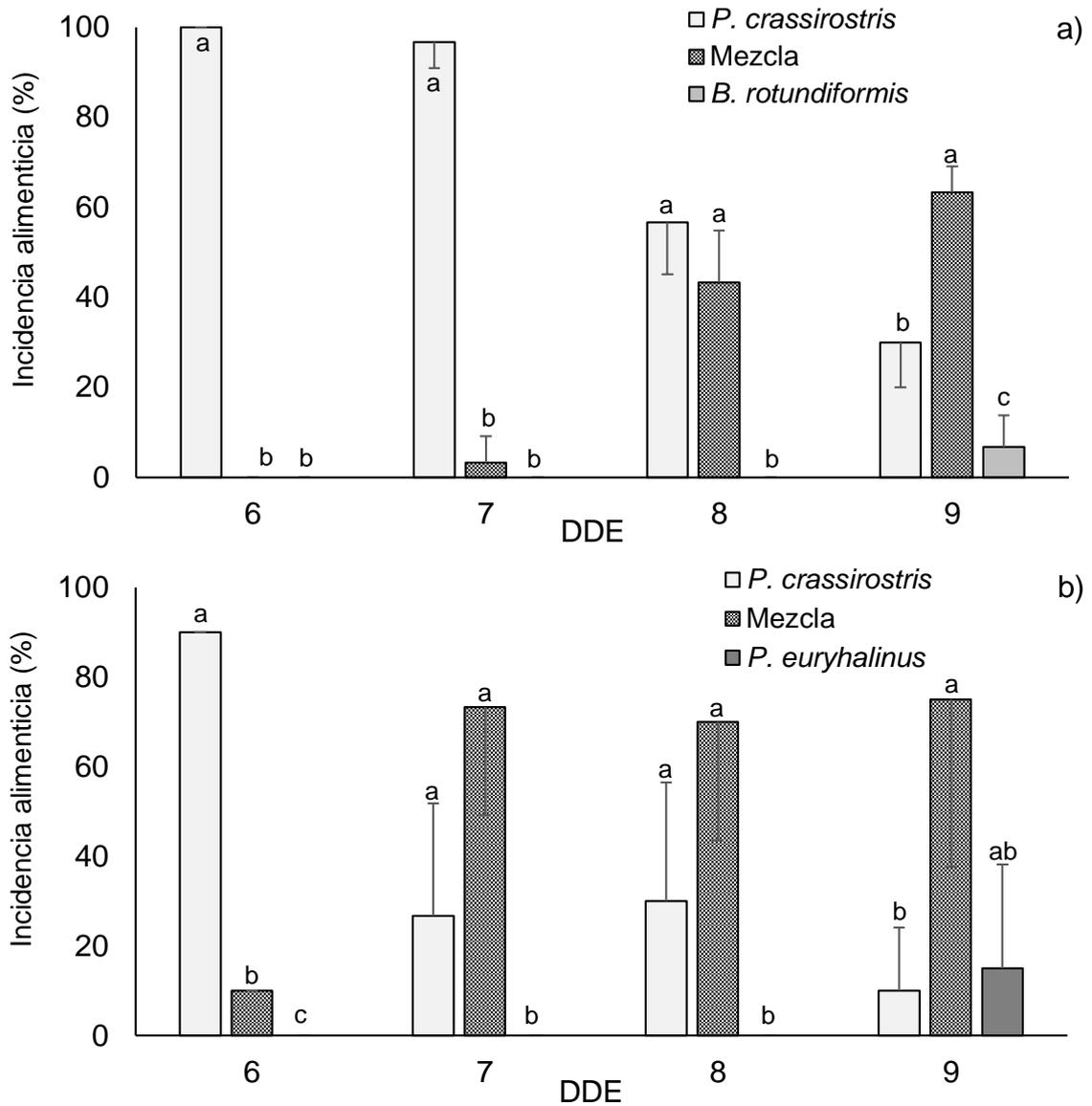
###### **4.1.3.1.1 Incidencia alimenticia en coalimentación.**

Con los datos de contenido del tracto digestivo durante los días de coalimentación con la primera y la segunda presa, se determinó y comparó por cada día la incidencia alimenticia de las larvas que comieron cada tipo de presa y las larvas que consumieron una mezcla de ambas (Figura 6). Al día 6 (primer día de coalimentación), en Rot, el 100% de las larvas consumieron nauplios de *P. crassirostris* y no se registró incidencia de rotíferos; sin embargo, para Pseudo si se registró un 10% de larvas que presentaron una mezcla de nauplios de *P. euryhalinus* y de nauplios de *P. crassirostris*, aunque este porcentaje fue

significativamente menor ( $p < 0.05$ ) al porcentaje de larvas que presentaron solo nauplios de *P. crassirostris* (90%).

Al segundo día de coalimentación (día 7), en Rot se registró por primera vez la incidencia de rotíferos en una mezcla con nauplios de *P. crassirostris*, aunque ésta fue baja (3.3%) y significativamente menor ( $p < 0.05$ ) al porcentaje de larvas que presentaron solo nauplios de *P. crassirostris* (96.7%). Por otra parte, en este día para Pseudo, el porcentaje de larvas que presentaron una mezcla de los nauplios de los dos copépodos aumentó considerablemente (73.3%), aunque no mostró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con el porcentaje de larvas que solo consumieron nauplios de *P. crassirostris* (26.7%). Al día 8 en Rot, se registró un aumento en el porcentaje de larvas que ingirieron una mezcla de rotíferos y nauplios de *P. crassirostris* (43.3%), no presentando diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con las larvas que consumieron nauplios de *P. crassirostris* solamente (56.7%).

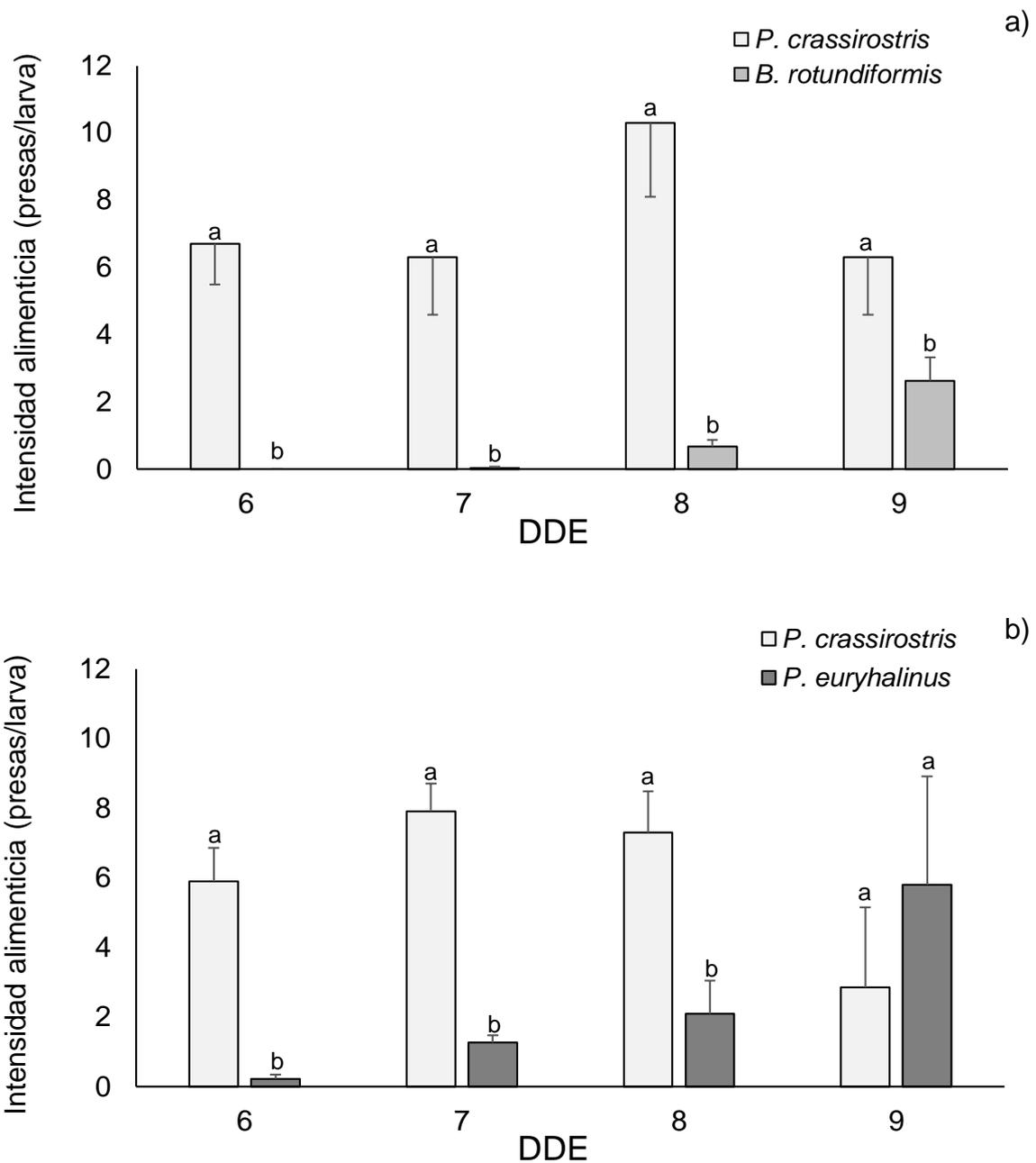
Para el día 9 por primera vez, no todas las larvas consumieron *P. crassirostris*, registrándose larvas que sólo presentaron en el tracto digestivo *B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*. Así tenemos para Rot que un 6.7% de las larvas solo comieron el rotífero *B. rotundiformis* y para Pseudo, un 15% de las larvas, solo consumieron nauplios de *P. euryhalinus*. A pesar de que se registró larvas que solamente comieron nauplios de *P. crassirostris* tanto para Rot como para Pseudo, los mayores valores de incidencia registrados fueron para las mezclas de rotífero y nauplios de *P. crassirostris* (63.3%) en Rot; y la mezcla de los nauplios de *P. euryhalinus* y *P. crassirostris* (75%) en Pseudo (Figura 6).



**Figura 6.** Exp.1. Incidencia alimenticia (%; promedio  $\pm$  desviación estándar) comparada para cada día durante la coalimentación. a) Rot; por tipo de presa: *Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*, y mezcla de ambas presas, (n=30). b) Pseudo; por tipo de presa: *Parvocalanus crassirostris* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*, y mezcla de ambas presas, (n = 30). En cada día, las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). DDE: Días después de la eclosión.

#### 4.1.3.1.2 Intensidad alimenticia en coalimentación

Se determinó también para estos días el consumo promedio de cada tipo de presa (Figura 7). Durante los 3 primeros días de coalimentación (6, 7 y 8 DDE) el consumo de nauplios de *P. crassirostris* fue significativamente mayor al consumo de las segundas presas (*B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*). Los rotíferos se consumieron por primera vez a los 7 DDE en una baja intensidad (0.03 rot/larva), y esta intensidad aumentó en los días hasta 3.8 rot/larva al día 9, aunque aún presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con el consumo promedio de nauplios de *P. crassirostris* (6.3 nauplios/larva). Desde el inicio de la coalimentación (día 6), los nauplios de *P. euryhalinus* fueron consumidos (0.23 nauplios/larva); y con el paso de los días, la intensidad con que las larvas los comieron, fue aumentando. Para los 9 DDE, la cantidad de nauplios de *P. euryhalinus* ingeridos (5.8 nauplios/larva) superó a la cantidad de nauplios de *P. crassirostris* (2.9 nauplios/larva), no obstante no se registraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



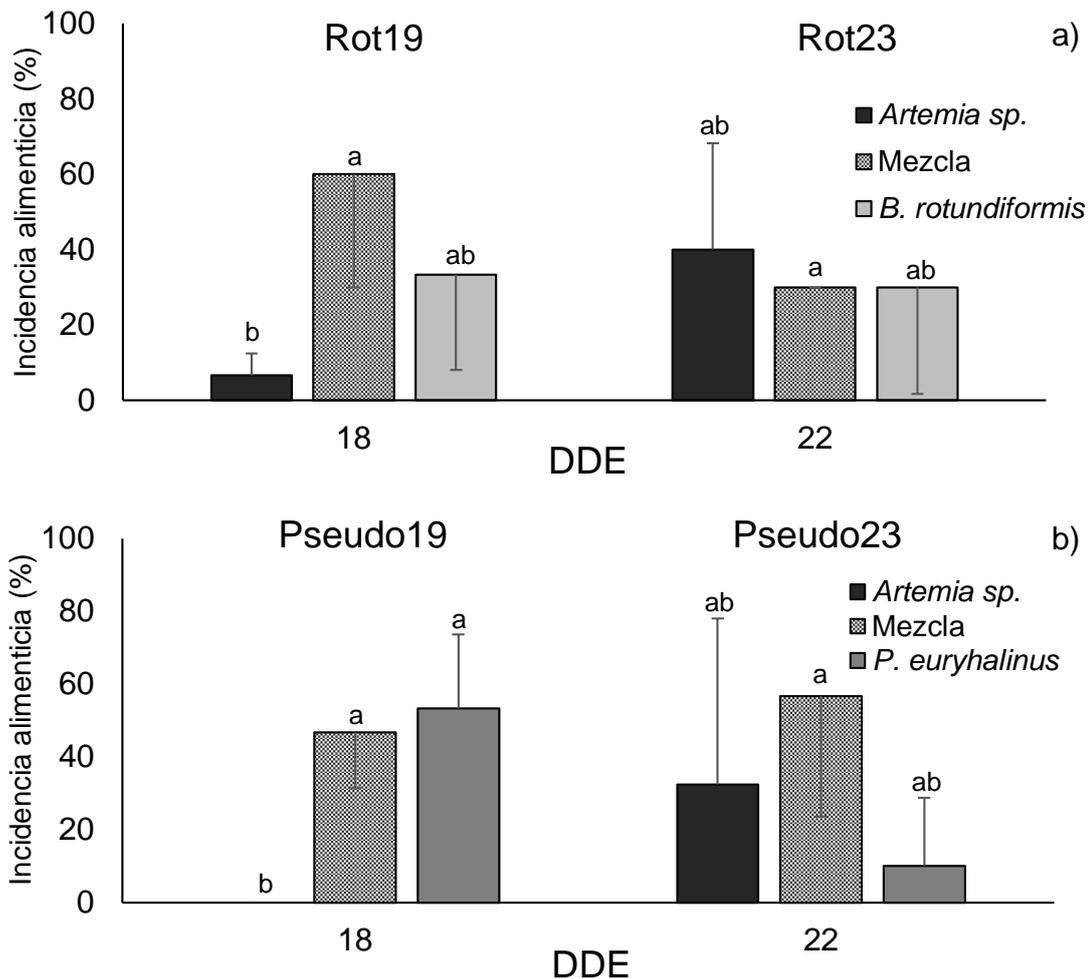
**Figura 7.** Exp.1. Intensidad alimenticia (promedio  $\pm$  desviación estándar) comparada para cada día de coalimentación. a) Rot; por tipo de presa: *Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*, (n = 30). b) Pseudo; por tipo de presa: *Parvocalanus crassirostris* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*, (n = 30). En cada día, las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). DDE: Días después de la eclosión.

#### 4.1.3.2 Transición de la segunda presa (*B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*) a la tercera presa (nauplios de *Artemia* sp.).

##### 4.1.3.2.1 Incidencia alimenticia en coalimentación

En Rot19, el porcentaje de larvas que consumieron solo nauplios de *Artemia* sp. para el día 18, fue bajo (6.7%) y significativamente menor ( $p < 0.05$ ) al porcentaje de larvas que comieron una mezcla de rotíferos y nauplios de *Artemia* sp. (60%). Sin embargo, para el día 22 el porcentaje de larvas con solo nauplios de *Artemia* sp. en el tracto digestivo aumentó (40%), y no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con el porcentaje de larvas que consumieron solo rotíferos (30%), o una mezcla de rotíferos y nauplios de *Artemia* sp. (30%). Por otro lado, se registró un mayor porcentaje de larvas que consumieron una mezcla de rotíferos y nauplios de *Artemia* sp. para el día 18 (60%) que al día 22 (30%), pero sin presentarse diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) y no se registró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los porcentajes de larvas que solo ingirieron rotíferos entre los días 18 y 22 después de la eclosión (Figura 8a).

Para el día 18 en Pseudo, no se registraron larvas que solamente comieran nauplios de *Artemia* sp. Sin embargo, el porcentaje de larvas que consumieron solo nauplios de *Artemia* sp. para el día 22 fue de 32.4% y no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con el porcentaje de larvas que consumieron solo nauplios de *P. euryhalinus*, o una mezcla entre nauplios de *Artemia* sp. y nauplios de *P. euryhalinus*. Por su parte, el porcentaje de larvas que ingirieron solo nauplios de *P. euryhalinus* mostró valores mayores para el día 18 (53.3%) que para el día 22 (10%), aunque no presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Asimismo, el porcentaje de larvas que comieron una mezcla de nauplios de *P. euryhalinus* y nauplios de *Artemia* sp., no presentó diferencias significativas entre el día 18 y el día 22.

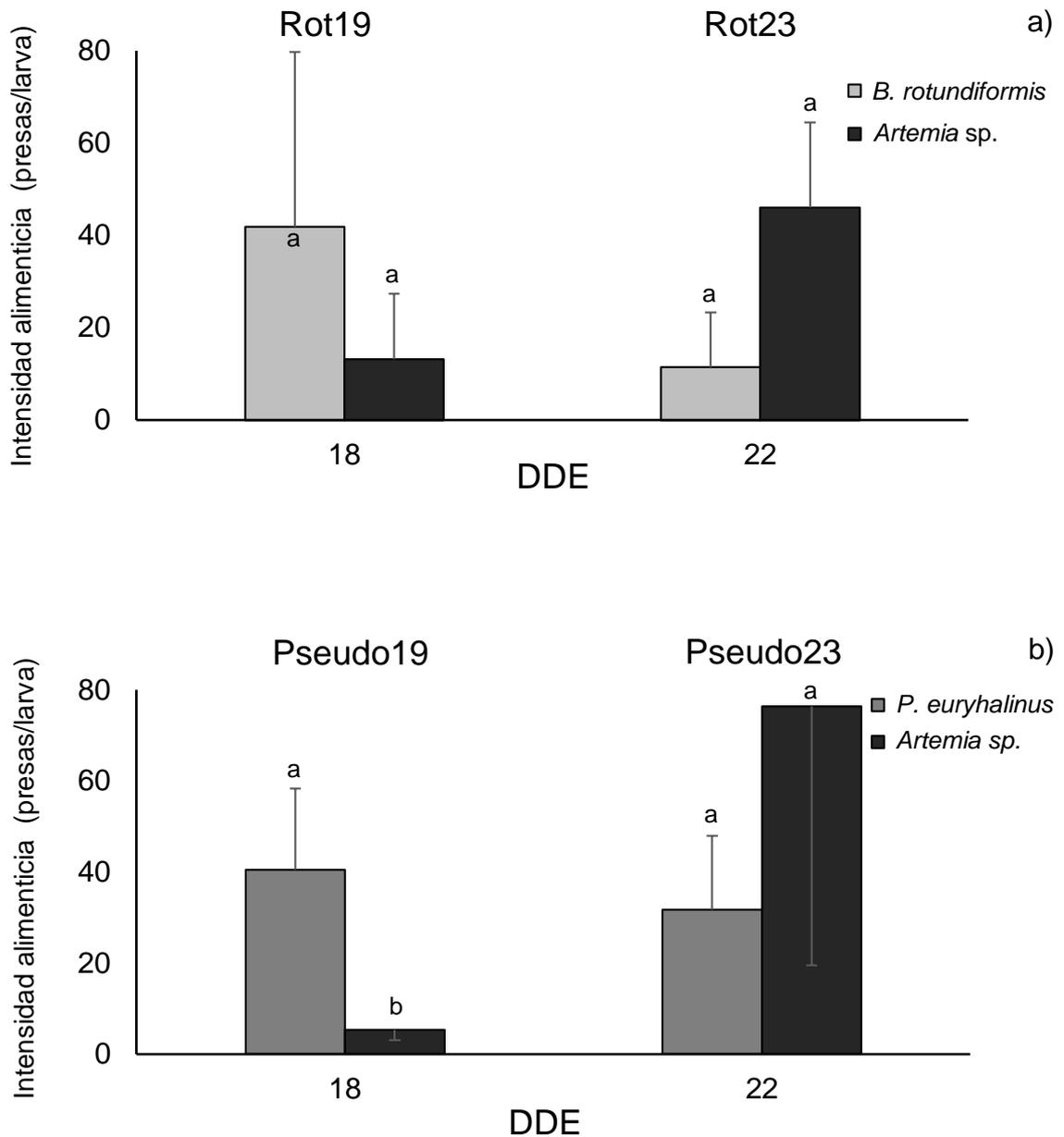


**Figura 8.** Exp.1. Incidencia alimenticia (%; promedio  $\pm$  desviación estándar) a los 18 y 22 DDE. a) Rot19 y Rot23; por tipo de presa: *Brachionus rotundiformis* y *Artemia* sp., y la mezcla de ambas presas, (n = 30). b) Pseudo19 y Pseudo23; por tipo de presa: *Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Artemia* sp. y la mezcla de ambas presas, (n = 30). Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). DDE: Días después de la eclosión.

#### 4.1.3.2.2 Intensidad alimenticia en coalimentación

Referente a la intensidad alimenticia, en Rot19 el consumo promedio de rotíferos fue mayor que el consumo de nauplios de *Artemia* sp., pero esta relación se invirtió para Rot23; aunque no se presentaron diferencias significativas en la intensidad con que las larvas se alimentaron de estas dos presas (*B. rotundiformis* y *Artemia* sp.) ( $p > 0.05$ ) (Figura 9a). Por otro lado, en los tanques donde se suministró *P. euryhalinus*, para Pseudo19, el consumo promedio de nauplios de *P. euryhalinus* fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) al consumo de nauplios de

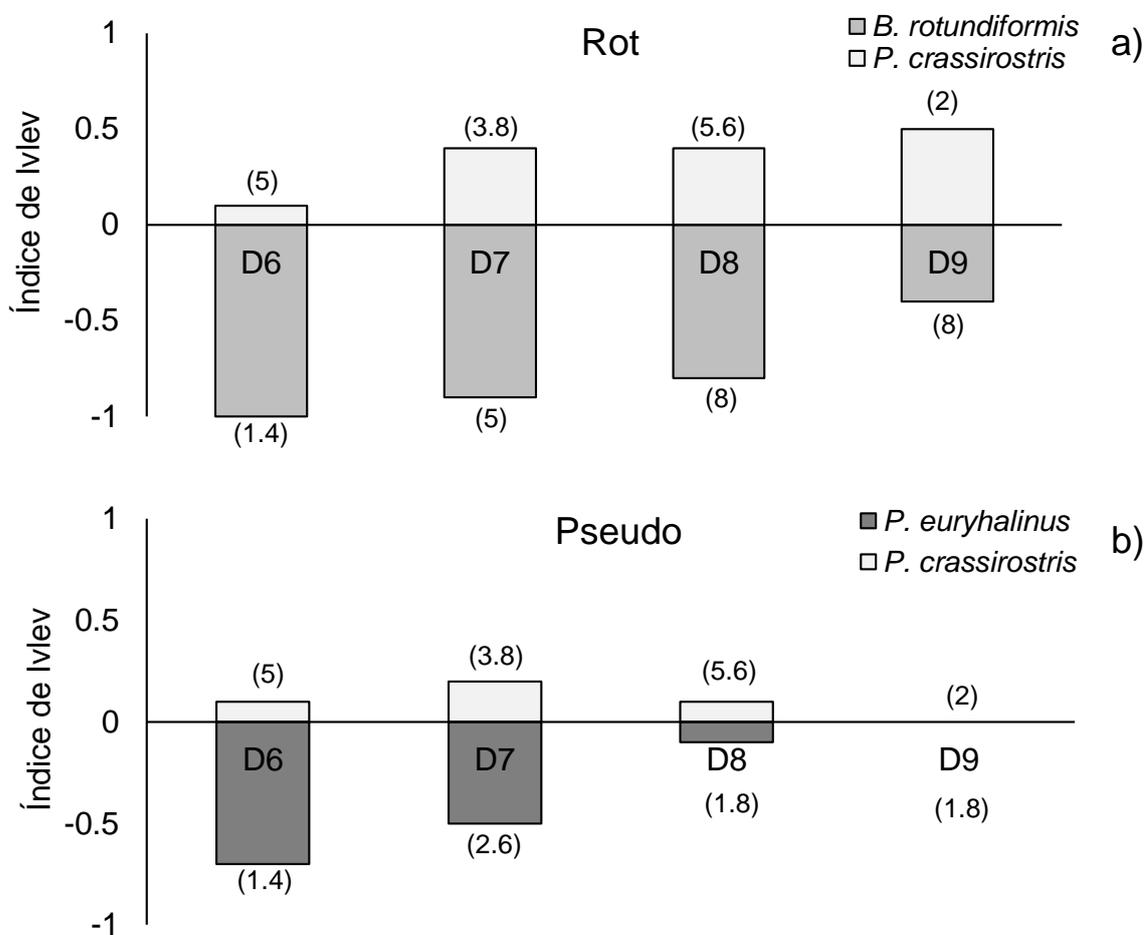
*Artemia* sp. al día 18; y también en este caso se invirtió la relación para Pseudo23 a un mayor consumo de *Artemia* sp. a los 22 DDE; sin embargo, no se registraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Figura 9b).



**Figura 9.** Exp.1. Intensidad alimenticia (promedio  $\pm$  desviación estándar) a los 18 y 22 DDE. a) Rot19 y Rot23; por tipo de presa: *Brachionus rotundiformis* y *Artemia* sp., (n = 30). b) Pseudo19 y Pseudo23; por tipo de presa: *Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Artemia* sp., (n = 30). Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). DDE: Días después de eclosión.

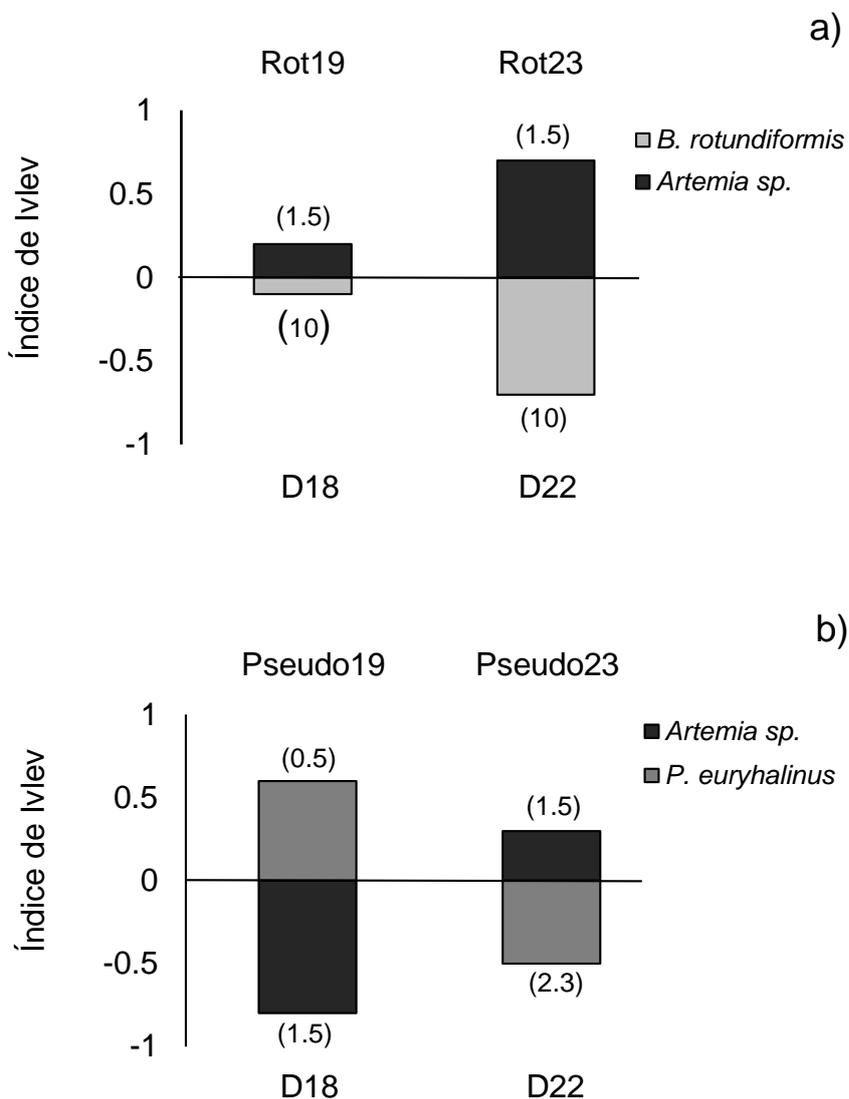
#### 4.1.4 Índice de selectividad de Ivlev

Este índice evalúa la preferencia que tienen las larvas por los diferentes tipos de presas durante periodos de coalimentación. En la transición entre la primera y la segunda presa (6, 7, 8 y 9 DDE) en Rot, el índice mostró valores negativos (poca selección) para *B. rotundiformis* y valores positivos (mayor selección) para los nauplios de *P. crassirostris* (Figura 10a). Durante los tres primeros días de coalimentación en Pseudo, los nauplios de *P. crassirostris* fueron más seleccionados que los nauplios de *P. euryhalinus*. Sin embargo, para el día 9 las larvas consumieron los nauplios de ambos copépodos en igual proporción a la que se les estaba suministrando, arrojando un valor del índice de 0 (igual selección entre las presas), para ambas especies de copépodos (Figura 10b).



**Figura 10.** Exp.1. Índice de selectividad de Ivlev. a) Rot; entre *Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*. b) Pseudo; entre *Parvocalanus crassirostris* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*. Los números entre paréntesis representan la densidad de presas suministrada (presas/mL).

En el periodo de transición de la segunda presa (*B. rotundiformis* ó *P. euryhalinus*) a la tercera presa (nauplios de *Artemia* sp.), tanto para Rot19 como para Rot23, la *Artemia* sp. fue la presa preferente (Figura 11a). Sin embargo, para Pseudo19 se registró una mayor selectividad por los nauplios de *P. euryhalinus* que por la *Artemia* sp., invirtiéndose este resultado para Pseudo23 donde se registró una mayor selectividad para la *Artemia* sp. que para *P. euryhalinus* (Figura 11b).



**Figura 11.** Exp.1. Índice de selectividad de Ivlev. a) Rot19 y Rot23; entre *Brachionus rotundiformis* y *Artemia* sp. b) Pseudo19 y Pseudo23; entre *Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Artemia* sp. Los números entre paréntesis representan la densidad de presas suministrada (presas/mL).

#### 4.1.6 Longitud total (LT)

Las larvas recién eclosionadas tuvieron una LT =  $3.0 \pm 0.2$  mm que no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con la LT observada a los 3 DDE (LT =  $3.0 \pm 0.1$  mm). Al día 5 (LT =  $3.4 \pm 0.1$  mm), se presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en comparación con la LT a los 3 DDE. Entre cada día de muestreo posterior al día 5 (12, 16, 20 y 27 DDE) se encontraron diferencias significativas entre días de muestreo respecto a la LT ( $p < 0.05$ ). Cuando se comparó la LT entre Rot y Pseudo, no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) para ninguno de los días de muestreo (Tabla 2).

**Tabla 2.** Exp.1. Longitud total (mm; promedio  $\pm$  desviación estándar) de las larvas por días (DDE). (n = 30).

DDE	Rot	Pseudo		
12	$5.1 \pm 0.5^a$	$5.0 \pm 0.5^a$		
16	$6.1 \pm 0.8^a$	$6.0 \pm 1.3^a$		
	Rot19	Rot23	Pseudo19	Pseudo23
20	$9.2 \pm 1.1^a$	$9.0 \pm 1.0^a$	$10.1 \pm 3.0^a$	$8.4 \pm 0.4^a$
27	$16.4 \pm 0.6^a$	$17.1 \pm 2.7^a$	20.4*	$17.8 \pm 2.5^a$

En cada línea, las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

\*Pseudo19 no se incluyó en los análisis estadísticos, ya que se presentaron larvas vivas en una sola réplica.

#### 4.1.7 Ancho de boca (AB)

A los 3 DDE, las larvas tuvieron un AB de  $203.7 \pm 10.5$   $\mu$ m. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre el AB a los 6 DDE ( $209.7 \pm 18.9$   $\mu$ m) y el AB a los 3 DDE. Para cada día de muestreo posterior a los 6 DDE (11, 16, 20 y 27 DDE) se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los días respecto al AB. Al comparar el AB entre Rot y Pseudo, no se encontró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Tabla 3). Al comparar el AB entre Rot19, Rot23, Pseudo19 y Pseudo23, solo se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para los 20 DDE como se puede ver en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Exp.1. Ancho de la boca de las larvas ( $\mu\text{m}$ ; promedio  $\pm$  desviación estándar) por días (DDE). (n = 30).

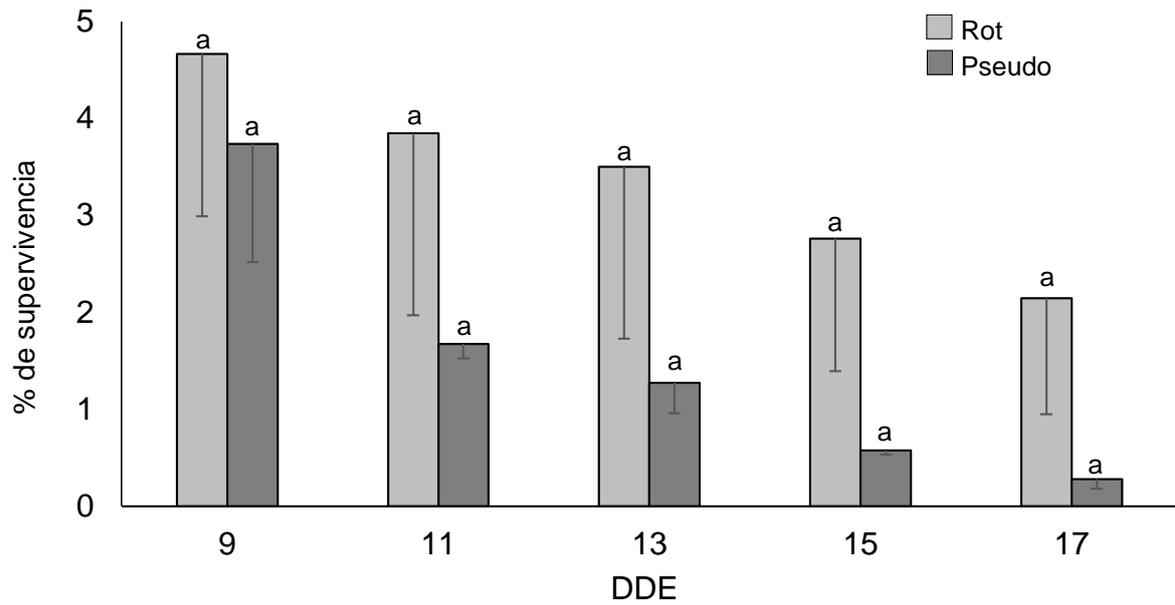
DDE	Rot		Pseudo	
11	396.9 $\pm$ 66.5 <sup>a</sup>		387.7 $\pm$ 72.3 <sup>a</sup>	
16	630.3 $\pm$ 159.4 <sup>a</sup>		580.6 $\pm$ 198.4 <sup>a</sup>	
	Rot19	Rot23	Pseudo19	Pseudo23
20	1047.1 $\pm$ 317.3 <sup>b</sup>	1202.8 $\pm$ 150.7 <sup>ab</sup>	1497.0 $\pm$ 184.6 <sup>a</sup>	970.0 $\pm$ 339.9 <sup>b</sup>
27	2701.3 $\pm$ 233.1 <sup>a</sup>	2783.4 $\pm$ 555.3 <sup>a</sup>	2817.4 <sup>*</sup>	2224.4 $\pm$ 539.1 <sup>a</sup>

En cada línea, las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

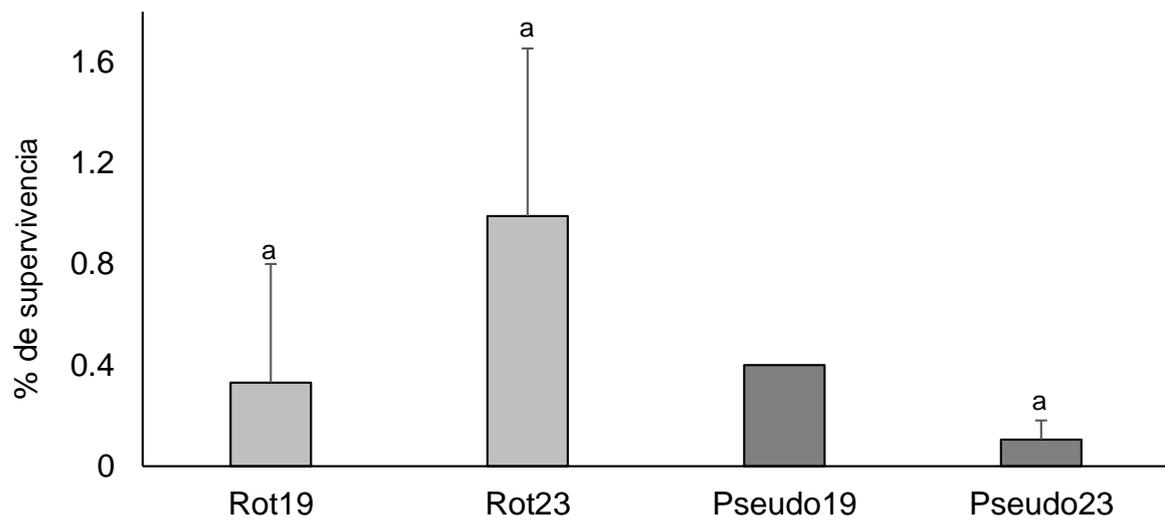
\*Pseudo19 no se incluyó en los análisis estadísticos, ya que se presentaron larvas vivas en una sola réplica.

#### 4.1.8 Supervivencia

La supervivencia se determinó a partir del primer sifoneo (9 DDE), siendo menor al 5% para Rot y Pseudo desde este día. En los días posteriores a los 9 DDE, el porcentaje de supervivencia fue disminuyendo tanto en Rot como en Pseudo, no presentándose diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre ambos, para cada día de muestreo (Figura 12). A los 27 DDE, día final del experimento, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los porcentajes de supervivencia en Rot19 (0.3  $\pm$  0.4%), Rot23 (1.0  $\pm$  0.7%) y Pseudo23 (0.1  $\pm$  0.1%) (Figura 12). Cabe destacar que en Rot23 y Pseudo23 se presentaron larvas vivas en tres réplicas, Rot19 presentó larvas vivas en dos réplicas y Pseudo19 (0.4%) solo presentó larvas vivas en una réplica, por lo que no se incluyó en los análisis estadísticos (Figura 13).



**Figura 12.** Exp.1. Supervivencia (%; promedio  $\pm$  desviación estándar), desde el inicio del sifoneo ( 9 DDE) hasta los 17 DDE.



**Figura 13.** Exp.1. Supervivencia (%; promedio  $\pm$  desviación estándar), a los 27 DDE, día final del Exp.1

## **4.2 Experimento 2.**

### **4.2.1 Desove**

En el desove del Exp. 2 se obtuvieron 80 mL = 178 400 huevos viables, con un porcentaje de eclosión de  $98.6 \pm 0.1\%$ .

### **4.2.2 Incidencia alimenticia en la primera alimentación (*P. crassirostris*).**

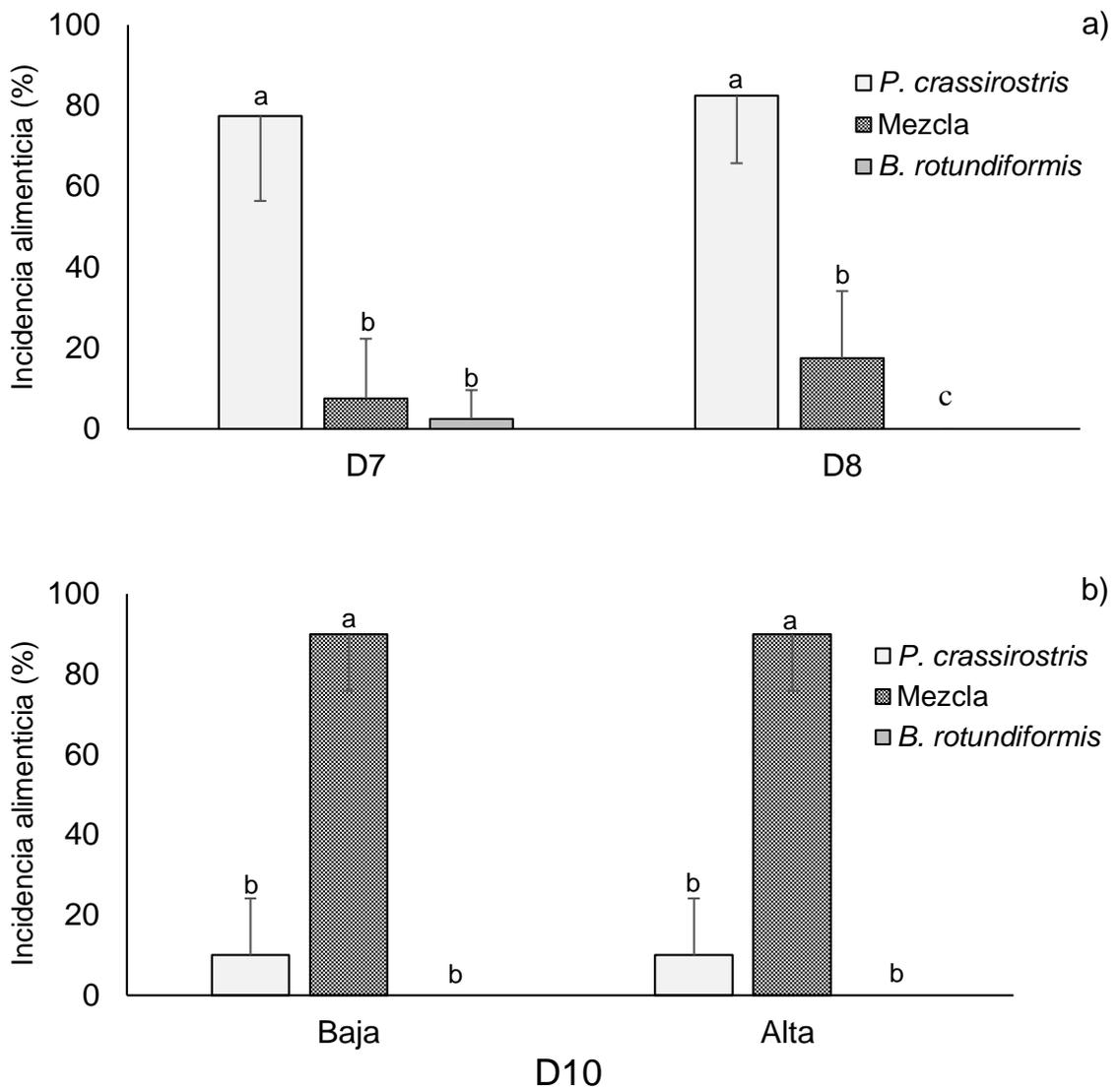
En el Exp.2 se registró un  $36.7 \pm 8.2\%$  de incidencia alimenticia a los 3 DDE y  $45.3 \pm 12.7\%$  a los 4 DDE, alcanzándose el 100% a los 5 DDE.

### **4.2.3 Eficiencia alimenticia en coalimentación (*P. crassirostris* y *B. rotundiformis*).**

#### **4.2.3.1 Incidencia alimenticia en coalimentación.**

A pesar de encontrar un 100% de incidencia alimenticia a los 5 DDE, a los 7 DDE en el Exp.2 se registró un  $87.5 \pm 14.9\%$  de incidencia alimenticia, encontrando 12.5% de las larvas sin alimento en el tracto digestivo. Nuevamente desde los 8 DDE en adelante, todas las larvas presentaron alimento en el tracto digestivo.

Tomando en cuenta los resultados del Exp.1 donde no hubo consumo de rotíferos al día 6, se decidió comenzar la coalimentación a los 7 DDE y desde entonces se registró larvas consumiendo rotíferos. Sin embargo, al día 7 se registró un porcentaje de larvas que comieron solo nauplios de *P. crassirostris* (77.5%) significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que el porcentaje de larvas que consumieron solo rotíferos (2.5%), o una mezcla de rotíferos y nauplios de *P. crassirostris* (7.5%). Al día 8 el porcentaje de larvas que ingirieron una mezcla de rotíferos y nauplios de *P. crassirostris* aumentó, pero siguió siendo significativamente menor ( $p < 0.05$ ), que el porcentaje de larvas que consumió solo nauplios de *P. crassirostris* (Figura 14a). Para los 10 DDE, segundo día luego del inicio del suministro de las dos diferentes concentraciones de microalga, tanto en Alta concentración como en Baja concentración de microalga, el porcentaje de larvas que consumieron una mezcla de rotíferos y nauplios de *P. crassirostris* fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) al porcentaje de larvas que comieron nauplios de *P. crassirostris* solamente (Figura 14b).

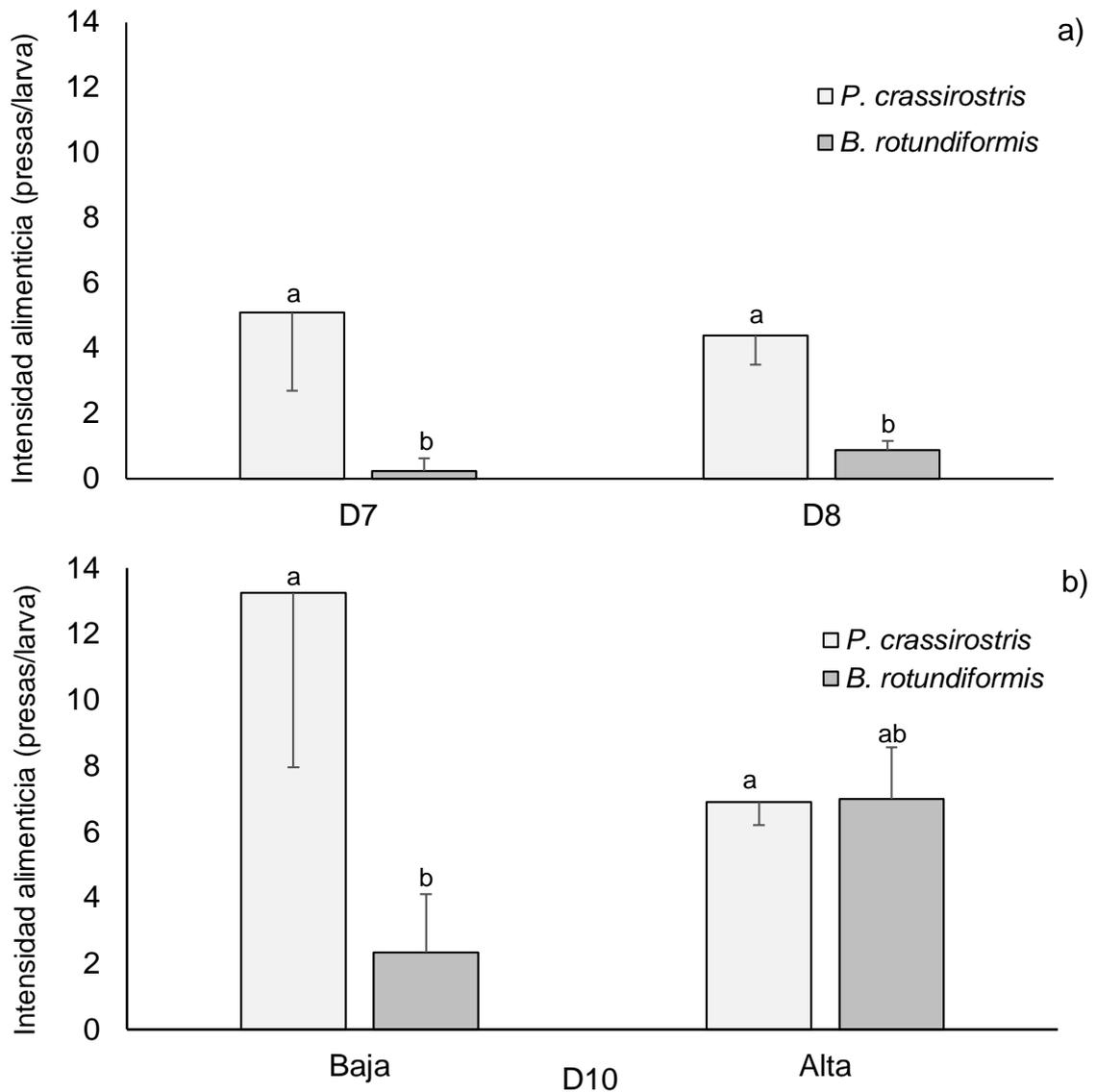


**Figura 14.** Exp.2. Incidencia alimenticia (%; promedio  $\pm$  desviación estándar) por tipo de presa (*Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*) y la mezcla de ambas presas. a) A los días 7 (D7) y 8 (D8). Para cada día las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), ( $n = 40$ ). b) Al segundo día del suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga, ( $n = 10$  al día 10). Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.3.2 Intensidad alimenticia en coalimentación

Para los 7 y 8 DDE, el consumo promedio de nauplios de *P. crassirostris* fue mayor a 4 nauplios/larva y significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) a la intensidad con que las larvas se alimentaron de los rotíferos (menos de 1 rot/larva) (Figura 15a). Por otro lado, a los 10 DDE, para Baja concentración de microalgas se registró un consumo de nauplios de *P. crassirostris* (13.3 nauplios/larva) significativamente

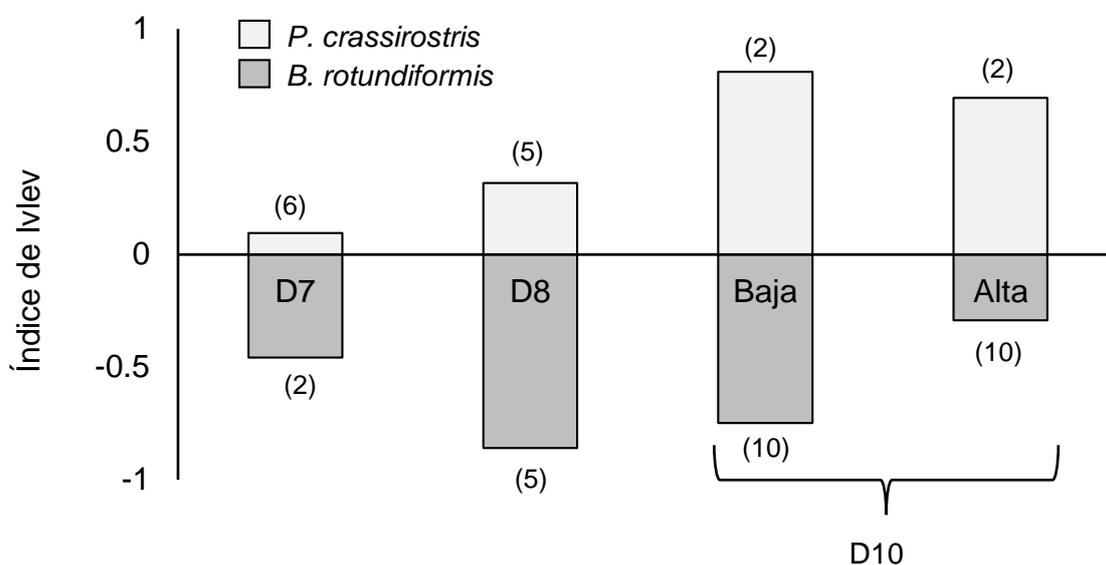
mayor ( $p < 0.05$ ) al consumo de rotíferos (2 rot/larva). Sin embargo, para Alta concentración de microalga, el consumo de nauplios de *P. crassirostris* o de rotíferos no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Figura 15b).



**Figura 15.** Exp.2. Intensidad alimenticia (promedio  $\pm$  desviación estándar) por tipo de presa (*Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*) y por día. a) A los días 7 (D7) y 8 (D8). Para cada día las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), ( $n = 40$ ). b) Al segundo día del suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga, ( $n = 10$  al día 10). Las letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2.4 Índice de selectividad de Ivlev

El Índice de Ivlev registró en todos los días una mayor selección por los nauplios de *P. crassirostris* que por *B. rotundiformis*, incluso una vez que inició el suministro de una Alta concentración y Baja concentración de microalgas (Figura 16)



**Figura 16.** Exp.2. Índice de selectividad de Ivlev entre nauplios de *Parvocalanus crassirostris* y *Brachionus rotundiformis*. En los días 7 (D7) y 8 (D8); y al día 10 (D10), segundo día de suministrar una Alta concentración y una Baja concentración de microalgas. Los números entre paréntesis representan la densidad de presas suministrada (presas/mL).

#### 4.2.5 Longitud total (LT)

Las larvas eclosionaron con una LT de  $2.7 \pm 0.2$  mm y presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con la LT observada a los 3 DDE ( $LT = 3.1 \pm 0.2$  mm). A los 6 DDE ( $LT = 3.4 \pm 0.2$  mm), no se presentaron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en comparación a los 3 DDE. Entre cada día de muestreo posteriores a los 6 DDE (9, 12, 15 y 20 DDE), la LT de las larvas presentaron diferencias significativas entre días ( $p < 0.05$ ). Respecto a la LT a los 20 DDE, se presentaron diferencias significativas entre las diferentes concentraciones de microalga, teniendo en Alta concentración de microalga una LT de  $8.3 \pm 1.0$  mm,

significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) a la LT ( $7.0 \pm 1.6$  mm) en Baja concentración de microalga (Tabla 4).

**Tabla 4.** Exp.2. Longitud total (mm; promedio  $\pm$  desviación estándar) de las larvas en días después de la eclosión (DDE), durante el suministro de una Alta concentración y Baja concentración de microalga. (n = 40).

DDE	Alta	Baja
9	$3.8 \pm 0.3^a$	$3.9 \pm 0.2^a$
12	$4.7 \pm 0.3^a$	$4.5 \pm 0.5^a$
15	$5.2 \pm 0.6^a$	$5.0 \pm 0.5^a$
20	$8.3 \pm 1.0^b$	$7.0 \pm 1.6^a$

En cada línea, las letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

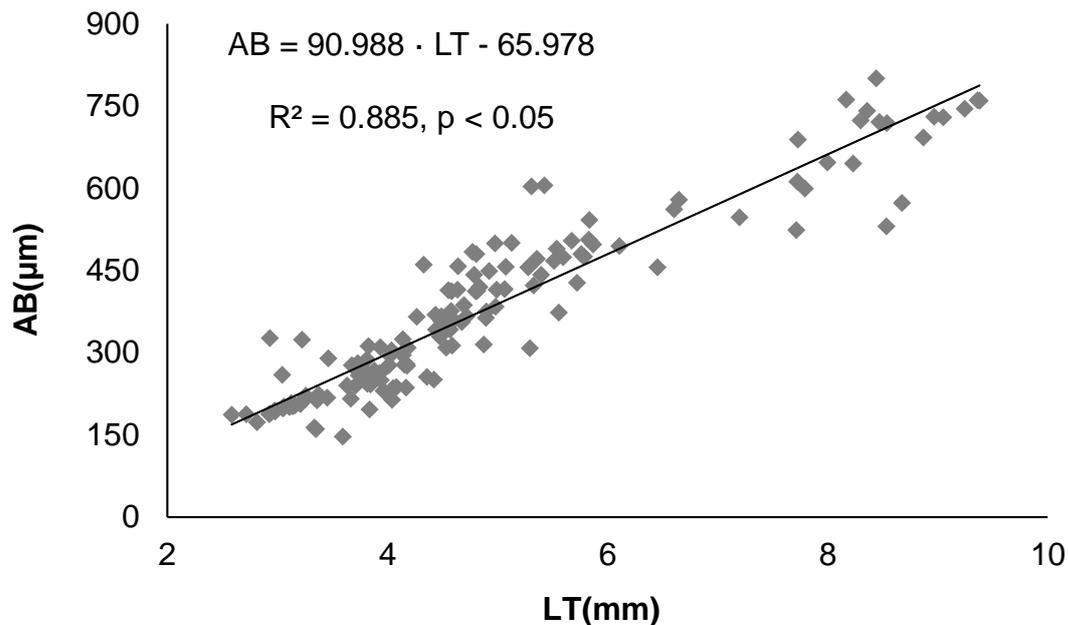
#### 4..2.6 Ancho de boca (AB)

Las larvas presentaron un AB a los 3 DDE de  $199.3 \pm 10.1$   $\mu\text{m}$ . No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre el AB a los 6 DDE ( $206.6 \pm 30.5$   $\mu\text{m}$ ) y el AB a los 3 DDE. Para cada día de muestreo posterior a los 6 DDE (9, 12, 15 y 20 DDE) se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los días respecto al AB. Al comparar el AB entre Alta concentración y Baja concentración de microalga, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) (Tabla 5). Con los valores puntuales de AB y LT de cada larva, se realizó una regresión lineal, la cual fue significativa ( $p < 0.05$ ), presentando un buen coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.885$ ), como se muestra en la Figura 17.

**Tabla 5.** Exp.2. Ancho de la boca de las larvas ( $\mu\text{m}$ ; promedio  $\pm$  desviación estándar) en días después de la eclosión (DDE), durante el suministro de una Alta concentración y una Baja concentración de microalga. (n = 15).

DDE	Alta	Baja
9	$273.5 \pm 32.5^a$	$261.9 \pm 24.4^a$
12	$373.3 \pm 40.7^a$	$354.1 \pm 66.3^a$
15	$441.3 \pm 67.8^a$	$427.9 \pm 72.7^a$
20	$663.3 \pm 93.0^a$	$576 \pm 135.0^a$

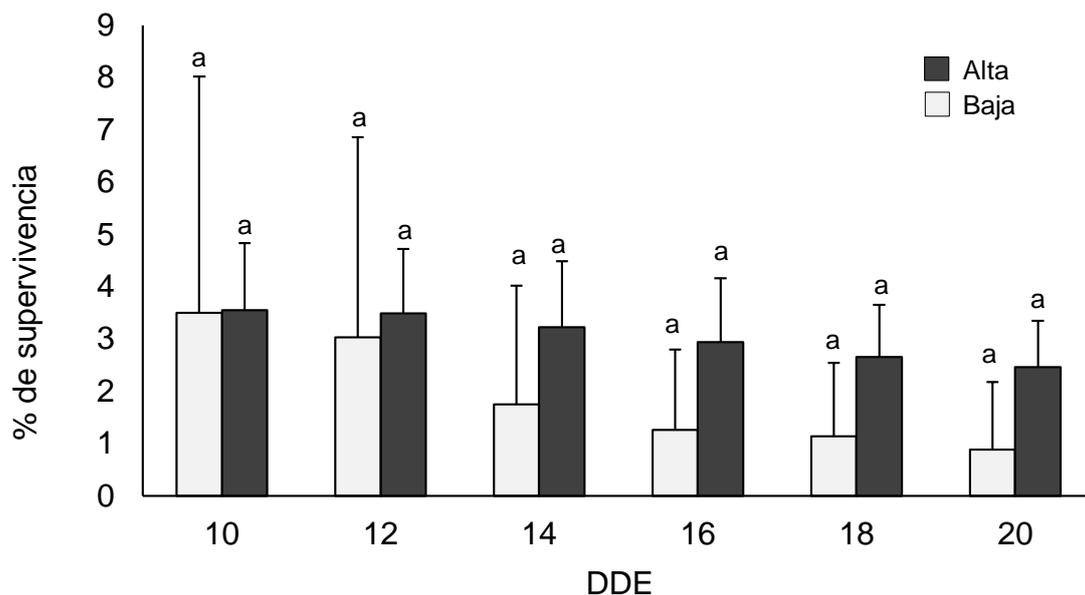
En cada línea, las letras indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



**Figura 17.** Exp.2. Modelo de regresión lineal entre los valores puntuales del ancho de boca (AB) y longitud total (LT) de las larvas. (n =150).

#### 4.2.7 Supervivencia

La supervivencia se determinó a partir de los 10 DDE (día del primer sifoneo), siendo para este momento menor al 4% tanto para Alta concentración como para Baja concentración de microalga. No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre los porcentajes de supervivencia de Alta concentración y Baja concentración de microalga para cada día de muestreo. A los 20 DDE (día final del experimento), con Baja concentración de microalga ( $0.9 \pm 1.3\%$ ) se presentaron larvas vivas en solo dos réplicas; por otro lado, en la concentración Alta de microalga se presentaron larvas vivas en todas sus réplicas (4 réplicas) ( $2.5 \pm 0.9\%$ ) (Figura 18).



**Figura 18.** Exp.2. Supervivencia (%), en Alta concentración y Baja concentración de microalga, desde el inicio del sifoneo (10 DDE), hasta el día final del Exp.2 (20 DDE).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1 Primera alimentación

La supervivencia de las larvas de peces depende en gran medida del éxito que tengan en la primera alimentación (Yúfera & Darias, 2007). Ashton & Rust (2003) plantean que un índice de incidencia alimenticia superior al 50% pudiera resultar en una mejor sobrevivencia en etapas posteriores. En este trabajo, la incidencia alimenticia fue diferente entre los dos experimentos realizados. En el Exp.1 este valor a los 3 DDE fue de 73.7%, y para el Exp.2 fue de 36.7%, aunque en ambos experimentos alcanzaron el 100% de incidencia alimenticia a los 5 DDE.

Una condición que varió entre ambos experimentos fue la intensidad de la luz con 1 000 lux para el Exp.1 y 500 lux para el Exp.2. La intensidad de luz es un factor que ha demostrado tener efecto en la incidencia alimenticia de la primera alimentación de las larvas de peces, ya que en algunas ocasiones se registra un incremento de la incidencia alimenticia con una mayor intensidad de luz, dependiendo de la especie a tratar (Peña *et al.*, 2004; Carton, 2005). Los resultados desarrollados hasta ahora en el laboratorio de la UPIMA en CICIMAR-IPN con *L. peru* no son totalmente concluyentes en cuanto a la intensidad de luz. Taylor-Cota (2017) reportó un 100% de incidencia alimenticia en larvas de *L. peru*, a los 3 DDE con una intensidad de 500 lux y nauplios de *P. crassirostris*. Este autor sugiere que 500 lux son adecuados para lograr una muy buena incidencia alimenticia lo que contrasta con Zavala-Leal *et al.* (2013), donde reportan para la primera alimentación de larvas de *L. peru* un incremento de la incidencia alimenticia de 9%, 11% y 33% con el aumento de la intensidad de la luz de 500, 1 000 y 2 000 Lux, respectivamente. Es importante destacar que los resultados de Zavala-Leal *et al.* (2013) se obtuvieron en acuarios de vidrio pequeños (10 L) y con otra especie de copépodo (*Euterpina acutifrons*) diferente a la utilizada en este trabajo.

Los valores de intensidad de luz utilizados en el cultivo de larvas varían mucho entre especie y estudios, ya que las larvas de peces teleósteos presentan muy poco desarrollo de la retina al momento de la primera alimentación, formada generalmente por conos simples (Blaxter, 1975), por lo cual requieren de una intensidad de luz especie-específica adecuada para poder capturar sus presas

(Naas *et al.*, 1996). Boeuf & Le Bail (1999) reportan intensidades de luz óptima para las larvas de diferentes especies de peces desde 1 hasta 1 000 lux. Por otro lado, se han realizado cultivos larvarios en invernaderos, donde se reporta intensidades de luz superiores a 11 000 lux para *L. analis* (Watanabe *et al.*, 1998) y *L. campechanus* (Rhodes & Phelps, 2008) de los cuales se logra producir larvas y juveniles.

La densidad de presas (nauplios de *P. crassirostris*) es otra variable que difirió entre los experimentos 1 y 2, teniendo para los 3 DDE 3.5 nauplios/mL para el Exp.1 y 6 nauplios/mL para el Exp.2. Se ha reportado que una alta densidad de presa reduce el tiempo de búsqueda por parte de las larvas, lo cual incrementa la tasa de encuentros efectivos entre el depredador y la presa (Hart, 1997; Puvanendran & Brown, 1999). Toledo *et al.*, (1999) para *E. coioides*, Peña *et al.* (2005) para la cabrilla arenosa *Paralabrax maculatofasciatus* y Zavala-Leal *et al.*, (2013) para *L. peru*, reportaron que a mayor número de presas, mayor fue el número de larvas que ingirieron alimento. Sin embargo, en nuestro estudio, la eficiencia alimenticia fue menor a mayor densidad de presas.

Los nauplios de *P. crassirostris* que se ofrecen en la primera alimentación fueron recolectados de la fracción que quedó entre los tamices de 40 y 100  $\mu\text{m}$ , lo que implica que se ofrecieron nauplios I con un ancho de  $43 \pm 3 \mu\text{m}$  y también nauplios II de un ancho  $65 \pm 4 \mu\text{m}$  mayores que el nauplio I, sin haber evaluado la proporción de cada tipo de nauplio. El ancho adecuado de presa para la primera alimentación propuesto por Hunter (1984), es el 25% el AB de las larvas. El nauplio I representa un 21% y el nauplio II un 32% aproximadamente del AB de las larvas para este momento, y quizá esta diferencia en las tallas y las proporciones de los diferentes tipos de nauplios suministrados, pudo influir en los resultados obtenidos de la incidencia alimenticia para la primera alimentación en el presente trabajo.

## **5.2 Transición de la primera a la segunda presa**

Con el crecimiento de las larvas, la transición a una nueva presa más grande es necesaria, ya que sus requerimientos nutricionales aumentan y estos se satisfacen más fácilmente con presas de mayor tamaño (Hunter, 1981). En la familia Lutjanidae el inicio de la coalimentación con una segunda presa se ha

realizado tan temprano como a los 7 DDE; pasando de nauplios del copépodo *Acartia* sp. al rotífero *B. rotundiformis* en larvas del pargo *L. johnii* (Schipp, 2001); con periodos de coalimentación que van desde 2 días (Schipp, 2001; Cui *et al.*, 2017) hasta 20 días (Watanabe, 1998; Leu, 2003).

Evaluar los factores involucrados en la ingesta y la selectividad de las diferentes presas durante el periodo de coalimentación es importante, para conocer si las larvas están listas para consumir esta nueva presa y no se está forzando a las larvas a un cambio prematuro. Russo *et al.* (2009) analizaron la apertura y el ancho de la boca de las larvas del mero *E. marginatus*, junto con un análisis de las tres dimensiones de las presas (largo, ancho y profundidad); y concluyeron que tomando en consideración el ancho de la boca de las larvas, el ancho de las presas es la medida limitante para que ocurra la ingesta.

Al inicio del periodo de coalimentación en el Exp.1 (6 DDE), todas las larvas seguían comiendo nauplios de *P. crassirostris* y no se registró el consumo de *B. rotundiformis* mientras que sí se registró consumo del nauplio de *P. euryhalinus*. Taylor-Cota (2017) reportó un ancho del cuerpo para los nauplios de *P. crassirostris* de  $43 \pm 3 \mu\text{m}$ , los nauplios de *P. euryhalinus* tienen un ancho de  $90 \pm 7 \mu\text{m}$  y el rotífero *B. rotundiformis* de  $134 \pm 7 \mu\text{m}$ . Hunter (1984), sugiere que en etapas posteriores a la primera alimentación, el ancho adecuado de las presas puede llegar hasta el 50% del ancho de la boca de las larvas. El rotífero al día 6 correspondía al 64% del AB con la posibilidad de estar demasiado grande para ser ingerido, mientras que el nauplio de *P. euryhalinus* correspondía al 43% del AB.

Con base en los resultados del Exp.1, la coalimentación en el Exp.2 comenzó a los 7 DDE, y desde entonces se registró el consumo de rotíferos aunque en pocas larvas. En el Exp.2 se determinó el AB y la LT por cada larva y se realizó una correlación entre ambas variables, para poder tener una referencia al realizar el cambio de presa. Con el modelo de regresión lineal obtenido ( $\text{AB} = 90.99 \cdot \text{LT} - 65.98$ ) y lo propuesto por Hunter (1984) (ancho de la presa adecuado de 50% el AB), las larvas de *L. peru* serían capaces de consumir *B. rotundiformis*, una vez que presenten una  $\text{LT} = 3.7 \text{ mm}$ . Para el Exp.1 esta LT se alcanzó entre los días 5 y 12, y para el Exp.2 entre los días 6 y 9. Los resultados obtenidos mostraron que

para el día 9 en el Exp.1, la mayoría de las larvas consumían una mezcla de nauplios de *P. crassirostris* y *B. rotundiformis* en Rot, o una mezcla de nauplios de *P. crassirostris* y *P. euryhalinus* en Pseudo; de igual forma para el Exp.2 al día 10 la mayoría de las larvas comieron una mezcla de nauplios de *P. crassirostris* y *B. rotundiformis*.

La teoría del forrajeo óptimo (Pyke, 1984) plantea, que los depredadores deberían seleccionar las presas que maximicen las ganancias energéticas en relación a los costos energéticos de la captura, ingesta y digestión. En varios estudios con larvas de peces (Hunter, 1981; Rowlands *et al.*, 2008; Seljeset *et al.*, 2010) se ha reportado una selección por presas mayores a medida que crece la larva y el AB. Además, Hunter (1981) plantea que al introducir una nueva presa ocurre un proceso de aprendizaje en el cual las larvas van aumentando la incidencia alimenticia sobre la nueva presa, al pasar los días como de hecho ocurrió, en el presente trabajo durante la transición a la segunda presa tanto para *B. rotundiformis* como para *P. euryhalinus*.

Sin embargo, durante los cuatro días de coalimentación entre la primera y la segunda presa para los dos experimentos, el índice de selectividad de Ivlev, que contempla ingestión y disponibilidad de presas, arrojó una mayor selección por los nauplios de *P. crassirostris* que por *B. rotundiformis*, indicando que las larvas seguían prefiriendo el nauplio de copépodo, que es más pequeño que el rotífero. En otros estudios con larvas de serránidos y lutjánidos se ha registrado igualmente una preferencia por nauplios de copépodos que por rotíferos en periodos de coalimentación (Doi *et al.*, 1997; Toledo *et al.*, 1999; Russo *et al.*, 2009). Otros factores diferentes del tamaño que pueden influir en la selección de la presa son su apariencia, su color (Hunter, 1981), el grado de visibilidad para la larva, su patrón de nado (continuo para rotíferos, movimientos en zigzag con pausas subsecuentes para nauplios de copépodos), su conducta de escape (Buskey, 2005), su digestibilidad y el posible olor o sabor (Tucker, 1992).

### **5.3 Transición de la segunda a la tercera presa**

Los nauplios de *Artemia* sp. son la presa más utilizada en el cultivo larvario de diferentes especies de peces, suministrada después de los rotíferos y antes del destete (Ma *et al.*, 2013). En la familia Lutjanidae el inicio del suministro de

*Artemia* sp. se ha realizado tan temprano como a los 7 DDE para *L. analis* con una longitud notocordal aproximada de 3.3 mm (Watanabe *et al.*, 1998); o tan tarde como a los 24 DDE para *L. guttatus* con una LT aproximada de 8 mm (García-Ortega *et al.*, 2005).

En el Exp.1, la segunda presa (*B. rotundiformis* o *P. euryhalinus*) fue suministrada hasta el día 19 o día 23, comenzando la coalimentación con *Artemia* sp. desde los días 17 o 21, respectivamente. Los nauplios de *Artemia* sp. presentaron un ancho aproximado de  $459.1 \pm 48.4$   $\mu\text{m}$  incluyendo los apéndices. Al evaluar el cambio de rotíferos a nauplios de *Artemia* sp. tanto al día 18 como al 22, el índice de Ivlev registró una mayor selectividad por la *Artemia* sp. que por *B. rotundiformis*. Esta preferencia de los nauplios de *Artemia* sp. ante los rotíferos ha sido reportada para *E. marginatus* (Russo *et al.*, 2009) y *Seriola lalandi* (Ma *et al.*, 2013). Sin embargo, entre *P. euryhalinus* y los nauplios de *Artemia* sp., hubo una mayor selectividad para el copépodo al día 18, que luego se invirtió al día 22, registrándose una mayor selectividad por la *Artemia* sp. que por *P. euryhalinus*.

Hunter (1981) reporta para larvas de peces en estado de desarrollo avanzado, la mitad de las larvas se alimentan de una presa cuando la misma representa el 75% del AB. De hecho, entre 45% y 65% de las larvas de *L. peru* ingirieron nauplios de *Artemia* sp. cuando su tamaño fue del 75% del AB (605  $\mu\text{m}$ ). Las larvas presentaron un ancho de boca de 605  $\mu\text{m}$  a una longitud de 7.4 mm la cual se alcanzó en el Exp.1 entre los 17 y 19 DDE.

#### **5.4 Iluminación y microalgas**

Las larvas de los peces marinos presentan una sensibilidad específica a la luz dependiendo de la especie, la cual cambia durante la ontogenia (Nicolaisen & Bolla, 2016). Al momento de la primera alimentación la retina generalmente está compuesta por conos sencillos como fotoreceptores, proporcionando una limitada agudeza visual. Con el paso de los días ocurren cambios en la retina, como son el incremento del número de conos sencillos y la aparición de conos dobles (Blaxter, 1975), lo cual cambia la organización espacial de las células foto-receptoras incrementando tanto la sensibilidad como la agudeza visual (Kawamura *et al.*, 1984). Esto pudiera hacer que los requerimientos de intensidad de la luz de las larvas cambien con su desarrollo (Villamizar *et al.*, 2011)

Taylor-Cota (2017) reporta un evento de elevada mortalidad de las larvas de *L. peru* entre los 14 a 17 DDE. Una de las posibles causas que describe el autor es el desarrollo de un comportamiento anómalo de las larvas golpeándose contra el fondo del tanque. Este comportamiento ocurría al encender las luces y al remover los desechos acumulados en el fondo de los tanques durante el sifoneo, lo que aumentaba el reflejo del fondo de los tanques que eran con paredes negras y fondos blancos.

En el Exp.1 del presente trabajo el flujo nocturno se inició desde los 9 DDE, junto con la limpieza del fondo de los tanques (sifoneo) y la disminución del suministro de microalga como agua verde. Al encender la luz del día 11 (intensidad de luz de 1 000 lux) las larvas comenzaron a desarrollar el mismo comportamiento anómalo (nadando en giros) y se golpeaban contra el fondo y contra las estructuras de filtrado, igualmente de color blanco. En un intento de mitigar este comportamiento se restableció la concentración de microalgas a 300 000 cel/ml y se disminuyó la intensidad de la luz a 400 lux, lo cual detuvo el comportamiento anómalo de las larvas. Cabe destacar que Taylor-Cota (2017) describe este comportamiento incluso con 500 lux de intensidad de luz, pero bajo condiciones de agua clara.

La fototaxia de las larvas de peces es conocida y ha sido comprobada para gradientes lumínicos en diferentes especies (Blaxter, 1969; Olla & Davis, 1992; Nicolaisen & Bolla, 2016). El ambiente visual es resultado de la interacción entre la intensidad de la luz, el espectro de la luz y la posición de las lámparas (Villamizar *et al.*, 2011), el diseño del tanque (forma, volumen, colores de las paredes y fondo; y sus propiedades de reflexión) y las partículas presentes en el agua que afectan la absorción y la dispersión de la luz como la microalga (Naas *et al.*, 1992). Un tanque con paredes negras y fondo blanco (como el utilizado en el presente trabajo), proporciona las condiciones óptimas para la inspección visual de las larvas en el tanque. Sin embargo, según Naas *et al.* (1996) un tanque con estas condiciones crea un gradiente de iluminación creciente hacia el centro y el fondo del tanque convirtiéndolo en una trampa perfecta, que por la conocida fototaxis de las larvas, estas podrían ser atraídas al fondo. Esto se magnifica en el cultivo en agua clara, por lo que debe suministrarse agua verde para atenuar el efecto de la luz.

Por lo cual, con lo observado en el Exp.1, se decidió comprobar si la concentración de microalga (Baja: 300 000 cel/L y Alta: 1 000 000 cel/mL), tendría un efecto en la supervivencia de las larvas, ya que el uso de la microalga crea turbidez, la cual pudiera en parte mitigar el posible efecto de la reflexión del fondo blanco (Naas *et al.*, 1996).

## 5.6 Crecimiento y supervivencia

El crecimiento y la supervivencia son variables zootécnicas que permiten evaluar el éxito de una dieta (Kolkovski *et al.*, 1993; Koven *et al.*, 2001; Dionicio-Acedo *et al.*, 2017). En el Exp.1, se evaluó el uso de *B. rotundiformis* (Rot) y *P. euryhalinus* (Pseudo) y no se detectaron diferencias en el crecimiento y la supervivencia de las larvas al final de experimento (27 DDE), donde no solo se evaluaba el efecto del uso de *B. rotundiformis* o *P. euryhalinus* como segundas presas, sino la duración del suministro de las mismas.

La superioridad en calidad nutricional de los copépodos respecto a los rotíferos en cuanto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados ha sido comprobada en varias ocasiones (van der Meeren *et al.*, 2008; Hernández-Alarcón, 2016) y considerada como la causa entre las diferencias de crecimiento y supervivencia de las larvas de peces alimentadas con éstas presas. Wilcox *et al.* (2006), encontraron a los 14 DDE un aumento en la supervivencia, pero no en la LT, para larvas de *Paralichthys lethostigma*, al suministrar una mezcla 50/50 de nauplios de *A. tonsa* y *B. rotundiformis* respecto al suministro de *B. rotundiformis* solamente.

Sin embargo, actualmente existen dietas comerciales ricas en ácidos grasos, proteínas y vitaminas entre otros nutrientes (como la utilizada en el presente trabajo, RotiGrow-OneStep®) que mejoran la calidad nutricional de los rotíferos, al ser cultivados en ellas por varios días. Hernández-Alarcón (2016), evaluó una de estas dietas en el contenido de lípidos de *B. rotundiformis*, y encontró un aumento hasta niveles adecuados de los ácidos grasos poliinsaturados para las larvas de peces, e incluso una proporción DHA/EPA de 3.02, ligeramente superior al valor de 2.0 recomendado por algunos autores (Tucker, 1998; Sargent *et al.*, 1999).

En el Exp.2, se observó una LT significativamente mayor a los 20 DDE en tanques donde se proporcionó una mayor concentración de microalgas. Esto sugiere que

una mayor concentración de microalgas potenció algunos de los beneficios reportados al utilizar la técnica de agua verde como son el mejorar el contraste de la presa en el ambiente, aumentando así en la tasa de detección y captura de las presas (Boehlert & Morgan, 1985; Miner & Stein, 1993); y además el mantener la calidad nutricional de las presas, incrementando así el crecimiento de las larvas (Reitan *et al.*, 1993; Tamaru *et al.*, 1994). En cuanto a la supervivencia, se obtuvo una alta variabilidad entre las réplicas que no permitió arrojar diferencias significativas, aunque el porcentaje de supervivencia con el uso de una Alta concentración de microalga fue mayor al registrado con el uso de una baja concentración de microalga.

En el presente trabajo, el mayor periodo de mortalidad en ambos experimentos ocurrió antes de los 10 DDE, ya que para ese momento la supervivencia era menor al 5%. La calidad del desove juega un papel fundamental en la supervivencia de las larvas en edades tempranas, siendo la supervivencia larvaria a la primera alimentación, uno de los criterios utilizados para evaluarlo (Mylonas *et al.*, 2004; Moguel-Hernández, 2010). Por otro parte, el mayor pico de mortalidad en la etapa larvaria se ha reportado durante el cambio de la alimentación endógena a la alimentación exógena, producto de la incapacidad a ingerir las presas lo que desencadena en la muerte por inanición (Hunter, 1981).

## 6. CONCLUSIONES

- El rotífero *B. rotundiformis* cultivado con RotiGrow-OneStep®, puede ser utilizado como segunda presa en el cultivo larvario de *L. peru*, en sustitución de los nauplios del copépodo *P. euryhalinus*.
- Considerando el ajuste del modelo de regresión lineal generado entre la longitud total y el tamaño de la boca, las larvas de huachinango del Pacífico pueden consumir rotíferos (*B. rotundiformis*) a partir de los 3.7 mm de LT y nauplios de *Artemia* sp. desde los 7.4 mm de LT.
- El suministro de 1 000 000 células/mL de microalga (*Nannochloropsis oculata*) como agua verde desde los 9 DDE se debe implementar en el cultivo larvario del huachinango del Pacífico, ya que evita el comportamiento anómalo, que se desencadena en agua clara y que resulta en altas mortalidades. Además, en este trabajo se registró una mayor LT de las larvas.

## 7. RECOMENDACIONES

- Para próximos experimentos, se recomienda agregar adultos maduros del copépodo *P. crassirostris* a los tanques de cultivo para el inicio de la alimentación exógena, lo que pudiera permitir un suministro constante de nauplios I de este copépodo, esperando obtener un aumento en la incidencia alimenticia de la primera alimentación.
- Se recomienda evaluar una intensidad de Luz de 1 000 Lux para los primeros tres días de alimentación exógena y que luego disminuya a 500 lux.
- Realizar el cultivo larvario de *L. peru* en tanques de mayor volumen, (1 000 L o más), ya que los mayores porcentos de supervivencia reportados para larvas de lutjánidos, se logran con grandes volúmenes de agua.
- Evaluar la supervivencia a diferentes tiempos antes de los 10 DDE, como a la primera alimentación y días subsecuentes, para determinar el momento en que ocurre la mayor mortalidad y así identificar las causas.

## 8. BIBIOGRAFÍA

- Abercrombie, J.B., C. Hickman & M. Johnson. 1962. A dictionary of biology. Chicago: Aldine Publishing Co. 254p.
- Almli, M. 2012. Effects of different live feed on larval growth and development in ballan wrasse (*Labrus bergylta* Ascanius, 1767): A metabolomics study. Master's thesis. Norwegian University of Science and Technology. 59p.
- Ashton, N. & M.B. Rust. 2003. Effect of light intensity on feeding incidence and survival of preflexion larval black rockfish (*Sebastes melanops*). 27th Larval Fish Conference, August 20-23, Santa Cruz, California (libro de resúmenes).
- Avilés-Quevedo, A., L. Reyes, O. Hirales, R. Rodríguez & U. McGregor. 1996. Resultados preliminares en el cultivo del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols and Murphy, 1922) en jaulas flotantes en bahía Falsa, BCS, México. 248-250. En: A. Silva & G. Merino (Eds.). *Acuicultura en Latinoamérica. IX Congreso latinoamericano de acuicultura. 2º Simposio avances y perspectivas de la acuicultura en Chile*. Coquimbo, Chile.
- Balon, E.K. 1975. Terminology of intervals in fish development. *J. Fish. Res. Board Can.*, 32: 1663-1670.
- Blaxter, J.H.S. 1969. Development: eggs and larvae. 177-252. En: Hoar, W.S & D.J. Randall (Eds.). *Fish Physiology Vol. 3*. Academy Press, New York.
- Blaxter, J.H.S. 1975. The eyes of larval fish. 427-443. En: M.A. Ali (Ed.). *Vision in fishes*. Plenum, New York.
- Boehlert, G.W. & J.B. Morgan. 1985. Turbidity enhances feeding abilities of larval Pacific herring, *Clupea harengus*. *Hydrobiologia*, 123: 161-170.
- Boeuf, G. & P.Y. Le Bail. 1999. Does light have an influence on fish growth?. *Aquaculture*, 177(1-4): 129-152.
- Bonlipatanon, P. 1988. Study on red snapper (*Lutjanus argentimaculatus*, Forsskal) spawning in captivity. *Report of Thailand and Japan Joint Coastal Aquaculture Research Project*, 3: 36-43.

- Boza-Abarca, J., E. Calvo, N. Solis & J. Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. *Cienc. Mar.*, 34(2): 239-252.
- Buskey, E.J. 2005. Behavioral characteristics of copepods that affect their suitability as food for larval fishes. 91-106. En: Lee, C.S., P.J. O'Bryen & N.H. Marcus (Eds.). *Copepods in aquaculture*. Blackwell Publishing, Oxford. 269 p.
- Cahu, C.L., J.Z. Infante, A. Peres, P. Quazuguel & M.M. Le Gall. 1998. Algal addition in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae rearing: effect on digestive enzymes. *Aquaculture*, 161(1-4): 479-489.
- Carrillo, M. & S. Zanuy. 1993. Fisiología de la reproducción de los teleosteos. 125-142. En: F. Castello-Orvay (Ed.). *Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción*. Universitat de Barcelona, España.
- Carton, A.G. 2005. The impact of light intensity and algal-induced turbidity on first-feeding *Seriola lalandi* larvae. *Aquac. Res.*, 36(16): 1588-1594.
- Castillo-Vargasmachuca, S., J.T. Ponce-Palafox, G. Rodríguez-Chávez, J.L. Arredondo-Figueroa, E. Chavez Ortiz & A. Seidavi. 2013. Effects of temperature and salinity on growth and survival of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Pisces: Lutjanidae) juvenile. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 41(5): 1013.
- Chesney, E.J. 2005. Copepods as live prey: a review of factors that influence the feeding success of marine fish larvae. 133-150. En: Lee, C.S., P.J. O'Bryen & N.H. Marcus (Eds.). *Copepods in aquaculture*. Blackwell Publishing, Oxford. 269 p.
- Cobcroft, J.M., P.M. Pankhurst, P.R. Hart & S.C. Battaglione. 2001. The effects of light intensity and algae induced turbidity on feeding behaviour of larval striped trumpeter. *J. Fish Biol.*, 59: 1181-1197.
- Cui, K., D. Cheng, Z. Ma, J.G. Qin, S. Jiang, D. Sun & S. Ma. 2017. Ontogenetic development of digestive enzymes in larval and juvenile crimson snapper *Lutjanus erythropterus* (Bloch 1790). *Aquac. Res.*, 48(8): 4533-4544.

de Jaime-Lorén, J.M. 2003. Epónimos científicos. Baño María. María La Judía. Universidad Cardenal Herrera-CEU. (Moncada, Valencia).

[http://www.uch.ceu.es/principal/eponimos\\_cientificos/bano\\_maria.asp](http://www.uch.ceu.es/principal/eponimos_cientificos/bano_maria.asp)

Dhont, J., K. Dierckens, J. Støttrup, G. van Stappen, M. Wille & P. Sorgeloos. 2013. Rotifers, Artemia and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. 157-202. En: Allan G. & G. Burnell (Eds.). *Advances in aquaculture hatchery technology*. Woodhead Publishing. Cambridge.

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

Dionicio-Acedo, J., M. Rosado-Salazar, J. Flores-Mego, L. Flores-Ramos & A. Aguirre-Velarde. 2017. Evaluación de dietas comerciales en el crecimiento y su efecto en la composición bioquímica muscular de juveniles de chita, *Anisotremus scapularis* (Tschudi, 1846) (Familia: Haemulidae). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 45(2): 410-420.

Doi, M., A. Ohino, T. Singhagrainwan & H. Kohno. 1997. Nauplii of calanoid copepod *Acartia sinjiensis* as an initial food organism for larval red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Suisanzoshoku*, 45: 31-40.

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

Dumas, S., M. Contreras-Olguín, R. Peña, L. Flores-Montijo, L. León-Valencia, M. Rangel-Durán, I. Moguel-Hernández & I. Hernández-Alarcón. 2014. The use of copepods in larviculture of Pacific red snapper *Lutjanus peru*. 9th International Aquaculture forum and LACAQUA 2014. Guadalajara, Nov. 5-7, 2014.

Duncan, N., Z. Ibarra-Zatarain, I. Abdo de la Parra, G. Velasco, A. García-Ortega, R. Peña-Martínez, P. Pintos, H. Skyol, M. Rosales, D. Hernández & S. Dumas. 2002. Larval culture of the Pacific red snapper. A preliminary study.

VI Simposio internacional de nutrición acuícola. 3-6 sept. 2002, Cancun, Q.R.

Emata, A.C., B. Eullaran & T.U. Bagarinao. 1994. Induced spawning and early life description of the mangrove red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquaculture*, 121(4): 381-387.

Gracia-López, V., M. Kiewek-Martínez, M. Maldonado-García, P. Monsalvo-Spencer, G. Portillo-Clark, R. Civera-Cerecedo, M. Linares-Aranda, M. Robles-Mungaray & M. Mazón-Suástegui. 2005. Larvae and juvenile production of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea* (Streets, 1877). *Aquac. Res.*, 36(1): 110-112.

García-Ortega, A., I. Abdo-De la Parra, N.J. Duncan, E. Rodríguez-Ibarra, G. Velasco, B. González-Rodríguez & I. Martínez. 2005. Larval rearing of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions. 172-175. En: Hendry, C.I., G. van Stappen, M. Wille & P. Sorgeloos (Eds.). *Larvi '05-Fish and Shellfish Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society, Special Publication No. 36. Oostende, Belgium.

Guillard, R.R. & J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatom: I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve) gran. *Can. J. Microbiol.*, 8(2): 229-239.

Gulbrandsen, J. 1991. Functional response of Atlantic halibut larvae related to prey density and distribution. *Aquaculture*, 94(1): 89-98.

Gunstone, F., J. Harwood & F. Padley. 1994. *The Lipid Handbook* (Second Edition). Chapman & Hall, Londres, Inglaterra. 791p.

Hart, P.J. 1997. Foraging tactics. 104-133, En: Godin, J.G. (Ed.), *Behavioural ecology of teleost fishes*. Oxford University Press, Oxford. 398p.

Hernández-Alarcón, I. 2016. Efecto de la dieta en la composición de ácidos grasos del alimento vivo utilizado en la crianza larvaria de peces marinos. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, México. 79p.

- Hseu, J.R., P.P. Hwang & Y.Y. Ting. 2004. Morphometric model and laboratory analysis of intracohort cannibalism in giant grouper *Epinephelus lanceolatus* fry. *Fisheries Sci.*, 70(3): 482-486.
- Hunter, J.R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. 34-77. En: Lasker, R. (Ed.). *Marine Fish Larvae. Morphology, ecology and relation to fisheries*. University of Washington Press, Seattle.
- Hunter, J.R. 1984. Synopsis of culture methods for marine fish larvae. 24-27. En: H.G. Moser (Ed.). *Ontogeny and Systematics of Fishes. Amer. Soc. Ichthyologists and Herpetologists, Spec. Pub. No.1*.
- Ikenoue, H. & T. Kakufu. 1992. Modern methods of aquaculture in Japan. Elsevier, Amsterdam. 274p.
- Ivlev, V.S. 1961. Experimental ecology of the feeding of fishes. Yale University Press, New Haven, CT, USA.
- Kawamura, G., R. Tsuda, H. Kumai & S. Ohashi. 1984. The visual cell morphology of *Pagrus major* and its adaptive changes with shift from pelagic to benthic habitats. *B. Jpn. Soc. Sci. Fish*, 50: 1975-1.
- Klaoudatos, S.D., G. Iakovopoulos & D.S. Klaoudatos. 2004. *Pagellus erythrinus* (common pandora): a promising candidate species for enlarging the diversity of aquaculture production. *Aquacult. Int.*, 12(3): 299-320.
- Kolkovski, S., A. Tandler, G.W. Kissil & A. Gertler. 1993. The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiol Biochem.*, 12(3): 203-209.
- Kotani, T., T. Genka, M. Tanabe, A. Miyashima, H. Fushimi & M. Hayashi. 2010. Effect of nutritional enrichment method on fatty acid contents of rotifer *Brachionus plicatilis*. *J. World Aquacult. Soc.*, 41(6): 884-892.
- Koven, W., Y. Barr, S. Lutzky, I. Ben-Atia, R. Weiss, M. Harel, P. Behrens & A. Tandler. 2001. The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture*, 193(1-2): 107-122.

- Lazo, J.P., M.T. Dinis, G.J. Holt, C. Faulk & C.R. Arnold. 2000. Co-feeding microparticulate diets with algae: towards eliminating the need of zooplankton at first feeding in larval red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 188: 339-351.
- Leeson, T.S., C.R. Leeson & A.A. Paparo. 1990. Texto-Atlas de histología. Interamericana-McGraw Hill. México. 741p.
- Leu, M.Y., I.H. Chen & L.S. Fang. 2003. Natural spawning and rearing of mangrove red snapper, *Lutjanus Agentimaculatus*, larvae in captivity. *Israeli J. Aquacult.–Bamidgeh*, 55(1): 22-30.
- Lim, L.C., L. Cheong, H.B. Lee & H.H. Heng. 1985. Induced breeding studies of the John's snapper *Lutjanus johnii* (Bloch) in Singapore. *Singapore J. Pri. Ind.*, 13: 70-83.
- Ma, Z., J.G. Qin, W. Hutchinson & B.N. Chen. 2013. Food consumption and selectivity by larval yellowtail kingfish *Seriola lalandi* cultured at different live feed densities. *Aquacult. Nutr.*, 19(4): 523-534.
- Madrid-Vera, J. 1990. Ecología de algunas especies de peces de importancia comercial. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM, México. 179p.
- Miller, B. & A.W. Kendall. 2009. Early life history of marine fishes. Berkeley: University of California Press. 376p.
- Miner, J.G. & R.A. Stein. 1993. Interactive influence of turbidity and light on larval bluegill (*Lepomis macrochirus*) foraging. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 50: 781-788.
- Moguel-Hernández, I. 2010. Caracterización bioquímica y fisiológica de embriones de larvas vitelinas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*: implicaciones en la calidad de los desoves. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, México. 94p.
- Mylonas, C.C., M. Papadaki, M. Pavlidis & P. Divanach. 2004. Evaluation of egg production and quality in the Mediterranean red porgy (*Pagrus pagrus*) during two consecutive spawning seasons. *Aquaculture*, 232(1-4): 637-649.

- Naas K.E., T. Naess & T. Harboe. 1992. Enhanced first feeding of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) in green water. *Aquaculture*, 105: 143-156.
- Naas, K.E., I. Huse & J. Iglesias. 1996. Illumination in first feeding tanks for marine fish larvae. *Aquacult. Eng.*, 15: 291–300.
- Nicolaisen, O. & S. Bolla. 2016. Behavioural responses to visual environment in early stage Atlantic cod *Gadus morhua* L. larvae. *Aquac. Res.*, 47(1): 189-198.
- Olla B. & M. Davis. 1992. Phototactic responses of unfed walleye pollock, *Theragra chalcogramma* larvae: comparisons with other measures of condition. *Environ. Biol. Fish*, 35: 105-108.
- Pelcastre-Campos, V. 2006. Inducción a la ovulación y espermiogénesis en el huachinango del pacífico *Lutjanus peru* (Nichols y Murphy 1922) y almacenamiento de su semen. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN, La Paz, México. 96p.
- Peña, R., S. Dumas, R. Saldivar-Lucio, G. García, A. Trasviña & D. Hernández-Ceballos. 2004. The effect of light intensity on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* (Steindachner) larvae. *Aquac. Res.*, 35(4): 345-349.
- Peña, R., S. Dumas, A. Trasviña, G. García, H. Pliego-Cortéz. 2005. The effects of rearing tank color and prey density on first feeding of the spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus*. *Aquac. Res.*, 36: 1239-1242.
- Peña, R., S. Dumas, I. Zavala-Leal & M. Contreras-Olguín. 2012. Effect of incubation temperature on the embryonic development and yolk-sac larvae of the Pacific red snapper *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). *Aquac. Res.*, 45(3): 519–527.
- Peña, R. & S. Dumas. 2015. Comportamiento alimentario de la larva del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922) (Percoidei: Lutjanidae) al inicio de la alimentación exógena. *CICIMAR Oceanides*, 30(2): 7-12.

- Peña, R., S. Dumas & M. Contreras-Olguín. 2016. Organogenesis of the digestive system in Pacific red snapper (*Lutjanus peru*) larvae. *Aquac. Res.*, 48(4): 1561–1575.
- Puvanendran, V., & J.A. Brown. 1999. Foraging, growth and survival of Atlantic cod larvae reared in different prey concentrations. *Aquaculture*, 175(1-2): 77-92.
- Pyke, G.H. 1984. Optimal foraging theory: a critical review. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 15(1): 523-575.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo, G. Øie & Y. Olsen. 1993. Nutritional effects of algal addition in first-feeding of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) larvae. *Aquaculture*, 118: 257-275.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo, G. Øie & Y. Olsen. 1997. A review of the nutritional effects of algae in marine fish larvae. *Aquaculture*, 155(1-4): 207-221.
- Reyes-Becerril, M., C. Angulo, N. Estrada, Y. Murillo & F. Ascencio-Valle. 2014. Dietary administration of microalgae alone or supplemented with *Lactobacillus sakei* affects immune response and intestinal morphology of Pacific red snapper (*Lutjanus peru*). *Fish. Shellfish Immun.*, 40(1): 208-216.
- Rivas, L.M. 2014. Influencia del alimento vivo sobre el crecimiento y supervivencia durante el desarrollo temprano del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) y del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*). Tesis de maestría. CIBNOR. 99p.
- Rhodes, M.A. & R.P. Phelps. 2008. Evaluation of the ciliated protozoa, *Fabrea salina* as a first food for larval red snapper, *Lutjanus campechanus* in a large scale rearing experiment. *J. Appl. Aquacult.*, 20(2): 120-133.
- Rodríguez, C., J.A. Pérez, M.S. Izquierdo, J.R. Cejas, A. Bolaños & A. Lorenzo. 1996. Improvement of the nutritional value of rotifers by varying the type and concentration of oil and the enrichment period. *Aquaculture*, 147: 93-105.
- Romero-Romero, S. & M. Yúfera. 2012. Contribution of gut content to the nutritional value of *Brachionus plicatilis* used as prey in larviculture. *Aquaculture*, 364: 124-129.

- Rowlands, W.L., M. Dickey-Collas, A.J. Geffen & R.D. Nash. 2008. Diet overlap and prey selection through metamorphosis in Irish Sea cod (*Gadus morhua*), haddock (*Melanogrammus aeglefinus*), and whiting (*Merlangius merlangus*). *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 65(7): 1297-1306.
- Russo, T., C. Boglione, P. De Marzi & S. Cataudella. 2009. Feeding preferences of dusky grouper (*Epinephelus marginatus*, Lowe 1834) larvae reared in semi-intensive conditions: A contribution addressing the domestication of this species. *Aquaculture*, 289: 289-296.
- Saillant, E.A., E. Leclercq, A. Bardon-Albaret, B. Sarkisian, A. Apeitos, N.J. Brown-Peterson, J.T. Lemus, A. Buentello, C. Pohlenz & D.M. Gatlin. 2013. Development of aquaculture of the red snapper *Lutjanus campechanus*: research on larval nutrition. *Proc. of the 65th Gulf and Caribb. Fish. Inst.* 65: 553-556.
- Schipp, G.R., J.M.P. Bosmans & D.J. Gore. 2001. A semi-intensive larval rearing system for tropical marine fish. 536-539. En: Hendry, C.I., G. van Stappen, M. Wille & P. Sorgeloos (Eds.). *Larvi'01-Proceedings of the Fish and Shellfish Larviculture Symposium*. European Aquaculture Society Special Publication No 30. Oostende, Belgium.
- Seljeset, O., K.W. Vollset, A. Folkvord & A.J. Geffen. 2010. The role of prey concentration and size range in the growth and survival of larval cod. *Mar. Biol. Res.*, 6(3): 251-262.
- Shaw, G.W., P.M. Pankhurst & S.C. Battaglione. 2006. Effect of turbidity, prey density and culture history on prey consumption by greenback flounder *Rhombosolea tapirina* larvae. *Aquaculture*, 253(1-4): 447-460.
- Srivastava, A., K. Hamre, J. Stoss, R. Chakrabarti & S.K. Tonheim. 2006. Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): with emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*, 254(1-4): 534-543.
- Støttrup, J.G. & N.H. Norsker. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*, 155(1-4): 231-247.

- Tamaru, C.S., R. Murashinge & C.S. Lee. 1994. The paradox of using background phytoplankton during the larval culture of striped mullet, *Mugil cephalus* L. *Aquaculture*, 119: 167-174.
- Taylor-Cota, R. 2017. Efecto del tipo de presa sobre el crecimiento y supervivencia larvaria del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, México. 56p.
- Timmerman, C.M., C.A. Annett & C.F. Bailey. 2000. Determination of Factors Limiting Prey Size Swallowed by Larval and Small Juvenile Largemouth Bass. *T. Am. Fish. Soc.*, 129(2): 618-622.
- Toledo, J.D., G. Salvación-Golez, M. Doi & A. Ohno. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stages of grouper *Epinephelus coioides*. *Fish. Sci.*, 65: 390-397.
- Tucker, J.W. 1992. Feeding intensively cultured marine fish larvae. 129-146. En: Allan, G.L. & W. Dall (Eds.). *Proceedings of the Aquaculture Nutrition Workshop. NSW Fisheries, Brackish Water Fish Culture Research Station. Salamander Bay, Australia.*
- Tucker, J.W. 1998. *Marine fish culture*. Kluwer Academic Publisher, Norwell, Massachusetts, U.S.A. 750p.
- van der Meeren, T., R.E. Olsen, K. Hamre & H.J. Fyhn. 2008. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. *Aquaculture*, 274(2-4): 375-397.
- Villamil-Díaz, L.M., S.M. Infante-Villamil & O.P. Lecompte-Pérez. 2012. Uso de microorganismos benéficos en el alimento vivo para controlar la aparición de enfermedades durante el cultivo de animales acuáticos. *Rev. Mutis*, 2: 89-106.
- Villamizar, N., B. Blanco-Vives, H. Migaud, A. Davie, S. Carboni & F.J. Sánchez-Vázquez. 2011. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: a review. *Aquaculture*, 315: 86-94.
- Watanabe, W.O., E.P. Ellis, S.C. Ellis, J. Chaves, C. Manfredi, R.W. Hagood & S. Arneson. 1998. Artificial propagation of mutton snapper *Lutjanus analis*, a

new candidate marine fish species for aquaculture. *J. World Aquacult. Soc.*, 29(2): 176-187.

Wilcox, J.A., P.L. Tracy & N.H. Marcus. 2006. Improving live feeds: effect of a mixed diet of copepod nauplii (*Acartia tonsa*) and rotifers on the survival and growth of first-feeding larvae of the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. *J. World Aquacult. Soc.*, 37(1): 113-120.

Witt, U., G. Quantz, D. Kuhlmann & G. Kattner. 1984. Survival and growth of turbot larvae *Scophthalmus maximus* L. reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids. *Aquacult. Eng.*, 3(3): 177-190.

Yin, M.C. & J.H.S. Blaxter. 1987. Feeding ability and survival during starvation of marine fish larvae reared in the laboratory. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 105: 73-83.

Yúfera, M. & M.J. Darias. 2007. The onset of exogenous feeding in marine fish larvae. *Aquaculture*, 268(1-4): 53–63.

Zavala-Leal, I., S. Dumas, R. Peña, M. Contreras-Olguín & D. Hernández-Ceballos. 2013. Effects of culture conditions on feeding response of larval Pacific red snapper (*Lutjanus peru*, Nichols & Murphy) at first feeding. *Aquac. Res.*, 44(9): 1399-1406.

Zavala-Leal, I., S. Dumas, E.O. López-Villegas, R. Peña, M. Contreras-Olguín, L. Flores-Montijo & J. de la Cruz-Agüero. 2015. Structural development of Pacific red snapper *Lutjanus peru* from hatching to the onset of first feeding. *Aquac. Res.*, 46:1162-1174.