5.3.1.2 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia de los individuos de los diferentes tratamientos se puede observar en la Figura 5.13. La mayor mortalidad se presentó en el tratamiento con T_3. Las larvas expuestas a HC y T_4 presentaron una mortalidad semejante aunque la mortalidad de los individuos sometidos a la T_4 se presentó principalmente en los últimos días. Por otra parte, el tratamiento con TU y el control presentaron las mortalidades más bajas.

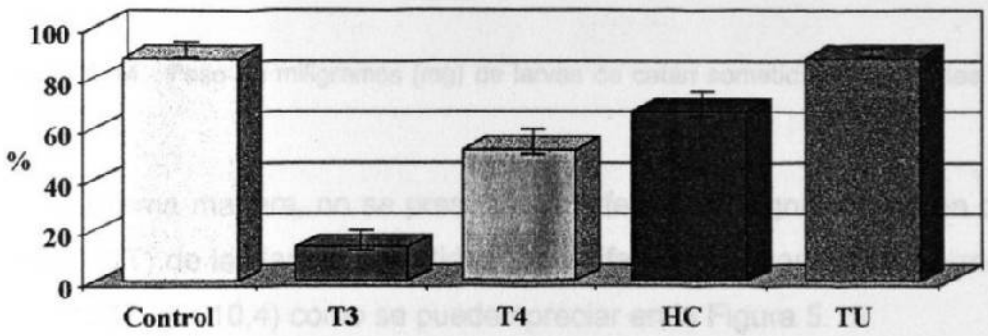

Figura 5.13.- Sobrevivencia en larvas de catán sometidas a diferentes tratamientos hormonales.

En la Figura 5.14 se presenta el peso de las larvas sometidas a hormonas tiroidianas y cortisol. Las larvas expuestas a tratamiento con T_3 presentaron el menor peso aunque sin diferencias significativas respecto a los otros tratamientos (F= 1.59 ; P= 0.25 ; gl= 10,4).

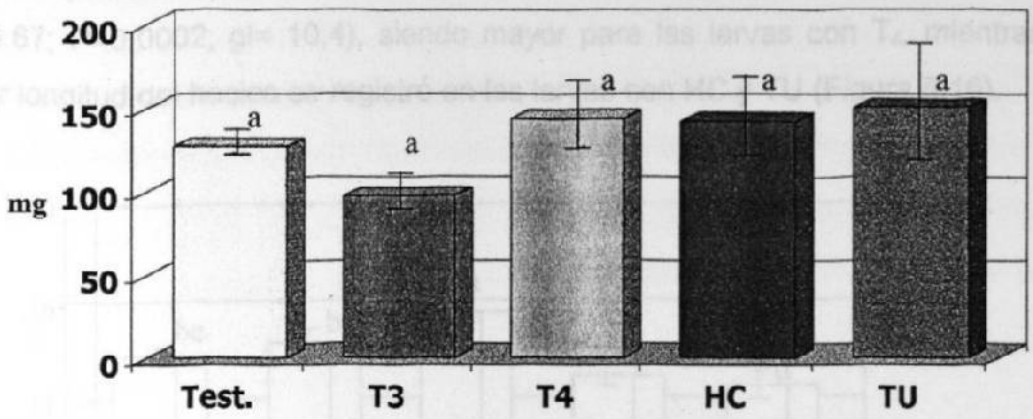

Figura 5.14.- Peso en miligramos (mg) de larvas de catán sometidas a diferentes tratamientos con hormonas.

De la misma manera, no se presentaron diferencias significativas en cuanto a la longitud total (LT) de las larvas sometidas a los diferentes tratamientos hormonales (F= 2.113; P=0.1537, gl= 10,4) como se puede apreciar en la Figura 5.15.

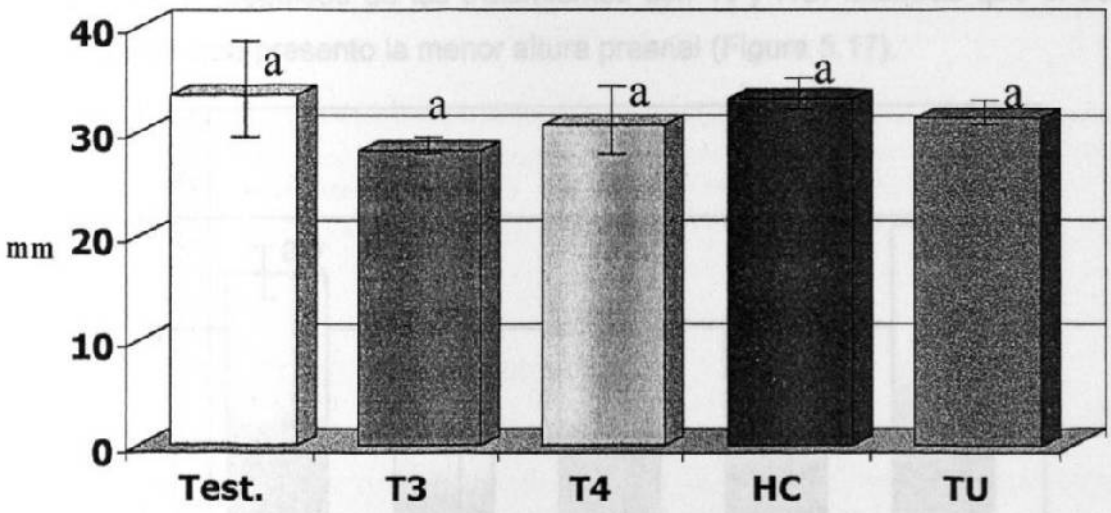

Figura 5.15.- Longitud total (mm) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Se presentaron diferencias significativas con respecto a la longitud del hocico (F=16.67; P=0.0002; gl= 10,4), siendo mayor para las larvas con T_4, mientras que la menor longitud del hocico se registró en las larvas con HC y TU (Figura 5.16).

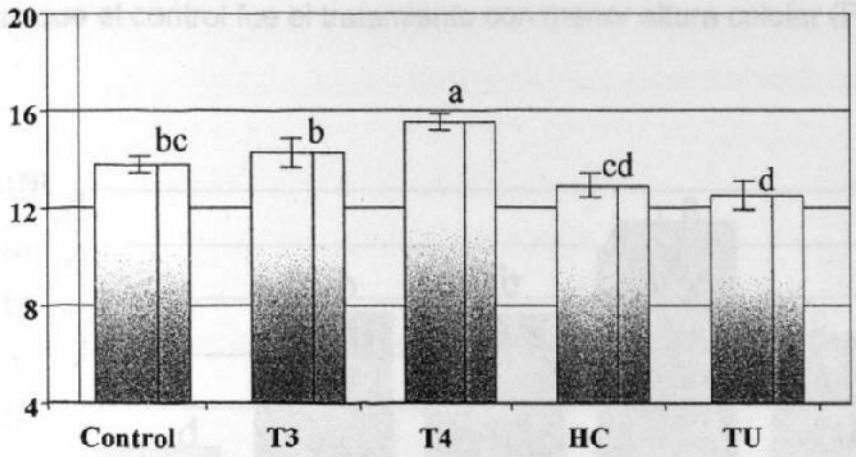

Figura 5.16.- Longitud del hocico, en porcentaje de la longitud total (% LT), de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

En el caso de la altura preanal también se presentaron diferencias significativas (F=15.51; P= 0.0003; gl= 10,4). Los tratamientos control y TU presentaron la mayor altura preanal, seguidos de los tratamientos con T_4 y HC. Mientras que el tratamiento con T_3 fue el que presento la menor altura preanal (Figura 5.17).

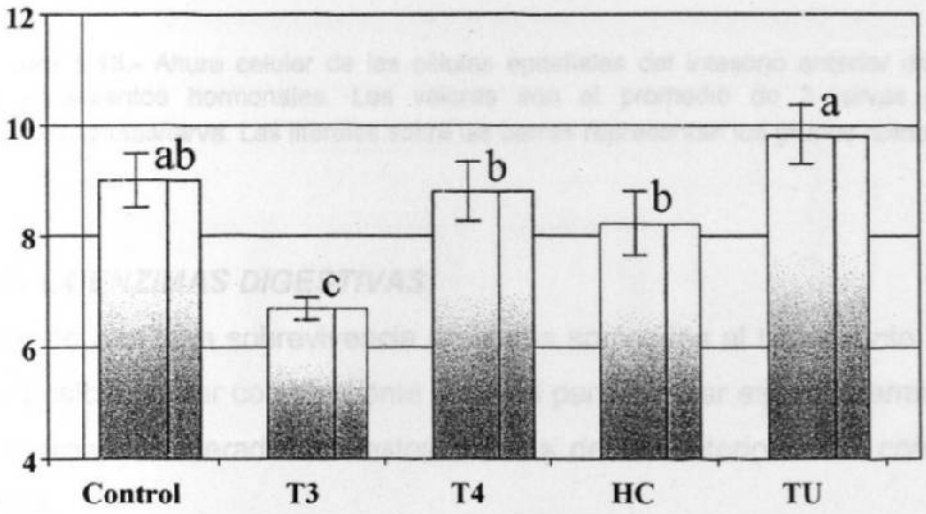

Figura 5.17 Altura preanal, en porcentaje de la longitud total (% LT) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.3.1.3 CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS:

La altura celular de los enterocitos presentó diferencias significativas entre los tratamientos con hormonas (F=223.94; P=0.000; gl= 55,4). Los enterocitos de las larvas con HC presentaron la mayor altura celular, seguidos de los tratamientos con T_3 y T_4. Mientras que el control fue el tratamiento con menor altura celular (Figura 5.18).

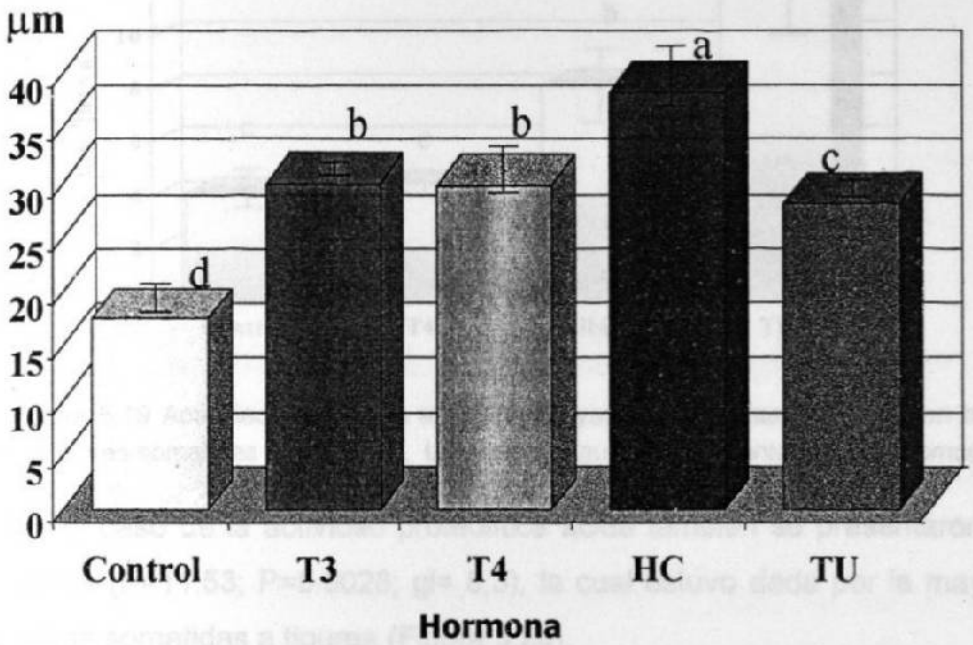

Figura 5.18.- Altura celular de las células epiteliales del intestino anterior de larvas con los diferentes tratamientos hormonales. Los valores son el promedio de 3 larvas por tratamiento considerando 6 células/larva. Las literales sobre las barras representan los grupos homogéneos.

5.3.1.4 ENZIMAS DIGESTIVAS:

Debido a la baja sobrevivencia de larvas sometidas al tratamiento hormonal con T_3 no fue posible contar con suficiente material para realizar estas determinación, por lo cual no fueron considerados en estos análisis de laboratorio ni los correspondientes estadísticos.

La actividad proteolítica alcalina entre los diferentes tratamientos hormonales presentó diferencias significativas (F=33.98; P=0.0001; gl= 8,3), siendo mayor la actividad en las larvas con TU, mientras que en el tratamiento control y con T_4 fueron más bajas y sin diferencias significativas entre estas (Figura 5.19).

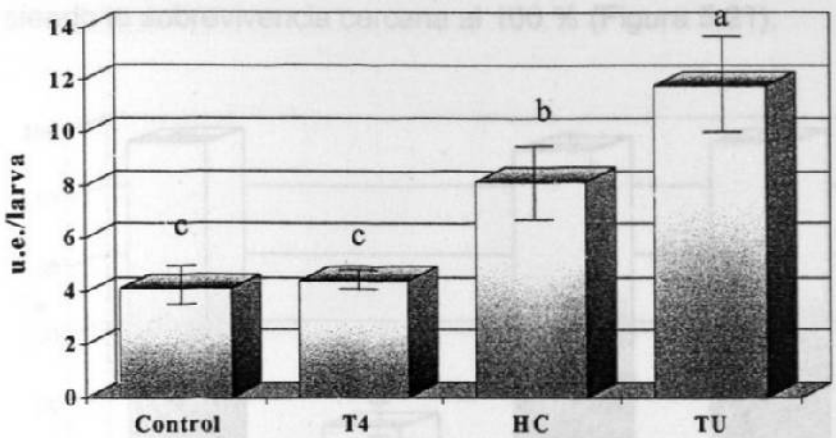

Figura 5.19 Actividad proteolítica alcalina ensayada con azocaseina 0.2 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

En el caso de la actividad proteolítica ácida también se presentaron diferencias significativas (F=11.53; P=0.0028; gl= 8,3), la cual estuvo dada por la mayor actividad en las larvas sometidas a tiourea (Figura 5.20).

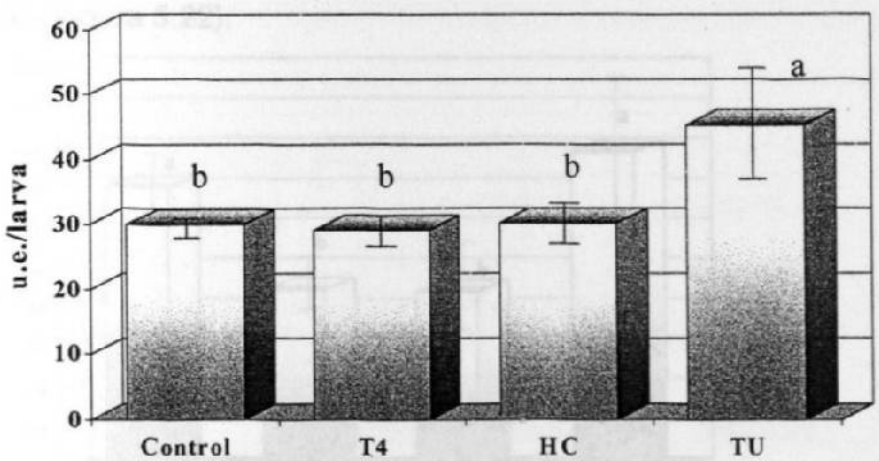

Figura 5.20 Actividad proteolítica ácida ensayada con hemoglobina 1 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.3.2 SEGUNDO BIOENSAYO

5.3.2.1 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia fue nuevamente muy baja en las larvas sometidas a T_3, mientras que en los otros tratamientos se presentó muy poca mortalidad siendo la sobrevivencia cercana al 100 % (Figura 5.21).

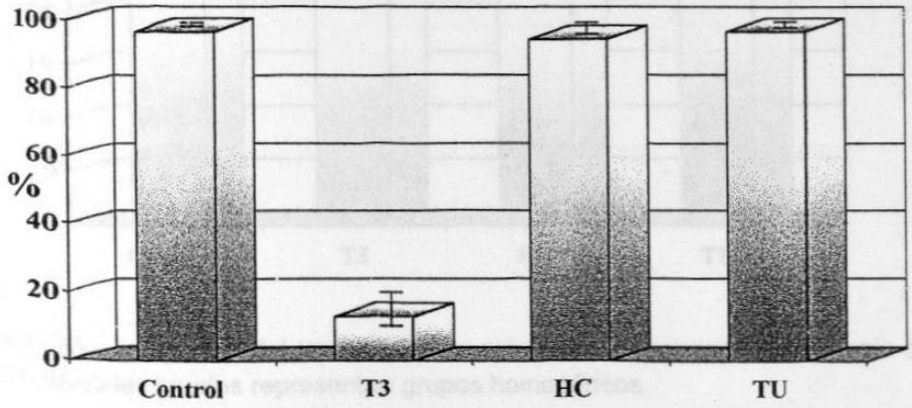

Figura 5.21.- Sobrevivencia de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo.

Se presentaron diferencias significativas en el peso de las larvas entre los tratamientos (F=9.27; P=0.0012; gl= 14,3) siendo mayor para los tratamientos control y con tiourea (Figura 5.22).

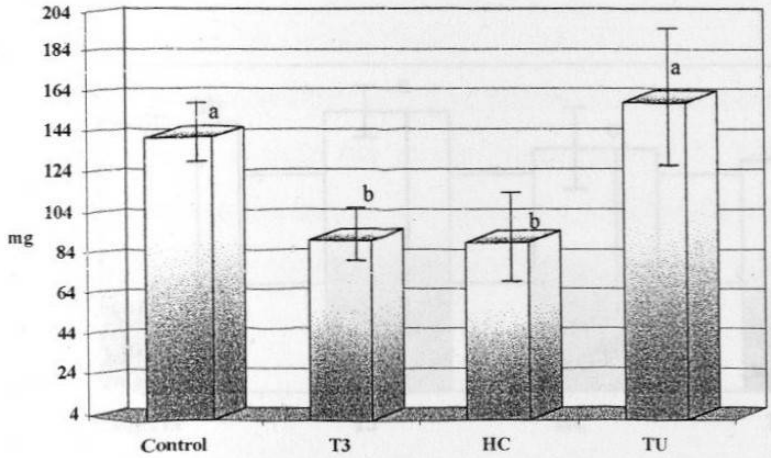

Figura 5.22.- Peso (mg) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

También se presentaron diferencias significativas para la longitud total de las larvas entre los tratamientos (F=17.53; P=0.0001; gl= 14,3), presentándose un comportamiento similar al peso (Figura 5.23).

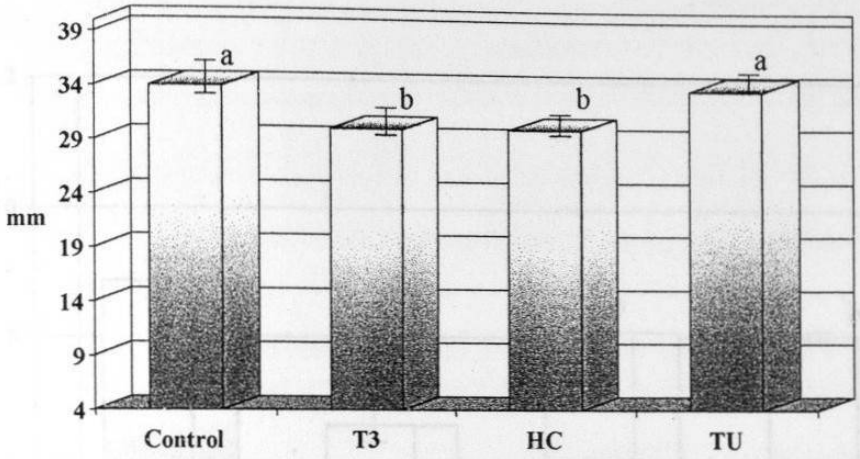

Figura 5.23.- Longitud Total (mm) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Con respecto a la longitud del hocico también se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (F = 5.42; P = 0.011; gl = 14,3). Sin embargo en este caso la proporción del hocico fue mayor en el tratamiento con T_3 y el tratamiento control (Figura 5.24).

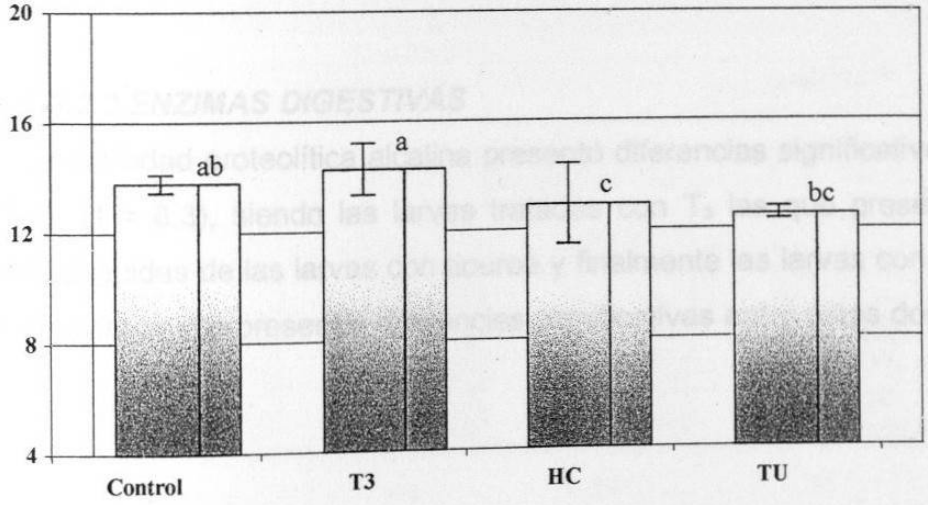

Figura 5.24.- Longitud del hocico (% LT) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

Por otra parte la altura preanal de las larvas sometidas a diferentes tratamientos presentó diferencias significativas (F = 11.83; P = 0.0004; gl = 14,3). El tratamiento con T_3 mostró la menor altura, mientras que los tratamientos con hidrocortisona y tiourea presentaron un valor ligeramente menor al tratamiento control (Figura 5.25).

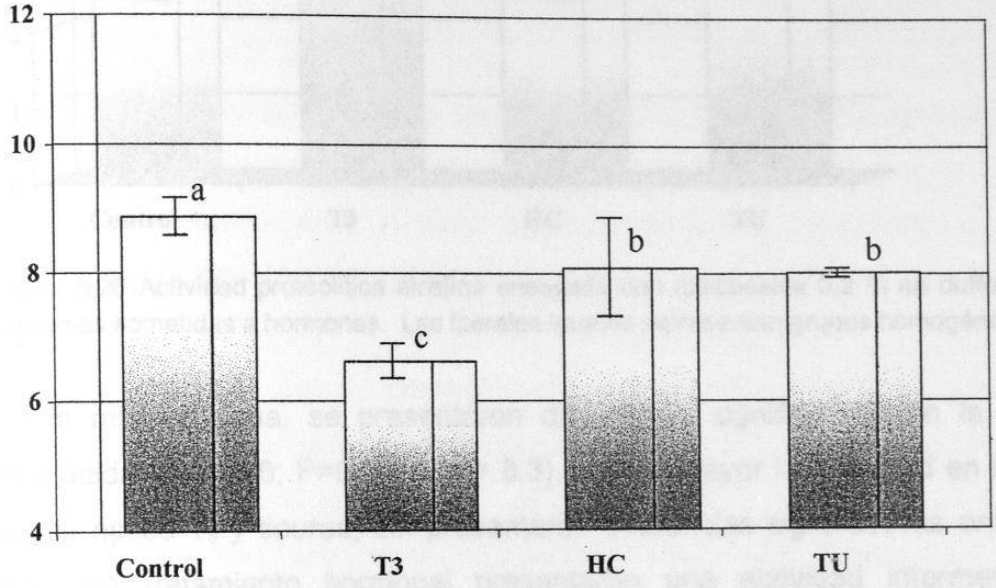

Figura 5.25.- Altura preanal (% LT) de larvas sometidas a hormonas en una sola dosis al iniciar el bioensayo. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.3.2.2 ENZIMAS DIGESTIVAS

La actividad proteolítica alcalina presentó diferencias significativas (F = 77.69; P = 0.0000; gl = 8,3), siendo las larvas tratadas con T_3 las que presentaron la mayor actividad seguidas de las larvas con tiourea y finalmente las larvas con hidrocortisona y las larvas control, sin presentar diferencias significativas entre estas dos últimas (Figura 5.26).

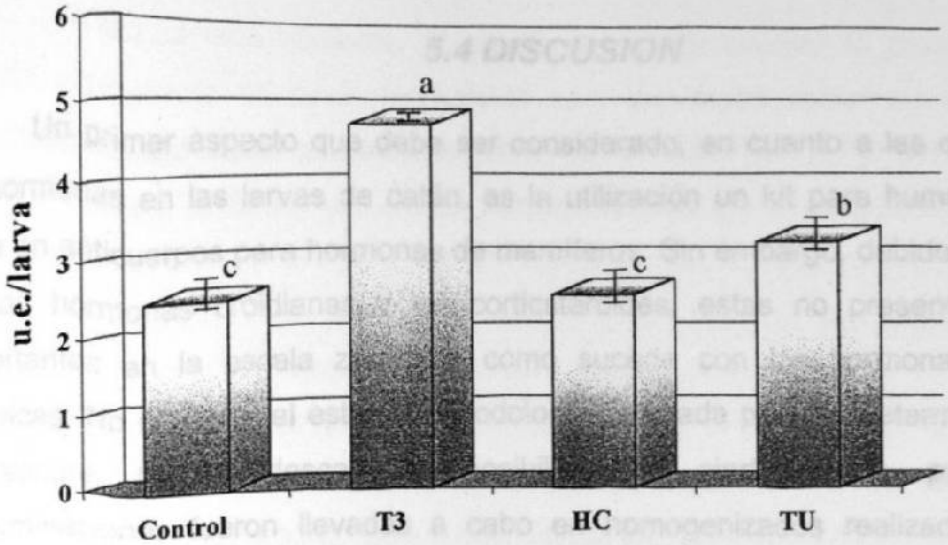

Figura 5.26 Actividad proteolítica alcalina ensayada con azocaseina 0.2 % en buffer universal (pH 8.4) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

De la misma forma, se presentaron diferencias significativas en la actividad proteolítica ácida (F=37.16; P=0.0000; gl= 8,3), siendo mayor la actividad en las larvas a las que se aplicó T_3 y tiourea, sin presentarse diferencias significativas entre estas. Las larvas sin tratamiento hormonal presentaron una actividad intermedia y se determinó la más baja actividad ácida en las larvas tratadas con hidrocortisona (Figura 5.27).

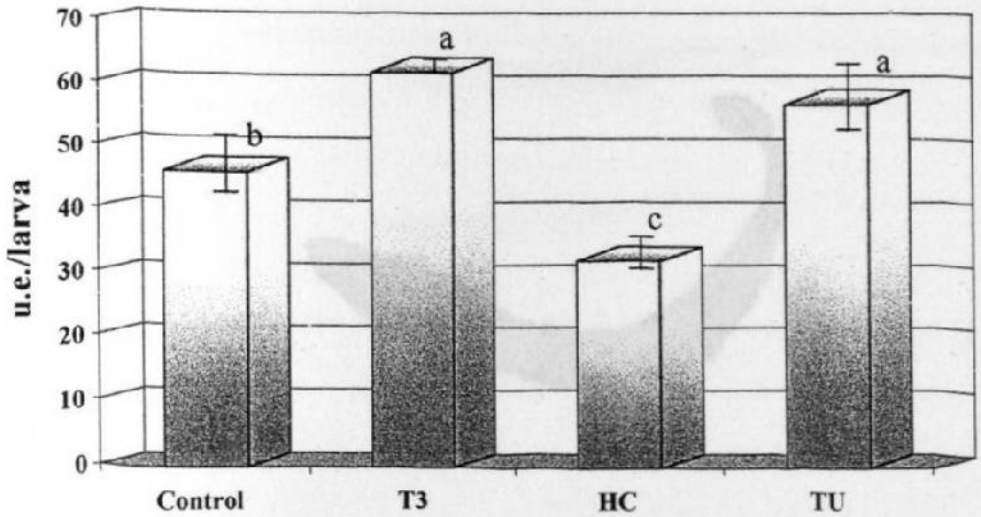

Figura 5.27.- Actividad proteolítica ácida ensayada con hemoglobina 1 % en buffer universal (pH 3.0) de larvas sometidas a hormonas. Las literales iguales representan grupos homogéneos.

5.4 DISCUSION

Un primer aspecto que debe ser considerado, en cuanto a las determinaciones de hormonas en las larvas de catán, es la utilización un kit para humanos el cual se basa en anticuerpos para hormonas de mamíferos. Sin embargo, debido a la naturaleza de las hormonas tiroidianas y los corticsteroides, estas no presentan variaciones importantes en la escala zoológica como sucede con las hormonas peptídicas y proteicas. No obstante al estar la metodología diseñada para su determinación a partir de sangre. No se descarta la posibilidad de cierto sesgo, puesto que las determinaciones fueron llevadas a cabo en homogenizados realizados a partir de organismos completos (Hollander y Shenkman, 1974).

La alta mortalidad que se presentó en los tratamientos con T_3, para ambos bioensayos, probablemente este relacionada con una sobredosis en la administración de esta hormona ya que los niveles de T_3 y HC detectados en las larvas del primer bioensayo fue cuatro veces superior al nivel de las larvas control (Figura 5.7 y 5.10). Lo anterior también se sustenta en los cambios evidentes que se produjeron en morfología de las larvas (longitud del hocico y altura preanal) sometidas al tratamiento con T_3, llegando inclusive a producirse deformaciones en las larvas del primer bioensayo (Figura 5.28).

Figura 5.28.- Larva de catán sometida a tratamiento con T_3 durante el primer bioensayo.

Dentro de esta vertiente, se puede considerar también la posibilidad de que el menor crecimiento en peso encontrado para las larvas sometidas a T_3, en ambos bioensayos, estuviera relacionado con los niveles de T_3 y sus efectos en la metamorfosis a la forma del adulto, con lo cual las larvas adquieren una forma más alargada lo cual se ve reflejado por una mayor proporción del hocico (Figuras 5 y 19) y una menor proporción de la altura preanal (Figuras 6 y 20), con respecto a la longitud total de la larva. Este menor crecimiento también se vió reflejado en la longitud total obtenida por las larvas con T_3 , aunque en menor proporción. Evidentemente la metamorfosis implica la utilización de recursos energéticos que no quedan disponibles para el crecimiento corporal. Otra evidencia del efecto de la T_3 sobre la metamorfosis es la coloración que adquirieron las larvas sometidas a esta hormona, siendo diferente a la descrita para cualquier estadío larval. Estas larvas presentaron una coloración gris en la parte dorsal y en los costados, mientras que la parte ventral fue clara y las aletas impares presentaron una coloración negra, esta coloración es típica de organismos adultos (Figura 5.29).

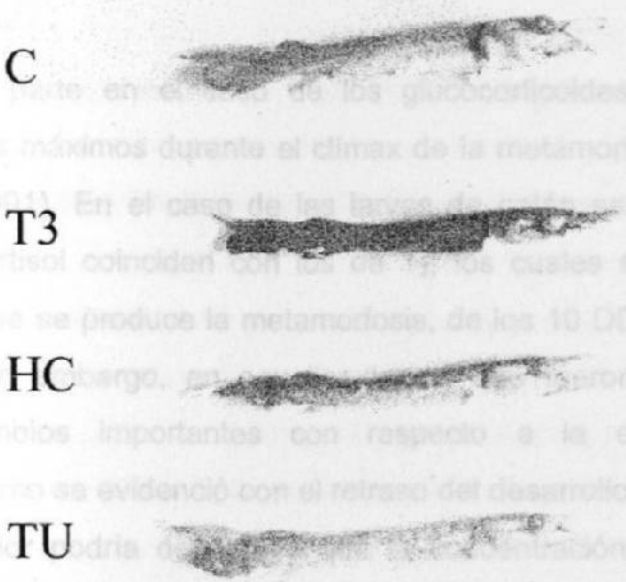

Figura 5.29.- Larvas de catán sometida a hormonas durante segundo bioensayo. Control (C); Tri-iodotironina (T_3); Hidrocortisona (HC) y Tiourea (TU).

En base a la proporción del hocico, en las Figuras 5 y 19, se puede apreciar que las larvas control estaban finalizando el proceso de metamorfosis al final del bioensayo, lo cual se ve apoyado por los niveles detectados de T_3 que muestran la mayor concentración a los 10 DDE que es el momento en el cual se produce la mayor transformación de la larva. Por otra parte, también se hace evidente que las larvas sometidas a TU y HC presentan un retraso relativo en el proceso metamórfico al finalizar los bioensayos, lo cual se ve apoyado por los bajos niveles de T_3 detectados en estos tratamientos, siendo de 0.67 y 0.33 ng/larva respectivamente, los cuales son significativamente menores al encontrado en las larvas control en proceso de transformación (2.2 ng/larva). En el caso del tratamiento con TU el retraso en la transformación de las larvas se encuentra claramente relacionado con el efecto inhibidor que tiene esta sustancia sobre la síntesis de T_4 (Huang *el al.*, 1998) lo que repercute en consecuencia en una baja en la conversión de T_4 a T_3 y sus efectos promotores de la metamorfosis. La inducción de la estasis metamórfica mediante la aplicación de TU en larvas de peces ha sido ampliamente reportada (Inui *et al.*, 1985; Sullivan, 1987; Miwa *et al.*, 1988; Yamano *et al.*, 1991; Hung *et al.*, 1998).

Por otra parte en el caso de los glucocorticoides como la HC, han sido reportados picos máximos durante el climax de la metamorfosis en peces planos (De Jesús *et al.*, 1991). En el caso de las larvas de catán se encontró que los niveles máximos de cortisol coinciden con los de T_3, los cuales se presentaron dentro del periodo en el que se produce la metamorfosis, de los 10 DDE a los 15 DDE (Figuras 5.7 y 5.10). Sin embargo, en aquellas larvas que fueron sometidas a HC no se apreciaron cambios importantes con respecto a la estimulación del proceso metamórfico, como se evidenció con el retraso del desarrollo del hocico (Figuras 5.16 y 5.24). Lo anterior podría deberse a que la concentración endógena de cortisol es suficiente y la adición exógena alteraria este proceso, como lo señalan De Jesús *et al.* (1993), quienes ademas reportan que la administración de cortisol no fue capaz de inducir cambios metamórficos en larvas de peces planos, pero al ser administrado en conjunto con T_3 o T_4 produjo cambios metamórficos mas marcados que la sola

administración de hormonas tiroidianas. Estos autores argumentan un posible efecto sinérgico similar al que ocurre en anfibios, ya que aparentemente se presenta un efecto promotor de los corticosteroides sobre los receptores nucleares de la T_3, aunque esto aun no ha sido claramente dilucidado. Sin embargo, no debe dejar de señalarse el papel de los corticosteroides sobre el desarrollo del tracto como pudo ser observado a través de la mayor altura celular y la actividad proteolítica encontrada en las larvas de catán sometidas a HC (Figuras 5.18 y 5.19).

La altura preanal es una variable que puede ser utilizada para evaluar la condición nutricional o robustez de las larvas de catán (Capitulo 2), por lo cual podemos considerar que la mayor altura preanal encontrada en las larvas con TU en el primer bioensayo (Figura 5.17) es un indicio de que, a pesar de que en estas larvas fue inhibida la metamorfosis, el crecimiento no se vio afectado. Mientras que en el caso de los hormonas tiroidianas la menor altura preanal indican que los elevados niveles de estas hormonas, particularmente la T_3, afectan el crecimiento. Con lo anterior, se pone de manifiesto la importancia puntual de estas hormonas sobre la metamorfosis de las larvas, sin embargo deja lugar para suponer que se reduce la importancia de estas hormonas sobre el metabolismo para permitir la actuación de las hormonas implicadas directamente sobre el incremento del volumen corporal (*e.g.* hormona de crecimiento) lo que da inicio a la fase exponencial del crecimiento del catán.

Diferentes autores han argumentado que los procesos metamórficos y metabólicos se llevan a cabo sólo gracias a la influencia de las hormonas tiroidianas de origen materno, las cuales adquieren las larvas a través del vitelo (Tagawa y Hiro, 1987; Kobuke *et al.*, 1987; Sulivan *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1987; Tagawa *et al.*, 1990). Sin embargo, los resultados observados en esta serie experimental apuntan hacia el establecimiento precoz del eje tiroidiano en las larvas de catán, el cual seria funcional en el momento de iniciar la alimentación exógena (5 DDE). Esto explicaría los sorprendentes resultados encontrados al someter a las larvas al efecto de la TU, la

cual produjo una mejor condición de las larvas, mayor actividad enzimática y sobrevivencia, a causa de una retroalimentación negativa.

Los cambios en los niveles de T_3 encontrados durante el desarrollo larvario concuerdan con los cambios morfológicos, así como con el incremento en el nivel de HC en la fase final de la metamorfosis de las larvas de catán descrito en el Capítulo 2. En este sentido podemos considerar que una de las etapas mas críticas en el desarrollo larvario del catán coincide con el clímax metamórfico hacia la forma adulta, el cual se produce alrededor del décimo día después de la eclosión. Este periodo está enmarcado por el agotamiento de las reservas de vitelo en el octavo DDE y el inicio del crecimiento exponencial después del onceavo DDE. Por lo cual el acondicionamiento a la alimentación exógena del 5 a 8 DDE, debe estar bien establecido en este momento para que la larva pueda contar con reservas energéticas suficientes para llevar a cabo la metamorfosis sin menoscabo de la condición nutricional.

Estos resultados abren dos nuevas vertientes en una siguiente etapa de investigación: a) la posibilidad de propiciar el consumo de dietas complejas (*e.g.* dietas artificiales) desde las primeras etapas larvales al utilizar hormonas tiroidianas y b) la posibilidad de controlar el canibalismo al exponer las larvas a agentes anti-tiroidianos, ya que de esta manera se podrían obtener larvas más grandes pero con el hocico menos desarrollado, lo que impediría el consumo de organismos de su misma talla, pero no así de presas vivas más pequeñas.

CAPITULO 6: ACONDICIONAMIENTO DE LARVAS DE CATAN AL CONSUMO DE DIETAS ARTIFICIALES

6.1 ANTECEDENTES

El entendimiento de la fisiología digestiva en las larvas es el cimiento para el desarrollo de dietas mas eficientes y eje fundamental para el establecimiento de nuevos esquemas de alimentación (Buddington, 1985). De aquí que los cambios que se presentan durante la ontogénesis digestiva sugieren también cambios en los requerimientos de nutrientes involucrados en la formación y desarrollo de diferentes órganos, sistemas y sus funciones (Dabrowski, 1986). En el caso particular de las larvas de peces estas se caracterizan por una organogénesis incompleta, lo que resulta en un funcionamiento digestivo diferente al de los juveniles y los adultos y como consecuencia se requieren dietas especiales para larvas (Verreth *et al.*, 1992). Estas particularidades han venido generando un enorme interés el cual se ha visto reflejado en las numerosas investigaciones enfocadas a desarrollar dietas artificiales para larvas de peces (Moyano *et al.*, 1996).

Son varias las ventajas que confiere la utilización de dietas preparadas. Primeramente permiten modificar de manera flexible la composición química (Bromley, 1978). Por otra parte, constituyen una alternativa primordial ante el uso prolongado del alimento natural ya que este resulta impráctico y costoso (Duray y Bagariano, 1984). Esto ha provocado, en algunas especies reproducidas en cautiverio que más del 90% de las larvas generadas sean liberadas inmediatamente después de la eclosión debido a la dificultad para suministrar alimento vivo en las cantidades requeridas para continuar el cultivo (Rosch y Appelbaum, 1985). Este problema se presenta en la mayoría de los cultivos de larvas de todas las especies pero se torna aún más agudo en el caso de aquellas especies que presentan una tasa de crecimiento muy acelerada, como en el caso del catán.

Para preparar una dieta adecuada se deben considerar las variaciones en cuanto a requerimientos nutricionales entre las especies, así como otras características de la dieta (tamaño, densidad, atracción y estabilidad en el agua de las partículas), por lo cual es necesario realizar diferentes experimentos para determinar las características de la dieta y de ser posible se debe determinar la digestibilidad de los ingredientes preferentemente utilizando las enzimas endógenas (Glass *et al.*, 1989).

Se ha demostrado que es posible mantener larvas de peces marinos y de agua dulce empleando dietas artificiales (Duray y Bagariano, 1984). En general han sido utilizadas principalmente tres estrategias diferentes para acondicionar larvas al consumo de dietas compuestas con la finalidad de eliminar o reducir la utilización de alimento vivo. Estas son el acondicionamiento denominado directo el cual consiste en suministrar dietas compuestas desde el inicio de la alimentación, el acondicionamiento indirecto en el que se proporcionan dietas artificiales después de un periodo con alimento vivo y el acondicionamiento progresivo en el cual se incorporan cantidades graduadas de alimento vivo y artificial (Person-Le Rauyet, 1989).

El acondicionamiento directo generalmente se realiza en el caso de larvas de gran talla y ha sido utilizado en carpas (Dabrowski *et al.*, 1978), en larvas de salmonidos y esturiones (Dabrowski *et al.*, 1985) y en larvas de soleidos (*Solea solea*), aunque el crecimiento ha resultado menor que con alimento vivo (Appelbaum, 1985). En larvas de coreogonidos (*Coreogonus clupeaformis*) el acondicionamiento directo produjo problemas de scoliosis, lordosis y comportamiento de nado errático (Zitzow y Millard, 1988). En larvas de sparidos (*Sparus aurata*), este método provocó una reducción del crecimiento e igualmente respecto a la sobrevivencia (Tandler y Kolkovski, 1991). Los problemas encontrados al utilizar esta estrategia de acondicionamiento han sido atribuidos a una baja calidad de huevos y larvas (Dabrowski *et al.*, 1985), a deficiencias nutricionales de la dieta (Zitzow y Millard, 1988), una baja afinidad de las enzimas proteolíticas hacia los sustratos artificiales ofrecidos en las dietas formuladas (Dabrowski y Culver, 1991; Tandler y Kolkovski, 1991;

Kolkovski *et al.*, 1993) y a una baja tasa de ingestión de las partículas (Kolkovski *et al.*, 1993)

El acondicionamiento indirecto después de un periodo de alimento natural ha sido utilizado en larvas de turbot (*Scophthalmus maximus*), encontrándose que el uso de alimento vivo en cantidades limitadas es importante durante el acondicionamiento de larvas pequeñas, pero no resulta igualmente importante en larvas grandes (Bromley, 1978). En *Chanos chanos* se intentó acondicionar a las larvas con un cambio abrupto de alimento natural a alimento artificial, con resultados mediocres obteniendose mejores resultados cuando el acondicionamiento fue gradual (Duray y Bagariano, 1984). Por otra parte, se ha observado en *Solea solea* que un periodo prolongado con alimento vivo pospone y dificulta el acondicionamiento, mientras que un periodo corto disminuye el crecimiento (Appelbaum, 1985).

En contraste con lo anterior, se ha observado que el acondicionamiento de larvas pequeñas es difícil si se realiza directamente con dietas artificiales, sin embargo, se pueden obtener buenos resultados si se combina con alimento vivo (Person-Le Ruyet, 1989). Con esta estrategia se ha logrado definir una secuencia gradual de alimento vivo y artificial en *Lates calcarifer*, permitiendo reducir o eliminar el canibalismo que se presenta en el momento en que las presas vivas son reemplazadas por alimento artificial (Fuchs y Nedelec, 1989). Igualmente una estrategia de acondicionamiento gradual ha sido utilizada para larvas de *Dicentrarchus labrax* (Devresse *et al.*, 1991).

6.2 MATERIAL Y METODOS

6.2.1 ORGANISMOS EXPERIMENTALES

Se obtuvieron larvas de catán recién eclosionadas en el Centro Acuícola Tancol el 1 de Junio de 1999. Las larvas fueron transportados en bolsas de plástico con oxígeno a las instalaciones del Grupo Ecofisiología en la Fac. de Ciencias Biológicas U.A.N.L., en donde fueron colocadas en canaletas de fibra de vidrio para ser aclimatadas en el laboratorio antes de que iniciaran la alimentación exógena.

6.2.2CONDICIONES EXPERIMENTALES

Las larvas fueron distribuidas en 3 canaletas de fibra de vidrio de 230 cm de largo, 70 cm de ancho y 30 cm de altura, con un volumen de agua de 480 L. Se utilizaron larvas de 3 días después de la eclosión (DDE) con una densidad inicial de 500 larvas por canaleta, aproximadamente una larva/litro. La temperatura del agua fue de 27 °C y se suministró oxígeno constante mediante un compresor. A partir del quinto DDE se suministró el alimento correspondiente a cada tratamiento.

6.2.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizaron tres tratamientos con diferente tipo de alimentación Para este propósito se utilizó una canaleta en cada tratamiento. Las dietas utilizadas fueron nauplios de *Artemia salina* (AS), de la variedad *San Fransico Bay*, recién eclocionados y alimento artificial Trucha Iniciador Aqualine^{MR} (TI), de Purina S.A. de C.V. (Tabla 6.1).

ANALISIS BROMATOLOGICO	
HUMEDAD	12 % MAXIMO
PROTEINA	50% MINIMO
GRASA	15 % MINIMO
FIBRA CRUDA	4% MAXIMO
CENIZAS	12% MAXIMO
CALCIO	2% MINIMO
FOSFORO	1.2% MINIMO
EXTRACTO LIBRE DE NITROGENO	7% POR DIFERENCIA
INGREDIENTES	
Proteinas animales de origen marino, harinas de origen animal, combinación de pastas de oleaginosas, cereales molidos, subproductos alimenticios agricolas e industriales, subproductos vegetales, subproductos de cereales, aceite de pescado, aceite vegetal de primera, fosfolípidos, atractantes naturales, mezcla de vitaminas, mezcla de minerales, antioxidante, fungicida, lisina-HCl y metionina.	

Tabla 6.1.- Análisis bromatologico e ingredientes utilizados en la elaboración del alimento artificial Trucha Iniciador Aqualine[MR], proporcionados por PURINA S.A de C.V.

Se suministró un total de 2 g de alimento diariamente, dividido en dos raciones para que las larvas se alimentaran *ad libitum*. La alimentación inició en el cuarto día después de la eclosión (DDE) y el experimento finalizó al 15 DDE. El régimen alimenticio proporcionado a cada tratamiento se presenta en la Tabla 6.2.

Tratamieno	Alimento	Edad (DDE[3])	Cantidad (g/día)
Control	AS[1]	4 a 15	2
Combinado	AS	4 a 7	2
	AS	8 a 10	1
	TI[2]	8 a 10	1
	TI	11 a 15	2
Artificial	TI	4 a 15	2

Tabla 6.2.- Régimen alimenticio para los tratamientos realizados [1] Artemia salina; [2] Trucha iniciador; [3] días después de la eclosión.

6.2.4 EVALUACION DEL BIOENSAYO

Características morfológicas: Al finalizar los bioensayos se estimó el numero de larvas por tratamiento para determinar el porcentaje de sobrevivencia. Las larvas fueron pesadas individualmente en una balanza OHAUS con un grado de precisión de 0.1 mg y fijadas en líquido de Bouin. Se determinó la longitud total utilizando un vernier con un grado de exactitud de 0.1 mm. Adicionalmente, se determinó la longitud del hocico como un indicador del grado de transformación de la larva y la altura corporal al nivel del ano (altura preanal) como indicador de la condición nutricional de las larvas. Estas dos características morfométricas fueron reportadas en porcentaje de la longitud total de acuerdo a lo descrito en el Capitulo 2.

Determinación de enzimas digestivas: La actividad proteolítica total ácida y alcalina fue determinada en extractos de intestino de las larvas de cada tratamiento. La metodología utilizada para estas determinaciones fue realizada de la forma en que se describe el Capitulo 4.

Análisis estadístico: Las variables consideradas y los resultados obtenidos fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza (ANOVA) con el fin de determinar las diferencias que pudieran existir entre los tratamientos. Para aquellas variables que presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, se realizó la prueba de rangos múltiple de Duncan con el fin de separar grupos homogéneos entre la medias con un nivel de significancia del 0.05% (Steel y Torrie, 1980).

6.3 RESULTADOS

6.3.1 CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS

Sobrevivencia: La sobrevivencia fue marcadamente superior en el tratamiento al que se le suministró *Artemia* como alimento. Mientras que al utilizar únicamente alimento artificial la sobrevivencia fue solo del 2 %. Con la combinación de estos alimentos se obtuvo una sobrevivencia del 20% (Figura 6.1).

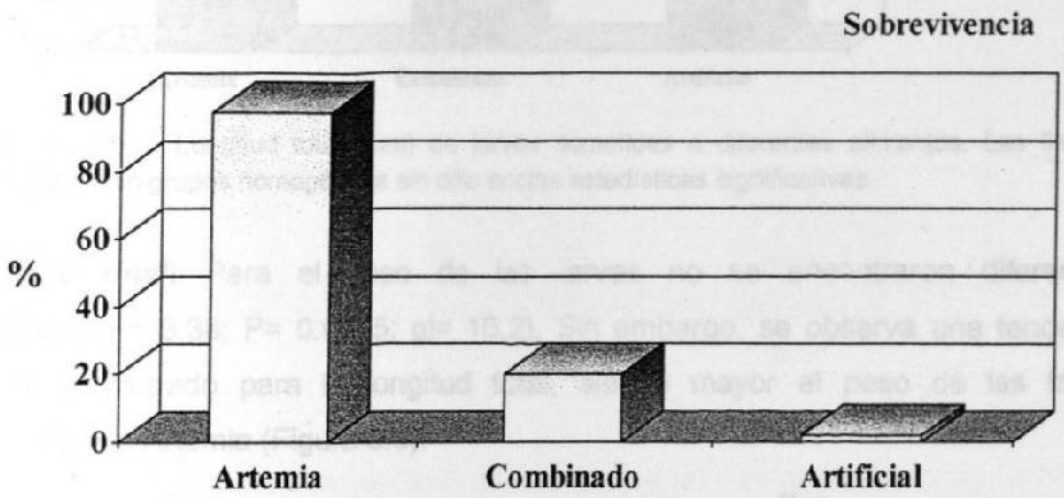

Figura 6.1.- Sobrevivencia en porcentaje de larvas sometidas a diferentes alimentos.

Longitud total: Se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto a la longitud total de las larvas (F= 6.71; P= 0.0142; gl= 10,2). Resultando superior la longitud de las larvas alimentadas con Artemia en comparación con los tratamientos de alimento artificial y combinado (Figura 6.2).

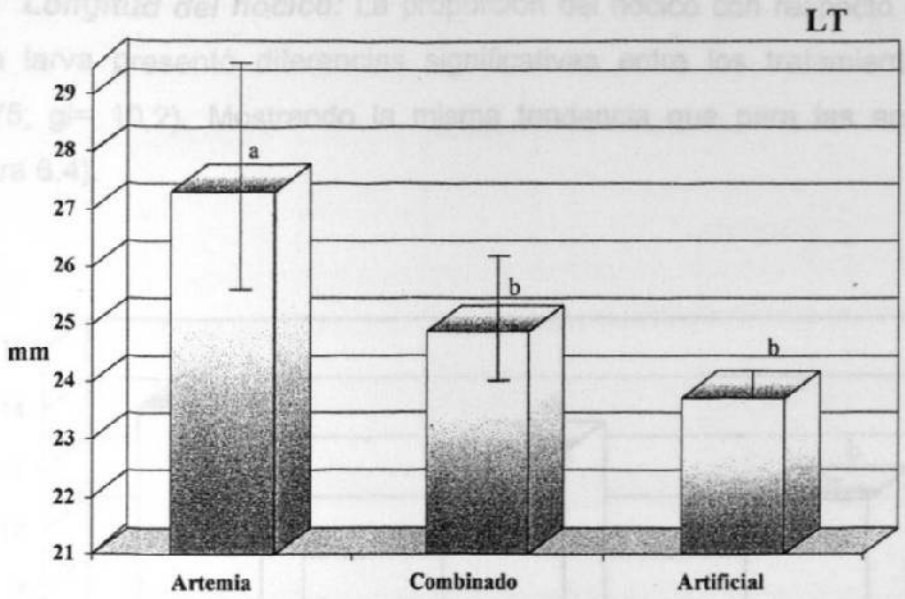

Figura 6.2.- Longitud total (mm) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Peso final: Para el peso de las larvas no se encontraron diferencias significativas (F= 3.38; P= 0.0755; gl= 10,2). Sin embargo, se observa una tendencia similar al encontrado para la longitud total, siendo mayor el peso de las larvas alimentadas con Artemia (Figura 6.3).

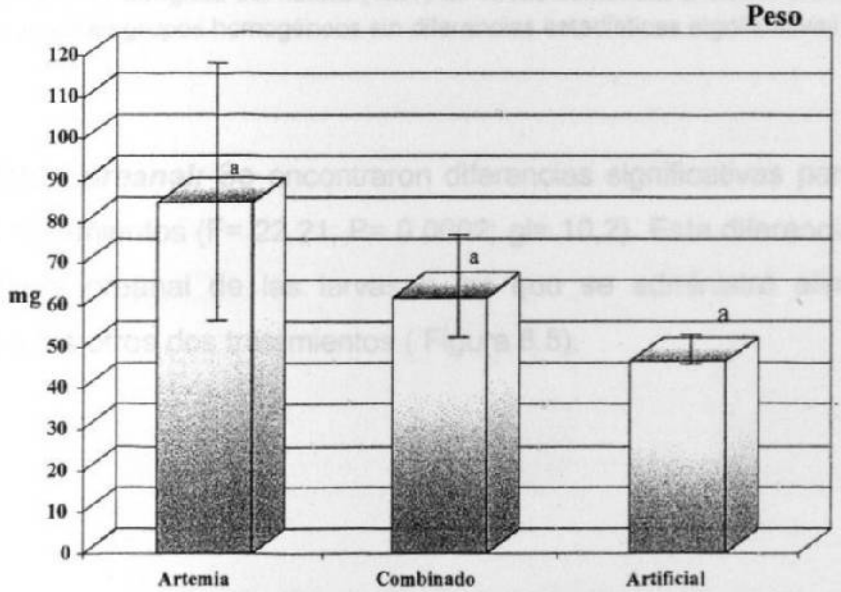

Figura 6.3.- Peso final (mm) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Longitud del hocico: La proporción del hocico con respecto a la longitud total de la larva presentó diferencias significativas entre los tratamientos (F= 6.22; P= 0.0175; gl= 10,2). Mostrando la misma tendencia que para las anteriores variables (Figura 6.4).

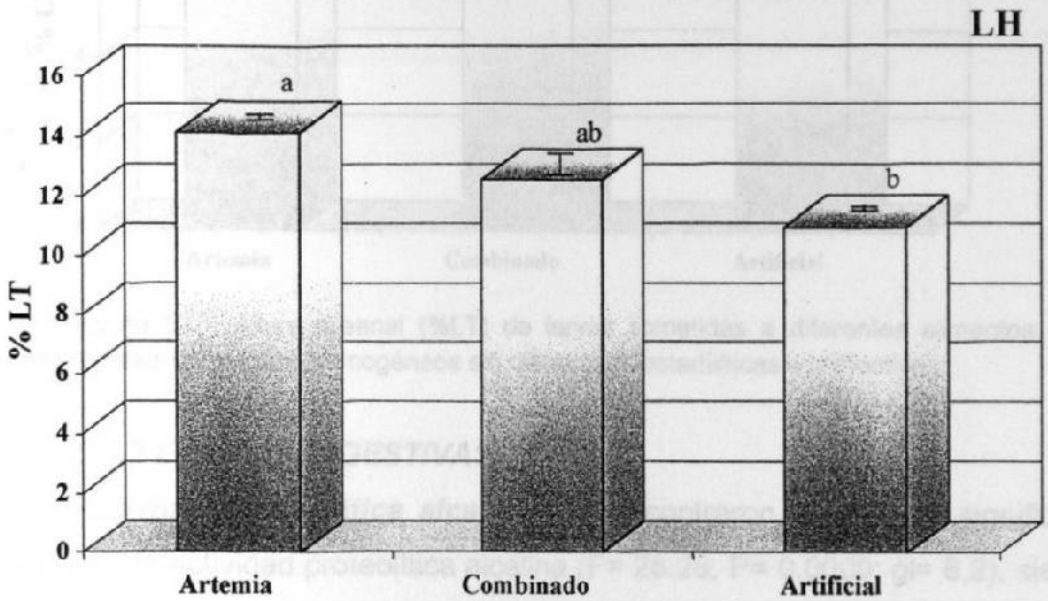

Figura 6.4.- Longitud del hocico (%LT) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Altura preanal: Se encontraron diferencias significativas para la altura preanal entre los tratamientos (F= 22.21; P= 0.0002; gl= 10,2). Esta diferencia fue dada por una menor altura preanal de las larvas a las que se administró alimento artificial con respecto a los otros dos tratamientos (Figura 6.5).

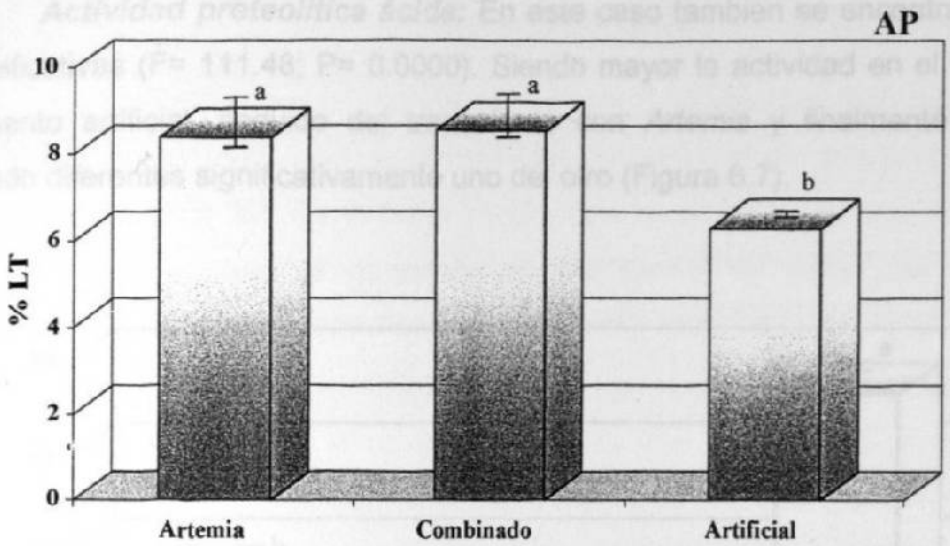

Figura 6.5.- Altura preanal (%LT) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

6.3.2 ENZIMAS DIGESTIVAS

Actividad proteolítica alcalina: Se encontraron diferencias significativas con respecto a la actividad proteolítica alcalina (F= 28.28; P= 0.0009; gl= 6,2), siendo mayor la actividad para el tratamiento con alimento artificial (Figura 6.6).

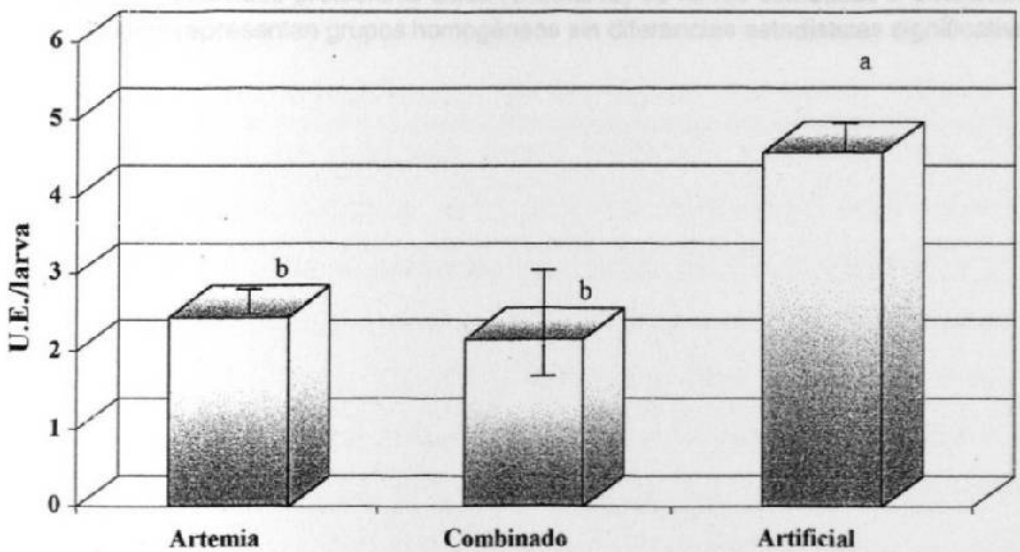

Figura 6.6.- Actividad proteolitica alcalina (U.E./larva) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

Actividad proteolítica ácida: En este caso también se encontraron diferencias significativas (F= 111.48; P= 0.0000). Siendo mayor la actividad en el tratamiento con alimento artificial, seguido del tratamiento con *Artemia* y finalmente el combinado, siendo diferentes significativamente uno del otro (Figura 6.7).

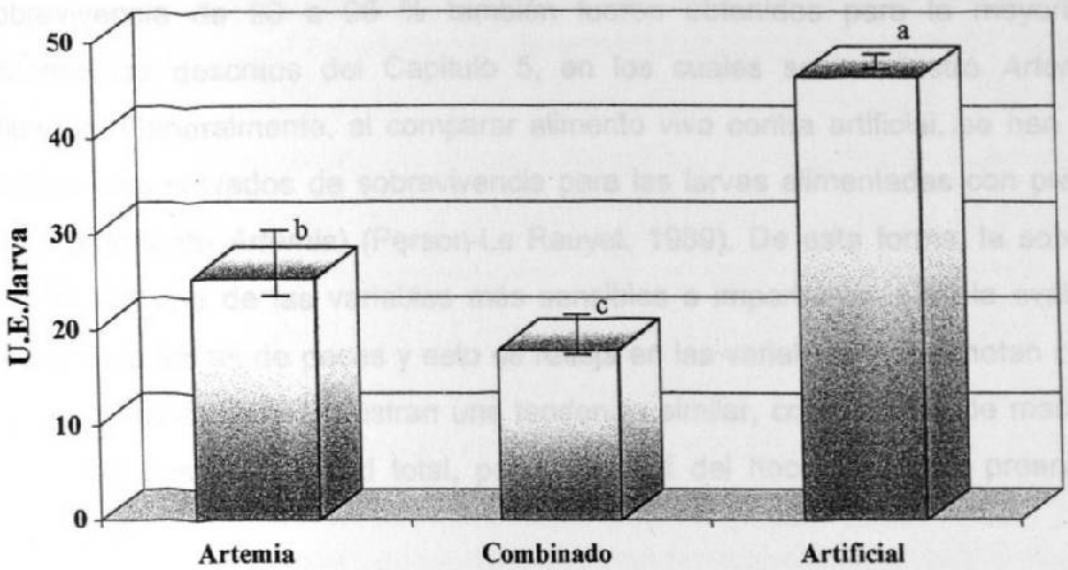

Figura 6.7.- Actividad proteolítica ácida (U.E./larva) de larvas sometidas a diferentes alimentos. Las literales iguales representan grupos homogéneos sin diferencias estadísticas significativas.

6.4 DISCUSION

La mortalidad fue la variable que presentó diferencias más marcadas entre los tratamientos, siendo las larvas alimentadas con *Artemia* las que presentaron la mayor sobrevivencia (98 %). Lo anterior reveló que el alimento es uno de los principales factores que afectan el desarrollo de las larvas de catán, ya que niveles de sobrevivencia de 90 a 96 % también fueron obtenidos para la mayoría de los tratamientos descritos del Capítulo 5, en los cuales se suministró *Artemia* como alimento. Generalmente, al comparar alimento vivo contra artificial, se han reportado niveles mas elevados de sobrevivencia para las larvas alimentadas con presas vivas (particularmente *Artemia*) (Person-Le Rauyet, 1989). De esta forma, la sobrevivencia resulta ser una de las variables más sensibles e importantes para la evaluación de dietas para larvas de peces y esto se refleja en las variables que denotan crecimiento ya que generalmente muestran una tendencia similar, como quedó de manifiesto con los resultados de longitud total, peso, longitud del hocico y altura preanal en este bioensayo.

Tomando en cuenta lo anterior, podríamos considerar que la dieta artificial y los métodos de acondicionamiento utilizados (directo e indirecto), no fueron los más apropiados para el mantenimiento de las larvas de catán. Esta inconsistencia metodológica puede ser analizada desde diferentes vertientes para explicar estos resultados. En primera instancia, se ha postulado que el bajo aprovechamiento de las dietas artificiales se debe al desarrollo incompleto del tracto digestivo y por lo tanto a su funcionamiento parcial en relación con la producción de enzimas digestivas (Dabrowski y Culver, 1991; Tandler y Kolkovski, 1991; Kolkovski *et al.*, 1993). Sin embargo, este no parece ser el caso en el presente experimento ya que los resultados observados en los Capítulos 2, 3 y 4, muestran que las larvas de catán tienen un desarrollo acelerado incluso antes de iniciar la alimentación exógena, presentando un tracto digestivo morfológica y fisiológicamente más desarrollado que la mayoría de las larvas de otras especies de peces que han podido ser acondicionadas al consumo de

dietas artificiales. Por otra parte, podemos descartar una importante contribución de enzimas exógenas provenientes de la *Artemia*, ya que las larvas de catán presentan una digestión acida desde el inicio de la alimentación lo cual produce la desnaturalización de las enzimas exógenas en el estómago, ya funcional (Walford y Lam, 1993). Lo anterior también limita la posibilidad de que la mayor digestión del alimento vivo ocurra por auto-hidrólisis, así como la posible activación de los zimógenos en la larva por efecto de las enzimas exógenas (Dabrowski, 1979; Lauff y Hofer, 1984; Dabrowski, 1986; Munilla y Stark, 1989; Dabrowski *et al.*, 1992). Al mismo tiempo, los mayores niveles de actividad enzimática encontrados en el tratamiento con alimento artificial, revelan que la producción endógena de enzimas es suficiente para digerir el alimento. Una respuesta similar en la actividad enzimática han sido reportada por Zambonino y Cahu (1994) al alimentar larvas de *Dicentrarchus labrax* con dietas compuestas y la mayor actividad puede ser atribuida a una menor digestibilidad del alimento artificial en comparación con el alimento vivo (Mendoza, 1993). Considerando todo lo anterior, podríamos descartar a la capacidad digestiva de las larvas como una de las principales razones de mortalidad y bajo crecimiento para los tratamientos a los cuales se les suministró dietas artificiales, lo anterior también ha sido sugerido por Cahu y Zambonino (1997).

Otros resultados similares han sido atribuidos a una baja calidad de los huevos y larvas utilizados en los bioensayos (Dabrowski *et al.*, 1985). No obstante, al considerar que las larvas utilizadas provenían de un lote de 25 reproductores con varios años de producción de crías en cautiverio y 6 reproductores silvestres incorporados en esta ocasión, en conjunto con un proceso aleatorio de selección de las larvas y su distribución en los tratamientos, sería difícil atribuir una influencia de esta variable hacia alguno de los tratamientos en particular.

Los resultados podrían ser producto de posibles deficiencias nutricionales de la dieta (Zitzow y Millard, 1988), aun que si bien, se desconocen los requerimientos nutricionales de las larvas de catán, la dieta utilizada presenta una composición

promedio en términos generales para la mayoría de las larvas de peces para las cuales tampoco han sido definidos sus requerimientos con exactitud (Person-Le Ruyet, 1989). Por esta razón sería difícil que esta dieta presentara un desbalance nutricional capaz de producir los resultados encontrados, sobre todo en cuanto a sobrevivencia.

Dentro de este abanico de posibilidades, una baja tasa de ingestión de las dietas artificiales podría ser considerada como la causa más probable (Kolkovski *et al.*, 1993). En efecto, este problema ha sido a menudo observado principalmente en aquellas especies con fuertes hábitos carnívoros (Lovshin y Rushing, 1989). Por lo cual, al tomar en cuenta los hábitos alimenticios de los lepisosteidos (Suttkus, 1963), esto podría ser una primera explicación a los resultados obtenidos con la dieta artificial. En este mismo sentido, la marcada preferencia por organismos pelágicos (e.g. *Gambusia)* encontrados en el contenido estomacal de larvas y juveniles de lepisosteidos sugiere que su alimentación se realiza principalmente en la superficie (Echelle y Riggs, 1972; Pearson *et al.*, 1979), lo que sugiere que la baja flotabilidad que presentó la dieta utilizada muy probablemente contribuyó a su poca disponibilidad en la columna de agua durante el tiempo apropiado para ser consumida (Backhurst y Harker, 1988). Una solución a este problema ha sido la utilización de tanques cónicos y cilindro-conicos con air-lifts incorporados al fondo, lo cual genera corrientes de agua que mantienen las partículas de alimento por más tiempo en suspensión (Bromley, 1978). Sin embargo, no se utilizó este sistema de cultivo ya que las larvas de catán tienden a permanecer en la superficie del agua y no son nadadoras activas, por lo cual, en el caso de incorporar los air-lifts en los tanques de cultivo, las larvas de catán tenderían a aglomerarse en la superficie de las regiones con menor turbulencia. Este comportamiento esta relacionado con el hábitat en donde se realiza la reproducción de los lepisosteidos ya que generalmente los huevos son depositados en zonas que son inundadas durante la temporada de lluvias (Perez-Sanchez, 1995).

Sin embargo, las preferencias alimenticias parecen depender de varios factores, entre los que se cuentan la disponibilidad del alimento, por lo cual se considera que los

lepisosteidos presentan hábitos oportunistas (Echelle y Riggs, 1972; Holloway, 1954; Resendez y Salvadores, 1983; Chavez-Lomeli *et al.*, 1989). Estos hábitos aparecen desde la etapa larval como lo demuestran las observaciones de Pearson *et al* (1979). Este hecho hace suponer que el comportamiento predatorio puede ser superado incrementando la disponibilidad de las partículas alimenticias en la columna de agua. Lo anterior puede ser resuelto mediante la utilización de dietas extruidas, de la forma como lo mostraron Garcia *et al.* (1997), quienes al evaluar un acondicionamiento progresivo en larvas de *Atractosteus tropicus* encontraron mejor resultado al utilizar una dieta extruida en comparación con dietas peletizados, hígado de res o pescado fresco.

El comportamiento predatorio de los lepisosteidos, que consiste en permanecer en la superficie y de preferencia inmóvil hasta que su presa se encuentra a su alcance y con un movimiento lateral de la cabeza atraparla súbitamente (Suttkus, 1963; Netch, 1964), apoya la ventaja de utilizar dietas extruidas. Por otra parte, la aceptación de las dietas puede ser incrementado utilizando atractantes alimenticios los cuales favorecen la detección, identificación y consumo de las partículas. La detección visual y atracción de la partícula puede ser incrementada mediante la adición de color o características de movimiento como en las dietas para alimentación de rana (D. Montaño, *comunicación personal*). La percepción se favorece adicionando activadores alimenticios, dentro de los cuales han sido utilizados los L-aminoacidos, glicina, betaina e inosina con mayor eficiencia. Mientras que la fase final en la ingestión puede ser limitada por las características físicas de la dieta como el tamaño y textura (Pearson-Le Ruyet, 1989).

Es claro que el presente bioensayo es un primer intento de acondicionar las larvas de catán al consumo de dietas artificiales, por lo cual es necesario realizar un mayor número de pruebas para lograr definir progresivamente una forma más adecuada de sustituir el alimento natural por dietas artificiales. Esto garantizará, una vez que haya sido asegurado el consumo de las partículas, la evaluación de las

enzimas digestivas en su aprovechamiento (*e.g.* digestibilidad de las dietas) así como el inició de pruebas encaminadas a definir los requerimientos nutricionales de la especie.

CAPITULO 7: CONCLUSIONES

La investigación multidiciplinaria realizada en el presente trabajo permitió resaltar las particularidades que presenta el desarrollo larvario del catán, así como visualizar posibles alternativas para llevar a cabo el cultivo de esta especie. En resumen, el estudio morfológico permitió distinguir las fases de desarrollo y de nutrición en las larvas, así como seleccionar indicadores externos de la inanición. Con el seguimiento histológico del tracto digestivo se determinó que este se encuentra completamente formado al iniciar la alimentación exógena (5 DDE), observar el proceso de maduración, confirmar las fases de nutrición y establecer un indice de nutrición a base de la altura celular de los enterocitos. El estudió de las enzimas digestivas comprobó que las estructuras del tracto son funcionales a los 5 DDE y que las larvas de catán tienen la capacidad digestiva para utilizar dietas artificiales. Por otra parte fue posible establecer que las larvas desarrollan precozmente el eje tiroidiano el cual regula su desarrollo y que la metamorfosis puede ser alterada con fines prácticos mediante la administración exógena de hormonas. Finalmente, un primer ensayo con dietas artificiales arrojo información sobre las características que estas deben tener para ser utilizadas en la alimentación de larvas de catán.

Inicialmente, se puede señalar que los huevos de catán presentan un alto contenido de vitelo, lo que permite que la mayor parte del desarrollo larvario se realice con estas reservas. De hecho, las larvas presentan un periodo pre-larval bien marcado (1 a 4 DDE) en el cual el desarrollo de diferentes características morfológicas externas (aletas y forma del cuerpo) las preparan para la captura de zooplancon y otras larvas de peces como primer alimento exógeno. Esta serie de transformaciones implica igualmente una morfogénesis del tracto digestivo muy acelerada, de tal forma que al momento de iniciar la alimentación exógena (5 DDE), las larvas de catán ya presentan el tracto digestivo con todas sus estructuras desarrolladas, incluyendo un estómago completamente funcional, con secreción de pepsina y producción de HCL. Esto viene a ser complementado con secreciones pancreáticas de enzimas y carbonatos así como

por enzimas intestinales (aminopeptidasas, fosfatasas alcalinas) que actúan a nivel de la bordura de cepillo, la cual es incrementada por la presencia de una válvula espiral en la parte posterior del intestino. Lo cual refleja una capacidad digestiva muy similar a la de los organismos adultos. De esta forma, las larvas de catán presentan un funcionamiento digestivo con un mayor grado de desarrollo que la mayoría de las larvas de peces al momento de iniciar la alimentación exógena y por lo tanto presentan mayores posibilidades de utilizar dietas artificiales.

Un periodo de nutrición lecitoexotrofica (5 a 8 DDE) permite que las larvas tengan una fase de adaptación al alimento exógeno en el cual no se perciben señales aparentes de inanición. Sin embargo, una vez que la larva depende por completo del alimento exógeno, la cantidad y calidad del alimento utilizado es determinante para su desarrollo y sobrevivencia, de esta manera el aprovechamiento del alimento y por ende la condición de las larvas puede ser evaluado por diversos indicadores los cuales van desde patrones de coloración, características morfométricas (*e.g.* longitud del hocico y altura preanal), caracteristicas histológicas (*e.g.* altura de los enterocitos) o actividad de las enzimas digestivas.

Uno de los aspectos más remarcables es la velocidad de crecimiento encontrada para las larvas de catán la cual fue de 1.55 mm/día hasta los 10 DDE, incrementandose posteriormente a 5.06 mm/día, lo cual les permite alcanzar tallas de 70 cm durante el primer año, colocado al catán entre los peces de agua dulce con mayor velocidad de crecimiento en el mundo. Lo anterior, sin duda se encuentra relacionado con la capacidad digestiva de la especie.

Por otra parte, destaca la influencia del eje tiroidiano en la regulación del desarrollo larvario y la metamorfosis en el catán ya que este sistema al encontrarse bien establecido en las larvas, estimula la producción endógena de corticosteroides los cuales a su vez estimulan la maduración del aparato digestivo. De esta forma, se pudo observar que el periodo metamórfico se produce entre los 10 y 15 DDE, momento en

que las larvas completan su transformación. Este proceso podría ser regulado por medio de la administración exógena de hormonas, lo cual resulta de gran utilidad práctica, ya que dependiendo de los objetivos, esta puede ser acelerada para obtener crías con características de juveniles lo que las hace más aptas si la finalidad es la repoblación o bien, la transformación se puede retrasar con lo que el desarrollo del hocico es más lento permitiendo así mantener organismos en cultivo disminuyendo los problemas de canibalismo.

Así mismo, fue posible determinar que el aparato digestivo de las larvas tiene la capacidad para asimilar las dietas artificiales. De esta forma, el problema inmediato para desarrollar el cultivo larvario del catán se centra en promover la ingestión de las partículas de las dietas compuestas, lo cual puede ser resuelto considerando el comportamiento alimenticio de la especie, así como las diversas técnicas que existen para la producción alimentos artificiales. De aquí se deriva la necesidad de probar alimentos con diferentes características físicas en combinación con atractantes visuales y químicos que estimulen la ingestión de las partículas.

Una vez que haya sido superado este obstáculo, sería conveniente iniciar una fase de investigación encaminada a la determinación de los requerimientos nutricionales, así como la valoración de diferentes ingredientes susceptibles de ser utilizados en la elaboración de dietas para catán.

Actualmente uno de los problemas fundamentales en la producción de crías de catán se refiere al escaso número de reproductores que existen en cautiverio, así como a las restricciones sobre el control de su reproducción, con lo que se limita la zootecnia bajo condiciones ambientales naturales, lo que ha venido provocando que los desoves sólo se produzcan durante una semana en el año. Ante esta situación el Grupo Ecofisiología (FCB/UANL) ha venido abordando este problema mediante la investigación de una alternativa práctica basada en el aislamiento y purificación de la Vitelogenina plasmática y de la Lipovitelina ovárica, así como en la implementación de

un inmunoensayo para cuantificar los niveles de estas moléculas. Esta aproximación significa no sólo contar con un índice bioquímico confiable, rápido y poco invasivo (no hay necesidad de recurrir al sacrificio de los ejemplares) para estimar el grado de madurez sexual indispensable para la evaluación de las inducciones hormonales, sino también con un método de sexado preciso que resultaría particularmente útil para la preparación de un lote de reproductores.

7.1 PROPUESTAS PARA EL CULTIVO DEL CATAN

Manejo de reproductores: Tomando en cuenta que son muy escasos los ejemplares adultos de catán existentes, resulta imperativo constituir un lote de reproductores a partir de la captura eventual de juveniles silvestres. El manejo y zootecnia de este lote girará en torno a la manipulación de distintos parámetros fisicoquímicos y biológicos con miras a incrementar su capacidad reproductiva y al mismo tiempo permitiría disponer de organismos en cantidad suficiente para realizar diversos ensayos de inducción hormonal.

Considerando que la maduración gonadal esta regida por el sistema endócrino, la manipulación hormonal representa la vía más directa para el desarrollo de una reserva de crías. De esta forma, un protocólo de inducción hormonal adecuado, permitiría extender la temporada de reproducción del catán con el consecuente aumento en el número de crías. En la búsqueda de una estrategia simple rápida y eficaz para inducir y controlar la reproducción de los catanes en cautiverio, se ha considerado la inducción a la maduración sexual por medio de la aplicación de: extractos de pituitaria de catán y pejelagarto, extracto comercial de pituitaria de esturión considerando la escasa distancia filogenética de estas especies, Gonadotropina Coriónica Humana, en base a las posibilidades de éxito obtenidas en diferentes lepisosteidos, Factor Liberador de Gonadotropinas (GnRH) nativo y

Análogos Superactivos (LH-RH). La evaluación de los diferentes estímulos hormonales se llevará a cabo mediante el inmunoensayo establecido.

Fertilizacion artificial: La posibilidad de llevar a cabo la fertilización artificial no es de ninguna manera remota, ya que desde 1895 Dean describió la utilización del método seco para llevar a cabo la fertilización artificial de huevos de lepisosteidos y reporta haber realizado diversos ensayos de fertilización artificial, todos con éxito. De manera similar, Leon *et al.* (1978) realizaron la fertilización artificial del manjuarí (*A. tristoechus*) mediante el método seco.

Incubación de los huevos: Se ha reportado que los huevos de lepisosteidos aún secos y fuera del agua pueden ser eclosionados en laboratorio (Breder, y Rosen 1966). Por otra parte, Leon *et al.* (1978) realizaron la incubación de huevos de manjuarí en una canaleta de incubación para huevos de carpa.

Otra alternativa para la incubación de los huevos de catán, una vez realizada la fertilización artificial eliminando la sustancia adhesiva (con hialuronidasa), serían las charolas del tipo utilizado para la incubación de huevos de salmónidos. Estos dispositivos tienen la ventaja de formar estructuras verticales en las cuales están colocadas las charolas que presentan un flujo de agua ascendente y permite la distribución homogénea de los huevos, los cuales pueden ser revisados fácilmente para eliminar aquellos que no presenten un desarrollo normal. Al mismo tiempo en estos dispositivos se podría realizar el mantenimiento de las pre-larvas, regulando el flujo de agua para evitar fuertes turbulencias. Por otra parte, se puede adicionar una malla en la superficie para que las larvas se adhieran mediante el disco suctorial.

Inicio de la alimentación: Una vez que las larvas naden libremente (5 DDE), estas podrán ser transferidas a canaletas anchas que permitan su adecuada distribución en la superficie. Esas canaletas deben tener una entrada de agua

constituida por una ligera cascada, mientras que la salida se puede realizar mediante un sifón en el fondo de la canaleta.

La alimentación inicial (5 al 8 DDE) puede consistir en nauplios de *Artemia* o una combinación de estos con alimento artificial, el cual deberá estar formado por partículas flotantes con 0.75 mm de diámetro en promedio, considerando el tamaño del hocico de las larvas en esta etapa. De los 8 a los 10 DDE preferentemente se debe realizar la sustitución completa de *Artemia* por alimento artificial con las mismas características que el anterior. Mientras que de 11 a 15 DDE las larvas deben estar bien acondicionadas a la dieta artificial que en este momento deberá tener un diámetro entre 1.0 y 1.5 mm.

Durante este periodo el crecimiento es muy acelerado, sobre todo después de 10 DDE, por lo cual constantemente se deberá reducir la densidad de larvas por área de superficie. Al mismo tiempo el suministro de alimento deberá ser constante y en raciones suficientes para aumentar el contacto entre la larva y el alimento, disminuyendo así las posibilidades de que se presente canibalismo. En efecto, en los diferentes experimentos se logró observar que cuando el alimento (*e.g.* nauplios de *Artemia*) se encuentra siempre presente en alta densidad, no se presentan problemas de canibalismo y la sobrevivencia puede ser mayor del 90 % hasta el 15 DDE. En esta edad los catanes pueden ser liberados o transferidos a estanques pequeños reduciendo nuevamente la densidad. A partir de este momento se debe realizar un seguimiento del crecimiento para adecuar el tamaño de las partículas suministradas, así como para evitar diferencias en las tallas, ya que entre 50 y 130 mm se presentan las mayores probabilidades de canibalismo, lo cual reduce drásticamente la población debido los organismos consumidos, así como por mortalidad de los catanes que no pueden tragar completamente la presa debido al tamaño. Una vez superada la talla de 130 mm, disminuye el canibalismo de manera natural y puede continuar el cultivo mediante el suministro de alimento artificial.

En el caso de no contar con una dieta artificial para sustituir los nauplios de *Artemia*, la opción más viable seria transferir las larvas de 10 DDE a estanques pequeños los cuales deben haber sido previamente sembrados con altas densidades de peces forrajerros viviparos, cuyas hembras liberan sus crias por efecto del manejo para constituirse en la primera opción de alimento de las larvas de catán. De esta forma al 15 DDE los catanes pueden alcanzar una talla de 50 mm, pudiendo también consumir los adultos de los peces forrajeros. A partir de este momento, se puede realizar la liberación de las crías de catán en los rios y embalses en donde se realiza su captura comercial o deportiva.

En el caso de contar con suficiente abasto de peces forrajeros, los catanes pueden alcanzar una talla de 130 mm a los 30 DDE. A partir de esta talla se ha observado que disminuyen las posibilidades de canibalismo entre ejemplares de la misma talla y las presas vivas pueden empezar a ser reemplazadas por alimentos frescos o preparados.

Considerando la elevada velocidad de crecimiento y la consecuente necesidad de un suministro continuo de alimento, así como la adecuación frecuente del tamaño de las partículas y la transferencia constante a diferentes unidades de cultivo. Se requiere de un intenso manejo principalmente del 5 al 30 DDE en el cultivo de crías de catán. De aquí que el éxito dependa de la forma en que se realizan las actividades durante este periodo.

Características de las dietas artificiales: Las dietas con mayor probabilidad de ser aceptadas por las larvas de catán necesariamente deben ser flotantes, siendo las dietas extruidas las más recomendables en este sentido. Por otra parte, estas deben atraer visualmente a las larvas, lo cual puede ser mediante la adición de color o movimiento. Igualmente resulta necesaria la adición de atractantes puesto que una vez que la larva se encuentra cerca del alimento, esta puede permanecer cierto tiempo junto al alimento e inclusive tener contacto con el hocico sin que lo ingiera. Asimismo

resulta necesario considerar la consistencia y forma de las partículas ya que las larvas atrapan el alimento con el hocico y lo ingieren completo. Dentro de este contexto son preferibles aquellas dietas de consistencia blanda y de forma ovalada o alargada, ya que se ha observado particularmente cuando la presa es otro pez que este es invariablemente orientado para ser ingerido por la cabeza.

De esta forma, si la partícula no presenta las características necesarias el proceso de alimentación puede ser interrumpido en cualquiera de los puntos señalados (acercamiento, captura e ingestión). Estas características son particularmente importantes en las dietas para los primeros estadios, mientras que en el juvenil es mas probable que acepten dietas con menor flotabilidad ya que tienden a dejar la superficie del agua y ocultarse entre la vegetación a media agua o en el fondo, pudiendo ingerir organismos muertos, por lo cual en este caso sería recomendable la utilización de dietas semi-humedas con atractantes químicos y considerar la inclusión de diferentes sub-productos agrícolas y animales.

Esta serie de trabajos encaminados a recuperar las poblaciones naturales del catán así como para evaluar sus posibilidades de cultivo se están llevando a cabo gracias al esfuerzo conjunto y participación de diversas instituciones (Dirección de Investigaciones Acuaculturales del Instituto Nacional de Pesca, Dirección General de Acuacultura, Centro Acuícola Tancol, Delegación de la SEMARNAP del estado de Tamaulipas, CRIP-Tampico, Asociación de Acuacultores de Tamaulipas, Universidad Juares Autónoma de Tabasco, Universidad de Texas en Austin y Universidad de Victoria en Canadá).

LITERATURA CITADA

Alarcon, F.J., 1997, Procesos Digestivos en Peces Marinos: Caracterización y Aplicaciones Prácticas. Tesis Doctoral, Universidad De Almeria, Departamento de Biología Aplicada, 293 pp.

Alliot, E., A. Pastoureaud & J. Trellu, 1977, Evolution des activities enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar (*Dicentrarchus labrax*) variations des proteinogrammes et des zymogrammes. Actes de Colloques du C.N.E.X.O., 4:85-91.

Ameghino, F. (1898) Sinopsis geológico-paleontológica. Segundo censo de la República Argentina. Cap. I. Territorio, Tercera Parte, vol. 1. Buenos Aires.

Anson, M.L., 1938, The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. J. Gen. Physiol., 22:79-89.

Appelbaum, S., 1985, Rearing of the dover sole, *Solea solea* (L), through its larval stages using artificial diets. Aquaculture, 49:209–221.

Ayson, F. G. and Lam, T. J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma eggs and yolk-sac larvae and its effects on larval growth and survival. Acuaculture. 190: 83-93.

Backhurst, J.R. and J.H. Harker, 1988, The settling rates of larval feeds. Aquaculture Engineering, 7:363-366.

Baragi, V. & R.T. Lovell, 1986. Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. Transactions of the American Fisheries Soc. 115:478-484.

Beccaria, C., J.P. Diaz, R. Connes & B. Chatain, 1991, Organogenesis of the exocrine pancreas in the sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reared extensively and intensively. *Aquaculture*, 99:339--354.

Bernfeld, P., 1955, Amylases (alpha) and (beta), in: Methods in enzymology I, Colowick, S., and Kaplan N., Eds. Academic Presss, NY, 149.

Boeuf, G., P. Prunet. 1985. Measurements of gill (Na^+-K^+) ATPase activity and plasma thyroid hormones during smoltification in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture. 45:11-119.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analitical Biochemistry. 72: 248-254.

Bromley, P.J., 1978, The weaning of hatchery reared turbot larvae (*Scophtalmus maximus* L.) on a dry diet, Aquaculture, 13:339-345.

Brown, C.L., C.V. Sullivan, H.A. Bern & W.W. Dickhoff, 1987, Occurrence of thyroid hormones in early developmental stages of teleost fish. American Fisheries Society Symposium, 2:144-150.

Brown, C. L., Doroshov, S. I., Nuñez, J. M., Harley, C., Vaheenennaam, J., Nishioka, R. S. and Bern, H. A. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause increases in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass *Morone saxatilis*. The Journal of Experimental Zoology. 248:168-176.

Bucke, D., 1971, The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike *Esox lucius* L., Journal of Fish Biology, 3:421-431.

Buddington, R.K. & S.I. Doroshov, 1986, Development of digestive secretions in white sturgeon juveniles (*Acipenser trasmontanus*). Comp. Biochem. Physiol., 83A(2):233-238.

Buddington, R.K., 1985, Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development. J. Fish Biol., 26:715-723.

Buddington, R.K. And P. Chrstofferson, 1985, Digestive and feeding characteristics of the chondrosteans. In: North american sturgeons: biology and aquaculture potential, F.P. Binkowski and S.I. Doroshov, DR W. Junk Publishers, 31-41.

Burns, T.A, D.T. Stalling & W. Goodger, 1981, Gar ichthyotoxin (*Lepisosteus sp.*): its effect on crayfish, with notes on bluegill sunfish. Southwestern Naturalist, 25(4): 513-515.

Cahu, C.L. And J.L. Zambonino, 1997, Is the digestive capacity of marine fish larvae sufficient for compound diet feeding?. Aquaculture International, 5:151-160.

Carlander, K. D. 1969 Handbook of freshwater fishery biology. Vol. 1. Iowa State University Press, Ames. 752 pp.

Chavez-Lomelí, M.O., 1989, Biología de los peces del río San Pedro en vista de determinar su potencial para piscicultura. Instituto de Investigaciones sobre Recursos Bioticos y la Fundación Universitaria para la cooperación, Jalapa, Ver. 19-27.

Clark J., K.R. Murray & J.R. Stark, 1986, Protease development in dover sole [*Solea solea* (L.)]. Aquaculture, 53:253-262.

Crumpton, J. 1970. Food habits of longnose gar (*Lepisosteus osseus*) and Florida gar (*Lepisosteus platyrhincus*) collected from five Central Florida Lakes. Florida Game and Freshwater Fish. 419-424.

Dabrowski K. and D. Culver, 1981, The fisiology of larval fish. Aquaculture magazine, pp. 49-61.

Dabrowski, K. and Culver, D., 1991, The physiology of larval fish, digestive tract and formulation of starter diets. Aquaculture Magazine march/april: 49-61.

Dabrowski, K., S.J. Kaushik & B. & B. Fauconneau, 1985, Rearing of sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt) larvae I. Feeding Trial. Aquaculture, 47:185-192.

Dabrowski, K.R., 1986, Ontogenical aspects of nutritional requerimients in fish. Comp. Biochem. Physiol., 85A(4):639-655.

Dabrowski, K., G. Krumschnabel, M. Paukku & J. Labanowski, 1992, Cyclic growth and activty of pancreatic enzymes in alevins of arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Jurnal of Fish Biology, 40:511-521.

Dabrowski, K., H. Dabrowska & C. Grudniewski, 1978, A study of the feeding of common carp larvae with artificial food. Aquaculture, 13:257-264.

De Jesus, E.G., T. Hirano & Y. Inui, 1991, Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis in the japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. General and Comparative Endocrinology, 82:369-376.

De Jesus, E. G. Hirano, T. and Inui, Y. 1993. Flounder metamorphosis: its regulation by various hormones. Fish Physiology and Biochemistry. 11 (1-6): 323-328.

Dean, B., 1895, The early development of gar-pike and sturgeon. J. Morphology, 11(1):1-55.

Degani, G. 1989. The effect of 3,3',5-Triiodo-L-Thyronine on oxigen consumption, body protein, lipid content, fatty acid composition, and aldolase activity of the european eel *Anguilla anguilla*. Acuaculture-A Biotecnology in Progress. N. de Pauw, E. Jaspers, H.Ackefors, N. Wilkins (Eds). European Aquaculture Society, Bredence, Belgium.

Dettlaff, T.A., A.S. Ginsburg and O.I. Schmalhausen, 1993, Development of prelarvae. In: Sturgeon fishes, develomental biology and aquaculture, Springer-Verlag Ed., 155-221.

Devresse, B., P. Candreva Ph. Leger and P. Sorgeloos, 1991, A new artificial diet for the early weaning of seabass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. In: Larvi 91 - Fish and crustacean larviculture symposium, European Aquaculture Society, Special Publication, 15:178-182.

Dugas, C.N., M. Konikoff & M.F. Trahan, 1976, Stomach Contents of Bowfin (*Amia Calva*) and Spotted Gar (*Lepisosteus Oculatus*) Taken in Henderson Lake, Louisiana. Louisiana Academy of Sciences, 39:28-34.

Duray, M. & T. Bagarinao, 1984, Weaning of hatchery-bred milkfish larvae from live food to artificial diets. Aquaculture, 325-332.

Eales, J. G. 1990. Thyroid function in poikilotherms. Progress in Comparative Endocrinology. 415-420.

Echelle, A.A. & C.D. Riggs, 1972, Aspects of the early life history of gars (*Lepisosteus*) in Lake Taxoma. Trans. Amer. Fish Soc. 101:106-112.

Erlanger, F.E., N. Kokowsky and W. Cohen, 1961, The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. Archives of biochemistry and Bioohysics, 95:271-278.

Ferraris, R.P., J.D. Tan & M.C De La Cruz, 1987, Development of digestive tract of milkfish, *Chanos chanos* (Forsskal): hitology and histochemistry. Aquaculture, 61:241-257.

Fuchs & G. Nedelec, 1989, Larvae rearing and weaning of seabass, *Lates calcarifer* (Block), on experimental compounded diets. Advances in Tropical Aquaculture, Actes de Colloque 9 pp. 677-697.

Galgani, F. And F. Nagayama, 1986, Characteristic of digestive proteolysis of crabs *Portunus triberculatus*, *Portunus sanguinolentus* and *Charybdis japonica*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 52(12): 2183-2188.

Garcia-Carreño, F.L., L.E. Dimes & N.F. Haard, 1993, Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceus proteinase inhibitors. Analiytical Biochemistry, 214:65-69.

Garcia-Carreño, F.L., 1993, Protease inhibition in theory and practice. Biotechnology Education, 24:150-153.

Garcia, J., G. Marquez y S. Paramo, 1997, Utilización de alimento fresco y artificial en la sustitución de alimento vivo para la cría de larvas y postlarvas del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: Memorias de la semana de divulgación y video científico 1997, Secretaría de servicios académicos Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, pp. 61-64.

Gawlicka, A., S.J. The, S.S. Hung, D.E. Hinton and J.de la Noüe, 1995, Histological and histochemical changes in the digestive tract of white sturgeon larvae during ontogeny. Fish Physiology and Biochemistry 14 (5): 357-371.

Gayet, M. and P. M. Brito, 1989, Ichthyofaune nouvelle du Crétacé supérieur du groupe Bauru (États de Sao Paulo et Minas Gerais, Brézil). Géobios -- Paléontol., Stratigr., Paléoécol. 22:841-847.

Gershanovich A.D., 1991, Lipid mobilization during early development of sturgeons. *Ed.* Acipenser, Cemagref Publ. pp. 41-51.

Gilbert, C. R., 1992, Alligator Gar, *Atractosteus spatula*. Pp. 129-133 in: Rare and endangered biota of Florida. Vol. 2. Fishes, C. R. Gilbert, (ed.), University Presses of Florida, Gainesville. 247 pp.

Gildberg, A., 1988, Aspartic proteinases in fishes and aquatic invertebrates. Comp. Biochem. Physiol., 91B(3):425-435.

Gisbert, E., A. Rodriguez, F. Costelló-Orvay and P. Williot, 1998, A histological study of the development of the digestive tract of siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early onogeny. Aquaculture, 167: 195-209.

Glass, H.J., N.L MacDonald, R.M. Moran & J.R. Stark, 1989, Digestion of protein in diferent marine species. Comp. Biochem. Physiol., 94B(3):607-611.

Goodyear, C. P., 1966, Distribution of Gars on the Mississippi Coast. Mississippi Academy of Sciences 12: 188-192.

Goodyear, C.P., 1967, Feeding habits of three species of gars *Lepisosteus* along the Mississippi Gulf Coast. Trans. Am. Fish. Soc., 96:296-300.

Govoni, J.J., W. George & Y. Watanabe, 1986, The pysiology of digestion in fish larvae. Enviromental Biology of Fishes, 16, 1-3:59-77.

Greenblatt, M., Brown, C. L., Lee, M., Dauder, S., and Bern, H. A. 1989. Changes in thyroid hormone levels in eggs and larvae and in iodide uptake by eggs of coho and chinook salmon, *Oncorhynchus kisutsch* and *O. tschawytscha*. Fish Physiology and Biochemistry: 6(5): 261-278.

Greshanovich, A.D., 1991, Lipid mobilization during early development of sturgeons. In: Acipenser, P.Williot Ed., Cemagrez Pub., 41-51.

Grizzle, J.M. And M.R. Curd, 1978, Posthatching histological development of the digestive system and swim bladder of logperch, *Percina caprodes*. Copeia, 3: 448-455.

Gunter, G., 1945, Studies on marine fishes of Texas. Publ. Inst. Mar. Sci. Univ. Tex. 1(1):1-190.

Higgs, D. A, Fagerlund, U. H. M., Eales, J. G and J. R. McBride. 1982. Application of thyroid and steroid hormones as anabolic agents in fish culture. Comp. Biochem. Physiol. 73B:143-176.

Hilton, J. W., E. M. Plisestkaya and J. F. Leatherland. 1987. Does oral 3,5,3'-Triiodo-L-Thyronine affect dietary glucose utilization and plasma insulin levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Fish Physiology and Biochemistry. 4: 3: 113-120.

Himick, B. A., Higgs, D. A. and Eales, J. G. 1991. The acute effects of alteration in the dietary concentrations of carbohidrate, protein and lipid on plasma T4, T3 and

glucose levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. General and Comparative Endocrinology. 82:451-458.

Hofer, R. & F. Schiemer, 1981, Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. Oecologia, 48:342-345.

Hofer, R., 1982, Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprind. Comp. Biochem, Physiol., 72A(1):55-63.

Hofer, R. and F. Schimer, 1981, Proteolytic avtivity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. Oecologia, 48:342-345.

Hollander, C,S. And L. Shenkman, 1974, Thyroxine and triiodothyronine. In Methods of hormone radioimmunoassay, Jaffe and Behrman Ed., Academic Press, pp. 215-230.

Holloway, A.D., 1954, Notes on the Life History and Management of the Shortnose and Longnose Gars in Florida Waters. Journal of Wildlife Management, 18, 4:438-449.

Holloway, A. D. 1954. Notes on the life history and management of the short nose and longnose gars in Florida waters. J. Wildlife Management. **18** (4): 438-449.

Holt, G.J., 1990, Growth and development of red drum eggs and larvae. In: Red drum aquaculture. pp. 46-50. Texas A&M Sea Grant College Program No. TAMU-SG-90-603.

Hopkins, S. H., 1954, The American species of trematode confused with Bucephalus (Bucephalopsis) haimeanus. Parasitology 44:353-370.

Huang, L., S. Miwa, D. A. Bengtson and J. L. Specker. 1988. Effect of Triiodothyronine on stomach formation and pigmentation in larval striped bass (*Morone saxatilis*). J. Exp. Zool. 280: 231-237.

Hummel, B. C. W. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin of chymotrypsin, trypsin adn trhombin. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 1393-1399.

Inui, Y. & S. Miwa, 1985, Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. General and Comparative Endocrinilogy. 60:450-454.

Inui, Y., M. Tagawa, S. Miwa & T. Hirano, 1989, Effects of bovine TSH on the tissue thyroxine level and metamorphosis in prometamorphic flounder larvae. General and Comparaive Endocrinilogy, 74:406-410.

Inui, Y., M. Tagawa, S. Miwa and T. Hirano, 1989, Effects of bovine TSH on the tissue thyroxine level and metamorphosis in prometamorphic flounder larvae. General and Compaarative Endocrinology, 74:406-410.

Inui, Y. and Miwa, S. 1985. Thyroid hormone induce metamorphosis of flounder larvae. General and Comparative Endocrinology: 60:450-454.

Jany, K.D., 1976, Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish *Carassius auratus gibelio* (Bloch): endopeptidases. Comp.Biochem. Physiol., 53B: 31-38.

Kaji, T., M. Tanaka, Y. Takahashi, M. Oka & N. Ishibashi, 1996, Preliminary observations on development of pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae) larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. Mar Freshwater Res., 4:261-269.

Kikuyama, S., K. Niki, M.Mayumi, R. Shibayama, R. Nishikawa and N. Shintake, 1983, Studies on corticoid action on the toad tadpole tail in vitro. Gen. Comp. Endocrinol. 52:395-399.

Kinkelin,G. F. (1903) Die Originale der paläontoligischen Sammlung im Senckenbergischen Museum und die auf diselben bezungliche Literatur. Ber Senckenberg. Naturforsch. Ges., 3-88.

Kobuke, L. Specker, J. and Bemi, H. A. 1987. Thyroxine content of eggs and larvae of coho salmón *Oncorhynchus kisutch*. The Jorurnal of Experimental Zoology. 248:168-176.

Kolkovski, S., A. Tandler, G. W. Kissil &A. Gertler, 1993, The effect of dietary exogenus digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. Fish Physiology and Biochemistry, 12(3):203-209.

Kumar, V. y Chase, H.P. 1971. Undernutrition and intestinal dipeptide hydrolase activity in rat. J. Nutr., 101: 1509-1514.

Kumegawa, M., Takuma, T., Hosoda, S., Kunii, S. and Kanda, Y. 1978. Precocious induction of pepsinogen in the stomach of suckling mice by hormones. Biochemica et Biophysica: 543:243-250.

Kuperman, B.I. & V.V. Kuz'mina, 1994, The ultrastructure of the intestinal epithelium in fishes with different types of feeding. Journal of Fish Biolgy, 44:181-193.

Kurokawa, T. And T. Suzuki, 1996, Formation of the diffuse pancreas and the development of digestive enzyme synthesis in larvae of the japanese flounder *Paralichtiys olivaceus*. Aquaculture, 141:267-276.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227: 680–685.

Lam, T.J., 1980, Thyroxine enhances larval development and survival in Sarotherodon (Tilapia) mossambicus Ruppell. Aquaculture, 21:287-291.

Lam, T.J. 1980. Tyroxine enhances larval development and survival in *Sarotherodon* (Tilapia) *mossambicus* Rupell. Acuaculture: 21:287-291.

Lauff M. & R. Hofer, 1984, Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. Aquaculture, 37: 335-346.

Lazo, J.P., 1999, Development of the digestive system in red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. Ph.D. Dissertation, The University of Texas at Austin, 212 pp.

Leatherland, J. F., Lin, L., Down, N. E. and Donalson, E. M. 1989. Thyroid hormone content of eggs and early developmental stages of three stocks of goitred coho salmón (*Oncorhynchus kisutch*) from the Great lakes of North America and a comparison with a stock from Britsh Columbia. Can. J. Aquat. Fish. Sci. 46:2146-2152.

Leon, L., R. Aguiar & Hernandez, 1978, Estudio sobre la biologia y el cultivo artificial del manjuari (*Atractosteus tristoechus*) Bloch y Scmeider. Ministerio de la Industria Pesquera, Dirección Ramal de Acuicultura, Investigación No. 85, Cuba.

Lovshin, L.L. & J.H. Rushing, 1989, Aceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feeds with a gustatory additive. The Progresive Fish-Culturist, 51:73-78.

Luna, L.G., 1968, Mannual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Ed. Mac Graw-Hill.

Luo, D. and Mckeown, B. A. 1990. The effect of thyroid hormone and glucocorticoids on carp growth hormone-releasing factor (GRF)-induced growth hormone (GH) release in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Comp. Biochem. Physiol. 99A (4): 621-626.

Maclatchy, D. L. and Eales, J. G. 1990. Growth hormone stimulates hepatic thyroxine 5'monodesiodinase activity and 3,5,3'-triiodothyroxine levels in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). General and Comparative Endocrinology. 78:164-172.

Marquez, H., 1998, Efectos de la temperatura en el desarrollo de embriones y el crecimiento de larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* bajo condiciones de cultivo. Tesis de Licenciatura Inedita, Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, División Academica de Ciencias Biologicas. pp. 43.

May, E.B. & A. Echelle, 1968, Young-of-year alligator gar in Lake Texoma, Oklahoma. Copeia, 3:629-630.

McFadzen, I.R., D.M. Lowe and S.H. Coombs, 1994, Histological changes in starved turbot larvae (schophtalmus maximus) quantified by digital image analysis. Journal of Fish Biology, 44:255-262.

Mendoza, R., 1993, Metodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuaticos. In: Memorias del primer simposium internacional de nutricion y tecnología de alimentos para acuacultura, L.E. Cruz, D. Ricque y R. Mendoza Edit., Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico. pp. 155-202.

Mendoza, R., 1996, Utilización de métodos inmunologicos en el estudio de la nutrición de los organismos acuáticos. In: Memorias del segundo simposium internacional de nutrición acuicola, R. Mendoza, L.E. Cruz y D. Ricque Edit., Universidad Autonoma de Nuevo Leon, Mexico. pp. 129-156.

Miwa, S., M. Tagawa, Y. Inui & T. Hirano, 1988, Thyroxine surge in Metamorphosing flounder larvae. General and Comparative Endocrinilogy, 70:158-163.

Miwa, S. and Inui, Y. 1987. Effects of various doses of tyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of flounder (*Paralichthys olivaceus*). General and Compartive Endocrinology. 67: 356-363.

Moore, G., M. Trautman and M. Curd, 1973, Description of postlarval gar (Lepisosteus spatula Lacepede, Lepisosteidae), with a list of associated species from the Red River, Choctaw County, Oklahoma. The Southwest Naturalist, 18(3):343-344.

Morales, G., 1987, Reproducción y desarrollo embriologico del catán (Lepisosteus spatula Lacepede): Primeros resultados. SEPES. Dir. Gral. Acuacultura.

Moyano, F.J., M. Diaz, F.J. Alarcon & M.C. sarasquete, 1996, Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). Fish Physiology and Biochemistry, vol. 15, no.2, pp.121-130.

Munilla Moran, R., F. Saborido Rey, Digestive enzymes in marine species I. Proteinase activities in gut from redfish (Sebastes mentella), seabream (Sparus aurata) and turbot (*Scophthalmus maximus*). Comp. Biochem. Physiol. 113B(2): 395-402.

Munilla, R. & R. Stark. 1989. Protein digestion in early turbot larvae *Scophthalmus maximus* (L.) Aquaculture, 81. 315-327.

Netch, N.F. & A. Witt, 1962, Contributions to life history of the longnose (*Lepisosteus osseus*) in Missuri. Missuri Wildlife Research Unit:U.S. Fish and Service, 251-262.

Netsch, N.F., 1964, Food and feeding habits of longnose gar in central Missouri. In: The 18th Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners, Florida, pp. 506-511.

O'Connell, C.P., 1976, Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. Jo. Exp. Mar. Biol. Ecol., 25: 285-312.

Oozeki, Y., T. Ishii and R. Hirano, 1989, Histological study of the effects of starvation on reared and wild-caught larval stone flounder, *Kareius bicoloratus*. Marine Biology, 100:269-275.

Ostos, M.V., M.I. Niñez and M.A. Abaurrea, 1993, Histological, histochemical and ultrastructural analysis of the gastric mucosa in *Onchorhynchus mykiss*. Aquaculture, 115:121-132.

Ozkizilcik, S., F.E. Chu and A.R. Place, 1996, Ontogenetic changes of lipolytic enzymes in striped bass (*Morone saxatilis*). Comp. Biochem. Physiol. 113B(3):631-637.

Pascaul, R., 1970, Evolution de communicades, cambios faunísticos y intergraciones biocinóticas de Argentina. Actas IV Congreso Latinoamericano de Zoologia, Vol. II. Caracas 10-16 de Novembre de 1968. 991-1088.

Pearson, W.D., G.A. Thomas & A.L.Clark, 1979, Early piscivory and timing of the critical period in postlarval longnose Gar at Mile 571 of the Ohio River. Trans. Kentucky Academy of Science, 40, 3-4:122-128.

Peres A., C.L. Cahu, J.L. Zambonino, M.M. LE Gall & P. Quazuguel, 1996, Amylase and tripsin responses to intake of dietary carbohydrate and protein depend on developmental stage in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. Fish Physiology and Biochemistriy vol. 15, no. 3, pp. 237-242.

Perez-Sanchez, E., 1995, Efecto de la gonadotropina corionica humana (GCH) en la maduración gonádica del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) Gill 1823 en condiciones de laboratorio. Tesis de licenciatura Inedita, Universidad Juarez Autonoma de Tabasco, División Academica de Ciencias Biológicas, 28 pp.

Person-Le Ruyet J., 1989, Early weaning of marine fish larvae onto microdiets. constraints and perspectives. Advances in tropical Aquaculture Aquacop. IFREMER Actes colloque 9, pp. 625-642.

Pouyet, J. C., J. Hourdry and J. Mesnard. 1983. A histological and dinamic study of the gastric region of Discoglossus pictus larvae, cultured with or without thyroxine. J. Exp. Zool. 225: 423-431.

Raney, E. C., 1942, Alligator gar feeds upon birds in Texas. Copeia (1):50.

Reddy, P.K. & T.J. Lam, 1991, Effect of thyroid hormones on hatching in the Tilapia, Oreochromis mossambicus. General and Comparative Endocrinilogy, 81:484-491.

Reifel C.W. & A.A. Travill, 1979, Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine of ten teleostean species. Morphology, 162:343-360.

Reséndez, A. Y M.L. Salvadores, 1983, Contribución al conocimiento de la biología del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* (Gill) y la tenguayaca Petenia splendida Günther, del Estado de Tabasco. Biotica, 8(4): 413-426.

Robins, C. R., R. M. Bailey, C. E. Bond, J. R. Brooker, E. A. Lachner, R. N. Lea, and W. B. Scott, 1991, Common and scientific names of fishes from the United States and Canada. 5th ed. Am. Fish. Soc. Spec. Publ. 20. 183 pp.

Robison, H. W., and T. M. Buchanan, 1988, Fishes of Arkansas. University of Arkansas Press, Fayetteville. 536 pp.

Rodriguez De La Cruz, M.C., Palacios-Fest, M.R., Cruz-Santabalbina, R. Y dias, 1994, Atlas pesquero de México, SEPES. INP.

Rosas, M., 1976, Peces dulceacuicolas que se explotan en México y datos sobre su biología. INP/Subsecretaria de Pesca.

Rosch, R. & S. Appelbaum, 1985, Experiments on the suitability of dry food for larvae of *Coregonus lavaretus* L. Aquaculture, 48:291-302.

Santos, R. d. S. (1984) *Lepisosteus cominatoi* n. sp., da formação Bauru, Estado de São Paulo, Brasil. An. Acad. Bras. Ciênc. 56:197-202.

Sarasquete, M.C., A. Polo & M. Yufera, 1995, Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. Aquaculture, 130:79-92.

Segner, H., R. Rosh, J. Verreth & U Witt, 1991, Analysis of the nutritional condition of fish larvae: studies with *Clarias gariepinus*, *Coreogonus lavaretus* and *Scophtalmus maximus*. European Aquaculture Society, Special Publication, 15:11-12.

Segner, H., V. Stroch, M. Reinecke, W. Kloas & W. Hanke, 1994, The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophtalmus maximus*. Marine Biology, 119:471-486.

Segner, H., R. Rosch, H. Schmidt & K.J. Poeppinghausen, 1989, Digestive enzymes in larval *Coreogonus lavaretus* L. J. Fish Biol., 35:249-263.

Seidennsticker, E.P., 1987. Food Selection of Alligator Gar and Longnose Gar in a Texas Reservoir. Proc. Annu. Conf. SEAFWA, pp. 101-104.

Simon, T. & R. Wallus, 1989, Contributions to the early life histories of gar (Actynopterygii: Lepisosteidae) in the Ohio and Tenesse river basins with emphasis on larval development. Trans. Ky. Acad.Sci.50(1-2):59-74.

Simon, T.P. & E.J. Tyberghein, 1991, Contributions to the early life history of the spotted gar, Lepisosteus oculatus Winchell, from the Hatchet Creek, Alabama. Trans. Kentucky Academy of Science, 52, 3-4:124-131.

Steel, R. & Torrie, 1980, Principles and procedures of statistics. A biometrical approach. McGraw-Hill, New York, 633 pp.

Stroband, H.W.J., 1977, Growth and diet dependant structural adaptations of the digestive tract in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Val.). J. Fish Biol. 11:167-174.

Stroband, H.W. And K.R. Dabrowski, 1979, Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in fres-water fish larvae. In: Nutrition des Poissons, M. Fontaine Ed., Paris, 335-374.

Sullivan, C. V., Iwamoto, R. N. and Dickhoff, W. W.1987. Thyroid hormones in blood plasma of developing salmon embryos. General and Comparative Endocrinology. 65: 337-345.

Sullivan, C. V., Bernard, M. G., Hara, A. and Dickhoff, W. W. 1989. Thyroid hormones in trout reproduction: Enhancement of gonadotropin- releasing hormone analogue and partially purified salmon gonadotropin induced ovarian maturation *In vivo* and *In vitro*. The Journal of Experimental Zoology. 250:188-195.

Suttkus, R.D., 1963, Order Lepisostei, in: Fishes of the Western North Atlantic. Mem. Sears Found. Mar. Res., 1(3):61-68.

Tagawa, M., Tanaka, M., Matsumoto, S. and Hirano, T. 1990. Thyroid hormones in eggs of various freshwater, marine and diadromus teleosts and their changes during egg development. Fish Physiology and Biochemistry. 8(6): 515-520.

Tagawa, M. and Hirano, T. 1991. Effects of thyroid deficiency in eggs on early development of the medaka, *Oryzias latipes*. The Journal of Experimental Zoology. 257:36-366.

Takagi, Y., Hirano, J. Tanabe, H and Yamada, J. 1994. Stimulation of skeletal growth by thyroid hormone administrations in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. The Journal of Experimental Zoology. 268: 229-238.

Tanaka, M., 1969a, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae I. Development of the digestive system during prelarval stage. Japanese Journal of Ichthyology, 16, 1:1-8.

Tanaka, M., 1969b, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae II. Characteristic of the digestive system in larvae at the stage of first. Japanese Journal of Ichthyology, 16, 2:41-49.

Tanaka, M., 1971, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae III. Development of the digestive system during postlarval stage. Japanese Journal of Ichthyology, 18, 4:164-173.

Tanaka, M., 1972a, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae IV. Changes in the epithelium related to fat absorption in the

anteromedian part of the intestine after feeding. Japanese Journal of Ichthyology, 19, 1:15-25.

Tanaka, M., 1972b, Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae V. Epithelial changes in the posterior gut and protein ingestion. Japanese Journal of Ichthyology, 19, 3:172-180.

Tandler, A. & S. Kolkovski, 1991, Rates of ingestion and digestibility as limiting factors in the successful use of microdiets in *Sparus aurata* larval rearing. European Aquaculture Society, Special Publication, 15:169-171.

Theilacker, G.H., 1978, Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. Fishery Bulletin, 76(2):403-414.

Theilacker, G.H, 1986, Starvation-induced mortality of young sea-caught jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, determined with histological and morphological methods. Fishery Bulletin, 84(1):1-17.

Theilacker, G.H & S.M. Porter, 1994, Condition of larval walleye pollock, *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assesed with histological and shirkage indices. Fishery Bulletin, 93(2):333-344.

Theilacker, G.H & Y. Watanabe, 1989, Midguth cell hegith defines nutritional status of laboratory raised larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fishery Bulletin, 87(3):457-469.

Theilacker, G.H., 1987, Feeding ecology and growth energetics of larval northern anchovy, Engraulis mordax. Fishery Bulletin, 85, 2:213-228.

Toole, J.E., 1971, Food Study of the Bowfin and Gars in Eastern Texas. Texas Parks and Wildfile Department, Technical Series, 6:1-15.

Ueberschar, B.F., 1985, Experiments on the development of proteolytic enzyme activity in turbot larvae (*Scophtalmus maximus*). International Council for the Exploration of the Sea.

Verreth, J., and T. Van Tongeren, 1989, Weaning time in *Clarias gariepinus* (Burchell) larvae. Aquaculture, 83: 81-88.

Verreth, J.A., E. Torreele, E. Spazier and V. Sluiszen, 1992, The development af a functional system in the african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). Journal of the World Aquaculture Society, 23(4): 286-298.

Vonk H.J. &J.R. Western,1984. Comparative Biochemistri and Physiology of enzimatic digestion. Academic Press, Cap. 5 y 11, London .

Vu., T.T., 1983, Etude histoenzymologique des activites proteasiques dans le tube digestif des larves et des adultes de bar, Dicentrarchus labrax (L). Aquaculture, 32:57-69.

Walford, J. & T.J. Lam, 1993, Development of digestive tract and proteolitic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. Aquaculture, 109:187-205.

Wardle, W. J. (1990) Experimental Verification of the Metacercarial Stage of Rhipidocotyle lepisostei (Trematoda: Bucephalidae) with Notes on the Natural Occurrence of Its Adult Stage in Gars in Texas and Virginia. J. Parasitol. 76(2):293-295.

Watanabe, Y., 1984, Morphological and functional changes in rectal epithelium cells of pond smelt during postembrionic development. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 50(5): 805-814.

Weber, K. y Osborn, M. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem., 244: 4406-4412.

Wiley, E. O., 1976, The phylogeny and biogeography of fossil and recent gars (Actinopterygii: Lepisosteidae). Misc. Publ. Univ. Kans. Mus. Nat. Hist. 64:1-111.

Wiley, E. O., 1978, *Atractosteus spatula* (Lacepede, 1803). In: W. Fischer (ed.), FAO species identification sheets for fishery purposes. Western Central Atlantic (fishery area 31). Vol III. Rome, Italy.

Yamano, K., *S. Miwa, T. Obinata & Y. Inui, 1991, Thyroid hormone regulates develomental changes in muscle during flounder metamorphosis. General and Comparative Endocrinilogy, 81:464-472.

Yeager, B.L. & R.T. Bryant, 1983, Larvae of the Longnose Gar, Lepisosteus Osseus,From The Little River in Tennessee. Journal of The Tennessee Academic Of Science, 58, 1-2:20-22

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

Zitzow, R.E. & J.L.Millard, 1988, Survival and growth of lake whitefish (*Coregonus clupeaformis*) larvae fed only formulated diets. Aquaculture, 69:105-113.

TIPO DE ADQUISICION
DONATIVO