

ARTÍCULO ORIGINAL

**PRIMERA ALIMENTACIÓN DE LAS LARVAS DE MANJUARÍ
(*Atractosteus tristoechus* Bloch y Schneider, 1801): EMPLEO
DE DIETAS INERTES Y EFECTO DE LA INANICIÓN.**

*First feeding of cuban gar (*Atractosteus tristoechus* Bloch y Schneider, 1801) larvae: use of inert diets and effects of starvation.*

Yamilé Comabella^{1*}, Javier Canabal², Andrés Hurtado³ y Tsai García-Galano¹

¹ Centro de Investigaciones Marinas.
Universidad de la Habana. Calle 16 #
114 e/ 1ra y 3ra, Miramar, Playa,
Cuba.

² Knowles Animal Clinics, Florida,
United States.

³ Centro de Reproducción de la Ictio
fauna indígena, Ciénaga de Zapata,
Cuba.

*Autor para correspondencia:

ycomabella@yahoo.es

Recibido: 28 enero 2015

Aceptado: 19 junio 2015

RESUMEN

Se estudió el efecto sobre el crecimiento y la supervivencia de *Atractosteus tristoechus* de diferentes dietas inertes ofrecidas en la primera alimentación así como de la inanición de las larvas. Las larvas fueron alimentadas con 5 dietas inertes diferentes: *Moina* congelada, *Artemia* congelada, pienso comercial, *Moina* congelada + pienso, *Artemia* congelada + pienso. Además, fueron privadas de alimento por varios días para el estudio del crecimiento. Los resultados mostraron que el mejor crecimiento se obtuvo con la *Moina* congelada (con mayor porcentaje de proteínas totales) como dieta inerte y las mortalidades fueron bajas (2-7%) para todos los tratamientos. Las larvas sobrevivieron a varios días de inanición (hasta 25 días después de eclosionadas-DDE). Las mismas detuvieron su crecimiento sobre el 10 DDE ($22,7 \pm 0,87$ mm; $49,2 \pm 1,29$ mg). A partir de los 12 DDE, la relación entre el peso y el largo total de las larvas comienza a incrementarse exponencialmente para las larvas con alimento externo y comienza a decrecer (<1,9) para las larvas mantenidas en inanición. Por primera vez para esta especie se demostró la capacidad de las larvas de manjuarí de alimentarse del fondo y con dietas inertes así como la resistencia prolongada a la inanición.

PALABRAS CLAVE: crecimiento, inanición, larvas de peces, lepisosteidos, primera alimentación.

ABSTRACT

*Effects on larval growth and survival of *Atractosteus tristoechus* were studied. Larvae of *A. tristoechus* were fed with five different diets: frozen *Moina*, frozen *Artemia*, commercial diets (CD), frozen *Moina* + (CD), frozen *Artemia* + (CD). Also, cuban gar larvae were deprived of food for various days to study the growth. The results showed that best growth was with frozen *Moina* (with bigger total protein percentage) as an inert diet. The mortalities were 2-7% for all treatment. Also, larvae could survive long feeding delays (until 25 days after hatching-DAH). They stopped their growth by 10 DAH ($22,7 \pm 0,87$ mm; $49,2 \pm 1,29$ mg). From 12 DAH, the relationship between weight and total length of the larvae begins to be increased exponentially for feeding larvae and it begins to fall (<1,9) for larvae maintained in starvation. For the first time for this species the capacity of cuban gar larvae of feeding on the bottom was demonstrated and with inert diets as well as the prolonged resistance to inanition.*

KEY WORDS: fish larvae, first feeding, gar, growth, starvation.

INTRODUCCIÓN

Conocido popularmente como manjuarí, *Atractosteus tristoechus* es una especie endémica de Cuba y el único representante de la Familia Lepisosteidae (Cuvier, 1825) en Las Antillas. Habita en ríos, esteros, canales y lagunas de agua dulce en la región sur occidental de Cuba, principalmente en la Ciénaga de Zapata, donde se cree existan las mayores poblaciones, y en la Isla de la Juventud (Vergara, 1992; Alfonso y Gutiérrez, 1995).

Conjuntamente a esta restricción espacial que presentan, existen otros factores como son la pérdida de hábitats y las drásticas alteraciones ecológicas ocurridas en los mismos, que han sometido a la especie a un gran estrés ambiental. Es por ello que se infiere que muchas poblaciones de *A. tristoechus* han desaparecido o disminuido drásticamente en número (Prats, 2003).

Dada esta problemática, se hizo necesario desarrollar planes de manejo y estrategias para proteger la existencia y supervivencia de estos animales en el archipiélago, haciéndose necesario la ampliación del marco de las investigaciones que respondan a estos propósitos. Para esto, se diseñó un estudio integrado de la etapa larval de esta especie que abarcaría la descripción morfológica de la misma haciendo énfasis en las transformaciones ontogénicas relacionadas con el sistema digestivo tanto enzimológicas como histológicas (Comabella et al., 2006, 2010, 2013b). Una vez entendida la morfofisiología de la etapa más sensible de todo su ciclo de vida, se hizo imprescindible la formulación de dietas y esquemas de alimentación adecuados que garantizaran, en un alto porcentaje, la supervivencia y el crecimiento de las larvas.

El alimento se convierte así, en el punto neurálgico de cualquier sistema de cultivo. Además de ser su composición, sus características físicas, la frecuencia y ración con la que se ofrece los que determinan la calidad de las larvas; también es el que establece la viabilidad económica del proceso, pues el mayor costo del mismo está representado por los grandes gastos que significa la alimentación en esa etapa. Es por ello que la búsqueda de dietas adecuadas debe considerar tanto las particularidades nutricionales de la especie en cuestión, como la rentabilidad económica y las posibilidades tecnológicas con las que se pueden contar.

El objetivo del presente estudio consiste en evaluar cinco dietas inertes de iniciación así como determinar el efecto de la inanición en la supervivencia y crecimiento de las larvas del manjuarí en condiciones de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los huevos del manjuarí (*Atractosteus tristoechus*) empleados para los bioensayos, se obtuvieron del desove inducido de reproductores mantenidos en condiciones de cautiverio en el Centro para la Reproducción de la Ictiofauna Indígena del Parque Nacional Ciénaga de Zapata, Provincia de Matanzas, Cuba. Los reproductores, con una talla entre los 60-100 cm de longitud total, se colocaron en estanques de concreto de dimensiones 3 x 2.5 m con una altura de agua de 50 cm, y sin recirculación. Se trabajó a temperatura ambiente, la cual osciló entre los 24 y los 27°C. Los estanques se acondicionaron previamente con sustratos artificiales con el objetivo de garantizar las condiciones requeridas por los lepisosteidos para el desove (León et al., 1978; Simon y Wallus, 1989). Se situaron dos hembras y tres machos

por estanque dos días antes del inicio del tratamiento hormonal. Se aplicó una inyección inicial de la hormona luteinizante (LHRH-A; 25 µg/mL, ARGENT) a los reproductores y una segunda inyección a las 16 horas. El cortejo y el desove ocurrían entre las 8 y las 10 horas a partir de esta segunda inyección.

Pasados 15 minutos del inicio del desove, los sustratos artificiales con los huevos fertilizados adheridos fueron removidos del estanque y transferidos a tanques circulares de fibra de vidrio de 100 L de capacidad hasta su eclosión (68-100 horas). Estos huevos fueron gradualmente adaptados durante cuatro horas a las temperaturas de mantenimiento ($28 \pm 1^\circ\text{C}$).

Todos los experimentos se realizaron hasta que las larvas alcanzaron los 18 días después de eclosionadas (DDE) debido a observaciones *in situ* de la aparición del fenotipo juvenil. En la evaluación del efecto de la inanición, una vez terminados los 18 días de experimentación, las larvas se mantuvieron hasta su muerte. Se emplearon tres réplicas en cada uno de los bioensayos.

Se mantuvieron las temperaturas del agua constantes, con regímenes de luz desde las 08:00 hasta las 20:00 horas, y con niveles de oxígeno mantenidos por encima de 6 ppm. Cada mañana se cambiaba entre el 50 y el 75% del agua de cada tanque después de la limpieza del fondo de los mismos. Las larvas se alimentaron tres veces al día (09:00, 14:00, y 19:00 h) a partir del cuarto día después de eclosionadas, excepto en el tratamiento de inanición en el experimento correspondiente. Las especificidades de la duración de cada experimento, así como de las dietas, los tanques y las densidades de siembra iniciales empleados aparecen en la Tabla 1.

Los quistes de artemia empleados, provenientes de Salt Creek Select (Great Salt Lake, UTA), fueron hidratados con abundante aireación y luz durante una hora en agua dulce y después por 23 horas en agua salada (28 g/L). Los quistes fueron preparados 24 horas anteriores a cada alimentación. Las moinas provenían del área de alimento vivo del propio Centro para la Reproducción de la Ictiofauna Indígena del Parque Nacional Ciénaga de Zapata y eran colectadas previas a cada alimentación. Justo antes de ofrecerlas como alimento vivo, los nauplios de artemias eran lavados con agua dulce e igualmente distribuidos en los tanques.

En el experimento sobre la evaluación de dietas inertes, las artemias y moinas empleadas fueron congeladas a -20°C y posteriormente pesadas para ofrecerlas según el porcentaje de la biomasa correspondiente. Para esto se hicieron ajustes diarios de la ración a ofrecer según los pesos que mostraban las larvas en los muestreos. El pienso empleado fue el alimento balanceado comercial para truchas El Pedregal MR (45% de proteína total y 16% grasa), el cual fue previamente tamizado para obtener tamaños de partículas $< 600 \mu\text{m}$ y entre $600\text{-}850 \mu\text{m}$. Se determinaron la proteína total y el contenido de humedad (AOAC, 1990) de las dietas y de las larvas de 4 DDE y de 18 DDE. En el experimento donde se evaluó el efecto de la inanición, los tanques fueron tapados con mallas para impedir la entrada de ningún tipo de alimento.

Muestreo, mediciones y determinaciones.

Antes de la limpieza de los tanques y de la alimentación matutina, las larvas fueron muestreadas al azar de forma diaria, excepto

en el bioensayo de la evaluación de las dietas de iniciación, donde solamente se analizaron los días 8, 12, 15 y 18 después de eclosionadas. Los tamaños de muestras empleados para cada bioensayo aparecen en la Tabla 1. Una vez colectadas las larvas, estas eran anestesiadas con MS 222, individualmente pesadas con una balanza analítica Ohaus (± 0.1 mg) y fijadas en solución de etanol 70^o para el posterior análisis.

Los caracteres morfométricos (Fig. 1) fueron medidos, empleando un micrómetro ocular y un vernier digital ($\pm 0,01$ mm) según los criterios definidos por Simon y Wallus (1989) para las larvas de lepisosteidos. El porcentaje de mortalidad total fue determinado diariamente para el experimento del efecto de la inanición en las larvas y para el bioensayo de las dietas de iniciación al finalizar el mismo.

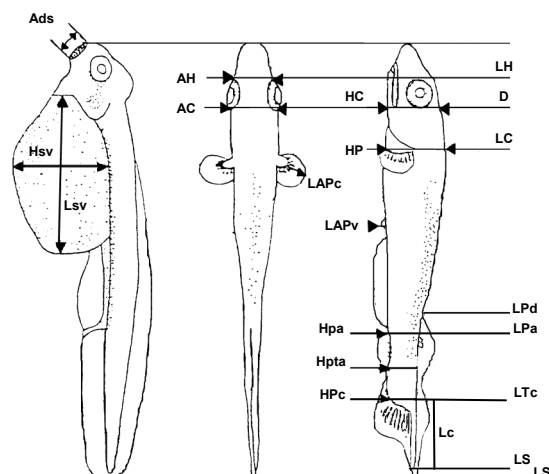


Figura 1. Caracteres morfométricos medidos en el manjuarí (modificado de Simon y Wallus, 1989). Largo total (LT), largo estándar (LS), largo del hocico (LH), diámetro ocular (D), largo cefálico (LC), largo predorsal (LPd), largo preanal (LPA), largo del tronco (LTc), largo de la cola (Lc), largo del saco vitelino (Lsv), largos de las aletas pectorales (LAPc) y pélvicas (LAPv), altura cefálica (HC), altura pectoral (HP), altura preanal (Hpa), altura postanal (Hpta), altura del pedúnculo caudal (HPC), altura del saco vitelino (Hsv), ancho inicial del hocico (AH), ancho medio del hocico, ancho posterior del hocico (AH), ancho cefálico (AC), ancho del disco suctorial (Ads).

Experimentos	Duración n	Tanques y densidades iniciales	Dieta		
			Cantidad	Tipo	
Efectos de la inanición	5-18 DDE n=3	Tanques fibra vidrio rectangulares 50L (4 larvas/L)	ad libitum	Artemia ² viva	
Dietas de iniciación	5-18 DDE n=7		100 % de la Biomasa		Moina ¹ congelada
					Artemia ² congelada
					50 % Moina ¹ congelada + 50 % Pienso ^{3,4}
					50 % Artemia ² congelada + 50 % Pienso ^{3,4}
			Pienso ³		

Tabla 1. Características de los experimentos realizados: duración de cada uno (DDE - días después de eclosionadas las larvas) y tamaños de muestras (n=larvas/réplica/día), especificándose los tanques utilizados, las densidades de siembra iniciales y las dietas empleadas en cada uno de ellos.

¹Moina sp. ²nauplios de *Artemia* sp. ³Pienso < 600 μ m hasta los 8 DDE, de ahí en adelante 600-850 μ m

⁴100 % Pienso a partir de los 13 DDE

Análisis estadísticos. Se emplearon diseños experimentales completamente aleatorizados. Los datos de mortalidades y de peso húmedo de las larvas (en el experimento de las dietas de iniciación), los caracteres morfométricos

entre los tratamientos con y sin alimento (del bioensayo del efecto de la inanición), así como los resultados del análisis bromatológico en las larvas, fueron examinados mediante un ANOVA de clasificación simple y para las

comparaciones múltiples se empleó la prueba de Tukey. Todos estos análisis se realizaron con nivel de significación de 0,05 en el programa STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., 2001).

RESULTADOS

Dietas de iniciación. Al observar el comportamiento de las larvas de manjuarí mantenidas con cinco dietas inertes (Moina congelada, Artemia congelada, Pienso, Moina congelada + Pienso, Artemia congelada + Pienso) desde el 5 día después de eclosionadas hasta el 18, se notó que al agregar la biomasa de artemia o moina congelada, esta se precipitaba, y después de unos segundos de haber hecho contacto con el agua y de comenzar su descompactación, las larvas se acercaban paulatinamente e iniciaban la ingesta desde el fondo, no siendo tan evidente esta conducta para el pienso comercial.

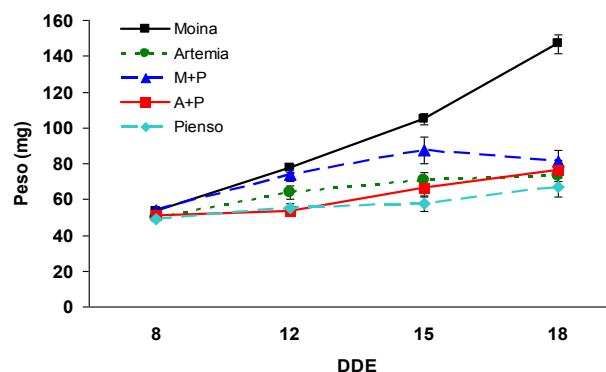


Figura 2. Peso de las larvas de manjuarí alimentadas con cinco dietas inertes (Moina congelada, Artemia congelada, Pienso, Moina congelada + Pienso, Artemia congelada + Pienso) durante 18 días después de eclosionadas (DDE). Los valores representan las medias \pm ee (n=21).

La Figura 2 muestra el comportamiento del peso de las larvas, haciéndose significativo el incremento del mismo a los 15 DDE para las dietas de moina congelada y de moina + pienso en comparación con las otras tres

dietas. Sin embargo, a los 18 DDE ocurre una separación total del tratamiento con moina congelada, alcanzándose pesos más que duplicados con respecto al resto de los tratamientos ensayados.

Las mortalidades fueron bajas, entre 2 y 7 % para todos los tratamientos, resultando mayores aquellas en las que aparecía el pienso como elemento de la dieta (Fig. 3).

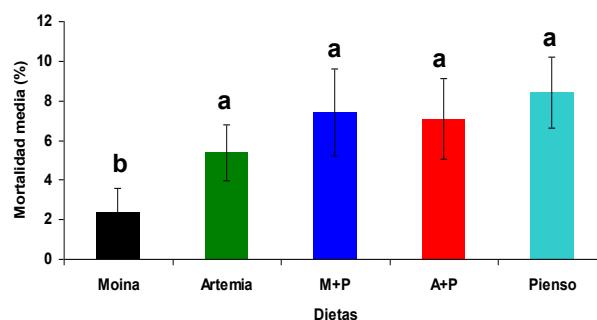


Figura 3. Porcentaje de mortalidad de las larvas de manjuarí alimentadas con cinco dietas inertes (Moina congelada, Artemia congelada, Pienso, Moina congelada + Pienso, Artemia congelada + Pienso) durante 18 días después de eclosionadas. Cada barra representa la media \pm ee (n=137), letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

		Proteína Total (%) en base seca	
Dietas	P		48.8 ^c
	A		63.6 ^b
	M		79.4 ^a
L	4 DDE		80.5
A R V A S	18 DDE	M	94.6 ^a
		A	81.8 ^b
		M+P	79.9 ^b
		A+P	84.2 ^b
		P	94.1 ^a

Tabla 2. Análisis bromatológico realizado a las dietas empleadas y a las larvas de 4 y de 18 días después de eclosionadas (DDE). (P-Pienso, M-Moina, A-Artemia). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las dietas y entre las larvas de 18 DDE.

Los resultados del análisis bromatológico realizado tanto a las dietas como a las larvas del inicio de la experimentación (4 DDE) como a las del final (18 DDE) aparecen en la

Tabla 2. Los porcentajes significativamente mayores de proteína total se encontraron para la dieta de moina y para las larvas de 18 DDE alimentadas con moina y con pienso.

Efectos de la inanición en la etapa larval.

Las larvas mantenidas en inanición comparadas con aquellas que tuvieron alimento desde el inicio de su alimentación exógena mostraron patrones de mortalidades diferentes (Fig. 4). Resultaron significativamente mayores las mortalidades de las larvas en inanición solamente para los 6, 7 y 18 DDE, sin registrarse larvas muertas entre los días 9 al 13 para este tratamiento. La mortalidad de las larvas en inanición se incrementó a un 48 % en el día 23 después de eclosionadas hasta que finalmente todas murieron dos días después, sin exceder los 24,5 mm de LT y los 49,5 mg de peso húmedo.

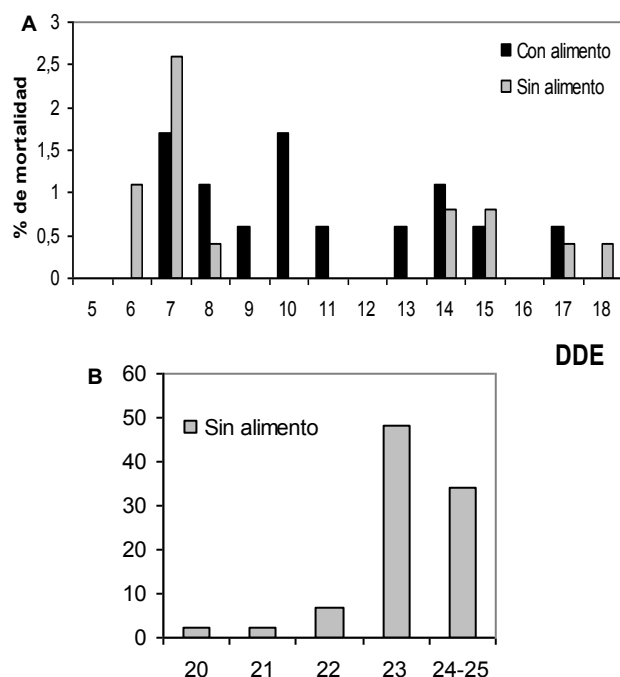


Figura 4. Porcentaje de mortalidad diario para las larvas de manjuarí con alimento y en inanición durante los 18 días después de eclosionadas (DDE) (A), y comportamiento para las larvas en inanición hasta su muerte (B) (note cambio de escala en el eje de las y). (n=88).

La presencia/ausencia de alimento exógeno repercutió en el crecimiento larval. Las larvas que fueron mantenidas sin alimento detuvieron su crecimiento tanto en longitud total como en peso a los 10 DDE ($22,7 \pm 0,87$ mm; $49,2 \pm 1,29$ mg) (Fig. 5 A,B). Para el resto de las variables morfométricas evaluadas se observó de manera similar este detenimiento en el crecimiento entre los días 10 y 12 después de eclosionadas (Fig. 5 C-J). La presencia externa del vitelo se hizo evidente hasta el 7 DDE para las larvas en inanición y hasta el 8 DDE para las larvas con alimento (Fig. 5 K,L).

Igualmente se encontraron otras diferencias morfológicas visibles como una coloración más oscura, menor contraste entre las áreas claras y oscuras y menor brillo; cuerpo adelgazado y cabeza desproporcionalmente mayor a simple vista en aquellas larvas mantenidas en inanición (Fig. 6). No se evidenció canibalismo aunque sí una mayor inactividad en estas larvas. Se habla de esta desproporción aparente de la cabeza, pues al valorar la relación entre el largo total y el resto de las variables morfométricas analizadas, solamente se encontró desproporcionalidad para el peso.

Como se aprecia en la Tabla 3, entre los 5 y los 11 DDE, para ambos tratamientos, el valor del peso (mg) duplica (2 a 2,9) al valor del largo total (mm). Sin embargo, a partir del día 12 después de eclosionadas las larvas, esta relación comienza a incrementarse exponencialmente para las larvas con alimento externo y comienza a decrecer ($<1,9$) para las larvas mantenidas en inanición.

DISCUSIÓN

Dentro de la corta fase larval del ciclo de vida del manjuarí, de sólo 18 días después de

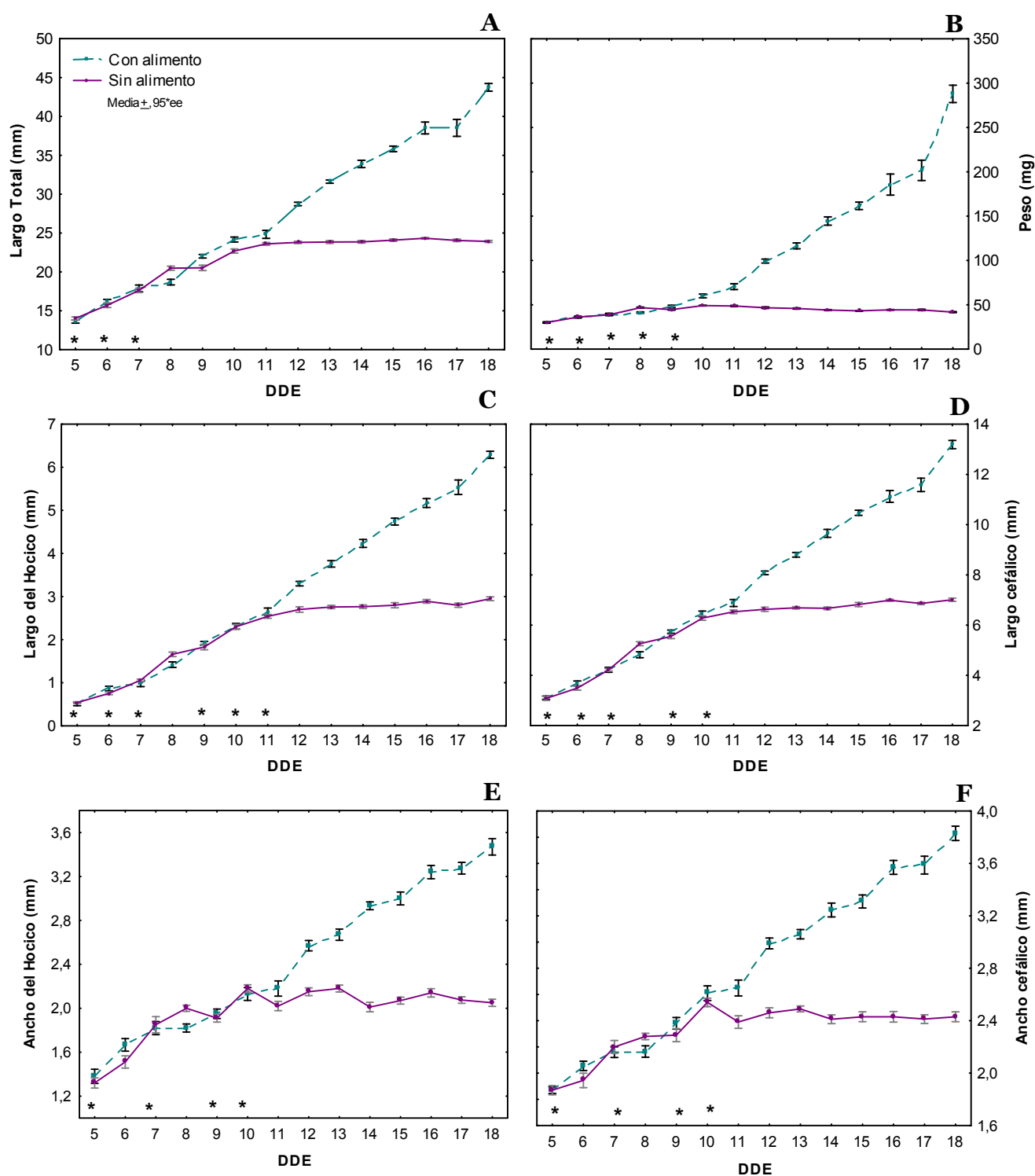


Figura 5. Comportamiento de los caracteres morfométricos medidos en las larvas de manjuarí con alimento y en inanición durante los 18 días después de eclosionadas (DDE). A) Largo total, B) Peso, C) Largo del hocico D) Largo cefálico, E) Ancho del hocico, F) Ancho cefálico.

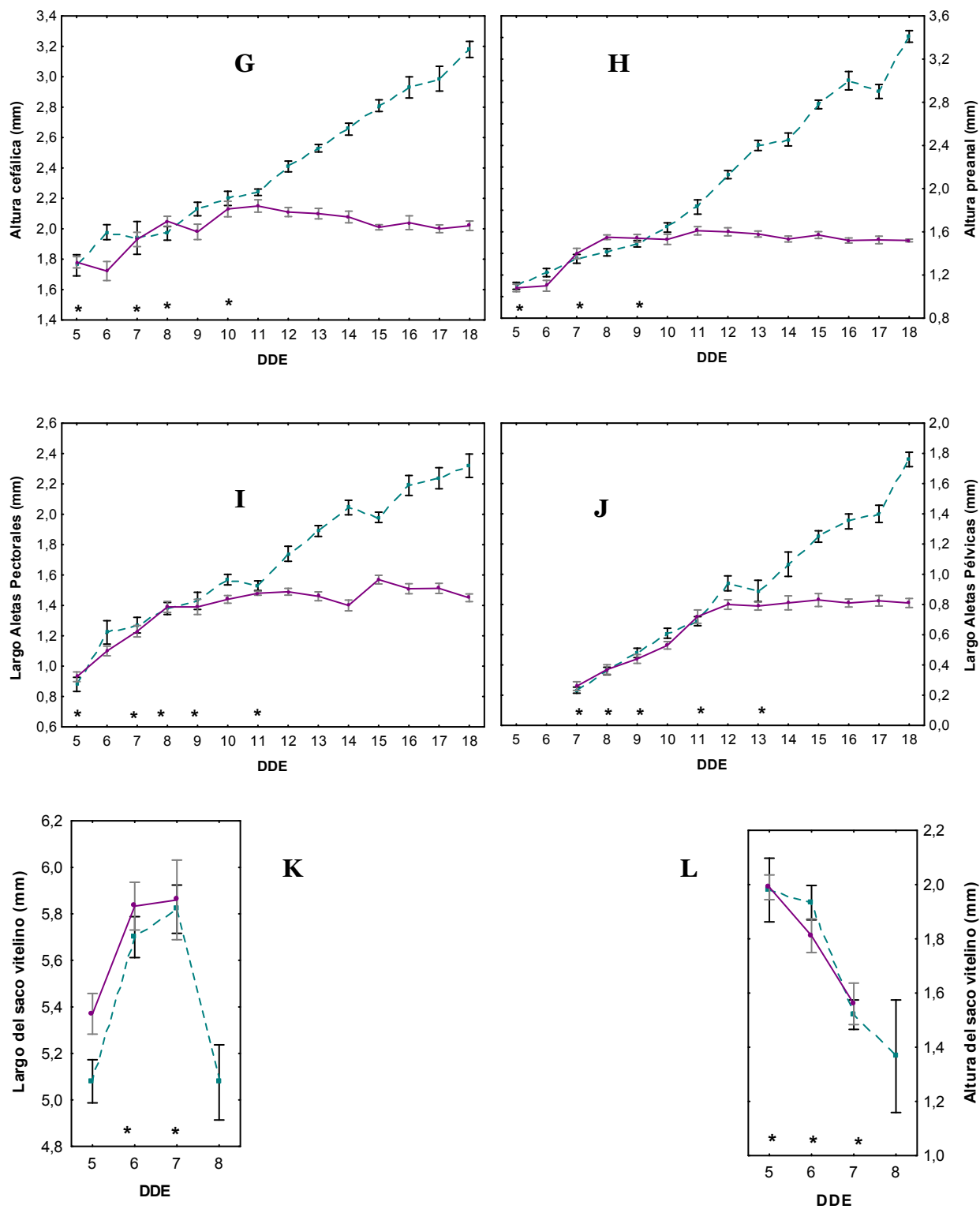


Figura 5. (continuación) G) Altura cefálica, H) Altura preanal, I) Largo de aletas pectorales, J) Largo de aletas pélvicas, K) Largo del saco vitelino, L) Altura del saco vitelino. Cada punto representa la media de 9 mediciones ± ee. Se han señalado con asteriscos (*) los DDE en los que no existe diferencia significativa entre los tratamientos ($p < 0,05$).



Figura 6. Comparación morfológica entre una larva de manjuarí mantenida con alimento exógeno (superior) y una larva mantenida en inanición (inferior) a los 16 DDE.

eclosionadas, se pudieron establecer tres etapas del desarrollo (Comabella et al., 2010). En la primera etapa (que abarca el período desde la eclosión hasta los 3 DDE), las larvas son lecitotróficas, lo cual indica que dependen exclusivamente de fuentes endógenas de alimentación. En esta etapa, ocurre un incremento significativo en longitud corporal debido a la utilización de los elementos del saco vitelino, sin embargo el peso permanece prácticamente estable por no existir la entrada de nutrientes externos. Esto fue confirmado tanto por el estudio de concentración de proteínas en la larva (Comabella et al., 2006), la cual se incrementa significativamente a partir del noveno DDE indicando la entrada de nuevas fuentes de proteínas a través del alimento exógeno, como por el análisis histológico del tracto digestivo (Comabella et al., 2013b).

Al eclosionar, el tracto digestivo es un tubo recto indiferenciado sin comunicación

Relación $\frac{\text{Peso (mg)}}{\text{Largo total (mm)}}$

DDE	Con alimento	Sin alimento
5	2,20	2,14
6	2,23	2,30
7	2,19	2,20
8	2,21	2,29
9	2,19	2,17
10	2,48	2,17
11	2,84	2,06
12	3,46	1,96
13	3,68	1,92
14	4,26	1,85
15	4,51	1,79
16	4,82	1,82
17	5,07	1,84
18	6,58	1,75

Tabla 3. Relación entre el peso húmedo y el largo total de larvas de manjuarí con y sin alimento desde los 5 hasta los 18 días después de eclosionadas (DDE). Se evidencia el cambio en el cociente en los tratamientos con alimento y en inanición a partir del 12 DDE reflejados por el cambio de coloración en la tabla.

con el exterior, como ha sido reportado para otros peces (Peña *et al.*, 2003). Sin embargo, ya a solo 2 DDE están definidas tres regiones: esófago, estómago e intestino, y se hacen también evidentes el tejido hepático y pancreático (Comabella et al., 2013b). Esta diferenciación histológica indica el desarrollo rápido de este sistema a temprana edad, lo que hace posible que una larva de 4 DDE pueda ingerir, digerir y asimilar el primer alimento exógeno antes de la reabsorción completa del saco vitelino.

El cambio morfológico y conductual más drástico observado en las larvas de *A. tristoechus* acontece en la segunda etapa de desarrollo (4-10 DDE). Durante la misma,

(Ostaszewska *et al.*, 2005; Olsen *et al.*, 2008), fisiológicos (Therese *et al.*, 2008a,b), morfométricos y de índices de condición, basados en la relación de ácidos nucleicos (Tanaka *et al.*, 2008; Masuda *et al.*, 2009).

En los bioensayos realizados con las larvas de manjuarí, resultó interesante encontrar una anticipación en el agotamiento externo del vitelo para las larvas en inanición. Esto coincide con lo descrito por Heming *et al.* (1982) en *Oncorhynchus tshawytscha*. Ellos concluyeron que la tasa de absorción del vitelo, que normalmente tiende a crecer conforme se intensifica el proceso de desarrollo larval (Williams *et al.*, 2004), es afectada por la presencia de alimento en el intestino, provocando que la misma disminuya y se comiencen a utilizar los nutrientes del alimento ingerido, lo que permite conservar parte de las reservas vitelinas.

Como se aprecia, todos los caracteres morfométricos medidos, muestran un comportamiento similar tanto en las larvas alimentadas como en inanición durante esta segunda etapa. Esto coincide con los resultados obtenidos con las diferentes dietas, indicando que en esta etapa son las reservas vitelinas las que garantizan los procesos morfogénicos que ocurren en las larvas. De hecho, al analizar el crecimiento en larvas alimentadas, se encontró que durante los días 7 al 11 después de eclosionadas, ni la longitud corporal ni el peso se incrementan significativamente, llegando incluso a mostrar tasas negativas discretas momentáneas. Patrones similares de reducción en el crecimiento han sido también reportados para numerosas especies de teleosteos (Gisbert *et al.*, 2002; Geerinckx *et al.*, 2008).

Después de esta etapa crítica de transición, las larvas son exotróficas, capaces de detectar y depredar el zooplankton de la columna de agua. Durante esta tercera etapa (11-18DDE), se perfeccionan los hábitos carnívoros de esta especie. Con el patrón corporal general alargado ya parecido a un juvenil, las larvas comienzan a ser un poco más activas y mejoran su método de alimentación visual, aunque hacen pocos movimientos innecesarios.

Estas larvas libres nadadoras se caracterizan por un pronunciado incremento diario en el peso, debido a la efectiva asimilación de los nutrientes externos. Esta asimilación fue constatada, tanto por el incremento significativo de los niveles proteicos de las larvas a partir del 9 DDE (Comabella *et al.*, 2006), como por los resultados obtenidos en el experimento del efecto de la inanición, en el cual a partir del 11 DDE comienzan a evidenciarse los cambios drásticos para casi todos los caracteres morfométricos analizados entre las larvas en inanición y las alimentadas. Igualmente, al aplicar el análisis alométrico al crecimiento del manjuarí relacionado con el peso, se encontraron dos fases: los primeros 14 días, con crecimiento alométrico negativo lento y los últimos cuatro días con un crecimiento más rápido igualmente con alometría negativa, indicando que este día marca las diferencias significativas en el coeficiente de crecimiento para esta variable (Comabella *et al.*, 2013a).

En sentido general, los patrones de actividad de las principales enzimas involucradas en el proceso digestivo en esta etapa, así como el desarrollo morfológico del tracto digestivo (Comabella *et al.*, 2006, 2013b), indican el perfeccionamiento y la funcionalidad temprana de este sistema, haciendo válido el

empleo de dietas artificiales. La evaluación de las cinco dietas inertes de iniciación, mostró que a partir de los 12 DDE los tratamientos que incluía a la moina como ingrediente, conllevaban a un incremento significativo del peso. Sin embargo, solamente con la dieta de moina congelada es que se encontraron a los 18 DDE los mejores resultados tanto en incremento en peso como en la supervivencia, obteniéndose incluso valores de peso semejantes a lo logrado en otras experimentaciones con alimento vivo bajo las mismas condiciones experimentales (Comabella *et al.*, 2006).

Para otros lepisosteidos, el empleo de dietas artificiales es un hecho (Mendoza *et al.*, 2002; Márquez *et al.*, 2006), sin embargo, los resultados obtenidos con el pienso para el manjuarí, indicaron que esta fue la dieta menos apropiada en comparación con el resto. A pesar de ser el pienso el que menor porcentaje proteico presentó (48,8 %) cuando se realizaron los análisis bromatológicos, éste se encuentra dentro de los valores establecidos (sobre el 50%) para los requerimientos de las larvas de peces, pues se sabe que las mismas necesitan de altos contenidos proteicos en su dieta (Xiaobo *et al.*, 2003).

En primera instancia, se ha postulado que el aprovechamiento bajo 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 (Kolkovski *et al.*, 1993). Este no es el caso del manjuarí, ya que los resultados muestran que las larvas tienen, incluso antes de iniciar la alimentación exógena, un tracto digestivo morfológica y fisiológicamente más desarrollado que la mayoría de las larvas de otros peces que han podido ser acondicionadas al consumo de

dietas artificiales. Debido a las observaciones realizadas *in situ* durante los bioensayos, en los que se evidenció que los animales bajo este tratamiento mostraron desinterés por la toma del alimento y muchas veces, una vez tomado este, era regurgitado, se considera que sea la baja tasa de ingestión de esta dieta artificial la causa más probable de los resultados obtenidos. Este mismo problema ha sido a menudo observado principalmente en aquellas especies con fuertes hábitos carnívoros (Lovshin y Rushing, 1989). Por otra parte, la preferencia marcada de los lepisosteidos por organismos pelágicos, encontrados en el contenido estomacal de larvas y juveniles, sugieren que su alimentación se realiza principalmente en la superficie (Pearson *et al.*, 1979), por lo que pudiese pensarse que la baja flotabilidad del pienso utilizado, haya contribuido a su poca disponibilidad en la columna de agua durante el tiempo apropiado para ser consumida. Sin embargo, quedó demostrado en este mismo experimento, que las larvas se adaptaron a comer del fondo la moina y artemia congelada, por lo que el problema de la flotabilidad puede haber influido, pero no haber sido el factor determinante en los bajos pesos encontrados en las larvas alimentadas con pienso. No obstante, la utilización de dietas flotantes podría mejorar la tasa de ingestión en comparación con dietas peletizadas, como encontraron García *et al.* (1997) en larvas de *A. tropicus* y Mendoza *et al.* (2002) en larvas de *A. spatula*, por la conducta alimentaria que tienen estos peces.

Consideramos que el punto clave se centra en el empleo de dietas que sean atractivas para las larvas. Con este fin, la aceptación del pienso puede ser incrementado utilizando atrayentes alimenticios (Reig *et al.*, 2003;

Engrola *et al.*, 2009) que favorezcan la detección, identificación y consumo del mismo, además de tener en cuenta las características físicas como el tamaño (Hossain *et al.*, 2000) y la textura, para hacerlo realmente asequible por las larvas de esta especie Kortner *et al.*, 2010).

Queda claro, que este bioensayo fue un primer intento de acondicionar las larvas de manjuarí al consumo de dietas inertes, por lo cual es necesario realizar un número mayor de pruebas, para lograr definir progresivamente una forma adecuada de sustituir el alimento natural por dietas artificiales, tan necesario en el establecimiento de las metodologías de cultivo a gran escala.

Por otra parte, fue interesante encontrar en el experimento del efecto de la inanición, que las mortalidades no excedieron el 2,5 % diario en cualquiera de los tratamientos desde el 5 hasta el 18 DDE, llegando incluso a ser nula en varios de los días de experimentación. No fue hasta el día 23 después de eclosionadas que aparecieron las mortalidades masivas para las larvas sin alimento, que no sobrepasaron los 25 DDE. Sin embargo, en la literatura aparecen reportes de resistencia a la ausencia total de alimento de solo seis días para *Paralichthys olivaceus* (Bolasina *et al.*, 2006), de siete días para *Hippocampus trimaculatus* e *H. kuda* (Sheng *et al.*, 2007) y de 15 días para *A. tropicus* y *A. spatula* (Aguilera, 1999). Estos patrones de mortalidad encontrados para las larvas de manjuarí son el reflejo de la capacidad de resistencia de esta especie, las cuales pueden sobrevivir a períodos prolongados de inanición de hasta 25 días, por lo que posiblemente este haya sido un factor clave en el éxito ecológico que han tenido. Esta resistencia en la etapa larval

puede estar asociada al contenido energético del vitelo en el huevo, de manera similar a lo señalado por Dabrowski *et al.* (1985) en *Acipenser baeri* y como han encontrado Kristjhnsson y Vollestad (1996) en *Oncorhynchus mykiss*. También puede deberse a cambios fisiológicos, como han sido descritos en otras especies de peces como son: la reducción de algunos metabolitos en el plasma como la glucosa, amino ácidos y el colesterol sanguíneo (Ostaszewska *et al.*, 2005; Pérez-Jiménez *et al.*, 2007), la movilización de grasa en los tejidos (Regost *et al.*, 2001) y la disminución del consumo de oxígeno (Yengkokpam *et al.*, 2008). Sería muy interesante poder profundizar en los mecanismos que permiten esta resistencia a períodos prolongados de ausencia de alimento encontrados en la etapa larval de *A. tristoechus*.

Los patrones de coloración hallados en las larvas en inanición coinciden con lo descrito por Aguilera (1999) para *A. spatula*, sin embargo, no se mostraron conductas de canibalismo como sí encontró Hernández (1999) para *A. tropicus* en ensayos similares de ausencia de alimento. Esta conducta para el pejelagarto ha sido asociada a la inanición y a la densidad alta de siembra, donde el canibalismo o conductas semejantes garantizan a las larvas la supervivencia, confiriéndoles un estado de salud y crecimiento superiores que al resto de los peces.

Al analizar la relación entre las variables morfométricas y la longitud total en las larvas en inanición, no se encontró que existiera crecimiento desproporcionado, excepto para el peso. Aunque a simple observación estas larvas se presentan con una cabeza aparentemente mayor con respecto al largo total, los análisis

morfométricos no indican de esto un hecho. Pudiese ser la relación entre el peso y la longitud total, junto con los patrones morfológicos y conductuales descritos para individuos bajo regímenes de alimentación *ad libitum* y en inanición, elementos a tener como referencia para evaluar la condición nutricional de larvas cuya edad o historia nutricional se desconozcan. Esto pudiera ser de utilidad práctica al realizar observaciones directas sobre grupos de larvas vivas, ya sea en ejemplares silvestres como de cultivo, siendo un indicador rápido de la condición de las larvas. Además de poder convertirse en una herramienta útil para la implementación futura de técnicas de cultivo masivo para la repoblación de los ambientes naturales en los que se encontraba la especie en Cuba. No obstante, sería válido profundizar en el estudio de los cambios histológicos y fisiológicos que se presentan en esta especie sometida a varios días de inanición, así como la determinación del punto de no retorno para la misma.

REFERENCIAS

- Aguilera C (1999) Bases fisiológicas del desarrollo de larvas de catán (*Atractosteus spatula*) y perspectivas para su cultivo. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas con especialidad en Acuicultura, Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Alfonso A, Gutiérrez M (1995) Humedales 1994 Memorias del II Simposio Internacional Humedales'94. Editorial Academia, La Habana, p 215.
- AOAC (1990) Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists.
- Bolasina S, Pérez A, Yamashita Y (2006) Digestive enzymes activity during ontogenetic development and effect of starvation in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 252:503-515.
- Comabella Y, Azanza J, Hurtado A, Canabal J, García-Galano T (2013a). Allometric growth in Cuban gar (*Atractosteus tristoechus*) larvae. *Universidad y Ciencia* 29(3):301-315.
- Comabella Y, Hernández A, Hurtado A, Canabal J, García-Galano T (2013b) Ontogenetic development of the digestive tract in Cuban gar (*Atractosteus tristoechus*) larvae. *Rev Fish Biol Fisheries* 23:245-260.
- Comabella Y, Hurtado A, García-Galano T (2010) Morphological and Morphometric Description of Cuban Gar (*Atractosteus tristoechus*) Larvae. *Zool. Sci.* 27:931-938.
- Comabella Y, Mendoza R, Aguilera C, Carrillo O, Hurtado A, García-Galano T (2006) Digestive enzyme activity during early larval development of the Cuban gar *Atractosteus tristoechus* *Fish Physiol. Biochem.* 32:147-157.
- Dabrowski K, Kaushik S, Fauconneau B (1985) Rearing of Sturgeon (*Acipenser baeri* Brant) Larvae. I.- Feeding Trial. *Aquaculture* 47:185-192.
- Engrola S, Figueira L, Conceição L, Gavaia P, Ribeiro L, Dinis MT (2009) Co-feeding in Senegalese sole larvae with inert diet from mouth opening promotes growth at weaning. *Aquaculture* 288:264-272.
- García J, Márquez G, Paramo S (1997) Utilización del alimento fresco y artificial en la sustitución del 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 UJAT, Tabasco, p 61-64.

- Geerinckx T, Verhaegen Y, Adriaens D (2008) Ontogenetic allometries and shape changes in the suckermouth armoured catfish *Ancistrus cf. triradiatus* Eigenmann (Loricariidae, Siluriformes), related to suckermouth attachment and yolk-sac size. *J. Fish Biol.* 72:803-814.
- Gisbert E, Merino G, Muguet JB, Bush D, Piedrahita RH, Conklin DE (2002) Morphological development and allometric growth patterns in hatchery-reared California halibut larvae. *J. Fish Biol.* 61:1217-1229.
- Heming A, Inerney EM, Alderdice F (1982) Effect of temperature on initial feeding in alevins of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39:1554-1562.
- Hernández U (1999) Punto crítico de no retorno en larvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus* Gil I, 1863. UJAT, Tabasco.
- Hossain M, Haylor G, Beveridge M (2000) The influence of food particle size on gastric emptying and growth rates of fingerling African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell, 1822. *Aquacult. Nutr.* 6:73-78.
- Kolkovski S, Tandler A, Kissil G, Gertler A (1993) The effect of dietary exogenous digestive enzymes on ingestion, assimilation, growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, Sparidae, Linnaeus) larvae. *Fish Physiol. Biochem.* 12:203-209.
- Kortner TM, Overrein I, Øie G, Kjørsvik E, Arukwe A (2010) The influence of dietary constituents on the molecular ontogeny of digestive capability and effects on growth and appetite in Atlantic cod larvae (*Gadus morhua*). *Aquaculture*:doi:10.1016/j.aquaculture.2010.1004.1008.
- Kristjansson L, Vollestad L (1996) Individual variation in progeny size and quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.* 27:335-343
- León R, Aguiar R, Hernández I (1978) Estudio sobre la biología y el cultivo artificial del manjuarí (*Atractosteus tristoechus*) Blosh y Schneider, Dirección Ramal de Acuicultura, La Habana.
- Lovshin LL, Rushing JH (1989) Acceptance by largemouth bass fingerlings of pelleted feeds with a gustatory additive. *The Progressive Fish Culturist* 51:73-78.
- Márquez G, Álvarez C, Contreras W, Hernández U, Hernández A, Mendoza R, Aguilera C, García T, Civera R, Goytortua E (2006) Avances en la alimentación y nutrición del pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In: E. Cruz DR, M. Tapia, M. Nieto, D. Villareal, A. Puello y A. García (ed) Avances en Nutrición Acuícola, Monterrey, México, p 446-523.
- Masuda Y, Oku H, Okumura T, Nomura K, Kurokawa T (2009) Feeding restriction alters expression of some ATP related genes more sensitively than the RNA/DNA ratio in zebrafish, *Danio rerio*. *Comp. Biochem. Physiol.* 152:287-291.
- Mendoza R, Aguilera C, Rodríguez G, González M, Castro R (2002) Morphophysiological studies on alligator gar (*Atractosteus spatula*) larval development as a basis for their culture and repopulation of their natural habitats. *Fish Biol. Fish.* 12:133-142.
- Moteki M, Yoseda K, Sahin T, Ustundag C, Kohno H (2001) Transition from endogenous to exogenous nutritional sources in larval Black Sea turbot *Psetta maxima*. *Fish. Sci.* 67:571-578.
- Olsen RE, Sundell K, Ringø E, Myklebust R, Hemree G, Hansen T, Karlsen Ø (2008) The acute stress response in fed and food deprived Atlantic cod, *Gadus morhua* L. *Aquaculture* 280:232-241.

- Ostaszewska T, Korwin M, Wolnicki J (2005) Morphological changes of digestive structures in starved tench *Tinca tinca* (L.) juveniles. *Aquacult. Int.* 14:15-18.
- Pearson WD, Thomas GA, Clark AL (1979) Early piscivory and timing of the critical period in postlarval longnose gar at mile 571 of the Ohio River. *Trans. Ky. Acad. Sci.* 40:122-128.
- Peña R, Dumas S, Villalejo-Fuerte M, Ortiz-Galindo JL (2003) Ontogenetic development of the digestive tract in reared spotted sand bass *Paralabrax maculatofasciatus* larvae. *Aquaculture* 219:633-644.
- Pérez-Jiménez A, Guedes MJ, Morales AE, Oliva-Teles A (2007) Metabolic responses to short starvation and refeeding in *Dicentrarchus labrax*. Effect of dietary composition. *Aquaculture* 265: 325-335.
- Prats FL (2003) Morfometría externa y morfología de las gónadas masculinas de *Atractosteus tristoechus* (Pisces: Lepisosteidae). Tesis de maestría en Zoología y Ecología, Universidad de la Habana.
- Regost C, Arzel J, Cardinal M, Laroche M, Kaushik SJ (2001) Fat deposition and flesh quality in seawater reared, triploid brown trout (*Salmo trutta*) as affected by dietary fat levels and starvation. *Aquaculture* 193:325-345.
- Reig L, Ginovart M, Flos R (2003) Modification of the feeding behaviour of sole (*Solea solea*) through the addition of a commercial flavour as an alternative to betaine. *Aquat. Living Resour.* 16:370-379.
- Sheng J, Lin Q, Chen Q, Shen L, Lu J (2007) Effect of starvation on the initiation of feeding, growth and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach and *Hippocampus kuda* Bleeker. *Aquaculture* 271:469-478.
- Simon T, Wallus R (1989) Contributions to the early life histories of gar (Actinopterygii: Lepisosteidae) in the Ohio and Tennessee River Basins with emphasis on larval development. *Trans. Ky. Acad. Sci.* 50:59-74.
- Tanaka Y, Satoh K, Yamada H, Takebe T, Nikaido H, Shiozawa S (2008) Assessment of the nutritional status of field-caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery-reared fish. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 354:56-64.
- Therese N, Scott J, Kwong Y, Fun S, Stuart J. (2008a) Carbohydrate and amino acid metabolism in fasting and aestivating African lungfish (*Protopterus dolloi*) *Comp. Biochem. Physiol.* 151:85-92.
- Therese N, Scott J, Kwong Y, S. Fun, Stuart J (2008b) Lipid, ketone body and oxidative metabolism in the African lungfish, *Protopterus dolloi* following 60 days of fasting and aestivation. *Comp. Biochem. Physiol.* 151:93-101.
- Vergara R (1992) Principales características de la ictiofauna dulceacuícola cubana.
- Williams K, Papanikos N, Phelps RP, Shardo JD (2004) Development, growth, and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Mar. Ecol. Prog. Series* 275:231-239.
- Xiaobo W, Yaomei K, Jingbo L (2003) Protein requirement and optimum ration of dietary protein to energy for juvenile Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. *Mar. Sci.* 27:38-43.
- Yengkokpam S, Pal AK, Sahu NP, Jain KK, Dalvi R, Misra S, Debnath D (2008) Metabolic modulation in *Labeorohita* fingerlings during starvation: Hsp70 expression and oxygen consumption. *Aquaculture* 285:234-237.