

## **Autorización para Publicar en un E-Repositorio de Acceso Abierto**

Apellido y nombres: ARISTIZABAL, EDDIE OSCAR

DNI:

Correo electrónico: eddie@inidep.edu.ar

AUTORIZO por la presente a la Biblioteca y Servicio de Documentación INIDEP a publicar en texto completo el trabajo final de **Tesis** de mi autoría que se detalla, permitiendo la consulta de la misma por Internet, así como la entrega por Biblioteca de copias unitarios a los usuarios que lo soliciten con fines de investigación y estudio.

Título del trabajo: **Bioenergética del besugo, Pagrus pagrus.**

Año: 2003

Título y/o grado que opta: Doctorado

Facultad: Universidad Nacional, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Mar del Plata

Firma:



Fecha: 28/04/2016

OceanDocs:

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

TESIS DOCTORAL

**BIOENERGETICA DEL BESUGO**  
***Pagrus pagrus***

**Eddie Oscar Aristizabal Abud**

Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas

**Director de Tesis: Dr. Bruno L. Prenski**

- 2003 -



El presente trabajo para optar al Título de Doctor en Ciencias Biológicas se desarrolló en el Laboratorio de Maricultura del INIDEP, (Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero ) bajo la dirección del Dr. Bruno Leszek Prenski



A mi esposa Laura

A mis hijos Gastón y Federico

A mi madre

# INDICE GENERAL

<u>Tema</u>	<u>página</u>
<b>Indice de tablas y figuras por capítulo</b>	iv
<b>Resumen</b>	xi
<b>Agradecimientos</b>	xv
<b>Abreviaturas</b>	xvi
<b>Capítulo 1: Introducción            General</b>	
Introducción General	1
Características del besugo <i>Pagrus pagrus</i>	2
Problemática a resolver, objetivo e hipótesis	5
Principios bioenergéticos	7
Clases de nutrientes:	9
Carbohidratos	9
Lípidos	9
Proteínas y aminoácidos	11
Substratos respiratorios	11
Equivalencias y definiciones	13
Modelos bioenergéticos y aplicaciones al manejo de pesquerías	15
El desarrollo de los modelos bioenergéticos	16
Otras aplicaciones de los modelos bioenergéticos	17
Tendencias	18
<b>Capítulo 2: La energía en el proceso gametogénico femenino</b>	
Introducción	22
Materiales y Métodos	24
Resultados y Discusión	28
Reproducción	28
Características y calidad de los huevos	40
Esfuerzo reproductivo	46
Conclusiones	50

### **Capítulo 3: Procesos energéticos en el desarrollo larval**

Introducción	52
Materiales y Métodos	53
Estimación del requerimiento alimenticio por respiración	57
Resultados	58
Tasa de crecimiento y utilización del alimento	63
Discusión	76
Tasa metabólica	83
Conclusiones	87

### **Capítulo 4: Utilización del alimento**

Introducción	89
Materiales y Métodos	91
Frecuencia alimenticia	92
Crecimiento	92
Consumo de oxígeno	93
Excreción y producción de heces	94
Resultados y Discusión	
Frecuencia alimenticia y crecimiento	95
Consumo de oxígeno	101
Excreción	105
Conclusiones	109

### **Capítulo 5: Hacia una estimación del balance energético del besugo**

Introducción	110
Materiales y Métodos	111
Resultados y Discusión	111
Conclusiones	114

### **Conclusiones Generales**

Presupuesto energético como indicador de cambios ambientales	119
---	-----

### **Bibliografía**

122

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS POR CAPITULO

página

### CAPITULO I

Figura 1.	Fotografía de un ejemplar de besugo adulto.	3
Figura 2.	Area de distribución del besugo en la Provincia de Buenos Aires, según Cotrina (1989).	4
Figura 3.	Evolución y tendencia de las capturas de besugo. Fuente: SAGPyA.	5

### CAPITULO II

Tabla I.	Características del stock reproductor en diferentes temporadas reproductivas.	24
Tabla II.	Dosis de iodo Povidona utilizado en la desinfección de los huevos en un volumen de 4 l de agua.	26
Tabla III.	Estadios del desarrollo de huevos de besugo a tres temperaturas. Tiempo 0: fertilización.	36
Tabla IV.	Cantidad de huevos obtenidos en relación al peso de las hembras para distintos períodos.	40
Tabla V.	Composición química proximal y contenido de carbono (C), nitrógeno (N), peso seco (PS) y energía en huevos de besugo ( $\pm$ DE).	42
Tabla VI.	Estimación de los componentes del presupuesto energético en hembras de besugo.	50
Figura 1.	Variación de la temperatura y el fotoperíodo en el tanque de reproductores de besugo durante dos temporadas reproductivas.	25
Figura 2.	Tanque de puesta con colector de huevos dentro del sistema de recirculación de agua de mar.	26
Figura 3-I.	Desarrollo de los huevos de besugo. Ovulo fertilizado. B. Estadio de dos células.	28

Figura 3-II.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de 4 células. B. Estadio de 8 células.	29
Figura 3-III.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de 16 células. B. Estadio de 32 células.	30
Figura 3-IV.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de mórula tardía. B. Estadio de media blástula.	31
Figura 3-V.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de gástrula inicial (costado). B. Estadio de gástrula inicial (arriba).	32
Figura 3-VI.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de media gástrula. B. Estadio de gástrula tardía.	33
Figura 3-VII.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Formación del embrión. B. Estadio de 11-13 somitos y presencia de la vesícula de Kupffer.	34
Figura 3-VIII.	Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio previo a la eclosión. B. Larva recién eclosionada.	35
Figura 4.	Proporción de los distintos estadios de desarrollo de los huevos de besugo colectados diariamente en la temporada 2001/2002 (18°C). B, 3hs; C, 4hs; D-E, 6-16hs; E+, 17hs y G, 45hs.	38
Figura 5.	Relación entre el peso húmedo y la cantidad de huevos viables (flotantes) de besugo en la temporada 2001/2002.	41
Figura 6.	Variación de la tasa de eclosión y el SAI para diferentes períodos reproductivos en besugo: A) reproducción 2001-2002; B) reproducción 2002-2003.	43
Figura 7.	Diámetro de los huevos de besugo obtenidos de las puestas en cautiverio durante distintas estaciones reproductivas: A) 1999-2000 B) 2000-2001 C) 2001-2002.	44
Figura 8.	Efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo de huevos de besugo.	45

CAPITULO III

Tabla I.	Parámetros de crecimiento estimados para larvas de besugo (n = 2 x 50, P<0,01) a 18°C y 20°C.	60
Tabla II.	Peso seco (PS, µg/larva), carbono (C), nitrógeno (N), ceniza, relación C/N y contenido de energía (J/mg) en larvas de besugo (n = 3 x 150, P<0,01). Todos los valores están expresados en peso seco libre de cenizas (PSLC).	69
Tabla III.	Eficiencias de conversión de huevo a larva calculadas para larvas recién eclosionadas (0) y larvas que han consumido su vitelo (4), a 18°C.	70
Tabla IV.	Resultados de la estimación estadística no lineal correspondiente a las curvas de la Figura 13 (n=160; SE= error estándar).	75
Tabla V.	Presupuesto de carbono para el metabolismo y la alimentación de larvas recién eclosionadas basado en datos de respiración.	75
Tabla VI.	Cociente de nitrógeno (NQ) y porcentaje de disipación de energía aeróbica derivada del catabolismo de aminoácidos (AA) y ácidos grasos (AG) en larvas de besugo criadas a 18±0,5°C.	82
Tabla VII.	Análisis de regresión de las relaciones entre el consumo de oxígeno por unidad de masa M/W (µl/g*min) y la edad D (TDE); entre el consumo de oxígeno M (µl/min) y el peso del cuerpo W (g); y entre el peso del cuerpo y el largo total (Lt mm).	86
Figura 1.	Imagen de una larva vitelina de besugo en el día 2 (TDE; 18°C).	59
Figura 2.	Desarrollo de los huesos de la boca y estructuras relacionadas en larvas de besugo. A) 3 días (TDE). B) 5 días (TDE). C) 21 días TDE. D) Arcos branquiales 5 días (TDE).	61

	página
Figura 3.	Cambios en la longitud de la cabeza (A), del cartílago ceratohial-epihial (B) y en el tamaño de la boca (C) en boca en larvas de besugo. 62
Figura 4.	Relación entre el largo total (Lt, mm) de la larva de besugo y el tiempo después de la eclosión (TDE, días) a 18°C y 20°C. 64
Figura 5.	Relación entre la tasa de crecimiento de larvas de besugo y el tiempo después de la eclosión (TDE) a 18°C y 20°C. 64
Figura 6.	Relación entre el diámetro del ojo y el Lt en larvas y juveniles de besugo, mostrando el patrón clásico único de crecimiento. 65
Figura 7.	Perfil de crecimiento (coeficiente <i>k</i> ) de las mediciones longitudinales de los distintos segmentos del cuerpo (porcentaje del largo total, Lt), ilustrados en la parte superior. A) individuos entre 3-40 mm Lt. B) individuos entre 55-75 mm Lt. 66
Figura 8.	Volumen del saco vitelino (A) y la gota oleosa (B) en larvas de besugo. 67
Figura 9.	Relación entre la eficiencia del desarrollo larval y el tiempo después de la eclosión en besugo a 18°C y 20°C. 68
Figura 10.	Número de larvas de besugo en los tanques de cría durante los primeros nueve días del experimento a 18°C y 20°C. 70
Figura 11.	Cantidad de rotíferos (individuos/larva) encontrados en el intestino de las larvas de besugo a 18°C. La flecha indica el momento de la apertura de la boca. 71
Figura 12.	Cambios en los contenidos de carbono (C), nitrógeno (N) y cenizas durante el desarrollo larval. Temperatura 18°C. 72
Figura 13.	Cambios en el peso seco (mg) durante el desarrollo larval de besugo (18°C). 72

	página
Figura 14. Cambios en el contenido de energía total y en la energía de lípidos y proteínas a través del desarrollo de las larvas de besugo (18°C).	73
Figura 15. Excreción de amonio en larvas de besugo (18°C).	73
Figura 16. Relación entre la tasa de consumo de oxígeno y el peso seco en larvas de besugo (18°C).	74
Figura 17. Cambios en el consumo de oxígeno peso-específico a lo largo del desarrollo de las larvas de besugo (18°C). Varianza explicada = 90,50%.	75
Figura 18. Representación esquemática del desarrollo de los elementos de la cavidad oral y aletas de besugo. (○) aparición de elemento cartilaginoso; (●) aparición de elemento óseo o inicio de la osificación del cartílago.	78

#### CAPITULO IV

Tabla I. Exponente del peso para las relaciones entre alimentación y peso del cuerpo en varias especies de peces.	90
Tabla II. Rango de peso (g) de los ejemplares de besugo y temperatura de los ensayos.	91
Tabla III. Frecuencia alimenticia de los ensayos de alimentación en besugo.	92
Tabla IV. Composición proximal (%) del calamar y dieta utilizados como alimento.	92
Tabla V. Valores de los parámetros físico-químicos más importantes en el agua de los tanques en recirculación cerrada.	93
Tabla VI. Resultados de las pruebas de alimentación utilizando calamar como alimento a 14°C.	96
Tabla VII. Resultados de las pruebas de alimentación utilizando calamar como alimento a 20°C.	96

página

---

Tabla VIII.	Tasas de alimentación de mantenimiento, óptima y máxima para besugo obtenidas en las pruebas de laboratorio a dos temperaturas.	99
Tabla IX.	Componentes del presupuesto energético en diez grupos de besugo medidos en un respirómetro durante 10 h (09:00-19:00) y alimentados una vez al día con calamar al 1%/día. La duración total del engorde fue de 50 días a una temperatura de $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Coeficiente de trabajo total ( $\eta_{\text{tot}}$ ): incremento en peso / metabolismo de rutina ( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ ). Coeficiente de trabajo neto ( $\eta_{\text{neto}}$ ): incremento en peso / acción dinámica específica (SDA)( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ ).	105
Figura 1.	Tasa de conversión de alimento (A) y tasa de alimentación (B) a $14^\circ\text{C}$ y $20^\circ\text{C}$ de temperatura, expresada en términos de energía para las distintas frecuencias alimenticias: 1) 1 cada 3 días; 2) 1 cada 2 días; 3) 1 por día y 4) 2 por día.	95
Figura 2.	Relación entre la tasa de alimentación y de crecimiento para ejemplares de besugo alimentados con calamar: A) $20^\circ\text{C}$ y B) $14^\circ\text{C}$ .	98
Figura 3.	Relación entre la tasa de alimentación y la eficiencia de absorción para ejemplares de besugo a $14^\circ$ y $20^\circ\text{C}$ . $\text{EA}\% = (\text{tasa de absorción } \text{j/g} \cdot \text{día} / \text{tasa de alimentación } \text{j/g} \cdot \text{día}) \times 100$ .	99
Figura 4.	Eficiencia de conversión de alimento para ejemplares de besugo a A) $20^\circ\text{C}$ y B) $14^\circ\text{C}$ de temperatura. Eficiencia de conversión = peso ganado/alimento consumido * 100.	100
Figura 5.	Tasa metabólica en relación al peso seco del cuerpo de besugos a diferentes temperaturas	101
Figura 6.	Efecto de la ingestión de alimento (calamar al 1% del peso húmedo / día) sobre el consumo de oxígeno ( $\text{mgO}_2/\text{kg} \cdot \text{h}$ ) en besugos de 500g de peso total. Hora de la ingesta 8 AM.	103

Figura 7. Influencia de la hora de la ingesta sobre la excreción de nitrógeno ( $N_2$ ) en ejemplares de besugo de A) 600-800g B) 200-400g. El alimento utilizado fue calamar y balanceado (dieta). La alimentación se realizó a las 08:00 h al 1% del peso húmedo del cuerpo. PP: post-absorción, A-24: ayuno por 24 h, A-48: ayuno por 48 h; dieta: alimento artificial.

106

## CAPITULO V

Tabla I. Componentes energéticos y eficiencias (%) en larvas vitelinas de entre 0-3 días (TDE), juveniles (45-100g) y hembras adultas (758,4±117,3g) de besugo. Juveniles y adultos alimentados con calamar. A= alimento consumido; Gs= crecimiento somático; Gg= crecimiento gonadal; M= metabolismo; H= heces; U= excreción; EM= energía metabolizable (G+M); EA= eficiencia de absorción (A-U)/A; M/A= proporción de la energía utilizada en el metabolismo

113

Figura 1. Componentes energéticos expresados como: A) porcentaje diario del vitelo absorbido ( $V_a$ ) en larvas de besugo de entre 0 y 3 días (TDE, 18°C). B) porcentaje diario de la energía del alimento ingerido en besugos juveniles (45-100g). C) porcentaje anual de la energía del alimento ingerido en hembras adultas de besugo (500g). Gg= crecimiento somático; Gg= crecimiento gonadal; M= metabolismo de rutina; U= excreción; H= heces. Las barras verticales indican el desvío estándar.

112

# RESUMEN

## Justificación

La presente tesis se refiere a la utilización de la energía de los alimentos por parte del besugo (*Pagrus pagrus* Linnaeus, 1758) del Mar Argentino. Los trabajos experimentales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Maricultura del INIDEP tanto con ejemplares capturados del medio natural en diversas campañas del instituto, como con aquellos obtenidos de las puestas espontáneas de los reproductores en cautiverio.

Desde el punto de vista energético, se propone como hipótesis que la estrategia de partición de la energía de los alimentos, su utilización y almacenamiento, es un indicador de la respuesta del organismo a las condiciones ambientales.

El estudio de la bioenergética en peces puede proveer respuesta a los problemas de la acuicultura, puede proveer datos cuantitativos de producción y rendimiento en el manejo de los stocks pesqueros y puede ayudar a entender las adaptaciones de especies diferentes en el medio ambiente en equilibrio dinámico, mediante el examen del balance de energía de un animal.

La falta de información sobre el uso de la energía en esta especie hizo que este trabajo de tesis se orientara a la obtención de información básica sobre la biología y aspectos bioquímicos y fisiológicos, con la finalidad de aportar datos que contribuyan a un mejor entendimiento de las características ecológicas de la especie.

El objetivo general fue conocer las derivaciones de la energía de los alimentos y su partición en los distintos componentes de la ecuación bioenergética. Para tal fin, el plan de investigación fue desarrollado en capítulos estructurados como trabajos independientes, donde se describen los materiales y métodos, se desarrollan los resultados y esbozan las conclusiones alcanzadas.

## Capítulo I. Introducción General

Se presenta en este Capítulo una introducción sobre el significado que tienen los estudios bioenergéticos en peces y su aplicación en especies de interés comercial. Se presenta una breve información pesquera del besugo y se realiza una revisión de las características de la especie basada en los trabajos de Ciechomski y Weiss (1973); Ciechomski y Cassia (1974); Manooch (1976); Cotrina y Cousseau (1977); Cotrina (1989) y Cotrina y Christiansen (1994). Se incluyen también algunos datos básicos sobre los aspectos bioquímicos de los nutrientes y varias definiciones de términos metabólicos, útiles para una mejor comprensión de los temas.

Los estudios bioenergéticos realizados en teleósteos marinos podrían proveer respuestas a los problemas de producción que se presentan en la acuicultura y de rendimiento en el manejo de los stocks pesqueros. Así se podría contar con una herramienta que ayude a comprender los mecanismos adaptativos de diferentes poblaciones mediante el examen del balance de energía de un animal.

## **Capítulo II. La energía en el proceso gametogénico femenino**

En este Capítulo se analiza el desove en cautiverio, que junto a datos biológicos de desembarque y muestreos en campañas de los BIP's INIDEP, se utilizaron para estimar la inversión energética mensual en hembras de besugo durante el ciclo de producción anual de ovocitos.

Se realizaron análisis químicos proximales de ovarios y huevos para determinar el contenido energético de los mismos y estimar así el crecimiento gonadal. Se utilizaron dos índices para calcular la inversión energética de las hembras en los ovarios: i) la proporción de cambio de energía neta diaria en los ovarios en relación al alimento consumido (esfuerzo) y, ii) el costo reproductivo. Durante diciembre y enero, la hora de puesta en el tanque de reproductores se estimó aproximadamente a las 16hs. En estos meses, las hembras de besugo poseyeron tanto ovocitos en estado final de vitelogénesis, como otros en procesos iniciales de maduración, evidenciando que el vitelo continuamente se produce en los ovarios durante varios meses del año y que la dieta juega un papel importante en la calidad de los huevos y larvas.

Se detectaron períodos de almacenamiento de energía en ovarios y períodos estables a lo largo del año. El contenido de energía de los ovarios muestreados se incrementó significativamente a partir de junio. La estimación del esfuerzo reproductivo reveló que aproximadamente la misma proporción de la energía de los alimentos fue dirigida a los ovarios entre marzo y junio, mostrando a las hembras de besugo menos comprometidas energéticamente con el proceso reproductivo durante el otoño e invierno. Se estimó en 12,3% el porcentaje de la energía de los alimentos que anualmente se deriva a los ovarios de la hembra de besugo.

## **Capítulo III. Procesos energéticos en el desarrollo larval**

Se analizan los costos energéticos involucrados en el desarrollo larval y su dependencia del alimento. Se detallaron especialmente el desarrollo de estructuras críticas para la sobrevivencia larval, como el sistema alimenticio y respiratorio, y se correlacionaron con los análisis químicos proximales. Se estimaron los niveles de consumo de oxígeno y excreción de amonio para realizar cálculos energéticos de utilización de substratos respiratorios (proteínas y lípidos) por parte de las larvas en desarrollo.

Los resultados indican que la eclosión es un evento crítico donde se conjugan cambios morfológicos y fisiológico. El pasaje de la alimentación endógena a exógena marca otro importante momento en la vida larval, en el cual se detectaron cambios en la composición del cuerpo como consecuencia de la transformación del vitelo en tejido larval o energía.

El estadio de 3 y 4 días (TDE; 20°C y 18°C, respectivamente) parece indicar el momento clave de desaparición del vitelo y la aparición de alimento externo en el tracto digestivo. Los lípidos derivados de la gota oleosa fueron el combustible aeróbico dominante para las larvas de besugo a partir del día 1 (TDE). Los cambios en el contenido de C y N observados sugieren que durante el estadio vitelino, las larvas convierten preferentemente compuestos ricos en carbono, principalmente lípidos, y sólo cuando las reservas de vitelo se acaban, lípidos y proteínas se consumen o incorporan a una tasa similar.

El consumo de oxígeno en larvas de besugo mostró un cambio isométrico en relación al peso, por lo que la tasa de consumo se considera prácticamente independiente del tamaño del cuerpo en este estadio del desarrollo. La disminución de la tasa metabólica peso-específica con el aumento del peso del cuerpo no sería un fenómeno generalizado en el reino animal.

#### **Capítulo IV. Utilización del alimento**

Este Capítulo hace referencia a la energía del alimento destinada al crecimiento somático, al metabolismo y a las pérdidas energéticas por excreción y producción de heces.

La tasa de alimentación y la tasa de conversión de alimento se incrementaron con el aumento de la frecuencia alimenticia. La mayor frecuencia alimenticia no produjo las tasas máximas de alimentación ni crecimiento, por el contrario, los valores se redujeron significativamente. El óptimo trófico para la utilización del alimento se alcanzó con una comida diaria, la cual rindió las mayores tasas de alimentación y conversión. Esta especie presentó una baja tasa de crecimiento evidenciada en los bajos valores de eficiencia.

Se sugiere que el primer pulso de la excreción post-absorción de amonio tendría una doble componente endógena-exógena. El segundo pulso aparentemente depende de los procesos digestivos (tiempo).

## **Capítulo V. Hacia una estimación del balance energético del besugo**

Se recopilan los resultados de los precedentes Capítulos para bosquejar un presupuesto energético preliminar para la especie.

La estrategia de utilización de las reservas de energía endógena en los tres primeros días de vida de la larva, mostró claramente la prioridad asignada a la organogénesis, la cual debe preparar a los individuos para el inicio de la alimentación exógena. A medida que los peces crecieron, el almacenamiento de energía como nuevo tejido (crecimiento) fue disminuyendo para darle prioridad al crecimiento gonadal y al metabolismo.

**Palabras clave:** bioenergética, partición de energía, fisiología, metabolismo, teleosteo marino, besugo, huevos, larvas, *Pagrus pagrus*

## **Agradecimientos**

Al Dr. Bruno Leszek Prenski por su amistad, su confianza y su constante aliento para llevar adelante esta tesis.

A la Dra. Berta Cousseau por sus acertadas correcciones, por su valioso tiempo, por sus críticas, por su interés y por sus sugerencias que llevaron a darle forma entendible a esta Tesis. A los Drs. Esperanza Radín, Marcelo Pájaro, Luis Patronelli y Hermes Mianzán por la lectura crítica del manuscrito y sus invalorable aportes y observaciones al mismo.

A mis compañeros de laboratorio: Lic. Gabriel Bambill, Lic. Mónica Muller, Lic. Andrea López, MSc. Mariela Radonic, Lic. Mariana Cadaveira, Téc. Adrián Vega, Sr. Hortencio Orellano, Sr. Federico Bianca y Sr. Juan José Bocanfuso, cuya ayuda y colaboración en la realización de los distintos trabajos fue de capital importancia para la concreción de esta tesis.

Al Lic. Daniel Hernández por su calidez humana y su invaluable soporte estadístico para el análisis de los datos. A la Lic. Mónica Fernández por enseñarme a determinar el contenido de carbono y nitrógeno en las muestras. A las amigas bibliotecarias del INIDEP, Guillermina Cosulich, Gabriela Silvoni, Margarita de Wild y Nora Grille que siempre atendieron mis consultas con una sonrisa y me ayudaron en las búsquedas bibliográficas.

A la Lic. Laura Machinandiarena por su ayuda en las técnicas de tinción de larvas, nomenclatura, por sus invalorable recomendaciones sobre el tema y por facilitarme datos morfológicos del besugo.

Al Dr. Ramiro Sánchez, Director a cargo del INIDEP, y a la Directora del Área de Investigación, Operaciones y Tecnología del INIDEP, Lic. María Isabel Bertolotti, por permitirme llevar adelante esta tesis.

A los Ingenieros Químicos Alberto Barral y Emilio Manca, al Téc. Nazareno Bergamaschi, al Profesor Juan Carlos Carrizo y al Lic. Jorge Sánchez, sin los cuales no se podrían haber llevado adelante los análisis químicos proximales del alimento, heces y gónadas de besugo a lo largo de varios años. Al Dr. R. Zamaruga por los microanálisis de TG, proteínas y lípidos en huevos y larvas de besugo.

A los antiguos y nuevos técnicos de muestreo de desembarque, MS Fabián Pérez, Téc. Patricio Pita, Sr. Mario Sosa y Sr. Jorge Guntren por conseguir los ejemplares adultos de besugo en los muestreos de desembarque para el análisis proximal de gónadas a lo largo del año.

A mi esposa que aguantó muchos momentos de soledad e indiferencia, sin recriminar ni exigir, aceptando el trabajo con una sonrisa. A mis hijos que nunca rompieron ni escribieron el trabajo de papá, que ya es decir mucho!.

## Abreviaturas

AA	aminoácidos
AAL	aminoácidos libres
ADP	adenosin difosfato
AG	ácido graso
ANOVA	análisis de varianza
ATP	adenosin trifosfato
C	carbono
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
Ed	eficiencia de desarrollo
FC	factor de condición
HUFA	ácido graso altamente insaturado
H <sub>2</sub> O	agua
IG	índice gonadosomático
J	Joule
kJ	kilo Joule (10 <sup>3</sup> J)
M	metabolismo
Ma	metabolismo activo
Md	costo metabólico de digestión
MJ	mega Joule (10 <sup>6</sup> J)
Ms	metabolismo estándar
N <sub>2</sub>	nitrógeno
NH <sub>3</sub>	amoníaco
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	amonio
NQ	cociente de nitrógeno
O <sub>2</sub>	oxígeno
PP	post-absorción
PUFA	ácido graso polinsaturado
Pr	crecimiento reproductivo
Ps	crecimiento somático
PS	peso seco
PSLC	peso seco libre de cenizas
RQ	cociente respiratorio
SAI	índice de sobrevivencia larval
SDA	acción dinámica específica
TDE	tiempo después de la eclosión
TDF	tiempo después de la fecundación
TGA	triacilglicerol
TL	longitud total
μl	micro litro
μg	micro gramo
Vgo	volumen gota oleosa
Vsv	volumen saco vitelino

# **INTRODUCCION GENERAL**

## INTRODUCCIÓN GENERAL

El término Bioenergética proviene del griego *bios*, vida y *energeia*, energía. Definir vida ya es todo un problema filosófico, pero podemos empezar diciendo que los organismos vivos se diferencian de la materia inerte por su estructura y función, que les otorga la capacidad de asimilación y reproducción. La asimilación es un prerequisite para la reproducción, por lo que la asimilación es la característica clave de los organismos vivientes (Lucas, 1996). Esta puede ser definida como la capacidad de un organismo de hacer su propia substancia, no sólo a partir de materia inorgánica (autótrofos), sino también desde materia orgánica (heterótrofos). Cuando la asimilación finaliza, el organismo muere. Podemos decir así que la vida es el estado de un organismo durante su asimilación activa.

La Energética es una rama de la ciencia que estudia las diferentes formas en las cuales se manifiesta la energía. El término también proviene del griego *energeia* y significa fuerza en acción. Esta ciencia se originó en el siglo XIX como resultado de los problemas prácticos que presentó la invención del motor a vapor, y puede definirse como la cuantificación del intercambio y de las transformaciones de energía y materia entre las cosas vivientes y su ambiente. La Energética se basa en los principios de la termodinámica aplicados a sistemas abiertos (organismos vivos). Esto implica que ellos intercambian no sólo energía sino también materia con su ambiente. Los organismos heterótrofos sólo toman materia del ambiente, devolviendo materia y energía al mismo (trabajo, calor). Para que la vida continúe, estos intercambios no deben cesar, deben constituir flujos de materia-energía entre el organismo viviente y el ambiente. De hecho, el organismo viviente no existe por sí mismo, sólo existe como parte de su ambiente (Lucas, 1996).

Podemos definir ahora a la Bioenergética como la ciencia que estudia los mecanismos de captación, transformación, asimilación, utilización y síntesis de energía por parte de los seres vivos a partir de compuestos químicos. El estudio de la Bioenergética en peces posee tres áreas principales de aplicación: i) puede proveer respuesta a los problemas de la acuicultura, ii) puede proveer datos cuantitativos de producción y rendimiento en el manejo de los stocks pesqueros y, iii) puede contribuir al entendimiento de las adaptaciones de diferentes especies al medio ambiente en equilibrio dinámico, mediante el examen del balance energético de un animal.

**CARACTERÍSTICAS DEL BESUGO *Pagrus pagrus***

Ubicación taxonómica del besugo:

Phylum	Chordata
Clase	Osteichthyes
Subclase	Actinopterygii
Infraclase	Teleostei
Cohorte	Euteleostei
Superorden	Acanthopterygii
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Sparidae
Especie	<i>Pagrus pagrus</i> (Linnaeus, 1758)

Tal como ocurre con otras especies de espáridos, la denominación científica del besugo ha sido objeto de numerosos cambios. En la presente tesis se adoptó a *Pagrus pagrus* como nombre científico del besugo del Mar Argentino, basado en la excelente recopilación de datos sobre la nomenclatura de la especie realizada por Cotrina (1989) y siguiendo el criterio de Bianchi (1984).

Los espáridos constituyen una familia cuyos integrantes están distribuidos ampliamente en todo el mundo, alguno de los cuales son cultivados comercialmente en varios países. Por ejemplo, el besugo rojo (*Pagrus major*) es cultivado en Japón desde principios del siglo XX; en España, Grecia e Italia la dorada (*Sparus aurata*) y otros espáridos (*Pagellus sp.*, *Diplodus sargus*) tienen un buen mercado a nivel español y europeo. En Grecia y Chipre se estudia a *Pagrus pagrus* con fines productivos (Divanach *et al.*, 1993; Mihelakakis *et al.*, 2001). El éxito de estos cultivos se debe al buen conocimiento de la biología, comportamiento y requerimientos en los diferentes estadios del desarrollo de los peces empleados.

El besugo se caracteriza por poseer un cuerpo oblongo y comprimido, con cabeza grande y perfil más bien empinado, ojos pequeños, boca pequeña terminal y baja, el maxilar sobrepasa ligeramente el nivel del borde anterior del ojo, narinas anteriores pequeñas y posteriores elípticas (Fig. 1). El opérculo posee una espina blanda. Tiene una fuerte guarnición de entre 4-6 dientes caninos delgados y agudos en la parte anterior de la mandíbula, seguidos por dos o tres hileras de molares redondeados, a veces mezclados irregularmente con dientes delgados. No hay dientes sobre el vómer o los palatinos. Las escamas son moderadamente grandes y se extienden hasta la cabeza. Posee una línea lateral bien nítida. Tiene una única aleta dorsal alargada y baja con 12 espinas y entre 8 a 11 radios blandos, una aleta anal con 3 espinas y 8-9 radios, y una caudal furcada. En cuanto a la coloración, es rosado-rojizo dorsalmente y blanco-plateado en la parte ventral. Normalmente posee dos manchas celestes plateadas por encima y por debajo de los ojos. Las aletas son de color amarillo rosado.



Figura 1. Fotografía de un ejemplar de besugo adulto.

El besugo se alimenta principalmente de peces, aunque aparecen en su dieta una gran variedad de invertebrados bentónicos como mejillones, cangrejos, actinias, poliquetos, anfipodos, pulpitos, erizos de mar y estrellas de mar (Cotrina y Cousseau, 1977).

Tiene una sola puesta anual entre noviembre y enero (Ciechomski y Cassia, 1974; Cotrina y Christiansen, 1994). La talla media de primera madurez es de 23,1 cm en los machos y 23,6 cm en las hembras, cuando cumplen los tres años de vida (Cotrina, 1989). Al igual que otros espáridos, el besugo tiene la particularidad de presentar hermafroditismo consecutivo, que en las primeras etapas de su vida juvenil es del tipo proterogino (Cotrina y Christiansen, 1994).

El besugo tiene una amplia distribución en el Mediterráneo y en las costas oriental y occidental del Océano Atlántico (Manooch, 1976). Dentro del Atlántico Sudoccidental se encuentra naturalmente distribuido a lo largo de las costas de la Provincia de Buenos Aires hasta los 41°S, y entre los 10 y 50 m de profundidad (Cotrina, 1989). Es una especie demersal que muestra a lo largo de la costa bonaerense una preferencia por los fondos rocosos (Fig. 2). Se reconocen dos áreas de distribución bien definidas: una entre los 35° y los 38°S y otra entre los 39° y los 41°S, siendo consideradas las mismas como dos poblaciones diferentes (Cotrina, 1989). Si bien es una especie netamente marina, se la ha capturado en salinidades tan bajas como 22,54‰ en campañas del BIP INIDEP Capitán Cánepa.

S

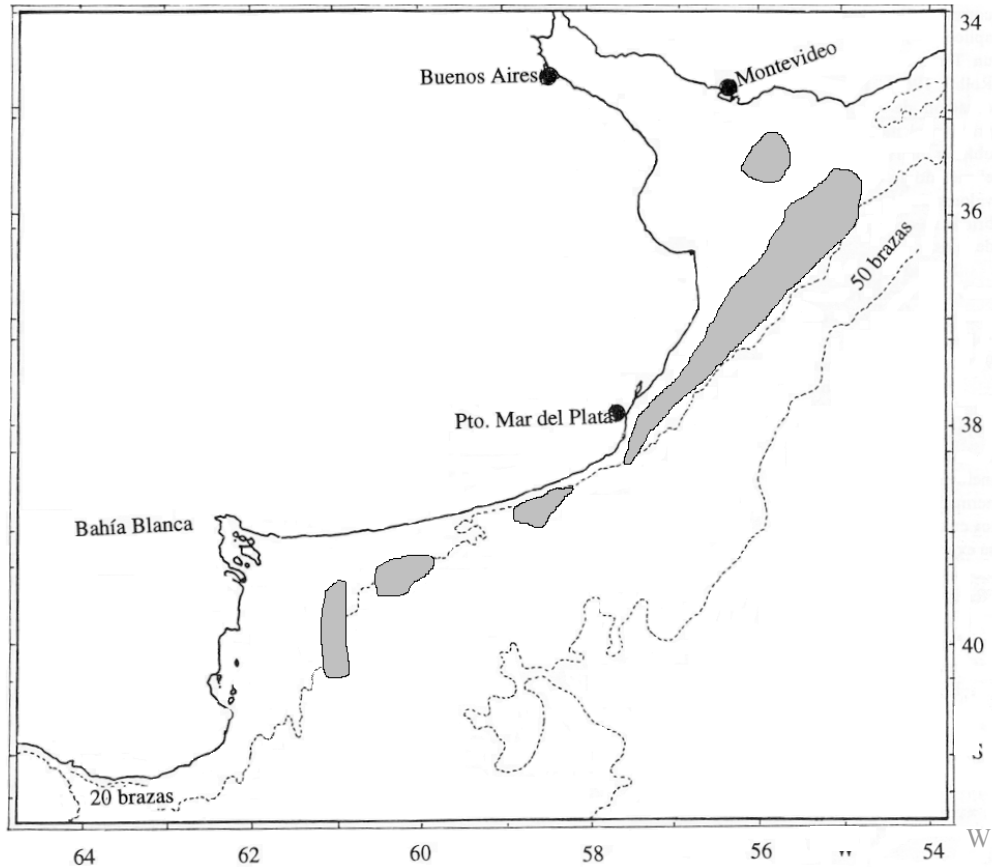


Figura 2. Área de distribución de besugo en la Provincia de Buenos Aires según Cotrina (1989).

En Argentina es considerado como una de las principales especies comerciales debido a la alta calidad de su carne, el precio y la existencia de mercados internacionales. Se lo comercializa fresco, enfriado y congelado, entero, descabezado y en filete. Está ubicado dentro de la categoría de especies semigrasas (González, 1983). La actividad pesquera relacionada con esta especie muestra tres etapas bien caracterizadas (Fig. 3). La primera corresponde al período anterior a 1976, con capturas relativamente estables y de bajo volumen. A partir de ese año se observa una segunda etapa que se caracterizó por una explotación intensa por parte de la flota pesquera comercial, con capturas que se incrementaron desde unas 2.000t en 1976 hasta un pico máximo de 15.365t en 1981. La tercera etapa va de 1981 en adelante, y está caracterizada por una tendencia declinante.

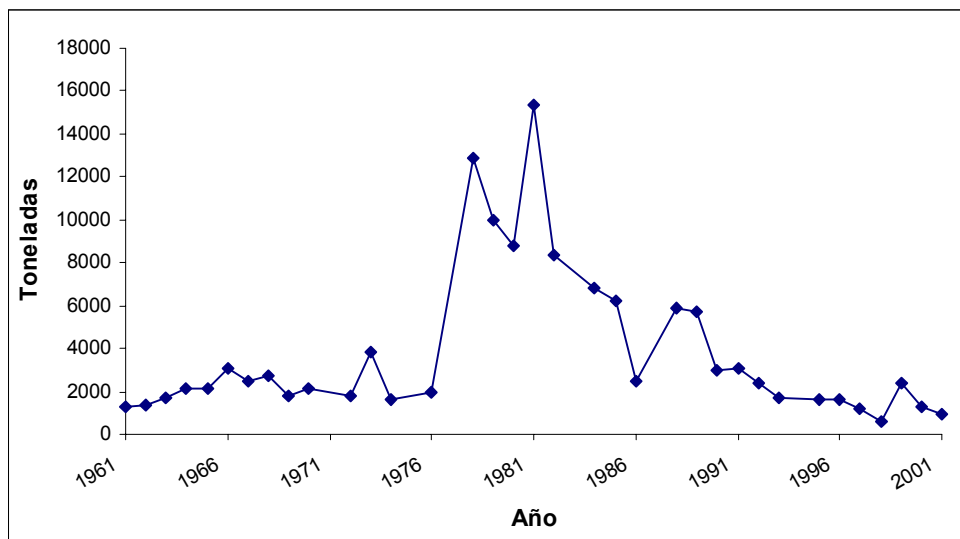


Figura 3. Evolución y tendencia de las capturas anuales de besugo. Fuente: SAGPyA

### PROBLEMÁTICA A RESOLVER, OBJETIVO E HIPÓTESIS

Los resultados de los estudios sobre bioenergética y crecimiento son cada vez más utilizados como herramienta en las ciencias pesqueras, siendo práctica común el uso de algunos modelos bioenergéticos en acuicultura y manejo de pesquerías (Stewart et al., 1981; Hartman y Margraf, 1992; LaBar, 1993).

La Bioenergética es una alternativa y una herramienta útil para calcular el crecimiento con el fin de estimar el efecto de potenciales factores limitantes, como la temperatura y la disponibilidad de alimento (Kitchell *et al.*, 1977), o para evaluar el crecimiento de especies candidatas a ser introducidas (Bevelhimer *et al.*, 1985). También se ha utilizado la ecuación bioenergética para la estimación del rol de especies invasoras (Schneider, 1992). Los modelos bioenergéticos se relacionan naturalmente con los de reclutamiento de peces juveniles, los cuales

predicen la supervivencia como funciones de las tasas de consumo de alimento y crecimiento (Mandénjian, 1991; DeAngelis *et al.*, 1993). Otras aplicaciones de los modelos bioenergéticos incluyen la estimación del efecto de predadores sobre salmónidos (Kitchell y Breck, 1980); para determinar los beneficios de la migración diurna en la historia de vida de los cíclidos (Caulton, 1978) y para estudiar los efectos del estrés en peces (Rice, 1990).

La mayor parte de la información existente a la fecha sobre bioenergética en peces ha sido obtenida de estudios a nivel de laboratorio, tanto sobre especies fácilmente aclimatadas al cautiverio como sobre aquellas económicamente importantes, principalmente salmónidos. Sin embargo, existen problemas aún no resueltos y áreas donde la información es inadecuada en relación a la partición de la energía y el crecimiento en poblaciones de peces del medio natural.

Los antecedentes bibliográficos acerca de la biología del besugo en nuestra zona son escasos. Entre ellos se pueden citar los de Ciechowski y Weiss (1973) y Ciechowski y Cassia (1974), referentes a la reproducción y desarrollo de huevos; Cotrina (1989), sobre la biología pesquera, estructura poblacional y reproducción; Aristizabal Abud *et al.* (1997) y Machinandarena *et al.* (2000), acerca de los aspectos reproductivos, desarrollo de larvas y juveniles y cría de besugo. González (1983) y Radín y Aristizabal Abud (2001), realizaron estudios sobre la composición química de distintos tejidos y mecanismos de transporte activo con gasto de energía metabólica proveniente del ATP (caracterización de ATPasas branquiales).

Los valores de los componentes metabólicos del presupuesto energético son el requisito primario para aplicar estos modelos al manejo de pesquerías o a las actividades de acuicultura. La escasa información disponible sobre el uso de la energía en *Pagrus pagrus* hicieron que este trabajo de tesis se orientara a la obtención de información básica sobre su biología y aspectos bioquímicos y fisiológicos, con la finalidad de aportar datos que contribuyan a un mejor entendimiento de las características ecológicas de la especie.

La hipótesis planteada es que la estrategia de partición de la energía de los alimentos, su utilización y almacenamiento, es un indicador de la respuesta del organismo a las condiciones ambientales.

La información y antecedentes presentados sirven de marco para plantear el siguiente objetivo general:

- **Conocer las derivaciones de la energía de los alimentos en el besugo y su partición en los distintos componentes de la ecuación bioenergética.**

Como objetivo particular se estableció:

- Obtener valores experimentales sobre consumo de oxígeno y niveles metabólicos; tasas de alimentación, crecimiento, excreción y producción de heces.

El plan de investigación fue desarrollado en capítulos estructurados como trabajos independientes, donde se describen los materiales y métodos, se desarrollan los resultados y esbozan las conclusiones alcanzadas.

## PRINCIPIOS BIOENERGÉTICOS

Las bases para el estudio de la Bioenergética y el crecimiento en peces se remontan a la década de los '50 con Winberg (1956) y Brown (1957). Posteriormente, Nikolsky (1963), Gerking (1978) y otros, se dedicaron al estudio ecológico y energético de los peces. Las últimas tres décadas han visto un continuo incremento en los esfuerzos de investigación tendientes al estudio del crecimiento y bioenergética en peces. El interés se generó tanto a nivel del manejo de pesquerías como en acuicultura.

El principio básico de la Bioenergética es simple: toda la energía obtenida a través de la ingestión de alimento es utilizada en los procesos metabólicos, depositada como tejido nuevo (crecimiento), o finalmente eliminada en las heces o excreción. Así, la Bioenergética se ocupa del estudio de las pérdidas, gastos, ganancias y almacenamiento de energía, así como de la determinaciones de las eficiencias de transformación de las mismas como una relación funcional de todo el organismo sujeto a diferentes condiciones ambientales.

Los peces, al igual que otros sistemas vivientes, se ajustan a las leyes de la Termodinámica. Materia y energía deben interconvertirse, pero nunca destruirse. Los peces obtienen materia y energía a través de los alimentos (fuente exógena), y pierden materia y energía como resultado del catabolismo (mantenimiento y actividad) y la elaboración de elementos reproductivos. El catabolismo de las sustancias resulta en la producción de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), agua, calor, y productos intermedios del catabolismo. Si la biomasa debe ser mantenida, la energía proveniente de la dieta debe ser igual a la pérdida de energía para mantenimiento y actividad. Cuando la energía de los alimentos excede estos requerimientos, el depósito de materia (principalmente proteínas en los peces) produce crecimiento. La energía almacenada durante el crecimiento lo hace como energía química retenida en los enlaces en las proteínas, lípidos y carbohidratos. Por el contrario, si la energía de los alimentos es insuficiente o está ausente para cubrir el catabolismo, la energía faltante para el funcionamiento corporal provendrá de una fuente interna (endógena), previamente almacenada durante el crecimiento. En los sistemas vivientes, el destino del alimento absorbido es más complicado que la simple combustión metabólica de energía o el depósito de materia en el crecimiento. Durante un proceso catabólico, el calor total producido bioenergéticamente difiere del obtenido por una combustión directa del alimento porque el nitrógeno proteico no es completamente oxidado. Por lo tanto, el catabolismo proteico produce menos energía que la esperada si tomamos el calor de combustión determinado en una bomba calorimétrica. El excedente energético proteico de la dieta se almacena como grasa corporal, y el uso eficiente de esta grasa corporal requiere posteriormente de alguna degradación de carbohidratos y proteínas (Brett y Groves, 1979).

Las necesidades energéticas de un animal están influenciadas por el estadio del ciclo de vida, la época del año y el medio ambiente. Los animales jóvenes en crecimiento acelerado necesitan más energía por unidad de peso que los animales adultos, aunque la reproducción incrementa las necesidades energéticas de éstos. Los animales cuyos hábitats estén fuertemente influenciados por la estación del año requieren diferentes cantidades de energía en sus dietas en diferentes tiempos. La temperatura ambiente es un factor importante en los peces, en los cuales la tasa metabólica puede cambiar en respuesta a cambios en la temperatura del agua (Cho *et al.*, 1982).

El catabolismo de los alimentos está organizado en los animales para conservar la energía libre y utilizarla posteriormente en otros procesos anabólicos. Los mecanismos fisiológicos para el logro de este objetivo son muy complejos, permiten catabolizar una amplia variedad de moléculas alimenticias usando un número reducido de sistemas enzimáticos. La energía no sólo se utiliza para sustentar los procesos vitales, sino también para aportar a la actividad física.

Todos los compuestos orgánicos del alimento liberan calor durante la combustión. Todos ellos juegan un determinado papel en la estructura del animal, pero la necesidad de energía puede evitar la incorporación de dichos compuestos como nuevo tejido y dirigirlos hacia el catabolismo. Así, la utilización de los componentes de cada dieta depende tanto del nivel de ingestión como de la composición de la misma. En efecto, tanto la cantidad como la calidad de la dieta tienen influencia sobre la partición metabólica de los componentes entre almacenamiento y catabolismo. Es esta flexibilidad por parte del animal para usar estos componentes de la dieta como combustibles lo que lleva a las complejas interacciones entre proteínas, grasas y carbohidratos. Como consecuencia, el valor energético de una dieta debe ser definido antes de bosquejar cualquier conclusión sobre el efecto de la dieta en el crecimiento del animal. Para Jobling (1994), el principal factor en la regulación de la cantidad de alimento consumido es su valor energético en relación a las necesidades de energía del animal.

## CLASES DE NUTRIENTES

### Carbohidratos

Existen diferencias cuantitativas entre la energía generada a partir de las fuentes alimenticias que utilizan los peces con respecto a la de los mamíferos terrestres. En contraste con los animales terrestres, los peces marinos utilizan muy pobremente los carbohidratos, tanto a nivel de la digestión como en su capacidad para metabolizar los carbohidratos absorbidos. El almidón puro se digiere en un 30-40% en salmónidos, y la digestibilidad decrece marcadamente cuando los niveles de carbohidratos exceden el 25% de la dieta (Brett y Groves, 1979). Sin embargo, la mayoría de los peces omnívoros o herbívoros de agua dulce (bagre, carpas), tienen alta capacidad de utilización de carbohidratos.

## Lípidos

Los lípidos son la principal fuente energética no-proteica de los peces en la naturaleza, tanto de los carnívoros como de los omnívoros, ya que son altamente digeribles y rápidamente metabolizables (Brett y Groves, 1979). Los lípidos más frecuentemente encontrados en la naturaleza son los acilglicérols. Estos representan la principal fuente de almacenamiento de lípidos, tanto en plantas como animales, y forman la mayor parte de los lípidos no polares o neutros<sup>1</sup>.

Los ácidos grasos difieren entre sí por el número de átomos de carbono de sus moléculas, el número y posición de los dobles enlaces entre los átomos de carbono. Mientras que un ácido graso carente de dobles enlaces entre sus carbonos se conoce como *ácido graso saturado*, un ácido graso con uno o más dobles enlaces se llama *ácido graso insaturado*. Aquellos que tienen entre dos y cuatro dobles enlaces son clasificados como *ácidos grasos polinsaturados* (PUFAs), y aquellos con más de cuatro dobles enlaces, *ácidos grasos altamente insaturados* (HUFAs). Estos términos se utilizan para indicar el grado creciente de insaturación. Los ácidos grasos encontrados en plantas y animales terrestres tienen generalmente bajo grado de insaturación, con cadenas de carbono entre 14-18 átomos. Las cadenas mayores, de hasta 22 átomos de carbono, se encuentran comúnmente en organismos acuáticos.

Tanto la longitud de la cadena como el número de dobles enlaces determinan las propiedades químicas y físicas de los ácidos grasos y de los lípidos en los cuales son incorporados. Los aceites de peces marinos normalmente contienen relativamente altas proporciones de ácidos grasos de cadena larga, polinsaturados y altamente insaturados (20:5n-3; 22:6n-3), los cuales tienen bajos puntos de fusión y son líquidos a temperatura ambiente. La serie (n-6) se encuentra típicamente en ambientes terrestres y de agua dulce. Los ácidos grasos dominantes en los ecosistemas marinos corresponden a la serie (n-3). Las tramas alimenticias en agua dulce están caracterizadas por el 18:2n-6, 18:3n-3 y el 20:5n-3. El perfil de los ácidos grasos del fito y zooplancton marino está dominado por los 18:3n-3, 20:5n-3 y 22:6n-3, estando generalmente este patrón reflejado en los niveles superiores de las tramas alimenticias (Sargent *et al.*, 1989).

Los fosfolípidos constituyen un grupo importante de lípidos presentes principalmente en las membranas biológicas. Dentro de ellos, los más importantes son el fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina, mientras que el fosfatidilinositol parece jugar un papel importante en la transducción de señales hormonales en las biomembranas y a nivel branquial (Jobling, 1994). El perfil de los ácidos grasos de los fosfolípidos en los peces tiende a ser bastante similar, sin importar su origen marino o de agua dulce, y los PUFAs, particularmente el 20:5n-3 y el 22:6n-3, tienden a dominar en los fosfolípidos de membrana (Jobling, 1994; Halver, 1989).

---

<sup>1</sup> Los lípidos no polares están formados por esterificación de los ácidos grasos con el glicerol.

Los teleósteos marinos tienen una escasa capacidad para sintetizar ácidos grasos polinsaturados de la serie (n-3) y (n-6), por lo que estos ácidos grasos son nutrientes esenciales que deben encontrarse en la dieta (Yone y Fujii, 1975; Fujii y Yone, 1976; Sargent, 1995). La mayoría de estos peces carecen de las enzimas necesarias para elongar y desaturar las cadenas cortas de ácidos grasos (Kanazawa *et al.*, 1979; Kissil y Lupatsch, 1989), como el linolénico (18:3n-3) y el linoléico (18:2n-6), por lo que los HUFAs 20:5n-3 y 22:6n-3 deben incorporarse en la dieta, especialmente en los períodos de reproducción y desarrollo larval (Jobling, 1994).

El requerimiento de ácidos grasos esenciales, en términos de porcentaje de la composición de la dieta, es inadecuada, por lo que es más común dar los requerimientos como proporción del total de la dieta lipídica. Por ejemplo, el requerimiento del HUFAs (n-3) del besugo rojo, *Pagrus major*, aumentó de 1,5% hasta 4% de la dieta cuando el contenido lipídico total de la dieta aumentó de 10% a 20%. Sin embargo, cuando se lo expresa en términos de contenido lipídico, el requerimiento de HUFAs (n-3) fue del 15%-20% del total lipídico de la dieta, sin tener en cuenta el nivel de inclusión de lípidos en la dieta (Jobling, 1994).

## Proteínas y aminoácidos

Las proteínas son la fuente principal de energía en todos los peces. La excreción de los peces marinos está formada de un 75-90% de amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y pequeñas proporciones de óxido de trimetilamina. La energía fisiológicamente disponible para el pez, proveniente de carbohidratos, lípidos y proteínas, es 4,10; 9,45 y 6,00 Kcal/g de peso seco, respectivamente (Brett y Groves, 1979; Watanabe *et al.*, 1996).

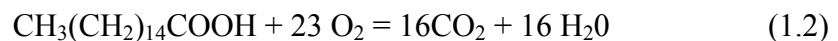
La unidad estructural fundamental de las proteínas son los aminoácidos. Las diferentes combinaciones de éstos posibilitan un increíble número de alternativas estructurales (Lehninger, 1981). Cada clase de proteína tiene una secuencia única de aminoácidos que está determinada genéticamente. Así, las proteínas son extremadamente heterogéneas, tienen marcadas diferencias en sus propiedades físicas y pueden tener un amplio rango de actividades dentro de los organismos. Un adecuado suministro de proteínas en la dieta es esencial si el pez debe atender sus demandas corporales y crecer. Se acepta normalmente que las proteínas deben aportar entre un 40-55% de la energía de los alimentos en peces tales como salmónidos, lenguados y espáridos (Jobling, 1994; Watanabe y Kiron, 1995).

### Substratos respiratorios

Las pérdidas de energía en peces y en otros organismos acuáticos, son difíciles de medir por métodos directos. En los estudios bioenergéticos con peces es más común utilizar la determinación del consumo de oxígeno como medida indirecta del metabolismo energético. Las tasas metabólicas, en términos de unidades de energía, se calculan a partir de las tasas de consumo de oxígeno usando los factores de conversión. El valor del factor de conversión dependerá del tipo de sustrato respiratorio (lípidos, proteínas, carbohidratos) que está siendo metabolizado. Cuando se queman dichos sustratos en un calorímetro, la cantidad de oxígeno consumido y dióxido de carbono producido, junto al calor eliminado, se utilizan para determinar los factores de conversión. Así, la combustión de 1 mol de glucosa libera 2.833 KJ como calor (ecuación 1.1), y utiliza 6 moles de oxígeno (192 g), por lo que el calor liberado es de 14,76 KJ/gO<sub>2</sub> consumido (2833/192). En esta reacción, la proporción de CO<sub>2</sub> liberado: O<sub>2</sub> consumido, llamada cociente respiratorio (RQ), es 1,00:

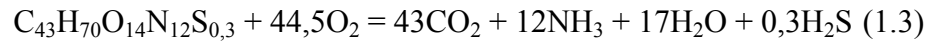


Cuando se metabolizan ácidos grasos y lípidos, la proporción CO<sub>2</sub> liberado: O<sub>2</sub> consumido está dada por:



en la cual el  $RQ = 0,7$  (16/23). El coeficiente respiratorio para lípidos es aproximadamente  $13,7 \text{ kJ/gO}_2$  consumido.

En el caso de las proteínas, la situación es más complicada. Cuando las proteínas son metabolizadas, se producen compuestos nitrogenados y otros, además del dióxido de carbono y agua:



El coeficiente oxicalorífico apropiado dependerá del tipo de producto nitrogenado de excreción (amoníaco, urea, ácido úrico) resultante del catabolismo proteico. La mayoría de los peces excreta amoníaco/amonio como principal producto nitrogenado, por lo que el calor liberado es  $13,36 \text{ kJ/gO}_2$  consumido (Jobling, 1994). Cuando se utilizan proteínas como sustrato respiratorio y el principal producto nitrogenado de excreción es el amoníaco, junto al dióxido de carbono y el agua, el  $RQ = 0,95$ .

De esta manera, el  $RQ$  brinda información acerca del tipo de sustrato que se está metabolizando, pero en una situación real el animal raramente oxida una única sustancia, excluyendo a las demás. Normalmente el  $RQ$  se encuentra entre  $0,7$  y  $1,0$ . Un valor de  $RQ$  cercano a  $0,7$  indica que los lípidos predominan como sustrato, mientras que un valor cercano a  $1,0$  sugiere que los carbohidratos son la fuente principal de combustión. En la naturaleza los peces cuentan principalmente con lípidos y proteínas como sustratos respiratorios, por lo que se sugiere un coeficiente oxicalorífico para estas especies de  $13,59 \text{ kJ/gO}_2$  o  $19,4 \text{ kJ/IO}_2$  consumido (Jobling, 1994).

Todos los compuestos de los tres principales grupos de nutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas) pueden ser potencialmente utilizados como combustibles metabólicos (sustratos aptos para la respiración celular). Cuando son catabolizados en presencia de oxígeno producen  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y calor. Por ejemplo, la combustión de un ácido graso saturado como el palmítico (16:0, ecuación 1.4) libera cerca de  $10.000 \text{ kJ}$  como calor de deshecho o  $39 \text{ kJ/g}$  ( $10000/256$ ). El calor producido en la combustión de lípidos provenientes de organismos acuáticos es levemente menor que aquel derivado de lípidos de animales terrestres. Esta combustión produce calor de desecho, el cual no puede ser utilizado directamente por el pez y debe ser químicamente almacenado para posteriormente producir trabajo. Esta energía se almacena en forma de enlaces fosfato de alta energía, en la molécula de ATP (adenosin trifosfato). La formación de  $1 \text{ mol}$  de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico conlleva la captura de aproximadamente  $40 \text{ kJ}$ . El metabolismo aeróbico de la glucosa rinde  $34$  moléculas de ATP, mientras que la combustión del ácido palmítico rinde  $129$  moléculas de ATP (Lehninger, 1981).

## EQUIVALENCIAS Y DEFINICIONES

Para la determinación del contenido energético de los alimentos o nutrientes, se necesita primeramente convertir esa energía en calor, la cual es relativamente sencilla de medir. Esa energía en forma de calor normalmente se expresa como caloría o joule. Una caloría (c) es la cantidad de calor necesaria para elevar la temperatura de 1g de agua 1°C desde 14,5°C a 15,5°C. Un joule (J) es la energía requerida para acelerar una masa de 1kg a 1m/s en una distancia de 1m. Una caloría equivale a 4,184 J. Por ser unidades tan pequeñas, en la práctica el contenido energético del alimento se expresa frecuentemente como kilojoule (kJ =  $10^3$  J) o megajoule (MJ =  $10^6$  J).

La *Energía Total (E)* es aquella energía liberada como calor cuando una sustancia se oxida completamente a dióxido de carbono, óxido nítrico o agua.

La *Energía Ingerida (A)* es la energía total (E) consumida por un animal a través de los alimentos. La mayoría de esta energía se presenta como carbohidratos, proteínas o lípidos.

Se conoce como *Energía Fecal (F)* a la energía total contenida en las heces. Las heces consisten en alimento no digerido y productos metabólicos, los cuales incluyen células del epitelio intestinal, enzimas digestivas y productos de excreción.

La *Energía Digerible Aparente (DE)* es la energía que queda disponible luego de la digestión del alimento, y se la determina como  $DE = A - F$ .

Se define a la *Energía Urinaria (U)* como la energía total contenida en los productos urinarios o de excreción. Incluye la energía proveniente de los compuestos absorbidos desde el alimento que no son utilizados y la energía de los productos resultantes de procesos metabólicos como el amoníaco.

La *Excreción Branquial (ZE)* es la energía contenida en los compuestos excretados a través de las branquias en animales acuáticos. La *Energía Superficial (SE)* hace referencia a la energía perdida desde la superficie del pez, que incluye al mucus y a las escamas desprendidas de la piel.

Se conoce como *Energía Metabolizable (ME)* a la energía del alimento menos la energía que se pierde por las heces, orina y excreción branquial. Es la energía disponible para los procesos metabólicos,  $ME = A - (F+U+ZE)$ .

La *Producción Total de Calor (M)* es la energía que pierde el animal en forma de calor. El calor se produce como resultado del metabolismo, por lo que la HE es una medida de la tasa metabólica del organismo. Esta energía se puede determinar midiendo el calor liberado por el pez, o mediante el consumo de oxígeno. Esta energía se puede dividir en varios constituyentes:

*Metabolismo Basal o Estándar (HeE)*: es la energía calorífica producida por el conjunto de actividades necesarias para mantener la vida del animal (actividad celular, respiración, circulación sanguínea, latidos cardíacos, actividad cerebral, etc.). Se la determina cuando el pez está en ayuno (post-absorción) y en un estado de reposo en un ambiente térmicamente neutro.

*Calor por Actividad (HjE)*: es el calor producido por la actividad muscular asociada a la locomoción y al mantenimiento de la posición y el equilibrio en la columna de agua.

*Calor de Formación de Residuos y Excreción (HwE)*: hace referencia a la producción de calor asociada con la síntesis y excreción de productos de desecho, por ejemplo, amonio.

*Incremento de Calor (HiE) o Acción Dinámica Específica (SDA)*: es el incremento de la producción de calor posterior al consumo de alimento, normalmente medida como incremento del consumo de oxígeno. Este calor se produce como resultado de los procesos metabólicos relacionados con la digestión del alimento y la subsiguiente transformación molecular de los nutrientes digeridos, principalmente en el hígado. Así, la pérdida total de energía se define como  $M = HeE + HjE + HwE + HiE$ .

Se conoce como *Energía Retenida (P)* a la porción de energía contenida en los alimentos que se retiene como nuevo tejido y gametas. De esta manera, la ecuación de balance energético se definiría como:

$$\mathbf{A = F + U + ZE + SE + M + P}$$

o lo que más comúnmente se conoce como:

$$\mathbf{A = F + U + M + P} \quad \mathbf{(1.4)}$$

donde U es la energía de la excreción (UE+ZE+SE).

## **MODELOS BIOENERGETICOS Y APLICACIONES AL MANEJO DE PESQUERIAS**

Los modelos bioenergéticos son una ecuación de balance de masa basados en la primera ley de la termodinámica relacionada a la conservación de la masa y la energía. Todos los modelos y ecuaciones bioenergéticas, tanto generales como específicas, se basan en que todo el alimento consumido por un pez se gasta como energía, se incorpora al cuerpo como nuevo tejido (somático o reproductivo), o se elimina como desecho (Winberg, 1956). Lo interesante de los modelos bioenergéticos es que unen la fisiología básica del pez y el comportamiento (por ejemplo, la dieta) con los factores ambientales (Bevelhimer, 2002). Cuando se combinan con la dinámica de poblaciones producen estimaciones de producción y consumo de peces a nivel de sistemas (Brandt y Hartman, 1993).

Los modelos bioenergéticos, como todo modelo, son abstracciones de nuestra visión de la realidad. Un modelo puede ser considerado como una hipótesis, o puede ser utilizado como una herramienta para generarlas, hacer predicciones, entender procesos y evaluar los efectos de los supuestos en los resultados obtenidos. No sería productivo ver a los modelos bioenergéticos como correctos o equivocados: un modelo puede ser aplicado correcta o incorrectamente (los supuestos pueden ser violados); un modelo puede simular muy bien o muy mal las condiciones observadas. Los modelos bioenergéticos representan nuestro entendimiento de los sistemas, y tanto ellos como sus aplicaciones se usan mejor sinérgicamente (Brandt y Hartman, 1993). Un modelo bioenergético es una herramienta adaptativa que evoluciona constantemente.

Las aplicaciones de los modelos bioenergéticos frecuentemente dependen de supuestos implícitos. Por ejemplo, la temperatura diaria del agua. La temperatura del agua donde habita el pez es una variable clave y sensible que modifica las tasas metabólicas y, en consecuencia, el campo de crecimiento. Sin embargo, es difícil medir la temperatura que afecta a los peces a lo largo del año. La historia térmica de un pez normalmente se infiere de los datos de temperatura prevalecientes en el sistema y de la distribución supuesta de los peces en base a la temperatura. Las diferencias entre las temperaturas reales y supuestas afectarán el resultado del modelo. La integración de los modelos bioenergéticos con otros tipos de modelos (Mason y Patrick, 1993), nuevas tecnologías (Brandt y Kirsch, 1993; Lucas *et al.*, 1993; Townsend *et al.*, 1992) y teorías ecológicas, expandiría nuestra escala de observaciones espacio-tiempo y eliminaría algunos de los supuestos usados en las aplicaciones a campo (Brandt y Hartman, 1993). Las diferencias en las estimaciones bioenergéticas llevadas a cabo en el medio natural pueden aparecer debido a muchas razones: algunos parámetros, como por ejemplo la actividad del pez, es altamente difícil de modelar; mientras que otros datos de campo pueden contener errores por interferencia o por la propia dificultad de obtención.

## EL DESARROLLO DE LOS MODELOS BIOENERGÉTICOS

Winberg (1956), presentó el primer presupuesto energético en peces dividiendo la energía del alimento consumido en: crecimiento somático y reproductivo, costo metabólico total, y energía retenida en los productos de deshecho (ecuación 1.4). Tanto los costos metabólicos como de desecho pueden subdividirse en componentes. El metabolismo consiste en los costos energéticos del mantenimiento básico (metabolismo estándar, Ms), actividad (Ma) y digestión del alimento (Md). El costo de digestión incluye la energía liberada en la desaminación y transaminación de las proteínas (acción dinámica específica, SDA), así como la energía utilizada durante la digestión mecánica, asimilación y almacenamiento (Jobling, 1994). Los productos de desecho suman el total de la energía no asimilada y eliminada en las heces (F) y energía asimilada que es posteriormente excretada (U) como amoniaco / amonio y urea. De este modo, la energía consumida queda dividida ahora en seis términos:

$$A = G + Ms + Ma + Md + F + U \quad (1.5)$$

Esta segunda ecuación de Winberg es la base de la mayoría de los modelos bioenergéticos actuales. El modelo incrementa su exactitud si se lo aplica en periodos cortos (por ejemplo, días) sobre el periodo estimado. Kitchell *et al.* (1977), de la Universidad de Wisconsin, USA, continuaron la elaboración de la ecuación (1.5), llegando a lo que se conoce como el “modelo de Wisconsin”, utilizado ampliamente en la investigación pesquera en los Estados Unidos de Norteamérica. En el modelo de Wisconsin, el alimento consumido se estima como proporción de la ración máxima para un peso y temperatura dada:

$$Ad = Amax \times p \times r_c$$

donde Ad es el consumo diario, Amax es la ración máxima diaria,  $p$  es la proporción de la ración máxima cuyos valores están entre 0 y 1, y  $r_c$  es un factor temperatura-dependiente, que también va entre 0 y 1. Amax se calcula como una función potencial del peso ( $Amax = aW^b$ ); mientras que los coeficientes  $a$  y  $b$  se estiman en pruebas de alimentación. El valor de  $r_c$  depende de la especie y la temperatura óptima y máxima. El modelo se ejecuta normalmente con iteraciones diarias hasta obtener el mejor ajuste de  $p$  entre el peso final observado y el estimado.

## OTRAS APLICACIONES DE LOS MODELOS BIOENERGÉTICOS

Los modelos bioenergéticos han sido utilizados primariamente para estimar el consumo o el crecimiento de animales bajo diferentes condiciones. En el caso del manejo de pesquerías, los modelos bioenergéticos se han utilizado para cuantificar las demandas tróficas del predador en relación a la disponibilidad de presa (Stewart *et al.*, 1981; Hartman y Margraf, 1992; LaBar, 1993).

La ecuación bioenergética puede resolverse para el crecimiento, en vez del consumo, para estimar el efecto de potenciales factores limitantes, como la temperatura y la disponibilidad de presa (Kitchell *et al.*, 1977); o para comparar el crecimiento estimado de especies candidatas a ser introducidas (Bevelhimer *et al.*, 1985). También se ha utilizado a la ecuación bioenergética para modelar la dinámica de los contaminantes que se bioacumulan en peces, tales como PCB's y mercurio (Norstrom *et al.*, 1976; Borgmann y Whittle, 1992), y en la estimación del rol invasor del mejillón cebra *Dreissena polymorpha* en los Grandes Lagos, USA (Schneider, 1992). Los modelos bioenergéticos se relacionan naturalmente con los de reclutamiento de peces juveniles, los cuales predicen la supervivencia como funciones de las tasas de consumo de alimento y crecimiento (Mandjenjian, 1991; DeAngelis *et al.*, 1993).

Se han utilizado los modelos bioenergéticos en la determinación del efecto estacional que tiene la lamprea marina (*Petromyzon marinus*) sobre las poblaciones de salmónidos (Kitchell y Breck, 1980); para evaluar los beneficios de la migración diurna en la historia de vida del cíclido *Tilapia randelli* (Caulton, 1978); para estudiar los efectos del estrés en peces (Rice, 1990); y varios otros aspectos recopilados por Adams y Breck (1990).

La gran ventaja de los modelos bioenergéticos es que todos los componentes del presupuesto energético deben estar balanceados. Por lo tanto, si un componente es muy difícil o costoso de medir directamente, se puede estimar por diferencia de los otros. Por ejemplo, las mediciones del consumo de alimento *in situ* requieren un trabajo intensivo de muestreo durante 24 hs, y tienen un amplio margen de error propio (Cochran y Adelman, 1982). Con datos de temperatura y tamaño del pez, un modelo bioenergético puede estimar el consumo de alimento (Rice y Cochran, 1984; Stewart *et al.*, 1981)

## TENDENCIAS

A medida que crece la utilización de los modelos bioenergéticos para resolver nuevas preguntas, también crece su sofisticación y exactitud de los datos fisiológicos y de comportamiento requeridos. La hidroacústica y la telemetría fisiológica ofrecen una interesante tecnología a ser aplicada a los modelos bioenergéticos (Brandt y Kirsch, 1993; Goyke y Brandt, 1993).

Los valores de los componentes metabólicos del presupuesto energético deberían ser idealmente determinados en peces en su ambiente natural, nadando libremente, en vez de realizarse con peces en cautiverio encerrados en respirómetros de laboratorio. La telemetría permite medir tasas de funciones corporales correlacionadas con el metabolismo, como las tasas de ventilación branquial, actividades cardíaca y electromuscular (Lucas *et al.*, 1991, 1993; Sureau y Lagardere, 1991). La telemetría fisiológica correlaciona ciertas variables con el consumo de oxígeno, tales como la frecuencia cardíaca (Priede y Young, 1977; Lucas *et al.*, 1991), tasa de ventilación (Oswald, 1978; Rogers y Weatherley, 1983), electromiogramas (Ross y McCormick, 1981; Weatherley *et al.*, 1982; Rogers *et al.*, 1984) y movimientos de la cola (Young *et al.*, 1972; Stasko y Horral, 1976).

La proliferación de parámetros en los modelos incrementó su complejidad, por lo que la tendencia en la década del '90 fue reducirlos, ya que muchos modelos elaborados no produjeron necesariamente respuestas satisfactorias a algunas cuestiones bioenergéticas de interés en el manejo de pesquerías (Ney, 1993). Estos modelos más simples, facilitan el cálculo, tienen menor potencial de error en el ingreso de datos y se concentran en la obtención precisa de pocos parámetros. Conllevan necesariamente supuestos, que de ser injustificados, resultarán en errores a la salida del modelo. El modelo de Winberg (1956), considera seis parámetros (ecuación 1) que pueden simplificarse como:

$$A = \frac{G + 2Ms}{1 - (Md + F + U)} \quad (1.6)$$

En esta versión (Ney, 1993), los valores de energía de digestión y excreción son fracciones de la energía del alimento consumido, que suman 35-40% en peces carnívoros (Brett y Groves, 1979). El denominador de la ecuación (1.6) se reduce así a un valor entre 0,60-0,65. El segundo supuesto de Winberg fue que el metabolismo activo (Ma) para peces salvajes era igual al metabolismo estándar (RS) multiplicado por un factor entero. La ecuación (1.6) requiere datos de crecimiento derivados de muestreos *in situ* y metabolismo estándar obtenido de estudios en laboratorio.

El manejo de pesquerías se orienta a las poblaciones de peces, pero los modelos bioenergéticos proveen estimaciones a nivel de individuo, por lo que deben unirse a datos de abundancia, mortalidad y reclutamiento para obtener predicciones a nivel poblacional (Ney, 1993). Una alternativa para encarar el consumo de alimento de peces predadores es relacionar la producción poblacional con una o dos variables bioenergéticas. La producción se define como el crecimiento poblacional sobre un intervalo de tiempo, incluyendo el crecimiento de individuos que mueren dentro de ese período de tiempo. La producción se puede calcular con el peso y número inicial y final de los ejemplares, como sigue:

$$P = G \times B \quad (1.7)$$

donde G es la tasa instantánea de crecimiento  $(\ln(w_1) - \ln(w_0)/t)$ , y B es la biomasa media en el período. Si la producción se calcula separadamente para cada cohorte, se incrementa la precisión a nivel poblacional.

Si se conoce la eficiencia media de conversión (G/A) para la población o sus cohortes individuales, se puede calcular el consumo total (Atot) en el intervalo estudiado, como:

$$Atot = \frac{P}{G/A} \quad (1.8)$$

Como se ha mencionado previamente, a medida que el número de parámetros del modelo decrece, el efecto de cada uno sobre el resultado se incrementa correspondientemente. Por ello, es imperativo obtener estimaciones exactas de las eficiencias de conversión para utilizar esta metodología. Las estimaciones de laboratorio aplicadas al medio natural deben realizarse con reservas (Ney, 1993).

Ney (1990), propuso un modelo aún más simple para estimar el consumo de los peces de una cohorte, el cual requiere solamente estimaciones medias de producción y biomasa como entrada. Estos parámetros se obtienen de los datos de abundancia, crecimiento y mortalidad rutinariamente colectados en las investigaciones pesqueras. El modelo para peces carnívoros de agua dulce de zonas templadas es:

$$Atot = 2P + 3B$$

donde los parámetros son los mismos que en las ecuaciones (1.7). Este modelo tiene como supuestos valores anuales de ración de mantenimiento y eficiencia de conversión media para peces carnívoros. En términos energéticos, equivale aproximadamente a un 60% para el metabolismo, 20% para el crecimiento y 20% para desechos (Ney, 1993). Debido a que las raciones de mantenimiento declinan con la edad, el modelo se desviará de la realidad para las tallas mayores.

Los modelos bioenergéticos tienen un sólido basamento teórico, ya que consideran todos los destinos posibles de la energía consumida. Sin embargo, la salida de los modelos es susceptible a error debido a los valores de entrada, tanto las variables y parámetros externos como la descripción matemática de la tasa del proceso fisiológico. Las variables externas se refieren a las estimaciones a campo del crecimiento o el consumo, temperatura del agua, composición de la dieta, y densidad predador-presa. La estimación *in situ* del crecimiento es fácil de obtener, a diferencia de la estimación exacta del consumo que requiere un muestreo intensivo.

Es razonable pensar que la natación del pez conlleva la mayor parte del metabolismo activo (Jobling, 1994). La aproximación más sencilla a  $M_a$  la realizó Winberg (1956), quien consideró a la actividad como un simple múltiplo entero del metabolismo estándar ( $M_s$ ). El valor de este múltiplo normalmente va entre 1 (sin gastos en actividad) y 3 (Ney, 1993). La telemetría ha sido muy útil a los modelos bioenergéticos en la medición de la velocidad de natación (Stewart y Binkowski, 1981). Otra aproximación a la modelización de los costos de la actividad del pez, fue relacionarla con el consumo (Majkowski y Waiwood, 1981; Kerr, 1982). Madon y Culver (1993), encontraron que el consumo varió con la actividad en juveniles de *Stizostedion vitreum*.

La actividad en peces se ha monitoreado con telemetría acústica (Stasko y Pincock, 1977). Los cortos y bruscos impulsos natatorios anaeróbicos son difíciles de estimar y es probable que abarquen una importante proporción del  $M_a$  (Adams *et al.*, 1982; Puckett y Dill, 1984).

La energía liberada por el metabolismo ( $M$ ) sigue siendo uno de los componentes más difíciles de medir con precisión (Lucas *et al.*, 1993). Normalmente, las diferencias entre las tasas metabólicas medidas en laboratorio y aquellas dadas en condiciones naturales, especialmente las asociadas al metabolismo activo ( $M_a$ ) (Boisclair y Leggett, 1989), son consideradas las responsables de las diferencias entre los valores observados de crecimiento o consumo de alimento y las predichas por los modelos bioenergéticos (Lucas *et al.*, 1993). En la graficación log. consumo vs. log. biomasa, se obtiene una recta ( $y = aX^b - \log a + b \times \log X$ ), con pendientes de 0,95 para larvas (Lucas, 1996).



# **LA ENERGÍA EN EL PROCESO GAMETOGÉNICO FEMENINO**

## LA ENERGIA EN EL PROCESO GAMETOGENICO FEMENINO

### INTRODUCCION

El besugo es una especie que presenta hermafroditismo en las primeras etapas de su vida. Si bien algunos ejemplares pueden reconocerse muy tempranamente como machos o hembras, gran parte de la población juvenil exhibe hermafroditismo proterogino (Cotrina, 1989). La gónada de un ejemplar adulto está diferenciada en una porción testicular de posición ventro-lateral y una dorsal-media ovárica (Cotrina y Christiansen, 1994). Como sucede con otros peces de zonas templadas, el besugo se reproduce una única vez al año. Las hembras desovan repetidamente en un corto período de aproximadamente dos meses (Ciechomski y Cassia, 1974).

Los ciclos estacionales de crecimiento y reproducción son muy comunes entre peces de aguas templadas, y están relacionados a las variaciones ambientales de los factores bióticos y abióticos, tales como la temperatura, fuentes de alimento, ciclos de producción y fotoperíodo (Kelso, 1973; Bulow *et al.*, 1978; Medford y MacKay, 1978; Lam, 1983; Flath y Diana, 1985; Devauchelle *et al.*, 1987; Arnold, 1988; Dygert, 1990; Kohler *et al.*, 1994). Existe una estrecha relación entre las variaciones del estado fisiológico del pez y su composición, condición, nutrición, estado reproductivo y contenido energético de los tejidos (Marais y Erasmus, 1977; Adams *et al.*, 1982; Rajasilta, 1992). Así vemos que, en el caso de la anguila (*Anguilla anguilla*), la principal reserva de energía son los lípidos, básicamente almacenados como triglicéridos en el músculo blanco (Lewander *et al.*, 1974; Dave *et al.*, 1975), siendo el hígado la segunda reserva más importante (Dave *et al.*, 1975). Estos depósitos de energía se redistribuyen hacia las gónadas al inicio de la maduración (Lewander *et al.*, 1974).

Las tácticas reproductivas de los teleósteos están parcialmente determinadas por la competencia entre el crecimiento y la reproducción (Roff, 1983). También existe una disminución en la probabilidad de sobrevivencia asociada a la reproducción. Estos cambios son importantes en el crecimiento, reproducción y desarrollo (Brett *et al.*, 1969; Wootton *et al.*, 1980; Paul *et al.*, 1993).

En los peces teleósteos, el óvulo es el producto final del crecimiento y desarrollo del ovocito, proceso que puede tomar un año o más (Tyler y Sumpter, 1996). La inversión energética en la producción de gónadas y en otras actividades anexas a la reproducción, puede ser muy importante. Normalmente, los peces desovantes de primavera/verano almacenan energía al final del verano y durante el otoño, la cual será posteriormente

utilizada para la maduración, para pasar el invierno y para el desove (Lambert y Dutil, 2000). La importancia de mantener o acumular reservas energéticas para proveer energía para la maduración gonadal y la reproducción durante períodos de escasez de alimento ha sido demostrada en muchas especies (Mac Kinnon, 1972; Lambert y Dodson, 1990; Lambert y Dutil, 1997). La inversión reproductiva puede mantenerse a expensas de reservas corporales, en cuyo caso el riesgo de mortalidad por agotamiento de las reservas energéticas se incrementaría. También la inversión reproductiva podría reducirse incrementando la fecundidad con el objeto de limitar las pérdidas de condición somática (Lambert y Dutil, 2000). Y finalmente, en situaciones extremas, los peces pueden simplemente retrasar la reproducción (Tyler y Dunn 1976; Roff, 1982). Las pruebas de laboratorio mostraron que ejemplares de *Gadus morhua* con bajos factores de condición producen menos huevos (Kjesbu *et al.*, 1991). En *Melanogrammus aeglefinus*, la reducción del consumo de alimento resultó en una reducción del nivel de inversión energética en reproducción y en una reducción del peso corporal (Hislop *et al.*, 1978). En el lenguado *Pleuronectes americanus*, (previamente *Pseudopleuronectes americanus*) se encontró una correlación positiva entre el consumo de alimento, el factor de condición, el peso gonadal y el número de ovocitos en vitelogénesis (Tyler y Dunn, 1976). Los adultos de este lenguado detuvieron su ciclo reproductivo en respuesta a bajos niveles nutricionales (Burton y Idler, 1987).

La energía canalizada hacia las gónadas disminuye el crecimiento somático, y por lo tanto, la fecundidad futura (Ware 1980, 1982). Apoyando este punto, Roff (1983, 1984) estudió las características de la historia de vida de los peces teleósteos y desarrolló un modelo de distribución de la energía del crecimiento y reproducción para ellos. Su modelo considera el balance entre reproducción, crecimiento y sobrevivencia, y sugiere que el costo involucrado en los procesos reproductivos disminuye la fecundidad y sobrevivencia del organismo.

Un requerimiento primario en el manejo de reproductores de peces en cautiverio está relacionado con la capacidad de controlar la maduración sexual y la puesta con el objeto de programar la producción. Sin este control, las granjas de cultivo no podrían contar con los juveniles necesarios para llevar adelante el engorde y deberían depender de la captura de ejemplares maduros, larvas o juveniles del medio ambiente. La producción de semilla, junto a la calidad de los huevos y larvas, constituye uno de los desafíos más importantes en el desarrollo actual y futuro de la acuicultura.

La manipulación de parámetros ambientales, básicamente fotoperíodo y temperatura, para obtener la reproducción en cautiverio, es una

herramienta utilizada rutinariamente en el caso del besugo. Esta técnica también se utiliza con éxito en varias especies en cultivo comercial (Bromage, 1995).

Los objetivos planteados con respecto a la estimación de la energía dedicada al proceso gametogénico femenino de la especie fueron:

- Obtener la puesta espontánea en cautiverio a través del manejo del fotoperíodo y la temperatura, y
- Estimar el costo energético de producción de óvulos.

## MATERIALES Y METODOS

El grupo de reproductores utilizados en el presente estudio fue el correspondiente a la temporada 2001-2002 (Tabla I), que tuvo un rango de pesos entre 1,0 y 3,7 kg. La relación de sexos en el tanque fue de 1/4 (♂:♀). El alimento de los reproductores se suministró a saciedad tres veces por semana durante el otoño, invierno y primavera. Durante el verano la alimentación se realizó diariamente. Estuvo basada principalmente en calamar (*Illex argentinus*) picado suplementada con pienso producido en el laboratorio con alto contenido de proteínas, vitaminas, minerales, astaxantina y ácidos grasos altamente insaturados (Aristizabal Abud *et al.*, 1997).

Tabla I. Características del stock reproductor en diferentes temporadas reproductivas

Temporada	Machos	Hembras	Indiferenciados	Peso medio (Kg.)	Rango (Kg.)	Peso total (Kg.)
1999-2000	10	10	13	1,5	0,9-3,2	55,8
2000-2001	10	10	13	1,7	1,0-3,4	57,7
2001-2002	15	11	4	1,8	1,0-3,7	54,9

Los reproductores se encuentran dentro de un sistema de recirculación cerrado de agua de mar, que cuenta con filtración mecánica y biológica, así como desinfección por rayos ultravioleta. La temperatura se controló por medio de un intercambiador de calor KEIYU Industries Co.Ltd. (precisión  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ), mientras que el fotoperíodo fue regulado con un timer digital ORBIS DataMicro. La salinidad se mantuvo entre 33-35‰. La maduración gonadal se estimuló a través del incremento gradual de la temperatura y el fotoperíodo, comenzando desde  $13^{\circ}\text{C}$  y 8L:16D (8h de luz y 16h oscuridad), hasta llegar a los  $18^{\circ}\text{C}$  y 15L:9D (Fig. 1). Estas últimas condiciones se mantuvieron a lo largo del período de reproducción.

Se fabricó un colector de huevos con red de malla de  $300\mu$  (Fig. 2), el cual diariamente se ubicó a la salida de agua del tanque de reproductores a las 16hs para recoger los huevos durante toda la noche, retirándolo al día siguiente entre las 9 y 10hs. Los huevos así obtenidos se clasificaron en viables (flotantes) y no viables (hundidos), se contaron, pesaron, desinfectaron (Tabla II), y posteriormente se incubaron en tanques cilíndricos de 450 l de capacidad con agua verde formada por la microalga *Nannochloropsis oculata*, cuya densidad fue de  $15 \times 10^6$  células/ml, a  $18^{\circ}\text{C}$  de temperatura y burbujeo suave de aire.

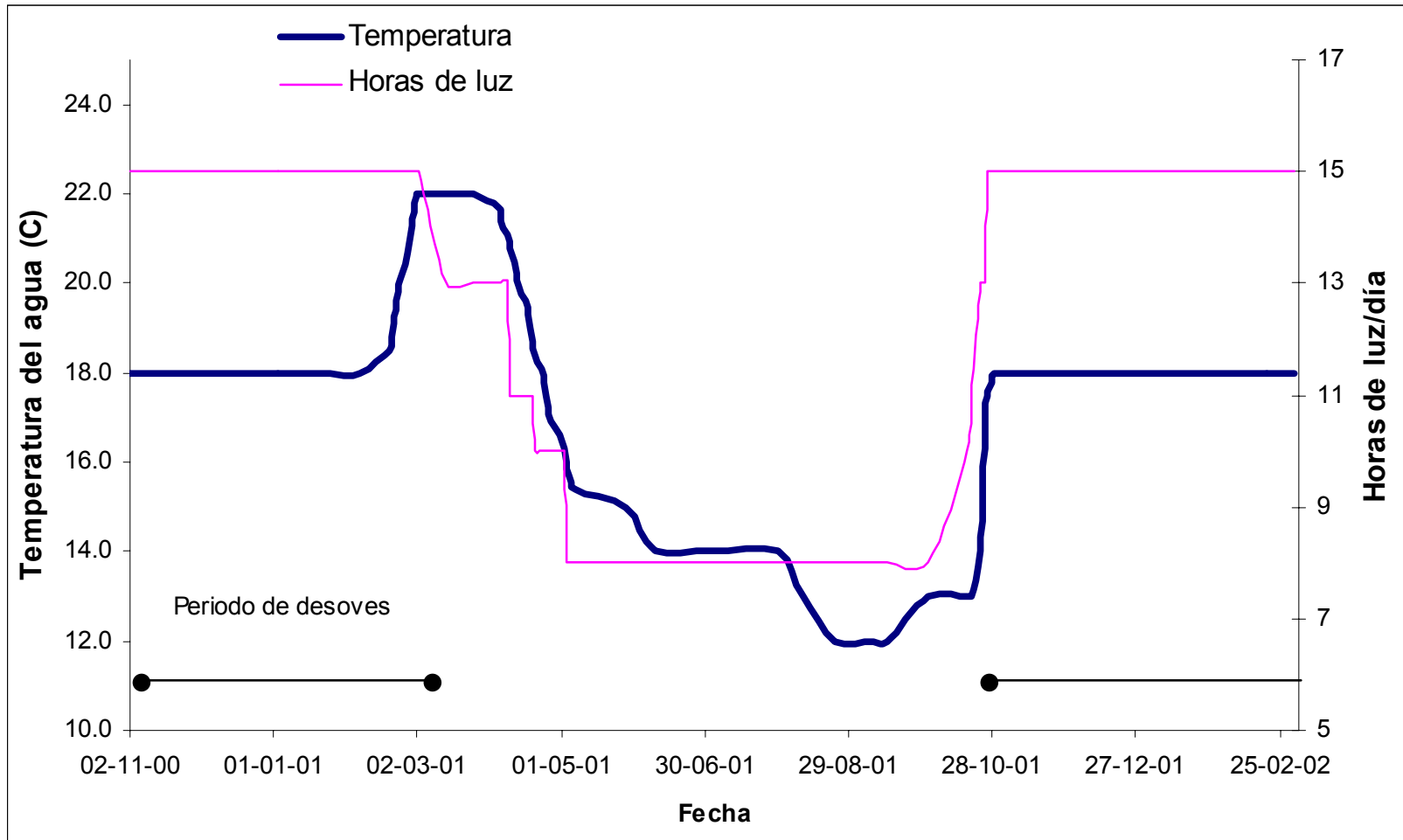


Fig.

reproductores de besugo durante dos temporadas reproductivas.

1. Variación de la temperatura y el fotoperíodo en el tanque de

Tabla II. Dosis de iodo Povidona utilizado en la desinfección de los huevos en un volumen de 4 l de agua.

Nro. Huevos	Vol. iodo (ml)	Tiempo (min)
< 10.000	4	5
10.000 – 100.000	6	5
> 100.000	10	5

Se tomaron diariamente muestras de 30 huevos y se midieron en un Proyector de Perfiles NIKON V-12B con un calibre digital Mitutoyo Absolute Digimatic. Las muestras para análisis de biomasa se lavaron con agua destilada y se desecaron. El peso seco (PS) se determinó secando muestras de 100-150 huevos a 90°C hasta peso constante. El contenido en carbono (C) se estimó por el método de Gaudette *et al.* (1974) modificado por El-Rayis (1985), mientras que el nitrógeno (N<sub>2</sub>) se determinó por el método de micro-Kjeldahl (factor de conversión 6,25xN).

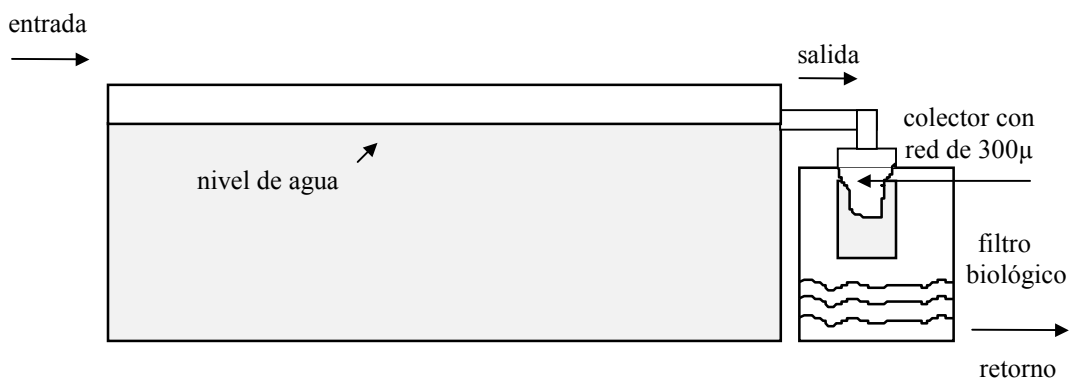


Fig. 2. Tanque de puesta con colector de huevos dentro del sistema de recirculación de agua de mar.

El contenido de ceniza se determinó por calcinación a 600°C por 6hs y posterior pesada a 0,001g (JICA/ITP, 1982). Las muestras se analizaron por triplicado. El contenido calórico de los huevos se estimó a partir del C orgánico utilizando la fórmula corregida para N<sub>2</sub> de Salonen *et al.* (1976).

La talla media de primera madurez para las hembras de besugo fue determinada por Cotrina (1989) y por Cotrina y Christiansen (1994) en 23,6cm Lt, lo que corresponde a ejemplares de 200g de peso total (Cotrina y Raimondo, 1997). Para el cálculo del esfuerzo reproductivo se utilizaron los datos provenientes de las pruebas de alimentación, excreción y producción de heces (Capítulo IV) para ejemplares mayores de 200g de peso total. La variación diaria neta del contenido energético de los ovarios de las hembras se calculó como: (contenido de energía estimado en tiempo t<sub>2</sub> - contenido de energía estimado en tiempo t<sub>1</sub>) /

$t_2-t_1$ . En ausencia de información precisa acerca de las tasas de consumo de alimento en poblaciones naturales de besugo, se tomaron las tasas de alimentación óptimas obtenidas en laboratorio y la regresión (4.3) del Capítulo IV:

$$\ln(A) = -0,115201 + 1,398250 \times \ln(P) + 0,675869 \times \ln(G)$$

donde A es el alimento consumido, P el peso (g) y G la tasa específica de crecimiento. El costo reproductivo se estimó como  $= 1 - (\text{alimento consumido} - \text{energía contenida en el ovario} / \text{metabolismo de rutina})$ . El metabolismo de rutina es aquel medido en estado de post-absorción y que incluye las actividades normales de un pez, como por ejemplo, búsqueda de alimento, flotación y natación espontánea (Jobling, 1994). El esfuerzo reproductivo se calculó en base a la relación entre la energía retenida en los ovarios / energía del alimento consumido.

El análisis proximal de las gónadas y tejidos de besugo en los diferentes meses del año se realizó en los Laboratorios de Análisis para la Industria y de Tecnología de Alimentos del INIDEP, con muestras provenientes de campañas de investigación del INIDEP y muestreos de desembarque. La metodología de estimación del metabolismo de rutina por consumo de oxígeno se describe en el Capítulo IV.

Como criterios biológicos para estimar la calidad de huevos y larvas, se calcularon por duplicado la tasa de eclosión y el índice de sobrevivencia larval (SAI). Para la tasa de eclosión se incubaron 50 huevos en vasos de precipitado de vidrio de 1.000 ml de capacidad a la temperatura de puesta. La eclosión se estimó a las 50 hs, dividiendo el número de larvas eclosionadas normales por el número de huevos incubados. De las larvas eclosionadas normales, se tomaron 30 individuos ( $N_i$ ) y se ubicaron en vasos de precipitado de vidrio de 1.000 ml de capacidad, a la temperatura de puesta, para estimar el SAI. Diariamente (i) se revisaron los vasos de precipitado y se extrajeron las larvas muertas (L):

$$SAI = \frac{\sum (N_i - L_{i+1}) * (i+1)}{N_i}$$

La velocidad de desarrollo embrionario se determinó incubando huevos recién fecundados a tres temperaturas diferentes (15°C, 20°C y 25°C) en vasos de precipitado de 1.000 ml de capacidad. Para contar con huevos recién fecundados fue necesario establecer el momento exacto de la fecundación (tiempo 0) en el tanque sin perturbar a los reproductores, ya

que los mismos son altamente sensibles al estrés producido por los ruidos y el manipuleo, por lo que no es posible realizar una fertilización *in vitro* a través del masaje abdominal. Durante varios días se tomaron muestras del colector de huevos cada 30 minutos luego de detectar el comportamiento reproductivo de persecución, para determinar la hora exacta de puesta. El tiempo 0 se estableció cuando ningún huevo de la camada obtenida presentaba blastocitos visibles. Estos huevos recién fecundados se mantuvieron en una incubadora marca EYELA MTI-202 a las tres temperaturas mencionadas previamente y con luz constante, hasta el momento de la eclosión. Se tomaron imágenes digitales en una lupa NIKON SMZ-U conectada a un analizador de imágenes KEYENCE VH-7000C.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Reproducción

Los diferentes estadios del huevo observados (Fig. 3-I a 3-VIII; Tabla III), se utilizaron para estimar la hora de puesta de nuestra especie.

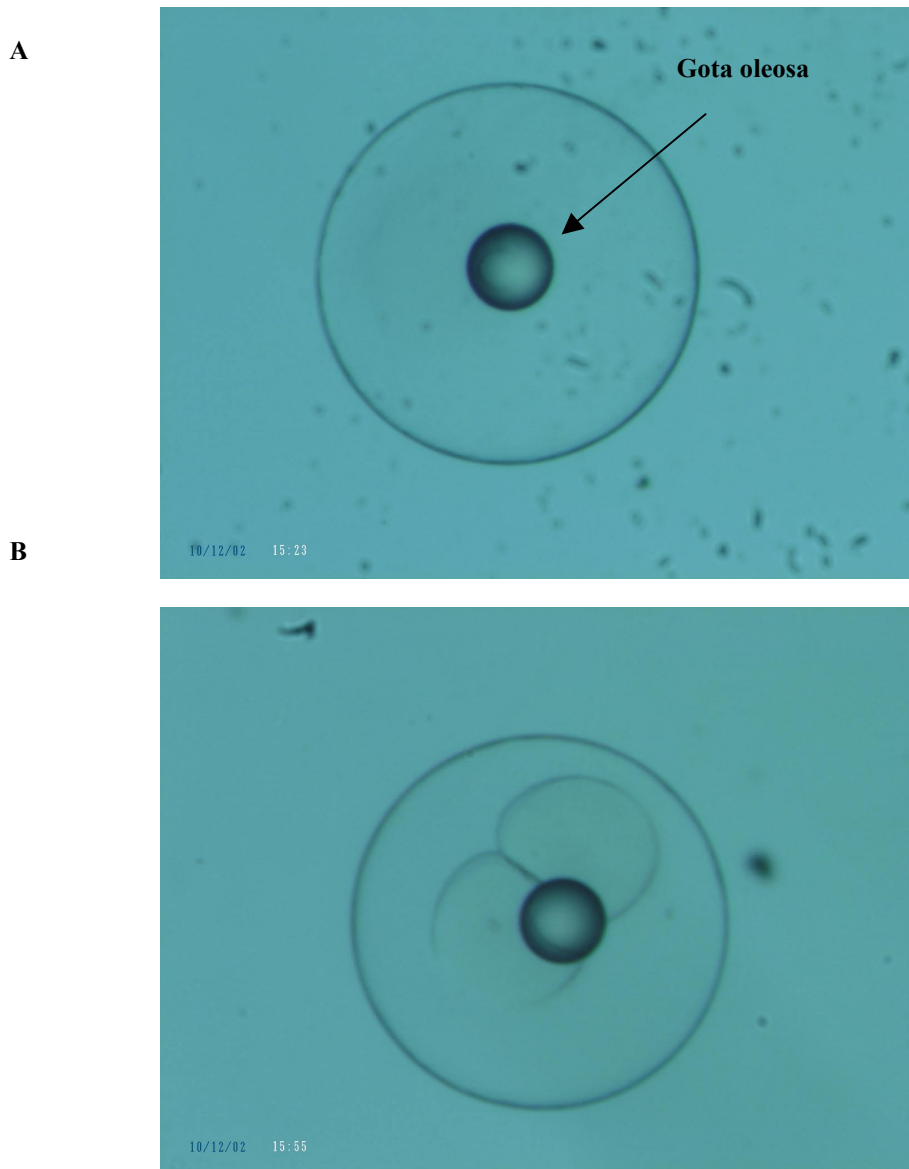


Figura 3-I. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Ovulo fertilizado. B. Estadio de dos células.

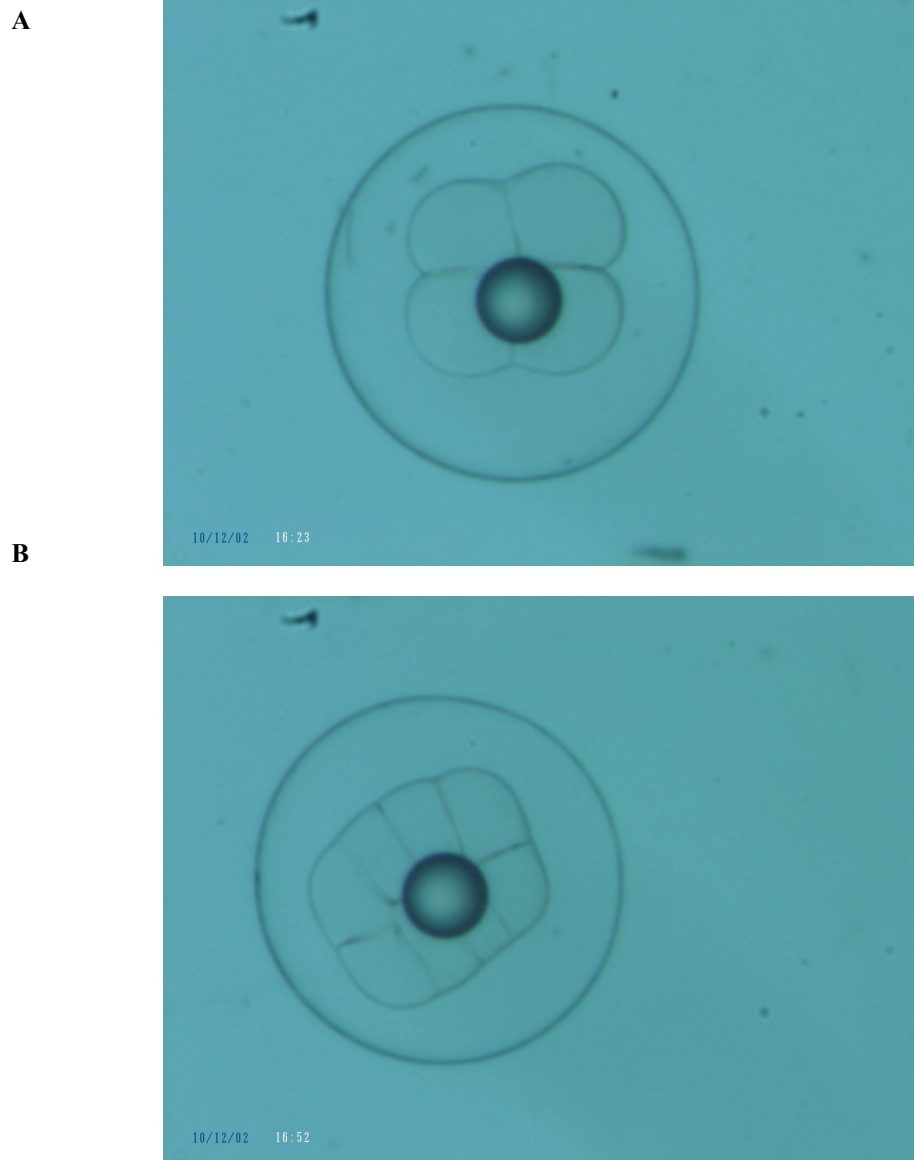
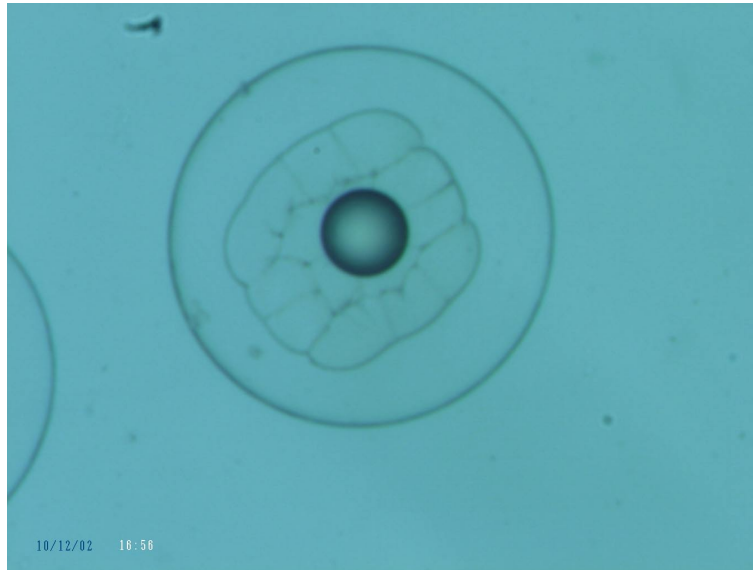


Figura 3-II. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de 4 células. B. Estadio de 8 células.

**A**



**B**

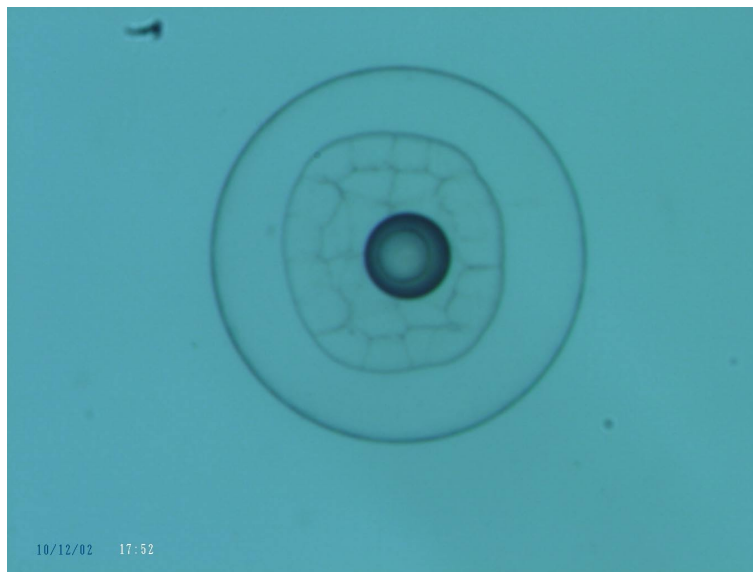
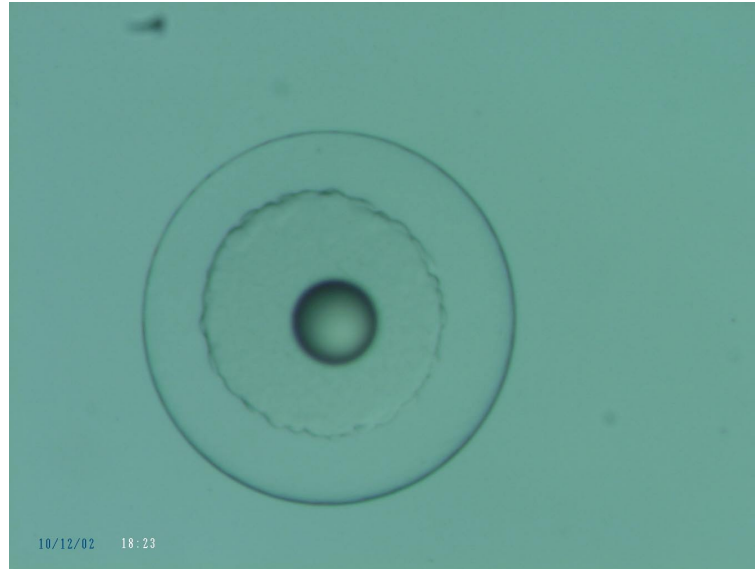


Figura. 3-III. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de 16 células.  
B. Estadio de 32 células.

**A**



**B**

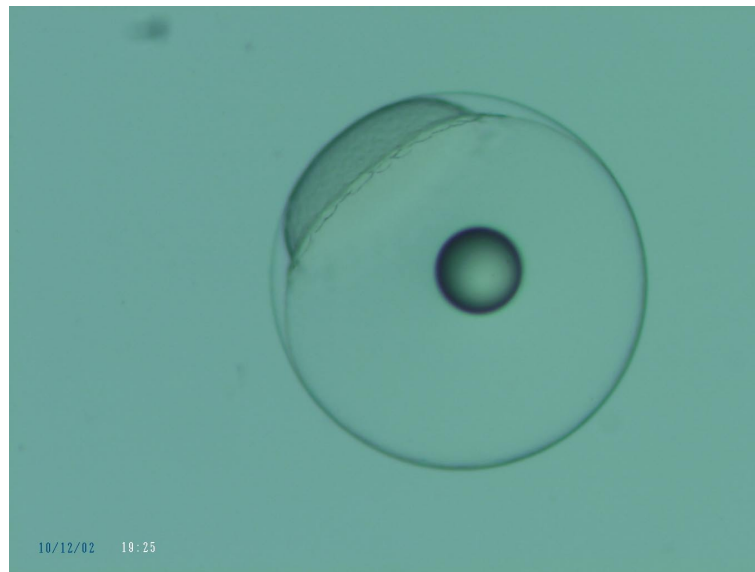
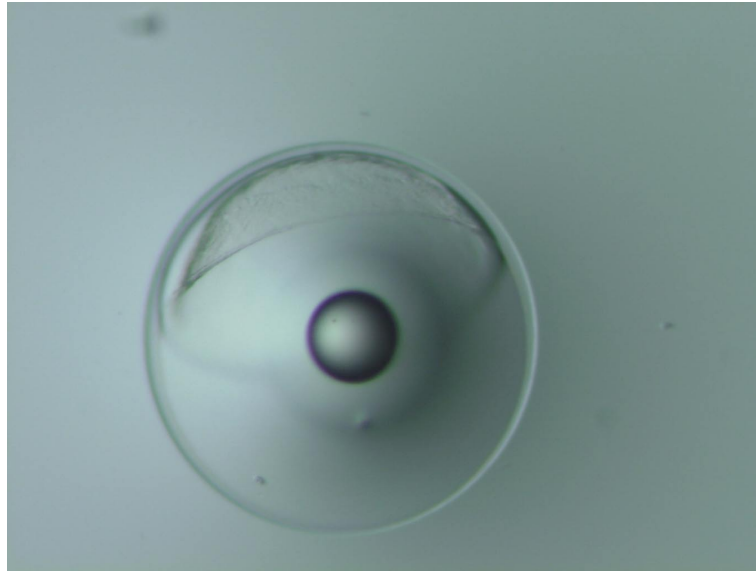


Figura. 3-IV. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de mórula tardía. B. Estadio de media blástula.

**A**



**B**

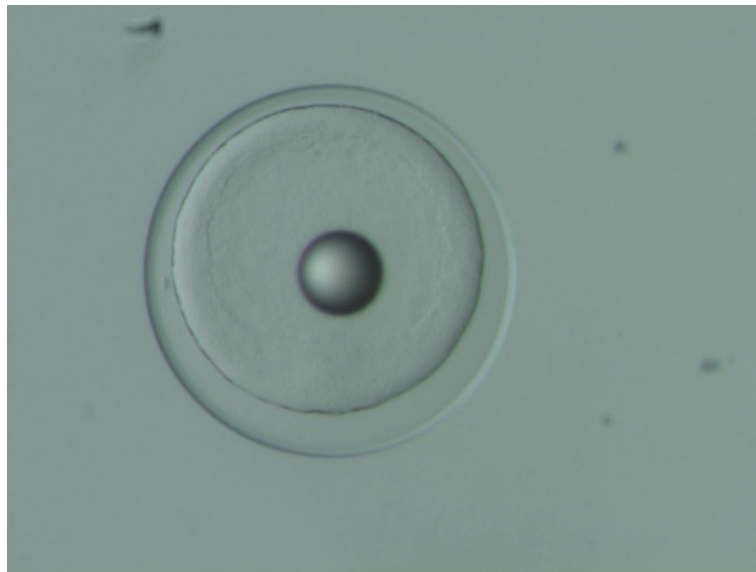
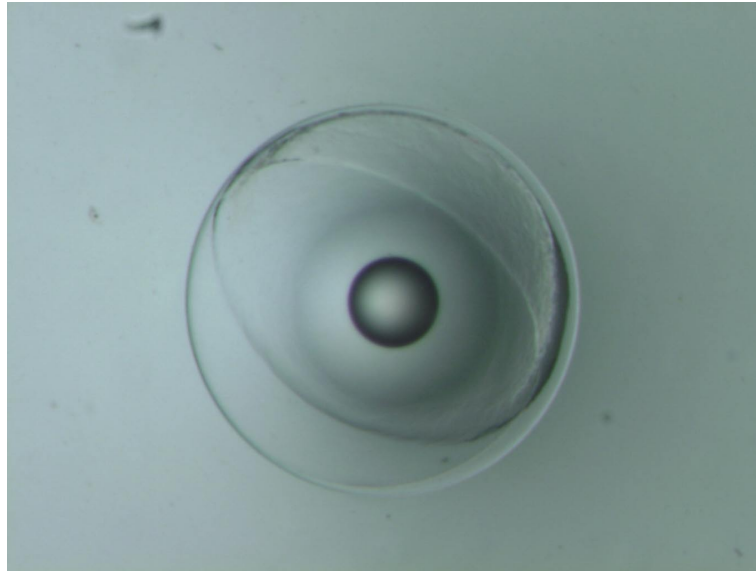


Figura 3-V. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de gástrula inicial (costado). B. Estadio de gástrula inicial (arriba).

**A**



**B**

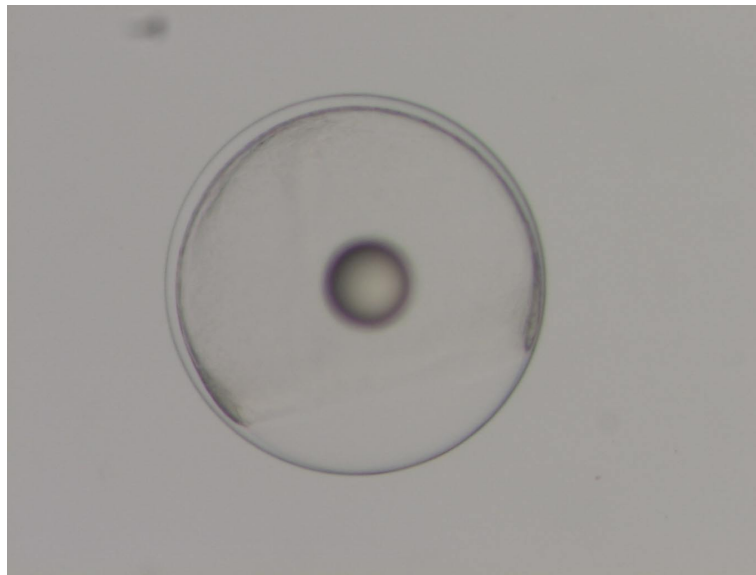
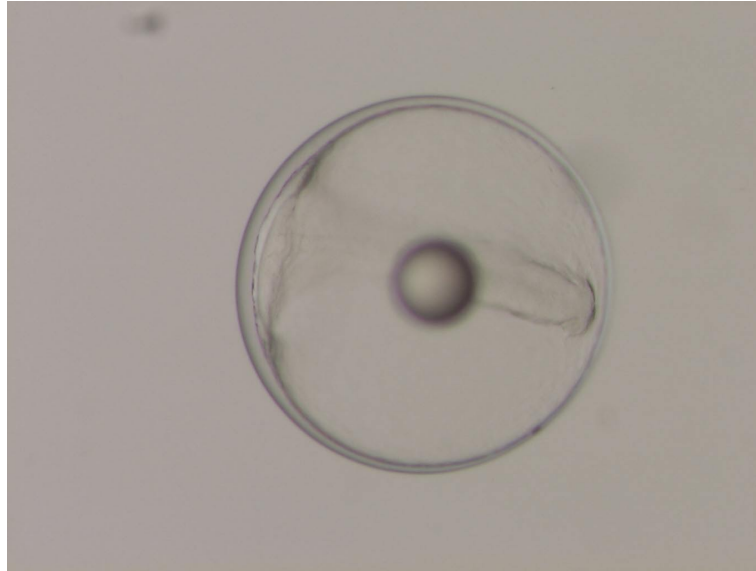


Figura 3-VI. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio de media gástrula. B. Estadio de gástrula tardía.

**A**



**B**



Fig. 3-VII. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Formación del embrión.  
B. Estado de 11-13 somitos y presencia de la vesícula de Kupffer.

**A**



**B**



Figura 3-VIII. Desarrollo de los huevos de besugo. A. Estadio previo a la eclosión. B. Larva recién eclosionada.

Tabla III. Estadios del desarrollo de huevos de besugo a tres temperaturas. Tiempo 0: fertilización

Tiempo (h)	15°C	20°C	25°C
0,0			
0,5	Corion se separa de la membrana celular. Espacio perivitelino visible	Corion se separa de la membrana celular. Espacio perivitelino visible	Corion se separa de la membrana celular. Espacio perivitelino visible
1,0	2 células	2 células	4 células
1,5	4 células	8 células	8 células
2,0	8 células	16 células	32 células
2,5	16 células	32 células	mórula inicial
3,0	32 células	mórula inicial	blástula inicial
3,5	mórula inicial	mórula tardía	media blástula
4,0	mórula tardía	blástula inicial	blástula tardía
4,5	blástula inicial	media blástula	blástula tardía
5,0	blástula inicial	media blástula	gástrula inicial
6,0	media blástula	media blástula	gástrula inicial
7,0	media blástula	blástula tardía	gástrula inicial
8,0	blástula tardía	gástrula inicial	media gástrula
9,0	blástula tardía	gástrula inicial	media gástrula
10,0	blástula tardía	gástrula inicial	gástrula tardía
11,0	blástula tardía	gástrula inicial	aparición del embrión
12,0	blástula tardía	media gástrula	vesículas ópticas y de Kupffer
13,0	gástrula inicial	media gástrula	Blastoporo cerrado, melanóforos
14,0	gástrula inicial	media gástrula	11 somitos
15,0	gástrula inicial	gástrula tardía	Corazón rudimentario, 12 somitos
16,0	media gástrula	aparición del embrión	18 somitos, desaparece Kupffer
17,0	media gástrula	vesículas ópticas	crystalino, 20-21somitos
18,0	media gástrula	6 somitos	20-22 somitos
19,0	media gástrula	10 somitos, melanóforos	22-24 somitos
20,0	gástrula tardía	10-11somitos	Elongación de la cola
21,0	aparición del embrión	vesícula de Kupffer	Latidos cardíacos
22,0	aparición del embrión	11-13 somitos, corazón rudimentario	Latidos cardíacos, movimientos del embrión
23,0	aparición del embrión	11-13 somitos, corazón rudimentario	Latidos cardíacos, movimientos del embrión
24,0	vesículas ópticas	14-16 somitos, xantóforos.	Abundantes melanóforos
25,0	vesículas ópticas	pigmentación ocular, 16 somitos.	Inicio de la eclosión
26,0	vesículas ópticas	pigmentación ocular, 16 somitos.	20% eclosionadas
27,0	vesícula de Kupffer	desaparición de vesícula de Kupffer. Rudimento de corazón. Formación de la cola	50% eclosionadas
28,0	7 somitos	Elongación de la cola	90% eclosionadas
29,0	10 somitos, melanóforos	Elongación de la cola, se observan latidos cardíacos, 20-24 somitos	
30,0	10-11somitos	24 somitos, latidos cardíacos, movimientos del embrión	
31,0	10-11somitos	24 somitos, latidos cardíacos, movimientos del embrión	

32,0	10-11somitos	Movimientos del embrión
33,0	11somitos, corazón rudimentario	Movimientos del embrión
34,0	15 somitos	Movimientos del embrión
35,0	16-17somitos	Movimientos del embrión
36,0	16-17somitos	Movimientos del embrión
37,0	16-17somitos	Inicio de eclosión
38,0	18 somitos	20% eclosionadas
39,0	18-19 somitos	30% eclosionadas
40,0	20 somitos	40% eclosionadas
41,0	desaparece vesícula de Kupffer, 22-23 somitos	70% eclosionadas
42,0	22-23 somitos	100 % eclosionadas
44,0	24 somitos	
46,0	Elongación de la cola, se observan latidos cardíacos	
48,0	Elongación de la cola, se observan latidos cardíacos	
50,0	Movimientos del embrión	
52,0	Movimientos del embrión	
54,0	Movimientos del embrión	
56,0	Movimientos del embrión	
58,0	Movimientos del embrión	
60,0	5-10% eclosionadas	
62,0	30-40% eclosionadas	
64,0	40-60% eclosionadas	
66,0	100% eclosionadas	

Durante diciembre y enero la mayor proporción de huevos estuvo representada por aquellos en estadio de 17 hs después de la fecundación (TDF), lo que indica que el pico reproductivo se produjo alrededor de las 4 PM (Fig. 4; E+ = media gástrula). Los estadios de 45hs representan aquellos huevos que quedaron retenidos en el tanque de reproductores. En febrero los resultados no fueron tan claros, ya que a la tendencia anterior se le agregó un segundo pico reproductivo al amanecer, con huevos en estadios de 4hs (TDF, mórula inicial).

El desarrollo de los huevos del besugo rojo japonés (*Pagrus major*) a diferentes temperaturas (Yamaguchi, 1988), resultó muy similar al presente estudio y se correlacionó perfectamente con las descripciones realizadas por Ciechowski y Weiss (1973) para besugo.

La puesta estuvo precedida y acompañada por un comportamiento característico de persecución dentro del tanque, llegando a veces a que alguna hembra saltara fuera del mismo. Este comportamiento requiere energía, pero no existen estimaciones al respecto. En muchos casos, no parece probable que sea un componente significativo del presupuesto energético (Wootton, 1990). En la naturaleza, el tiempo dedicado al cortejo

se resta de aquel utilizado para la búsqueda de alimento, y puede hacer al pez más vulnerable frente a los predadores (Wootton, 1990).

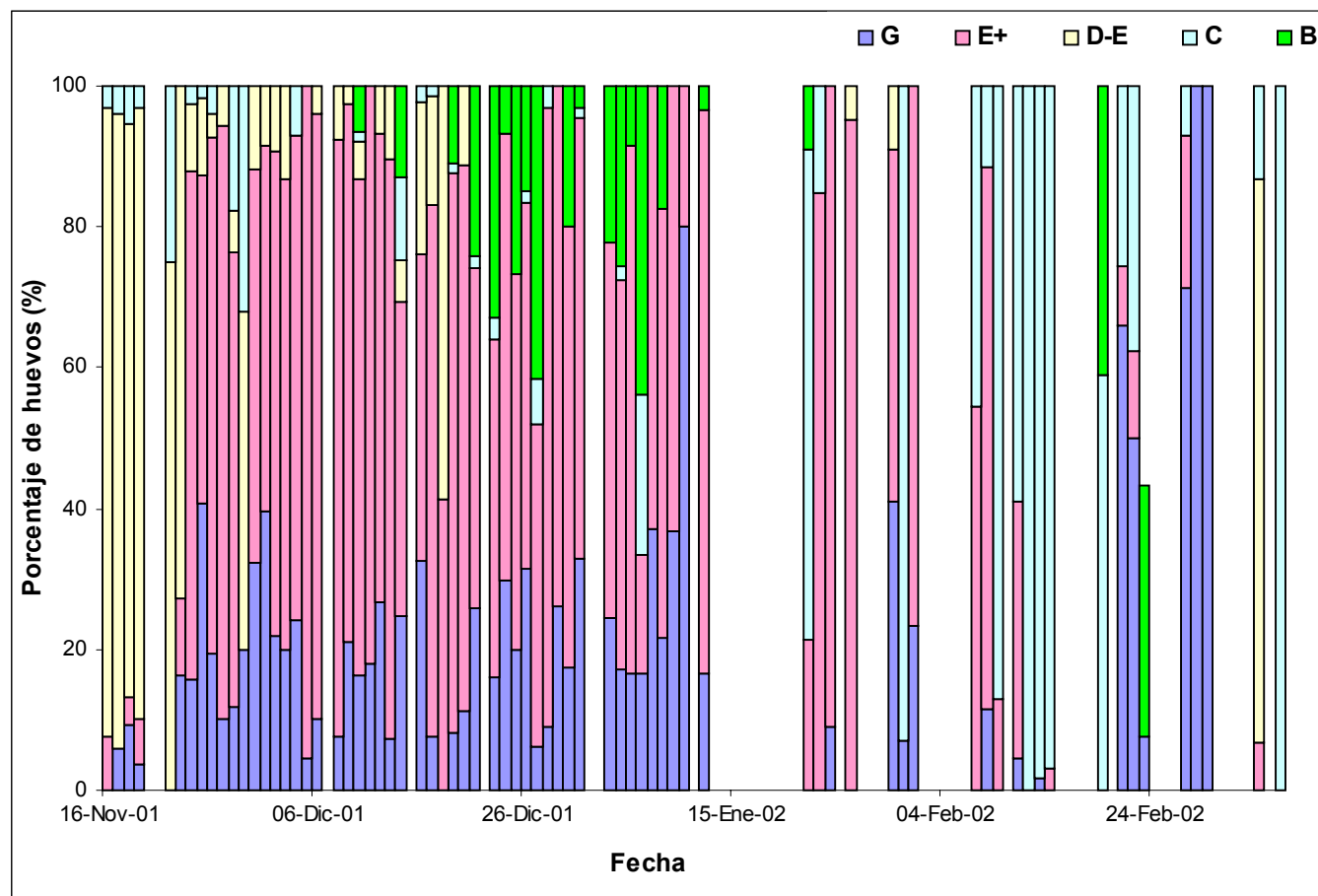


Fig. 4. Proporción de los desarrollo de los huevos diariamente en la (18°C). B,3hs; C, 4hs; D-45hs.

distintos estadios de de besugo colectados temporada 2001/2002 E, 6-16hs; E+, 17hs y G,

Muchas especies marinas de aguas templadas y frías desovan en primavera o inicios del verano con el objeto de sincronizar la eclosión larval con el inicio del florecimiento planctónico. Una consecuencia de esto es que la mayor parte del desarrollo gonadal (vitelogénesis y maduración del ovocito) ocurre durante los meses finales del invierno cuando el alimento puede tornarse escaso (Jobling, 1995). El desarrollo final del ovario en peces involucra importantes cambios fisiológicos y bioquímicos, los que resultan en una incorporación masiva de lípidos y proteínas en el ovocito en crecimiento (Zohar *et al.*, 1995). Muchas especies de peces reducen la ingestión de alimento en este período, por lo que los nutrientes y la energía necesarios para el crecimiento del ovario y otras funciones provienen de reservas corporales (Aksnes *et al.*, 1986). En estas especies son de esperar cambios en los tamaños relativos y composición química de los diversos tejidos y órganos del cuerpo durante el invierno, ya que las reservas deben ser movilizadas desde los depósitos para ser metabolizados o incorporados en las gónadas (Jobling, 1995).

El desarrollo ovárico del besugo hace que sea un desovante prácticamente diario por un período de aproximadamente dos meses en el medio natural (Ciechomski y Cassia, 1974). Así, se tiene que durante el verano (principalmente diciembre y enero), las hembras de besugo poseen tanto ovocitos en estado final de vitelogénesis, como otros en procesos iniciales de maduración (Cotrina y Christiansen, 1994), lo que evidencia que el vitelo continuamente se deposita en los ovarios durante varios meses del año. Esta producción masiva puede mantenerse solo mediante reservas energéticas corporales y la energía ingerida a través de los alimentos. En el tanque de reproductores, la tasa de alimentación fue del  $2 \pm 0,2$  % a lo largo de la temporada reproductiva y decreció durante los meses de invierno debido a la baja temperatura. Un comportamiento similar fue observado en temporadas anteriores. Se ve claramente aquí la importancia que tiene la dieta en las hembras desovantes y su potencial efecto en la calidad de huevos y larvas. De hecho, una serie de estudios realizados en *Pagrus major* mostró que la fecundidad y la calidad de los huevos, medido como número de huevos viables (flotantes), tasa de eclosión y número de larvas normales, mejoró con la utilización de eufáusidos y calamar como alimento para los reproductores (Watanabe *et al.*, 1984, 1985)

La dieta ha recibido la mayor atención con respecto a su efecto sobre la calidad de los huevos (Washburn *et al.*, 1990; Watanabe *et al.*, 1991a, b, c). Se ha visto que un cambio en la dieta de los reproductores de *Sparus aurata*, aún por cortos períodos de tiempo, afectó drásticamente la calidad de los huevos (Zhoar *et al.*, 1995). Otros factores determinantes de la calidad de los huevos, los cuales en peces en cautiverio son una función de las condiciones de cría, incluyen la sobre-maduración (el proceso de envejecimiento de los óvulos no fertilizados retenidos en el cuerpo de la

hembra luego de la ovulación) y la colonización bacteriana del huevo fertilizado (Brooks *et al.*, 1997). La astaxantina (3,3'-dihidroxi- $\beta$ ,  $\beta$ caroteno-4,4'-diona) se encuentra ampliamente distribuida como pigmento rojo, especialmente en crustáceos. A diferencia del  $\beta$ -caroteno, la astaxantina es esencial para incrementar la tasa de huevos viables y la sobrevivencia larval en *Pagrus major* (Watanabe y Kiron, 1995). En la misma especie se describió que la vitamina E y los fosfolípidos mejoran la calidad de los huevos actuando como antioxidantes protegiendo los lípidos componentes de las biomembranas de los radicales libres (Watanabe *et al.*, 1991a).

Sobre la base de las 11 hembras de besugo (21,2 kg peso total) existentes en el tanque (estación 2001-2002), se obtuvieron 13.470 huevos/kg $\text{♀}$ \*día, totalizando 1.361.000 huevos/kg $\text{♀}$ \*estación (Tabla IV). Durante 3 meses de reproducción se obtuvieron aproximadamente 200 g de huevos/kg $\text{♀}$ , lo que equivale en promedio a 0,2 veces su propio peso. Comparada con la estación reproductiva previa (año 2000-2001), se observa un incremento en todos los parámetros calculados con un número menor de puestas. Ciechowski y Cassia (1974), estimaron la relación entre la fecundidad y el peso del cuerpo para hembras de besugo entre 200 y 1.620g. Manooch (1976), obtuvo una regresión similar en hembras de besugos provenientes de Carolina del Norte (USA), de entre 400 y 1.900g. Aplicando dichas fórmulas a las hembras del tanque de reproductores, se obtiene una fecundidad total de aproximadamente 6.423.500 y 19.806.000 ovocitos, respectivamente. Ambos valores de fecundidad son muy inferiores a la producción registrada en el laboratorio (Tabla IV). Las condiciones ambientales estables del tanque de reproductores reducen los gastos de energía que son habituales en el medio natural, como por ejemplo, migración, búsqueda y captura de alimento, y procesos fisiológicos necesarios para mantener la homeostasis. Este ahorro favorecería la producción de ovocitos al dirigir la energía excedente a la producción gonadal.

Tabla IV. Cantidad de huevos obtenidos en relación al peso de las hembras para distintos períodos. Temperatura de puesta =  $18,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Estación	huevos/ Kg. $\text{♀}$ *día	huevos/ Kg. $\text{♀}$ *estación	g huevos/ Kg. $\text{♀}$	Huevos viables (%)	Total óvulos liberados	Puestas
2000-2001	11.480	1.193.708	194 $\pm$ 66	41,6	26.022.824	104
2001-2002	13.470	1.360.519	201 $\pm$ 42	68,1	28.843.000	101

## Características y calidad de los huevos

Existe poco consenso acerca de los métodos más confiables para evaluar la calidad de los huevos de peces marinos. En nuestro laboratorio, como en los criaderos de peces, se distingue entre **huevos viables** o **no viables** en virtud de la capacidad del huevo de flotar o hundirse en el agua (McEveroy, 1984; Carrillo *et al.*, 1989), característica utilizada para su separación. Sin embargo, esta correlación positiva entre buena calidad y flotación no se mantiene en todas especies (Bromage *et al.*, 1994). Los ovocitos fertilizados (huevos), más aquellos ovocitos recientemente liberados y que no han sido fecundados, se los llama colectivamente **huevos viables**. Ambos tipos de ovocitos flotan en el agua de mar a 33-34 ‰ de salinidad. Definimos como **huevos no viables** al conjunto de ovocitos que no han sido fertilizados luego de un periodo de varias horas, más aquellos huevos que por alguna razón detienen su desarrollo en un determinado punto. Ambos se vuelven opacos y se hunden. Estos huevos no viables, caracterizados colectivamente como de mala calidad, tienen arrugas en la membrana, pequeñas manchas negras o abolladuras. La apariencia del corion, la forma del huevo, su transparencia y la distribución de las gotas oleosas, el peso seco y el diámetro también se han relacionado con la calidad.

Los huevos son esféricos, de aproximadamente 1 mm de diámetro y transparentes. Contienen una única gota oleosa y tienden a flotar. En 1 gramo húmedo de huevos viables de besugo se contaron en promedio 614 huevos (Fig. 5). Este número debe verificarse ocasionalmente y puede variar, entre otras cosas, por el tamaño de las hembras y la alimentación.

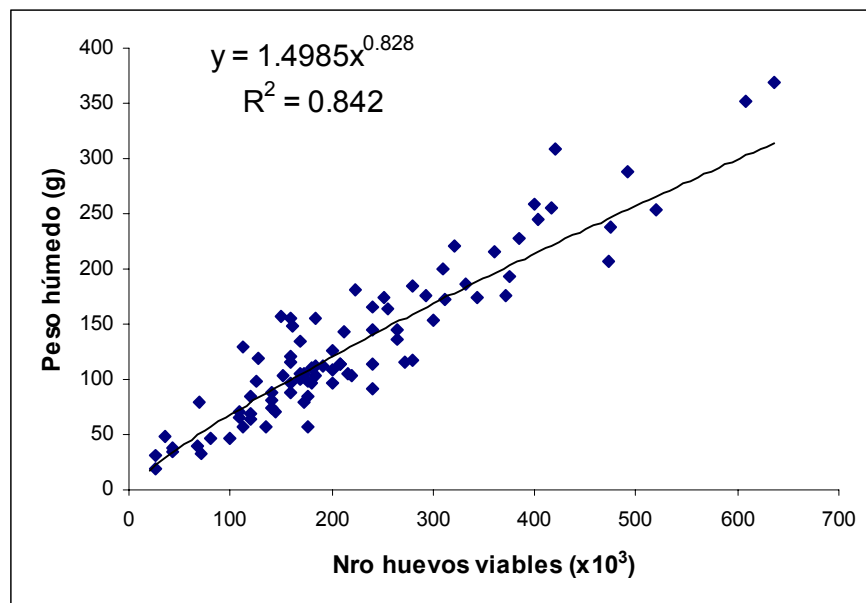


Figura 5. Relación entre el peso húmedo y la cantidad de huevos viables (flotantes) de besugo en la temporada 2001/2002

Se obtuvo un valor de contenido proteico de 72,31% (11,57 x 6,25) por gramo de peso seco (gPS) y de 23,80% de lípidos (gPS) (Tabla V). En base a esto, los carbohidratos representarían cerca del 1,39% de la materia seca. Esta composición se encuentra dentro del rango normal encontrado en peces marinos (Heming y Buddington, 1988). El contenido energético de los huevos de besugo se estimó en 5,71 J/mg de peso húmedo (mgPS), similar al encontrado por Pascual y Yúfera (1993) para *Sparus aurata*.

Se observó una considerable variación en la calidad de los huevos de besugo obtenidos en diferentes camadas durante la misma estación reproductiva (Fig. 6), aún cuando las camadas se mantuvieron en idénticas condiciones de incubación. La tasa de eclosión mide la calidad de los huevos, mientras que el SAI estima la de las larvas, pero no da pautas acerca de los factores que la determinan. Ambos índices no son buenos indicadores de calidad por sí solos. Debido a las amplias variaciones en sus valores y a que son especie-específicos, es recomendable prestar atención a sus tendencias para los mismos períodos a lo largo de los años, y así poder determinar variaciones y estimar valores más precisos. Se han propuesto características tales como la forma del huevo, su transparencia y distribución de gotas oleosas como indicadores de calidad (Kjorsvik, *et al.*, 1990; Bromage *et al.*, 1994).

Tabla V. Composición química proximal y contenido de carbono (C), nitrógeno (N<sub>2</sub>), peso seco (PS) y energía en huevos de besugo ( $\pm$  DE). C y N<sub>2</sub> están expresados como porcentajes de peso seco libre de cenizas (PSLC), mientras que el contenido de energía se da en relación al PS y PSLC.

	Promedio ( $\pm$ DE)
<b>PS<math>\mu</math>g/huevo</b>	39,56 $\pm$ 1,67
<b>% C</b>	55,34 $\pm$ 2,42
<b>% N</b>	11,57 $\pm$ 0,72
<b>% proteínas</b>	16,93 $\pm$ 0,87
<b>% lípidos</b>	6,58 $\pm$ 0,55
<b>% ceniza</b>	2,56 $\pm$ 0,46
<b>% agua</b>	75,23 $\pm$ 3,40
<b>J/mg PS</b>	20,36 $\pm$ 1,40
<b>J/mg PSLC</b>	23,79 $\pm$ 0,63
<b><math>\mu</math>gC/huevo</b>	16,18 $\pm$ 0,54
<b><math>\mu</math>gN/huevo</b>	3,38 $\pm$ 0,07
<b><math>\mu</math>g ceniza/huevo</b>	3,02 $\pm$ 1,22
<b>mJ/huevo</b>	805,44 $\pm$ 52,26
<b>C:N</b>	4,78 $\pm$ 0,11

Las poblaciones de peces, tanto cultivadas como salvajes, dependen de la producción de huevos de buena calidad. En ambos sistemas, el ambiente en el cual se incuban los huevos también afectará el éxito de la descendencia (Brooks *et al.*, 1997). En muchos peces cultivados, especialmente las especies marinas, la calidad de los huevos es la mayor dificultad en la producción (Kjorsvik *et al.*, 1990). Por ejemplo, en el halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), un pez plano de importante valor comercial en el Atlántico, con un considerable potencial de cultivo, las tasas de eclosión frecuentemente son menores del 1% (Norberg *et al.*, 1991).

Tradicionalmente en acuicultura se piensa que, en términos de calidad, los huevos más grandes son mejores. El tamaño de los huevos puede variar tanto dentro de una especie como entre poblaciones de la misma especie (Beachman y Murray, 1985). Durante la temporada reproductiva 2000-2001, los huevos mostraron una tendencia a incrementar su diámetro a medida que pasaban los meses (Fig. 7), mientras que en la temporada siguiente (2001-2002), mantuvieron aproximadamente el mismo diámetro promedio constante. Este aumento en el diámetro de los huevos podría ser tomado como un indicador de desove de hembras de diferente tamaño en el tanque.

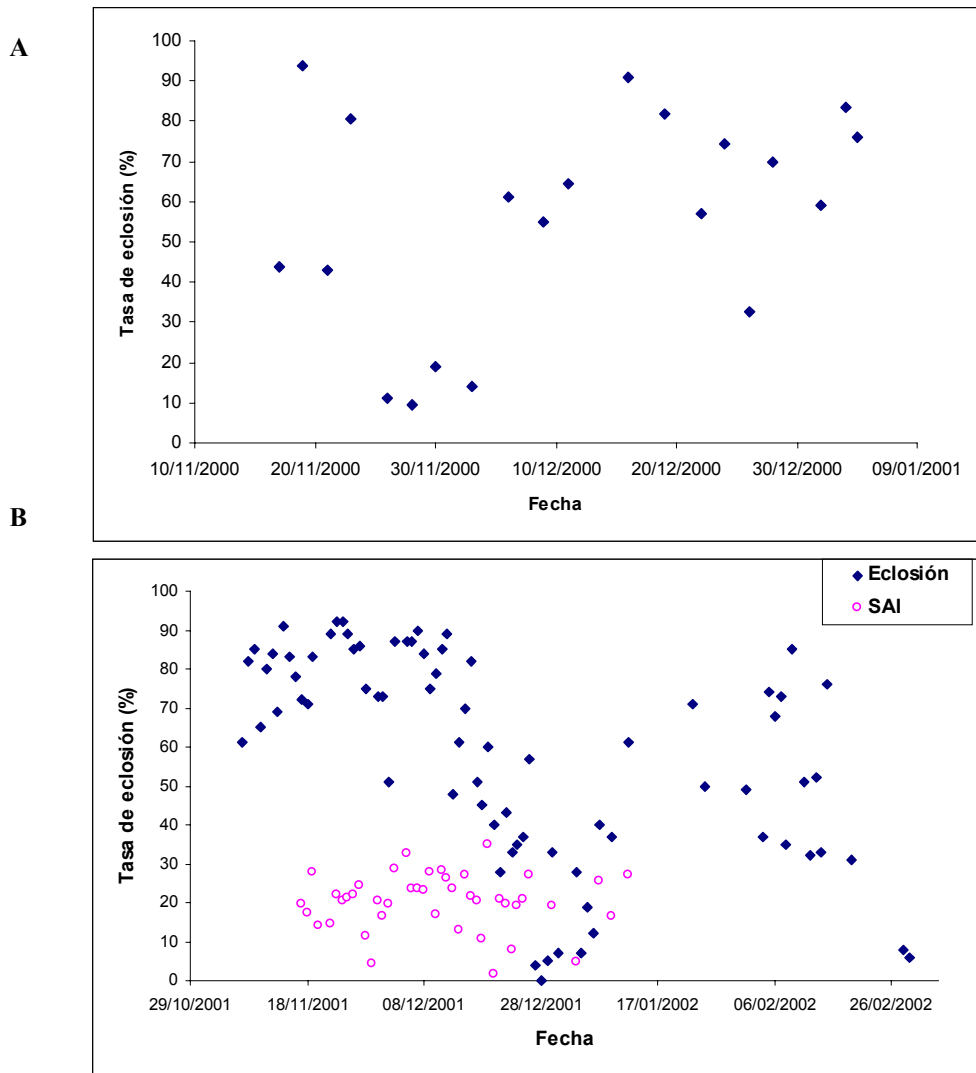


Figura 6. Variación de la tasa de eclosión y el SAI para diferentes períodos reproductivos en besugo: A) reproducción 2001-2002; B) reproducción 2002-2003.

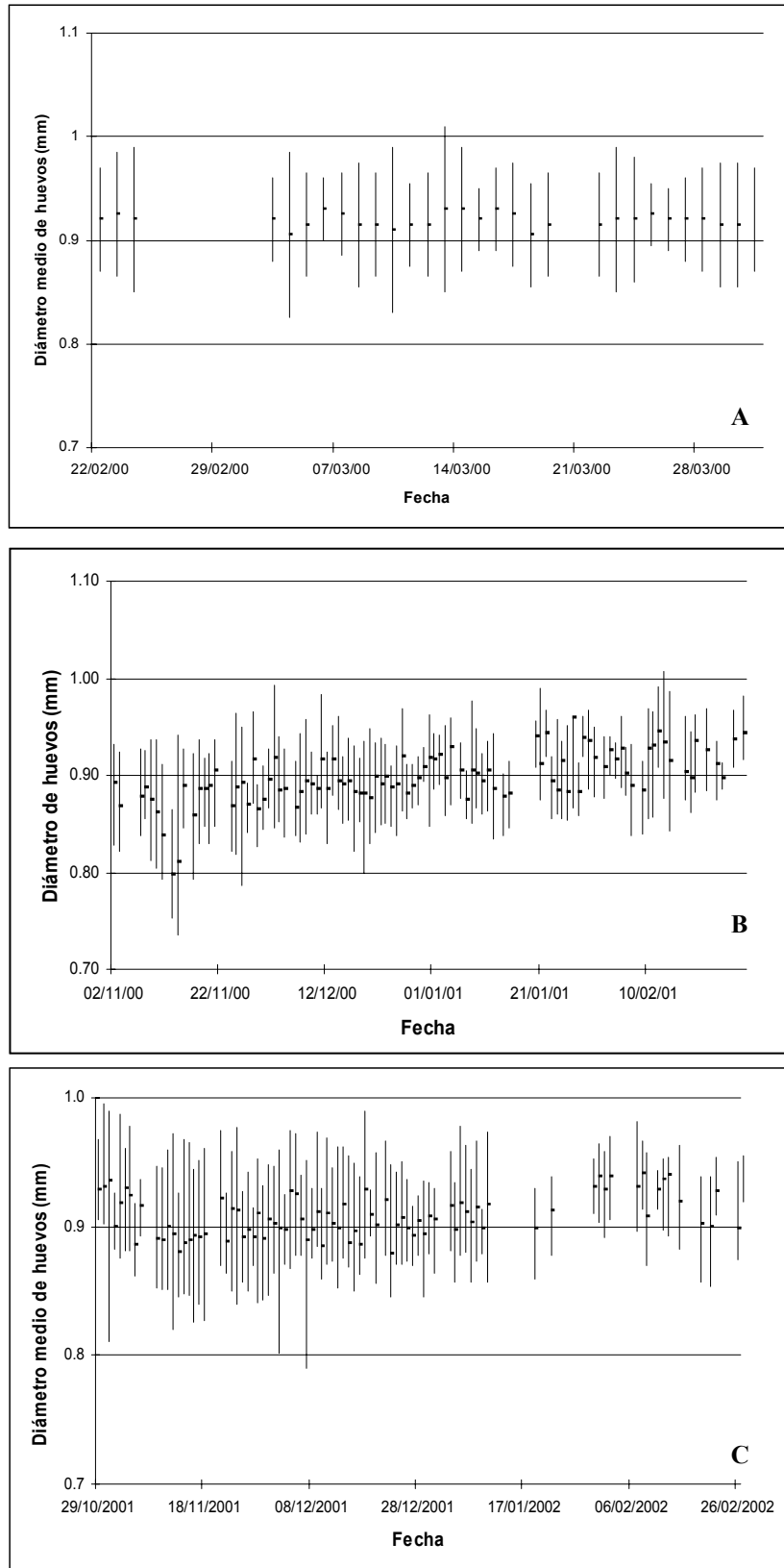


Figura 7. Diámetro de los huevos de besugo obtenidos de las puestas en cautiverio durante distintas estaciones reproductivas: A) 1999-2000 B) 2000-2001 C) 2001-2002



La temperatura del agua durante la puesta y la incubación de los huevos influyen sobre la calidad de los mismos, ya que afectan no sólo su calidad (Brooks *et al.*, 1997), sino también su velocidad de desarrollo (Fig. 8). Diferencias en los tamaños de los huevos se observaron en otras especies (Kjesbu *et al.*, 1991). La comparación entre peces mantenidos en cautiverio y salvajes muestra que la calidad de los huevos es mayor en éstos últimos, probablemente debido a influencias ambientales (Brooks *et al.*, 1997), a la dieta de los reproductores y a las condiciones fisicoquímicas del agua donde se incuban los huevos (Carrillo *et al.*, 1989; Bromage *et al.*, 1992).

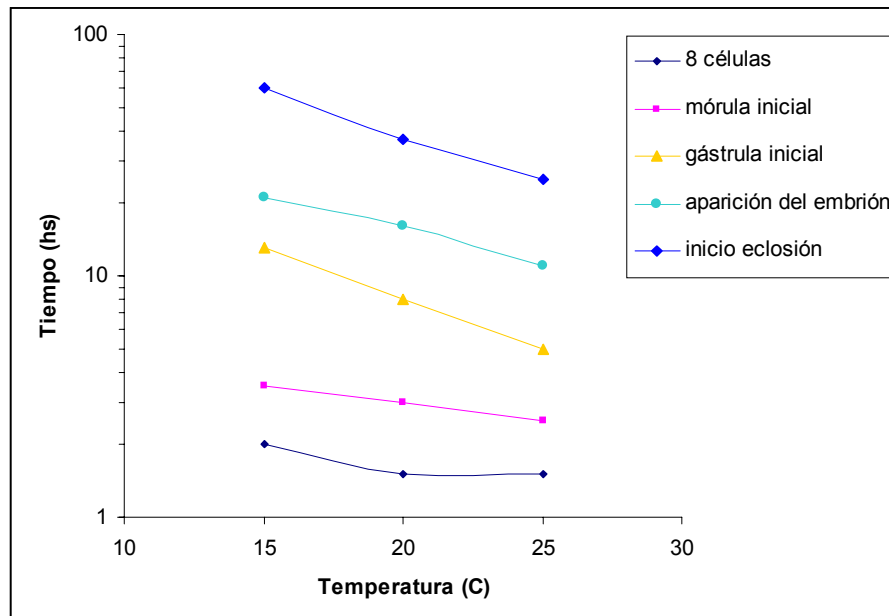


Figura 8. Efecto de la temperatura sobre el tiempo de desarrollo de huevos de besugo. Eje de ordenadas en escala logarítmica.

Wootton (1990), agrupó los diámetros de los huevos de 101 especies marinas y obtuvo una distribución de frecuencias sesgada hacia los diámetros más pequeños, con una moda > 50% en huevos de 1 mm. Este patrón podría interpretarse como una tendencia evolutiva de los peces para minimizar el tamaño del huevo. Los huevos más grandes son los de los salmónidos, normalmente considerados como primitivos en la filogenia de los teleósteos. Debido al hecho de que los ovocitos deben ser acomodados en la cavidad abdominal, la minimización tendería a maximizar la fecundidad. La variación en el tamaño de los huevos a lo largo del verano, puede deberse por un lado a que hembras de diferente tamaño pueden estar desovando en diferentes momentos (Thorpe *et al.*, 1984) y por otro lado, puede estar mostrando una respuesta adaptativa a los cambios en las condiciones ambientales que enfrentan los huevos y las larvas. Ware (1975), propuso un modelo que predice que el diámetro

óptimo de los huevos decrecerá a medida que el período de incubación se acorta por efecto del aumento de la temperatura del agua. Por ello, a medida que la temperatura del mar aumenta en el transcurso del verano, el tamaño óptimo decrece. Este fenómeno de incremento de temperatura se utiliza en nuestro laboratorio para detener la reproducción en el tanque. No está clara la causa de la variación del diámetro del huevo con el tamaño de la hembra. Se esperaría que el tamaño óptimo del huevo sea independiente del tamaño de la hembra, ya que está relacionado a las condiciones ambientales experimentadas por los huevos y las larvas. Sin embargo, si existe una competencia entre el diámetro del huevo y la fecundidad, y si existe una correlación positiva entre el diámetro del huevo y la sobrevivencia del mismo (post-absorción), el tamaño óptimo del huevo podría cambiar con el tamaño de la hembra (Wootton, 1990). Las hembras pequeñas necesitan maximizar el número de huevos producidos porque su fecundidad es relativamente baja, mientras que las hembras más grandes son capaces de sacrificar algo de la fecundidad con el objeto de incrementar la calidad de sus huevos en términos de tamaño.

### **Esfuerzo reproductivo**

En los peces, el vitelo incorporado en el ovocito durante la vitelogénesis es normalmente la única, o la más importante fuente de nutrientes para el embrión en desarrollo y para la larva recién eclosionada hasta antes de que inicie su primera alimentación exógena.

Existe poca síntesis de vitelo en los ovarios y ovocitos (Jobling, 1994). El hígado es el principal lugar de síntesis, y la vitelogenina es transportada hasta los ovarios por la corriente sanguínea (Brooks *et al.*, 1997). La vitelogenina se incorpora al ovocito en desarrollo durante varios días o semanas (vitelogénesis). Durante este período, el ovocito aumenta marcadamente su tamaño debido a la incorporación de vitelo, llevando a un también marcado incremento del tamaño de los ovarios. Durante la estación reproductiva del besugo, los ovocitos se desarrollan en pequeñas camadas para luego ser expulsados casi diariamente durante unos meses. Los huevos de besugo representaron en promedio el 22,1% del peso seco del cuerpo (principalmente proteínas y lípidos), mientras que el contenido energético de los huevos se ubicó en 5,71 J/mg de peso húmedo.

Los óvulos producidos por la hembra representan una gran inversión energética, y esto se ve reflejado en el tamaño relativo de las gónadas al momento previo al inicio de la puesta. Cotrina y Christiansen (1994), calcularon los índices gonadosomáticos para la especie a lo largo del año y por sexos, mostrando que los valores más bajos corresponden al período febrero-agosto, comenzando a incrementarse a partir de septiembre hasta

diciembre. Cotrina y Raimondo (1997), observaron una disminución paulatina del crecimiento en peso desde septiembre a enero en los desembarques en puerto y en muestras provenientes de campañas de investigación. Observaron que desde enero a abril la pendiente de la ecuación de von Bertalanffy aumenta, presentando en este último mes el máximo valor. A este fenómeno se lo vincula al receso reproductivo.

Los ovarios del besugo provenientes de muestreos de desembarque y campañas de investigación pesquera del INIDEP, alcanzaron un máximo de 7,5% del peso total del cuerpo de la hembra (Tabla VI). En algunas especies, incluyendo salmónidos y algunos ciprínidos, los ovarios representan entre el 20-30% del peso total del cuerpo al momento del desove, mientras que en otros sólo alcanzan al 5% (Wootton, 1990). Aquellas especies que liberan todos sus ovocitos en un corto intervalo de tiempo (desovantes totales), como la trucha, salmón y muchos ciprínidos, presentan altos índices gonadosomáticos (IG) al momento del desove. Los valores de IG bajos encontrados en besugo (Tabla VI), reflejan su patrón de desovante parcial con huevos en distintos estadios de desarrollo a lo largo de la estación reproductiva. Esta proporción de tamaño del ovario no daría un reflejo exacto de la inversión total anual en crecimiento reproductivo, ya que, además de los costos involucrados en el desarrollo de las gametas, existen costos energéticos adicionales asociados con la migración desde áreas de alimentación hacia áreas de reproducción, defensa del sitio de puesta, cortejo y expulsión de gametas, entre otros. Normalmente es el macho el que realiza activamente el cortejo y la defensa del territorio reproductivo. Así, aunque puede suponerse que la inversión energética en reproducción es mayor en las hembras que en los machos, el costo energético del comportamiento reproductivo podría ser marcadamente alto en los machos y no diferir ampliamente entre sexos (Jobling, 1994).

Podemos suponer entonces que, dentro del contexto del presupuesto energético (ecuación 1.2), una gran proporción del costo reproductivo de los machos podría considerarse como metabólico (M), más bien que como un componente de producción (P). Es obviamente dificultoso tratar de estimar el costo metabólico involucrado en las actividades de comportamiento reproductivo del macho, mientras que en las hembras se ha considerado normalmente el crecimiento reproductivo (Pr) como el desarrollo de los ovocitos y patrones de almacenamiento de energía en ovarios.

En muchas especies, los caracteres sexuales secundarios se desarrollan al inicio de la actividad sexual. Este no es el caso de besugo, el cual no presenta características morfológicas externas distintivas entre sexos, por

lo que se esperaría que el requerimiento energético de esta actividad sea nulo.

En la ecuación de presupuesto energético, la producción o crecimiento puede dividirse en somática ( $P_s$ ) y reproductiva ( $P_r$ ):

$$P_s + P_r = A - (F + U + M)$$

Asumiendo que los otros componentes del presupuesto se mantienen constantes durante el período de crecimiento reproductivo,  $P_s$  y  $P_r$  pueden ser considerados como procesos competitivos por recursos finitos, y la caída en la tasa de crecimiento somático (valores del exponente  $k$ ) observados por Cotrina y Raimondo (1997) en besugos maduros podría tomarse como un indicador de esta competencia. En peces maduros, la producción de gametas debe ser prioritaria ante el crecimiento somático.

Tabla VI. Estimación de los componentes del presupuesto energético en hembras de besugo ( $n = 96$ ).

Mes	Peso medio del cuerpo (g) <sup>1</sup>	IG% rango	Peso medio gónadas (g) <sup>1</sup>	% medio proteínas	% medio lípidos	% medio cenizas	% medio agua	Energía total (KJ/gPS)	Variación energía (J/día)	Metabolismo de rutina (KJ/día)	Consumo de alimento (KJ/día)	Heces (KJ/día)	Excreción (KJ/día)	Esfuerzo <sup>2</sup> reproductivo	Costo <sup>3</sup> reproductivo
Enero	780,2±117,3	1,2-4,0	23,41±7,6	17,4±0,3	4,3±0,4	1,9±0,2	76,6±0,8	24,48±1,2	-21,6	30,30	40,52	2,6	5,2	-0,05	-0,1
Febrero	773,1±97,6	0,9-1,7	10,05±3,3	18,3±0,2	3,9±0,2	2,2±0,3	75,8±1,0	23,83±0,6	-58,6	30,70	41,15	2,6	5,2	-0,14	-0,1
Marzo	765,4±85,2	0,6-1,4	8,42±2,4	16,8±0,2	2,6±0,2	2,2±0,2	77,8±0,7	22,07±0,6	-30,9	31,14	41,08	2,5	5,1	-0,08	-0,1
Abril	734,8±100,4	0,5-1,3	6,61±2,1	16,3±0,3	2,0±0,2	2,4±0,3	78,5±0,9	21,14±0,8	10,0	32,88	41,35	2,4	4,9	0,02	0,0
Mayo	722,3±96,6	0,5-1,4	5,78±2,3	16,2±0,3	2,0±0,1	2,9±0,3	79,0±0,6	21,44±0,7	10,1	33,59	41,93	2,4	4,9	0,02	0,0
Junio	724,0±103,3	0,4-1,2	5,79±2,1	16,2±0,3	2,0±0,2	3,0±0,2	79,2±0,9	21,74±0,7	24,6	33,49	41,95	2,4	4,9	0,06	0,0
Julio	725,4±91,5	0,5-1,6	7,25±3,1	16,4±0,2	2,1±0,1	3,2±0,2	79,5±1,0	22,48±0,4	50,6	33,41	41,96	2,4	4,9	0,12	0,0
Agosto	728,1±80,4	1,3-1,9	10,92±3,1	16,3±0,3	2,3±0,1	3,8±0,3	80,6±0,4	23,99±0,6	10,1	33,26	41,28	2,4	4,9	0,02	0,0
Septiembre	769,2±110,3	1,8-2,7	16,92±4,7	16,6±0,3	2,8±0,2	2,8±0,3	79,7±0,5	24,30±0,8	31,8	30,92	40,42	2,5	5,2	0,08	-0,1
Octubre	783,1±95,1	2,0-5,8	36,02±10,1	17,0±0,2	3,5±0,3	2,4±0,2	79,0±0,8	25,25±0,8	30,9	30,14	40,42	2,6	5,3	0,08	-0,1
Noviembre	811,6±91,3	5,8-7,5	55,19±14,1	17,2±0,3	4,4±0,3	1,9±0,3	78,2±1,1	26,18±1,0	1,2	28,52	40,79	2,7	5,5	0,00	-0,1
Diciembre	783,1±106,4	2,0-7,2	38,37±12,2	17,4±0,3	4,7±0,4	1,9±0,3	77,6±1,0	26,22±1,2	-58,1	30,14	40,54	2,6	5,3	-0,14	-0,1

<sup>1</sup> Datos provenientes de muestreos de desembarque y campañas del INIDEP.

<sup>2</sup> Esfuerzo reproductivo = (energía de las gónadas / energía del alimento) x 100.

<sup>3</sup> Costo reproductivo = 1- (energía del alimento - variación de la energía de las gónadas) / metabolismo de rutina.

El análisis químico proximal de los ovarios de besugo provenientes del medio natural se utilizó para calcular el contenido de energía a lo largo del año (Tabla VI). Se observó una variación significativa ( $P < 0,01$ ) en el contenido de energía de los ovarios a partir de junio, como preparación al período de desoves de la primavera tardía y verano. Cotrina y Chistiansen (1994), señalaron el inicio de la maduración ovocitaria para el mismo mes, con un marcado incremento para el mes de septiembre. El incremento de la temperatura y horas de luz en primavera traería aparejado un mayor crecimiento y la acumulación de energía en los ovarios. Sería un período donde el alimento se encuentra disponible en mayor cantidad en el ambiente, por lo que más energía podría ser derivada a los ovarios sin necesidad de restar energía a otros procesos esenciales. Entre abril y mayo no se registraron variaciones en el contenido energético de los ovarios (Tabla VI).

La energía requerida para el desarrollo gonadal de las hembras de besugo (la diferencia entre el máximo y el mínimo contenido de energía de la gónada a lo largo del año) fue de 5.077 J/gPS (Tabla VI). El porcentaje de la energía ingerida en los alimentos que anualmente se destina a la producción de ovocitos se estimó a partir de la Tabla VI en 12,3%. Hunter y Leong (1981), estimaron un valor de 11% para hembras de *Engraulis mordax* de entre 3-4 años de edad. Diana (1983), trabajando con hembras de *Esox lucius* de 2 a 4 años de edad, obtuvo valores de 11% y 16%, respectivamente. En el caso de *Gadus morhua*, el rango se ubicó entre el 15-22% de la energía total anual (Jobling, 1982).

El esfuerzo reproductivo se define como la proporción de la energía incorporada a través de los alimentos que se destina a la reproducción dentro de un período determinado de tiempo (Wootton *et al*, 1980). La estimación del esfuerzo reproductivo reveló que aproximadamente la misma proporción de la energía de los alimentos fue dirigida a los ovarios entre marzo y junio (Tabla VI). Estas variaciones energéticas representan gastos del sistema que deben estar cubiertos por el consumo de alimento y/o por reservas corporales. Otros gastos energéticos importantes son la energía disipada como calor en el proceso respiratorio y los productos de excreción y heces.

Se utilizaron dos índices para estimar la inversión energética de las hembras en la producción de ovocitos: i) la proporción de cambio de energía neta diaria en los ovarios en relación al alimento consumido (esfuerzo) y, ii) el costo reproductivo. Cuando el costo reproductivo es menor que cero, se dice que el organismo muestra una limitación reproductiva (Callow, 1979), mientras que cuando es mayor que cero estaría en una condición reproductiva indiferente o no restrictiva. En nuestro caso, los resultados mostraron que durante el otoño e invierno

las hembras de besugo estarían menos comprometidas con la reproducción (Tabla VI) pudiendo almacenar esa energía como lípidos (grasa corporal) o como proteínas (crecimiento somático) y/o destinarla a otras actividades metabólicas que lo demanden.

Las estimaciones de los componentes del presupuesto reproductivo de las hembras de besugo dependen de la extrapolación de los resultados de laboratorio a las condiciones naturales. Durante el invierno, la mayor proporción de la energía de los alimentos se gastaría en el metabolismo de rutina y otros costos obligatorios, por lo que existiría un rango muy acotado para la utilización de la energía en el crecimiento somático u ovárico.

En futuras investigaciones, sería deseable establecer si existen diferencias en la inversión energética en ovarios entre las dos poblaciones de besugo en relación a las variables ambientales, así como estimar el balance entre energía somática y ovárica a lo largo del año

## CONCLUSIONES

Durante diciembre y enero el pico reproductivo en el tanque de reproductores se produjo alrededor de las 4 PM. En febrero los resultados no fueron tan claros, ya que a la tendencia anterior se le agregó un segundo pico reproductivo al amanecer. La puesta estuvo precedida y acompañada por un comportamiento característico de persecución dentro del tanque, llegando a veces a que alguna hembra saltara fuera del mismo.

Durante el verano (principalmente diciembre y enero), las hembras de besugo poseen tanto ovocitos en estado final de vitelogénesis, como otros en procesos iniciales de maduración. Esto evidencia que el vitelo continuamente se produce en los ovarios durante varios meses del año y que la dieta juega un papel importante en las hembras desovantes por su potencial efecto en la calidad de huevos y larvas.

Se observó una considerable variación en la calidad de los huevos de besugo obtenidos en diferentes camadas durante la misma estación reproductiva. Se ha propuesto varias características para evaluar la calidad de los huevos obtenidos de reproductores en cautiverio. Entre ellas, la tasa de eclosión y el SAI estimados no son buenos indicadores de calidad por sí solos debido a las amplias variaciones en sus valores y a que son especie-específicos. Por ello, es recomendable prestar atención exclusivamente a sus tendencias para los mismos períodos a lo largo de los años, y así poder determinar variaciones y estimar

valores precisos para cada especie. Por otro lado, el diámetro de los huevos varió a lo largo de la temporada reproductiva, indicando el desove de hembras de diferentes tamaños.

El contenido de energía de los ovarios muestreados se incrementó significativamente a partir de junio, como preparación al período de desoves de la primavera tardía y verano. La estimación del esfuerzo reproductivo reveló que aproximadamente la misma proporción de la energía de los alimentos fue dirigida a los ovarios entre marzo y junio, mostrando a las hembras de besugo menos comprometidas energéticamente con la reproducción durante el otoño e invierno.

El besugo es una especie que desova a partir de finales de primavera y durante el verano, con períodos de reposo entre otoño e invierno. El desarrollo gonadal está relacionado con incrementos del fotoperíodo, temperatura del agua y disponibilidad de alimento. La estrategia de distribución de la energía en el besugo puede caracterizarse por una convergencia de reservas corporales y desarrollo gonadal a través del año en conjunción con pulsos estacionales de productividad del ecosistema.

# **PROCESOS ENERGÉTICOS EN EL DESARROLLO LARVAL**

## **PROCESOS ENERGÉTICOS EN EL DESARROLLO LARVAL**

### **INTRODUCCION**

El estudio del desarrollo larval de los peces es de capital importancia para comprender los factores que operan durante los primeros estadios de vida. Este conocimiento brinda información acerca de la fuerza reproductiva y el reclutamiento a las pesquerías comerciales. Por otro lado, se lo ha aplicado exitosamente para mejorar las técnicas de acuicultura ampliando el rango de especies utilizadas en cultivos (Ikenoue y Kafuku, 1992).

La transición de la alimentación endógena a exógena es uno de los períodos más críticos en el desarrollo de las larvas de peces marinos. El patrón de crecimiento y la sobrevivencia dependen de las condiciones ambientales, tales como la temperatura o la disponibilidad de alimento, y de las características intrínsecas del individuo, tales como la cantidad de vitelo de las larvas recién eclosionadas. Esta información, relacionada a la utilización de la biomasa y la energía, es de gran importancia para un mejor entendimiento del período inicial en la vida de los peces.

Un huevo de pez puede ser considerado como un sistema semicerrado, donde sólo se intercambian gases y algunos iones. Dentro del mismo, el embrión depende de sus reservas de vitelo como sustrato para la producción de energía y crecimiento. La tasa de absorción y la eficiencia de utilización de vitelo son importantes factores determinantes del desarrollo temprano, crecimiento y sobrevivencia (Heming y Buddington, 1988). La sobrevivencia larval depende finalmente de la disponibilidad de alimento en cantidad y calidad adecuada luego de que las reservas alimenticias endógenas se han acabado. A partir de aquí existe una fuerte presión selectiva, sincronizando la finalización de la absorción endógena de reservas, el desarrollo de las capacidades de alimentación exógena y la disponibilidad de alimento adecuado (Rosenthal y Alderdice, 1976). Del mismo modo, ya que los tamaños mayores confieren ciertas ventajas a las larvas, existen también fuertes presiones selectivas para maximizar la eficiencia con la cual el vitelo se convierte en tejido (Heming y Buddington, 1988). Puede esperarse que las larvas más grandes de una especie dada resulten nadadoras más fuertes, menos afectadas por la competencia, menos susceptibles a la predación, capaces de comenzar a alimentarse antes y de tener mayor éxito en la primera alimentación.

La gran cantidad de huevos pequeños es una característica distintiva que resulta en problemas comunes para casi todas las larvas de peces marinos. ¿Cómo se dividen los limitados recursos entre el crecimiento, mantenimiento y actividad para sobrevivir y alcanzar el siguiente estadio del desarrollo?. Una hipótesis general podría ser que el patrón de desarrollo y el crecimiento alométrico de las estructuras y órganos en las larvas reflejan sus prioridades de alimentación, locomoción y respiración en vista de su tamaño y circunstancias ambientales.

El presente Capítulo está referido a los diferentes estadios del desarrollo larval del besugo y sus parámetros bioenergéticos, con la finalidad de conocer más acabadamente el efecto de las estructuras morfológicas y su fisiología sobre las primeras horas de vida de esta especie.

## MATERIALES Y METODOS

Las larvas utilizadas en este estudio provienen de la puesta espontánea de los reproductores de besugo pertenecientes al Proyecto de Maricultura del INIDEP, descrito en el capítulo anterior. Inmediatamente después de la puesta, los huevos pelágicos se recogieron en una red planctónica de 300  $\mu\text{m}$  de malla y se transfirieron a tanques circulares de fibra de vidrio de 0,34  $\text{m}^3$  de capacidad cada uno dentro de una sala climatizada con recirculación cerrada de agua de mar. La incubación y cría de larvas se realizó a dos temperaturas:  $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$  y  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . La salinidad se mantuvo entre 33-34‰. La alimentación inicial de las larvas estuvo compuesta por rotíferos *Brachionus sp* producidos con la microalga *Nannochloropsis oculata*. La densidad inicial de rotíferos en el tanque se fijó en 10 ind/ml.

Para cada temperatura se utilizaron dos tanques experimentales con 26.000 larvas cada uno. Las muestras se tomaron a intervalos de 24 hs hasta las 192 hs, tiempo después de la eclosión (TDE). En cada intervalo se colectaron 100 larvas de cada tanque. Se utilizó un microscopio estereoscópico NIKKON modelo SE con ocular micrométrico ZEISS KF 10x/18 para medir la longitud total (TL), el tamaño del saco vitelino (L, eje mayor; H, eje menor), así como el diámetro (d) de la gota oleosa, con precisión de 0,01 mm. La longitud total (TL) se midió desde el hocico hasta el extremo de la aleta embrionaria. Todas las observaciones se realizaron en individuos vivos (Klaoudatos *et al.*, 1990). El volumen del saco vitelino ( $V_{sv}$ ) y de la gota oleosa ( $V_{go}$ ) se calcularon usando las fórmulas propuestas por Blaxter y Hempel (1996) y por Cetta y Capuzzo (1982), los cuales consideran al saco vitelino como una elipse y a la gota oleosa como una esfera:

$$V_{sv} = 4/3 \pi L/2 (H/2)^2$$

$$V_{go} = 4/3 \pi (d/2)^2$$

donde L es el eje mayor de la elipse; H es el eje menor (vertical) de la elipse, y d es el diámetro de la esfera en mm.

La disminución del volumen de la gota oleosa y saco vitelino se ajustaron a una curva exponencial del tipo:

$$V = V_0 e^{-st}$$

donde V es el volumen ( $\text{mm}^3$ );  $V_0$  es el volumen al momento de la eclosión ( $\text{mm}^3$ ); s es la tasa específica de consumo ( $\text{h}^{-1}$ ) y t es el tiempo después de la eclosión (TDE) en días.

Utilizando los valores promedio se estimó la tasa de crecimiento ( $g$ , incremento medio de la talla por hora) y la tasa de utilización del saco vitelino ( $u$ , disminución media del volumen del saco vitelino por hora), de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$g = \frac{\text{Largo}_i - \text{Largo}_{i-1}}{t} \cdot 100 \quad u = \frac{V_{sv_i} - V_{sv_{i-1}}}{t} \cdot 100$$

donde  $i$  se refiere a la medición al final del período  $i$ ;  $i-1$  es la medición al principio del período  $i$ ; y  $t$  es el tiempo transcurrido entre mediciones sucesivas (24 hs). La eficiencia del desarrollo ( $Ed$ ) se calculó de acuerdo a la relación  $u / g$ , propuesta por Klaoudatos *et al.* (1990). Se realizó el test de ANOVA sobre significancia de medias.

La relación entre la tasa de crecimiento y el tiempo después de la eclosión de las larvas de besugo se calculó utilizando las ecuaciones de Bertallanfy y Logística (Ricker, 1979):

von Bertallanfy:  $L = L_{inf}[1 - e^{-b(t+c)}]$

Logística  $L = \frac{a}{1 + be^{-ct}}$

donde  $L$  es la estimación de la longitud a un intervalo dado;  $L_{inf}$  es la talla máxima alcanzada durante el período estudiado (mm); y  $a$ ,  $b$  y  $c$  son los coeficientes calculados utilizando los datos de talla a intervalos de tiempo.

Los latidos del corazón se contaron en larvas que se ubicaron bajo el microscopio sólo al momento de empezar la medición y por espacio de 1 minuto para evitar cambios en la frecuencia de latidos debido a las condiciones de temperatura y luz extrema bajo el microscopio.

Para determinar el tipo de crecimiento en larvas y juveniles de esta especie, se procedió a realizar mediciones paralelas al eje longitudinal del cuerpo desde el hocico hasta un punto determinado del cuerpo homólogo durante el desarrollo. La longitud de estos segmentos se estimó sustrayendo una medición a la siguiente mayor. También se utilizaron mediciones realizadas por Machinandarena *et al.* (2000). Para utilizar las ecuaciones alométricas se necesitó elegir una medida estándar representativa (variable  $x$  del modelo). En este caso se optó por utilizar el diámetro del ojo por ser un órgano distintivo, su capacidad funcional probablemente no cambie abruptamente una vez pigmentado y normalmente crece a una tasa constante con respecto a la longitud total del cuerpo (Fuiman, 1983). La posición del punto medio del segmento se estimó como porcentaje del Lt.

La mortalidad se estimó diariamente tomando 5 muestras del tanque en diferentes lugares, a lo largo de la columna de agua, con un tubo plástico de PVC. La densidad larval se estimó como un promedio de las 5 muestras. Se compararon los análisis estadísticos de los resultados de mortalidad en ambos tanques aplicando el test de ANOVA de una vía.

Para el análisis de biomasa, las muestras se lavaron previamente con agua destilada y se secaron en papel de filtro. El peso seco (PS) se determinó secando muestras de 100-200 larvas a 90°C hasta peso constante. El contenido en carbono (C) se estimó por el método de Gaudette *et al.* (1974) modificado por El-Rayis (1985), mientras que el nitrógeno (N<sub>2</sub>) se determinó por el método micro-Kjeldahl (JICA/ITP, 1982; factor de conversión 6,25 x N). La proporción de lípidos se estimó por el método de Twisselmann (Antonacopoulos, 1968). El contenido de ceniza se determinó por calcinación a 600°C por 6hs y posterior pesada a 0,001g (JICA/ITP, 1982). Las muestras se analizaron por triplicado. El contenido calórico se estimó a partir del C orgánico usando la fórmula corregida para N<sub>2</sub> de Salonen *et al.* (1976).

El consumo de oxígeno (O<sub>2</sub>) y la excreción de amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) se midieron en un respirómetro cerrado a 18 ± 0,5°C de temperatura, en grupos de 100 huevos o 50 larvas por un tiempo promedio de 4 hs, luego de un periodo de 3 h de ayuno en los casos en que correspondiera. El respirómetro consistió en frascos de vidrio calibrados y cerrados con polietileno de 2 mm de espesor y encintados en todas las uniones para asegurar el hermetismo. Se tomó especial precaución en eliminar todo el aire y las burbujas existentes entre el nivel de agua y el polietileno. Los frascos se rotaron a mano suavemente a intervalos regulares y antes de las mediciones. Los huevos y larvas utilizados fueron cuidadosamente seleccionados en busca de anormalidades morfológicas. Para cada punto se utilizaron tres réplicas y un blanco. La medición se realizó en penumbras, a la temperatura de cría (18±0,5°C). El consumo de oxígeno Vo<sub>2</sub>, expresado como nmol/ind\*h, se calculó en base a la ecuación de Cech (1990):

$$V_{O_2} = \frac{\Delta pO_2 \times VH_2O}{N \times \Delta t} \quad (3.1)$$

donde  $\Delta pO_2$  es la diferencia en las lecturas de tensión de oxígeno del respirómetro entre el blanco y los grupos experimentales al final de cada período, realizadas con un equipo ORION 720A equipado con electrodo Cole-Parmer para oxígeno disuelto;  $VH_2O$  es el volumen de agua (l) del respirómetro; N es el número de huevos o larvas; y  $\Delta t$  es el tiempo transcurrido (h) en el respirómetro. El factor de conversión de oxígeno utilizado fue 13,84 J/mgO<sub>2</sub> (Guinea y Fernandez, 1997).

Se efectuó un análisis de regresión potencial linealizado a la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de las larvas. La prueba de isometría sobre la pendiente b de la regresión se realizó utilizando el estadístico:

$$t_{obs} = \frac{|b-1|}{Sb}$$

La excreción de amonio ( $VNH_4^+$ , expresada en nmol/ind\*h) se calculó en base a:

$$VNH_3 = \frac{\Delta[NH_4^+] \times VH_2O}{N \times \Delta t}$$

donde los símbolos son los mismos que en la ecuación anterior y  $\Delta[NH_4^+]$  es la diferencia en la concentración total de amonio del agua del respirómetro entre el blanco y los grupos experimentales, determinada con un equipo ORION 720A equipado con electrodo Cole-Parmer para determinación de  $NH_4^+$ .

La energía total se calculó en base a los factores de conversión del Programa Biológico Internacional (Kamler, 1992), que son 23,0 J/mg de proteína, 39,8 J/mg de lípidos y 17,2 J/mg de carbohidratos.

Desde el momento de la eclosión hasta el día 21, se tomaron entre 10-20 larvas por día, se anestesiaron y fijaron en formol al 10%. Posteriormente se tiñeron siguiendo una modificación de la técnica de Potthoff (1984) y Taylor y van Dyke (1985) para hueso y cartílago. La apertura de la boca se midió en base al largo de la mandíbula superior (ms) utilizando la fórmula de Shiota (1970):

$$\text{Apertura de la boca} = \sqrt{2} \times \overline{\text{ms}}$$

### Estimación del requerimiento alimenticio por respiración

Winberg (1956), propuso la siguiente ecuación básica de balance entre alimentación (A), eficiencia de digestión (F), respiración (R) y crecimiento (P) en peces:

$$\begin{aligned} A \times F &= R + P \\ K_1 &= P/A \times 100 \\ K_2 &= P/(A \times F) \times 100 \end{aligned}$$

donde  $K_1$  y  $K_2$  son las eficiencias totales y netas de crecimiento, respectivamente. Estas ecuaciones se pueden volver a escribir como:

$$\begin{aligned} A &= 100R/[F(100-K_2)] \\ &= 100R/(F-K_1) \end{aligned} \quad (3.2)$$

Así, podemos obtener A conociendo F y  $K_1$ . Para peces marinos, F se acerca a 0,8 (Winberg, 1956), asumiendo que la excreción es despreciable. Sin embargo, existe la duda de aplicar este valor a larvas de peces, ya que el sistema digestivo está pobremente desarrollado en comparación al de los adultos. De la bibliografía se desprende que F y P difieren ampliamente, no sólo entre especies, sino también entre individuos de la misma especie (Buckley y Dillmann, 1982; Cetta y Capuzzo, 1982; Eldridge *et al.*, 1982; Govoni *et al.*, 1982; Houde y Scheckter, 1983; Hunter y Kimbrell, 1983; Klumpp y Westernhagen, 1986; Laurence, 1977; May, 1971; Pedersen y Hjelmeland, 1988; Stepin, 1976; Theilacker, 1987). Yoshinaga *et al.* (1994), propusieron un valor de 70% para F y 20% para  $K_1$ , como valor realístico para larvas y juveniles de *Pagrus major*. Tomando esos valores como supuestos para nuestro besugo, la ecuación (3.2) quedaría de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} A &= 100R/(70-20) \\ &= 2R \end{aligned} \quad (3.3)$$

La tasa de consumo de oxígeno obtenida en el presente trabajo es la llamada metabolismo de rutina, la cual mide el metabolismo basal más los gastos involucrados en el mantenimiento del equilibrio, natación y alimentación. Dabrowski y Kaushik (1984), evaluaron el efecto de la alimentación sobre la tasa metabólica de larvas de *Coregonus schizipalea*, y estimaron que la acción dinámica específica (SDA) alcanzó un 28,7% de la energía consumida por los peces alimentados con nauplii de *Artemia*. Yoshinaga *et al.* (1994), propusieron una tasa metabólica activa para larvas de *Pagrus major* equivalente a dos veces el metabolismo de rutina. Asumiendo ese valor, se estimó la respiración diaria multiplicando el metabolismo de rutina ( $R_R$ ) por 1,5 (=  $R_{SDA}$ ):

$$A = 100R_{SDA}/(70-20) \\ = 2 \times 1,5R_R = 3R_R$$

(3.4)

Tomando el coeficiente respiratorio (RQ) de 0,8 para peces carnívoros, tenemos que se necesita  $1\mu\text{O}_2$  para catabolizar  $0,43 \mu\text{gC}$  orgánico.

## RESULTADOS

Los huevos de besugo son esféricos, con un diámetro medio de  $903 \pm 12 \mu\text{m}$ . Contienen una única gota oleosa que varía entre  $180-220 \mu\text{m}$  de diámetro. La eclosión ocurrió a las 50 hs a  $18^\circ\text{C}$  con una tasa del 87%, y a las 40 hs a  $20^\circ\text{C}$  con una tasa del 90%. Las descripciones morfológicas corresponden al desarrollo larval llevado a cabo a  $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$ . Las larvas recién eclosionadas presentaron un largo medio (TL) de  $2,32 \pm 0,12 \text{ mm}$ . El cuerpo está curvado hacia la región de la cabeza, los ojos carecen de pigmento, la boca y el ano no están diferenciados. El tracto digestivo se visualiza como un delgado tubo recto sobre el saco vitelino, mientras que el ano está cerrado. Las larvas no se mueven durante las primeras 24 hs, a excepción de pequeños pulsos de actividad espontánea. El cuerpo de la larva está rodeado por la aleta embrionaria. Se observan de 2 a 3 cromatóforos en el saco vitelino y la gota oleosa, mientras que otros se encuentran distribuidos aleatoriamente a los lados del cuerpo. En el estadio de 1 día (TDE), la longitud media fue de  $2,86 \pm 0,12 \text{ mm}$ . Los otolitos se vuelven visibles en la región de la cabeza (Fig. 1). La frecuencia cardíaca media fue de 81 latidos/min. Los patrones de pigmentación no han cambiado. La región de la cabeza comienza a separarse del saco vitelino y el cuerpo es casi recto.

En el estadio de 2 días (TDE), la talla media de la larva es de  $3,11 \pm 0,10 \text{ mm}$ . La circulación sanguínea no se visualiza. Los latidos del corazón aumentan a 148/min. Se observa el desarrollo de la retina, pero los ojos aún no están pigmentados. Las cápsulas óticas están formadas. Comienza el proceso de repliegue del tracto digestivo. Aproximadamente el 92% del volumen del saco vitelino se ha reabsorbido (Tabla I).

En el estadio de 3 días (TDE), la longitud media de la larva es de  $3,24 \pm 0,70 \text{ mm}$ . Los ojos están pigmentados y se mueven. La boca está abierta pero no es funcional. El tracto digestivo se repliega y se diferencia en zonas. La frecuencia cardíaca alcanza a 160 latidos/min. El número de xantóforos se ha reducido considerablemente. Se observa el cleitro (Cl) óseo y el cartílago coraco-escapular (CCs) que sirve de soporte a las recientemente formadas aletas pectorales (Fig. 2A). El cartílago de Meckel (CM) es el primer elemento mandibular cartilaginoso en desarrollarse. El maxilar óseo (Mx) comienza a desarrollarse como primer elemento de la mandíbula superior. El cartílago simpléctico-hiomandibular (CSh) es el primer componente del suspensorio

detectado. El cuadrado (Cu) cartilaginosa aparece por delante del CSh. Se observa el cartílago basibranchial (Bb) y dos ceratobranquiales (Cb1 y Cb2) como parte de los arcos branquiales. En este día se detecta alimento por primera vez en el tracto digestivo de las larvas criadas a 20°C.

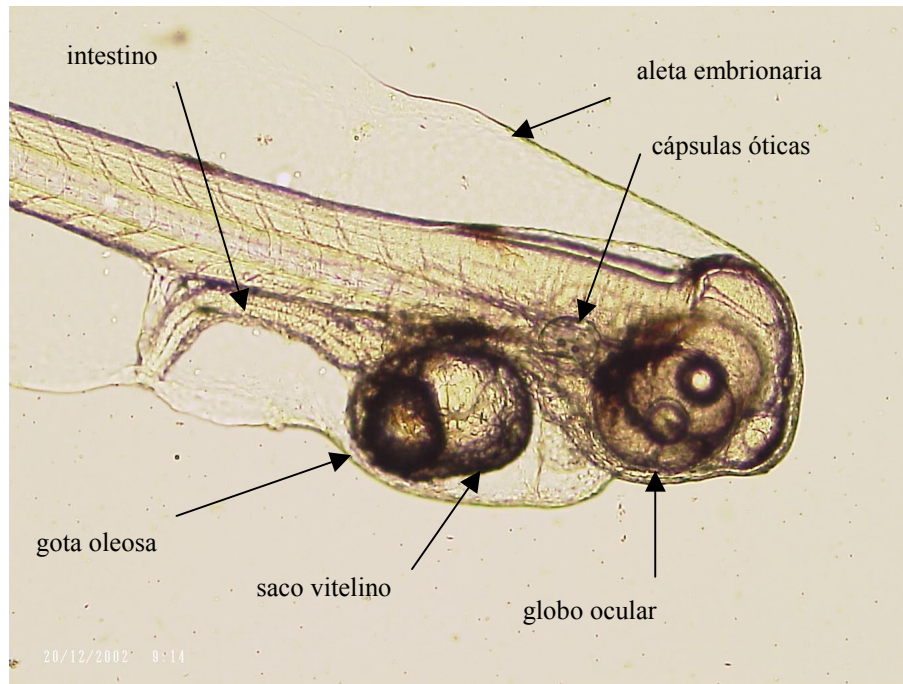


Figura 1. Imagen de una larva vitelina de besugo en el día 2 (TDE; 18°C).

En el estadio de 4 días (TDE), la talla media de la larva es de  $3,32 \pm 0,15$  mm. La circulación sanguínea es visible. Los latidos ascendieron a 260/min. Los cromatóforos se reducen en número mientras que los xantóforos desaparecen. La gota oleosa y el saco vitelino prácticamente han desaparecido. La boca y el tracto digestivo son funcionales y aparecen partículas de alimento por primera vez (18°C). En el estadio de 5 días (TDE), la longitud media de la larva es de  $3,54 \pm 0,13$  mm. La frecuencia cardíaca descendió levemente llegando a 230 latidos/min. Se observa claramente la circulación sanguínea alrededor de los órganos. El saco vitelino y la gota oleosa han desaparecido completamente. La aleta embrionaria no presenta divisiones excepto una pequeña muesca justo detrás de la región craneana. El CSh presenta un pequeño foramen en la parte superior, mientras que el CCs acentúa un proceso coracoide anterior (PCa) en la zona antero-ventral (Fig. 2B). Se observan el hipohial (Hh) y el interhial (Ih), ambos de estructura cartilaginosa.

Tabla I. Parámetros de crecimiento ( $\pm$  DE) estimados para larvas de besugo ( $n = 2 \times 50$ ,  $P < 0,01$ ) a 18°C y 20°C.

TDE (días)	TL (mm)	Dimensiones del saco vitelino		Diámetro de la gota oleosa (mm)	Vsv (mm <sup>3</sup> )	Vgo (mm <sup>3</sup> )	g	u	Ed
		Largo (mm)	Alto (mm)						
18°C									
0	2,32 $\pm$ 0,120	1,1 $\pm$ 0,08	0,7 $\pm$ 0,08	0,2 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,016	0,04 $\pm$ 0,004	-	-	-
1	2,86 $\pm$ 0,117	0,7 ( 0,07	0,4 ( 0,03	0,2 ( 0,01	0,06 ( 0,008	0,04 ( 0,005	0,8810	0,3515	0,3989
2	3,11 ( 0,101	0,4 ( 0,04	0,3 ( 0,02	0,1 ( 0,02	0,02 ( 0,009	0,03 ( 0,002	0,3446	0,0532	0,1543
3	3,24 ( 0,074	0,2 ( 0,03	0,2 ( 0,02	0,1 ( 0,02	0,01 $\pm$ 0,008	0,01 $\pm$ 0,008	0,1706	0,0207	0,1212
4	3,32 $\pm$ 0,146	0,1 $\pm$ 0,06	0,2 $\pm$ 0,04	0,1 $\pm$ 0,08	0,00 $\pm$ 0,001	0,01 $\pm$ 0,000	0,0966	0,0051	0,0527
5	3,54 $\pm$ 0,126						0,2723		
6	3,75 $\pm$ 0,121						0,2401		
7	4,16 $\pm$ 0,247						0,4319		
20°C									
0	2,35 $\pm$ 0,240	1,1 $\pm$ 0,09	0,7 $\pm$ 0,07	0,2 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,020	0,04 $\pm$ 0,008	-	-	-
1	3,02 $\pm$ 0,156	0,6 $\pm$ 0,07	0,4 $\pm$ 0,05	0,1 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,011	0,02 $\pm$ 0,004	1,0415	0,3595	0,3452
2	3,19 $\pm$ 0,264	0,3 $\pm$ 0,03	0,1 $\pm$ 0,04	0,1 $\pm$ 0,03	0,00 $\pm$ 0,009	0,00 $\pm$ 0,004	0,2320	0,0566	0,2439
3	3,30 $\pm$ 0,194	0,2 $\pm$ 0,03	0,1 $\pm$ 0,03	0,0 $\pm$ 0,02	0,00 $\pm$ 0,012	0,00 $\pm$ 0,003	0,1373	0,0019	0,0140
4	3,47 $\pm$ 0,281						0,2129		
5	3,70 $\pm$ 0,202						0,2592		
6	3,96 $\pm$ 0,304						0,2874		
7	4,41 $\pm$ 0,265						0,4480		

TDE: tiempo después de la eclosión. TL: largo total. SD: desviación estándar. Vsv: Volumen del saco vitelino. Vgo: Volumen de la gota oleosa. g: tasa de crecimiento (% del TL/día). u: tasa de utilización del saco vitelino (% del Vsv/día). Ed: eficiencia de desarrollo (u/g): mm<sup>3</sup>: milímetros cúbicos

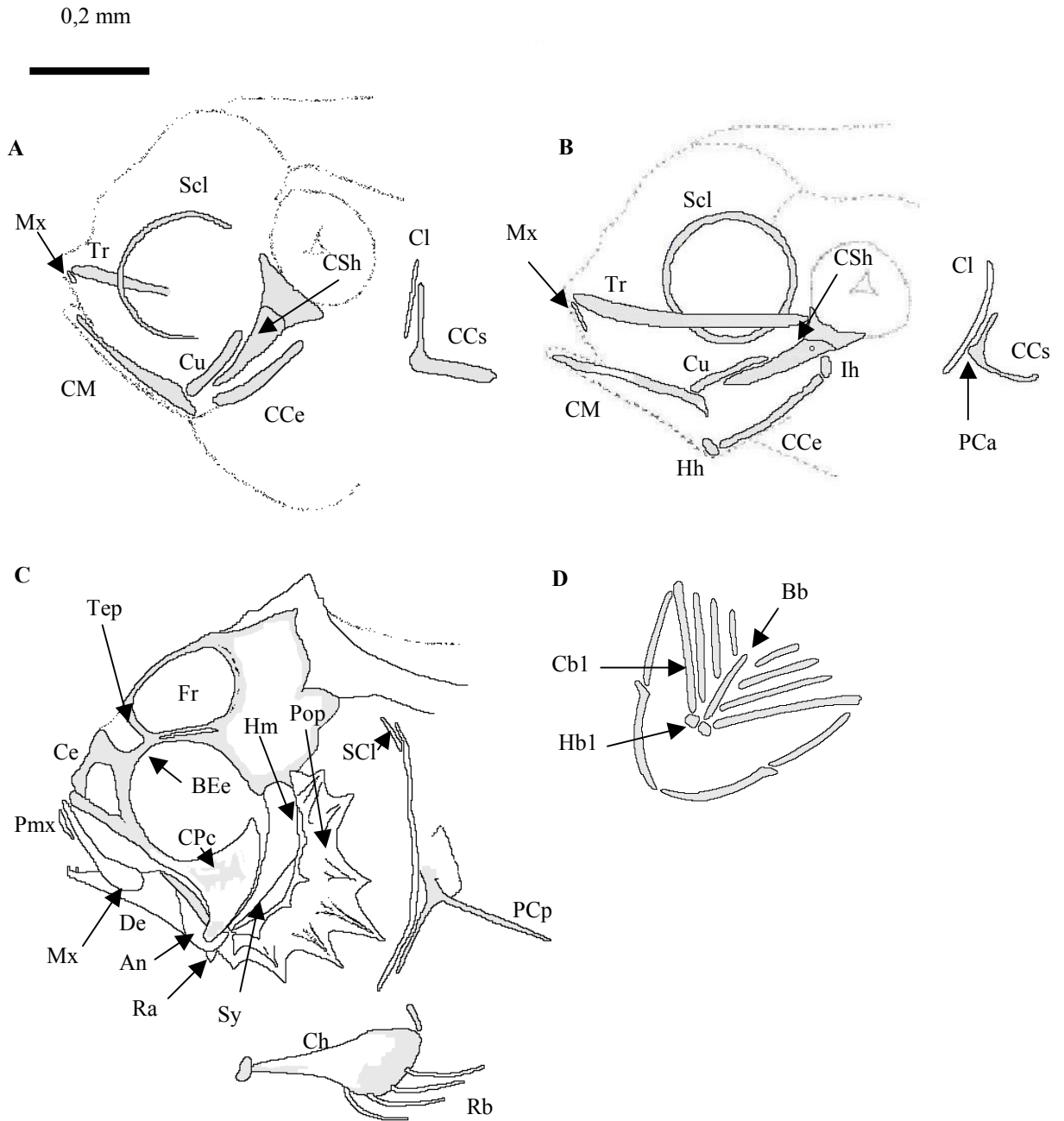


Figura 2. Desarrollo de los huesos de la boca y estructuras relacionadas en larvas de besugo. A) 3 días (TDE). B) 5 días (TDE). C) 21 días TDE. D) Arcos branquiales 5 días (TDE). An = angular; BEe = barra ectetmoides; Bb = basibranchial; Cb1 = ceratobranquial 1; Ce = cartilago etmoides; Cce = cartilago ceratohial-epihial; CCs = cartilago coraco-escapular; Ch = ceratohial; Cl = cleitro; CM = cartilago de Meckel; CPc = cartilago palatoc cuadrado; CSh = cartilago simpléctico-hiomandibular; Cu = cuadrado; De = dentario; Fr = frontal; Hb1 = hipobranquial 1; Hh = hipohial; Ih = Interhial; Mx = maxilar; PCa = proceso coracoide anterior; PCp = proceso coracoide posterior; Pmx = premaxilar; Pop = preopérculo; Ra = retroarticular; Rb = radio

braquiostegal; SCI = supracleitro; Scl = cartílago esclerótico; Sy = simpléctico; Tep = tectum epifisial; Tr = trabécula. La zona sombreada representa el cartílago y la blanca la osificación.

Se detectaron los hipobranquiales (Hb1) y ceratobranquiales (Cb3 y Cb4) en la base de los arcos (Fig. 2D). En el estadio de 6 días (TDE), la talla media de la larva es de  $3,75 \pm 0,12$  mm. Aparecen esbozos de los radios de la aleta caudal. Se visualiza el órgano olfatorio en el hocico de la larva. Los cromatóforos desaparecen quedando un número reducido ubicados aleatoriamente a lo largo del tracto digestivo. Se comenzó a observar en algunos ejemplares esbozos de la vejiga natatoria. La frecuencia cardiaca desciende a 206 latidos/min. En el estadio de 8 días (TDE), la longitud media de la larva es de  $4,30 \pm 0,15$  mm. El tracto digestivo está completo, funcional y lleno de alimento. Las arterias laterales del cuerpo son perfectamente visibles. El cuerpo está compuesto por 25-26 miómeros. Los latidos se mantienen en 173/min. Se observa el opérculo (Op) y el preopérculo (Pop). El dentario (De) se forma en la parte anterior del CM. Se observan procesos de osificación.

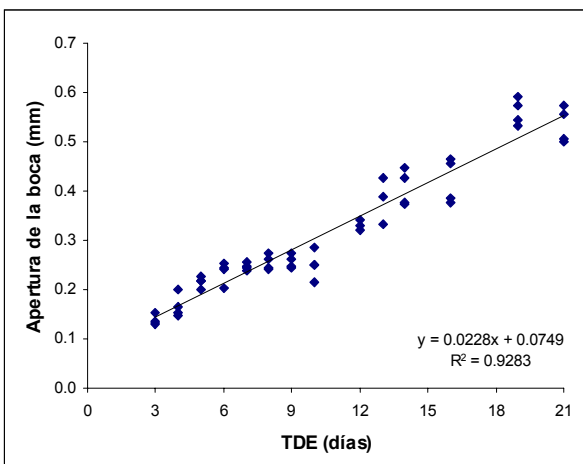
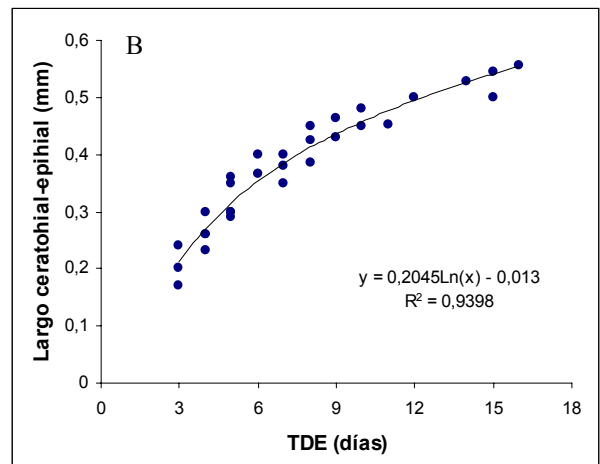
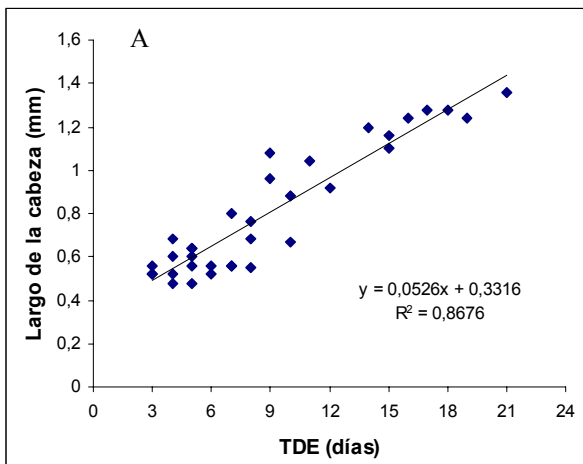


Figura 3. Cambios en la longitud de la cabeza (A), del cartílago ceratohial-epihial (B) y en el tamaño de la boca (C) en larvas de besugo.

En las larvas del día 10 (TDE) se observa el desarrollo del cartílago occipital, la presencia de un radio braquiostegal (Rb) óseo, el cartílago palatino (Pal) y el cartílago retroarticular (Ra). Entre los días 13 y 15 (TDE), comienza a desarrollarse una punta hacia delante desde la zona posterior superior del cartílago de Meckel, mientras que de la zona posterior inferior se desarrolla el hueso angular (An). Se observa el premaxilar óseo (Pmx) y la osificación de los extremos del Cce (Fig. 2C). El cuadrado se une al palatino para formar el cartílago palatocuadrado. Luego del día 16 (TDE), se observa la formación del cartílago supracléitro (SCI), el cual desarrollará una pequeña espina posterior (Fig. 2C) hacia el final del período observado. Se detecta el paraesfenoides (Ps) y comienza la flexión de la notocorda. Para el día 21 (TDE), se detectan dientes en el dentario y la osificación parcial del CSh y el Cu. Se observan cuatro radios braquiostegales saliendo hacia atrás desde el ceratohial (Ch).

El largo de la cabeza y la apertura de la boca se incrementaron linealmente con el transcurso del tiempo, mientras que el Cce presentó un crecimiento asintótico hasta aproximadamente los 10 días (TDE) (Fig. 3).

Una descripción morfológica larval más amplia puede encontrarse en Machinandiarena *et al.* (2000).

### **Tasa de crecimiento y utilización del alimento**

La ganancia en longitud total (TL) promedio de las larvas osciló entre 0,076 mm/d y 0,547 mm/d (18°C), y entre 0,107 mm/d y 0,671 mm/d (20°C) durante el período estudiado (Tabla I). La ganancia máxima se observó en el estadio de 1 día (TDE) para ambas temperaturas (0,028 mm/h para 20°C y 0,023 mm/h para 18°C). Se observó que la tasa de crecimiento fue constante durante los primeros 7 días (TDE)(Tabla I), excepto por una inflexión entre los días 3-4 (TDE) a 18°C y entre 2-3 a 20°C, cuando el crecimiento parece detenerse momentáneamente (Fig. 4), coincidiendo con la apertura de la boca y el inicio de la alimentación exógena. De aquí se desprende un patrón de crecimiento de tres fases: a) rápido crecimiento hasta el punto de inflexión, b) crecimiento lento entre los 3 y 4 días (TDE), para 20°C y 18°C respectivamente, y c) una tercer fase de rápido crecimiento (Figs. 4 y 5).

Los cálculos de los parámetros de la curva de crecimiento estándar dieron las siguientes ecuaciones de crecimiento (t entre 1 y 7 días después de la eclosión):

von Bertalanffy  $L = 4,41389 [1 - e^{-0,17243 (t+0,93113)}]$   $r^2 = 0,974$  (18°C)

Logística  $L = \frac{4,20805}{1 + 0,56745 e^{-0,27669 t}}$   $r^2 = 0,978$  (18°C)

von Bertalanffy  $L = 7,66225 [1 - e^{-0,05539 (t+0,39429)}]$   $r^2 = 0,997$  (20°C)

Logística  $L = \frac{10,2799}{1 + 3,01077 e^{-0,10747 t}}$   $r^2 = 0,999$  (20°C)

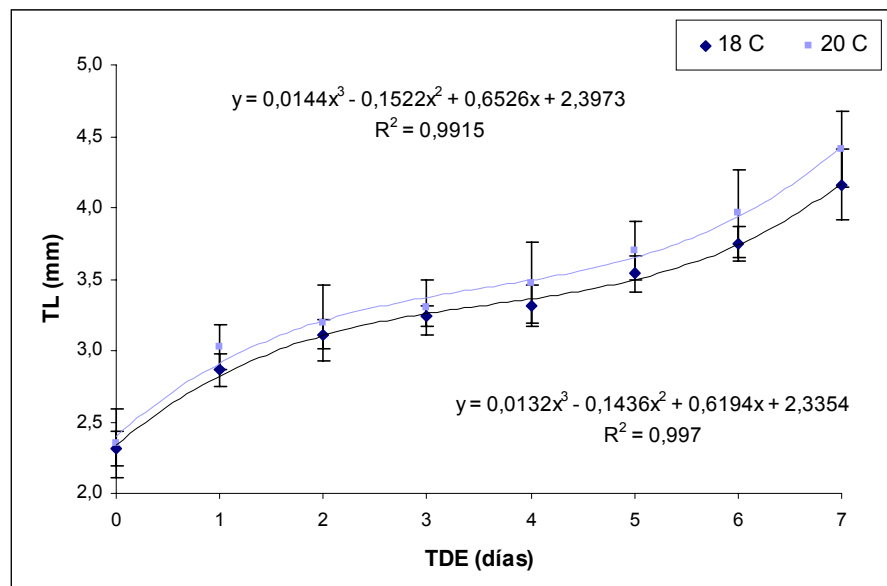


Figura 4. Relación entre el largo total (Lt, mm) de la larva de besugo y el tiempo después de la eclosión (TDE, días) a 18°C y 20°C. Las barras verticales representan el desvío estándar.

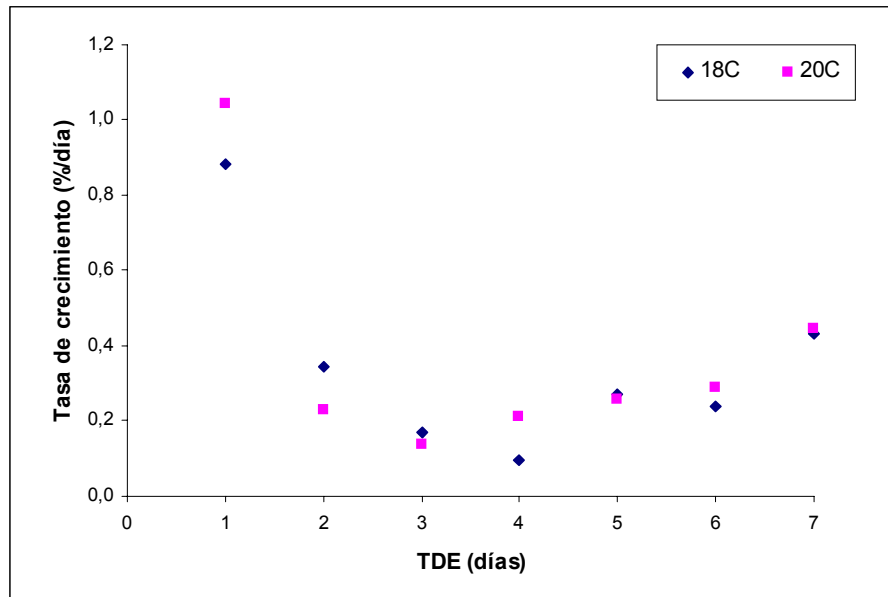


Figura 5. Relación entre la tasa de crecimiento de larvas de besugo y el tiempo después de la eclosión (TDE) a 18°C y 20°C.

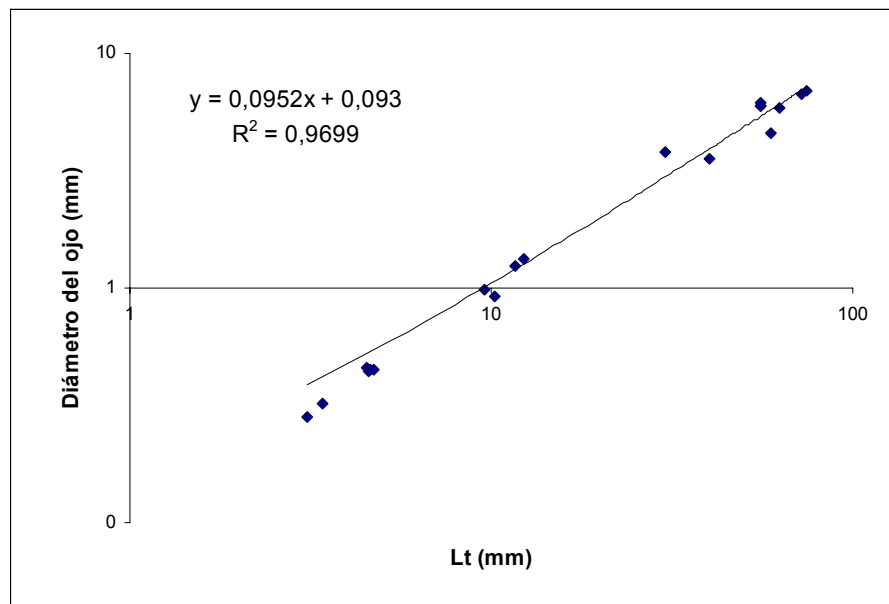


Figura 6. Relación entre el diámetro del ojo y el Lt en larvas y juveniles de besugo, mostrando el patrón clásico único de crecimiento

La graficación logarítmica del diámetro del ojo versus el Lt presentó una única tendencia para los tamaños estudiados (Fig. 6).

El patrón de crecimiento de las larvas y juveniles menores de 40mm (Lt) no presentó un significativo perfil de crecimiento en “U” (Fig. 7A). Este tipo de crecimiento en U aparece al graficar  $k$  vs. Lt (mm), cuando la parte anterior y posterior del pez crecen más rápidamente que la zona media del cuerpo. Los resultados mostraron que la zona media y posterior del cuerpo de las larvas de besugo mantuvieron un crecimiento constante a lo largo de todos los estadios estudiados, mientras que el desarrollo de la zona anterior del cuerpo se incrementó a partir de los 55mm Lt (Fig. 7B).

Las reservas de la gota oleosa y el saco vitelino se agotaron rápidamente (Fig. 8; Tabla I) para los estadios de 3 días (TDE, 20°C) y 4 días (TDE, 18°C). Una observación importante es que el consumo del saco vitelino se inicia casi inmediatamente después de la eclosión, mientras que el consumo de la gota oleosa comienza cuando el saco vitelino está en avanzado estado de absorción. Las ecuaciones que describen el cambio de los volúmenes ( $\text{mm}^3$ ) del saco vitelino ( $V_{sv}$ ) y la gota oleosa ( $V_{go}$ ) en el tiempo ( $t$ ), son:

$$\begin{array}{ll} V_{sv} = V_o e^{-1.51009 t} & (18^\circ\text{C}) \quad r^2 = 0.9943 \\ V_{sv} = V_o e^{-1.80613 t} & (20^\circ\text{C}) \quad r^2 = 0.9995 \\ V_{go} = V_o e^{-0.22591 t} & (18^\circ\text{C}) \quad r^2 = 0.9987 \\ V_{go} = V_o e^{-0.94468 t} & (20^\circ\text{C}) \quad r^2 = 0.9987 \end{array}$$

donde  $V_o$  es el volumen inicial al momento de la eclosión.

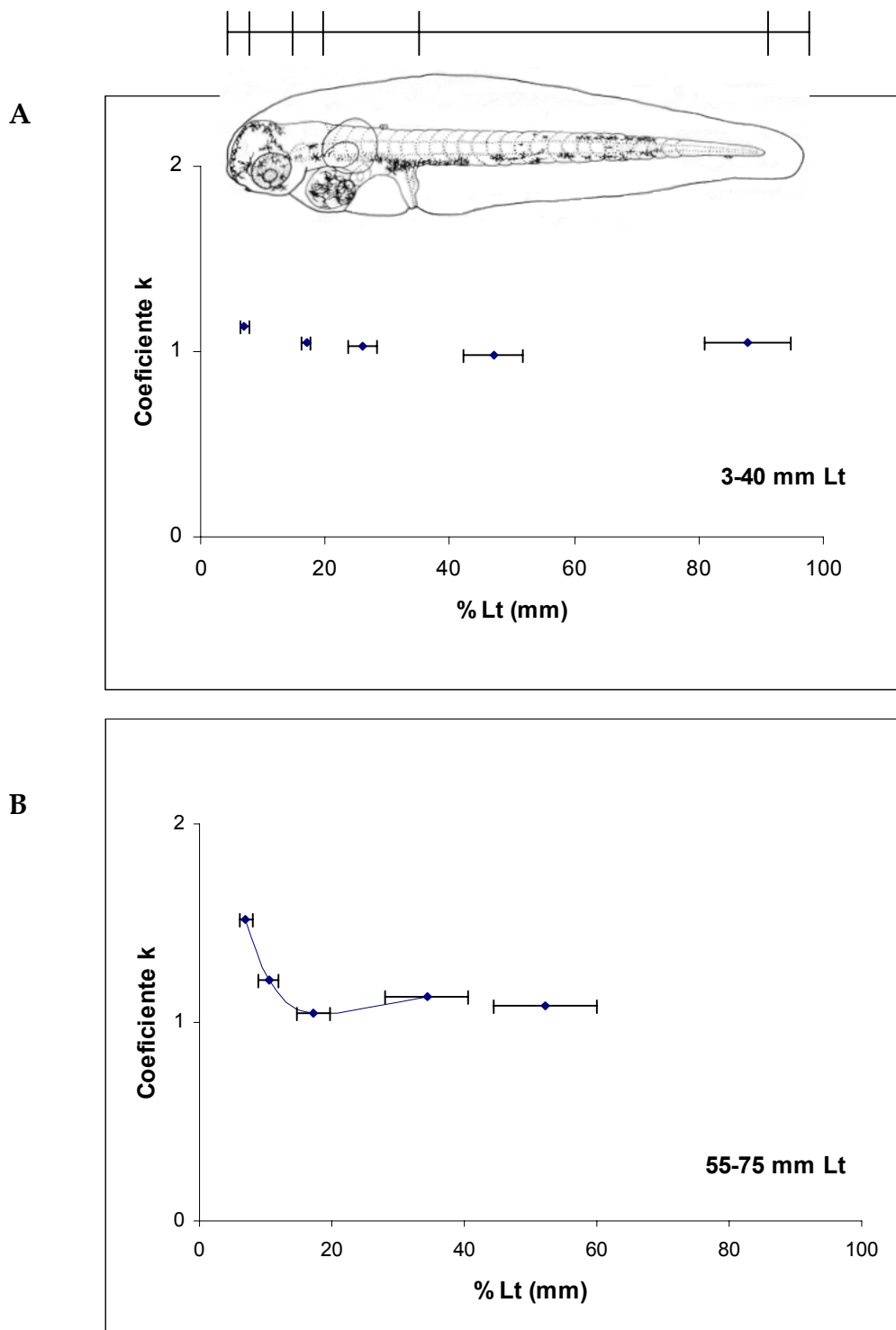
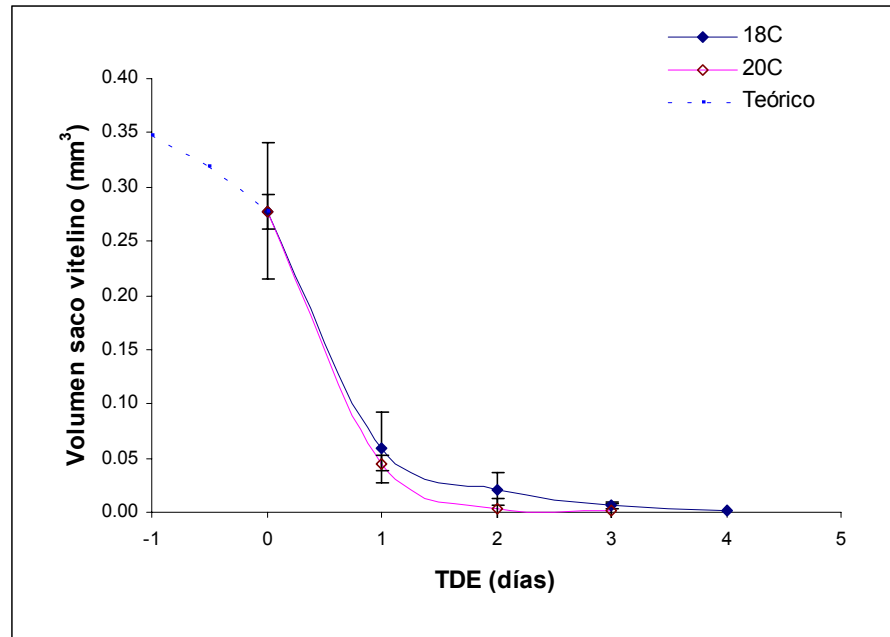


Figura 7. Perfil de crecimiento (coeficiente  $k$ ) de las mediciones longitudinales de los distintos segmentos del cuerpo (porcentaje del largo total, Lt), ilustrados en la parte superior. A)

individuos entre 3-40 mm Lt. B) individuos entre 55-75 mm Lt. Las barras horizontales muestran el desvío estándar.

A



B

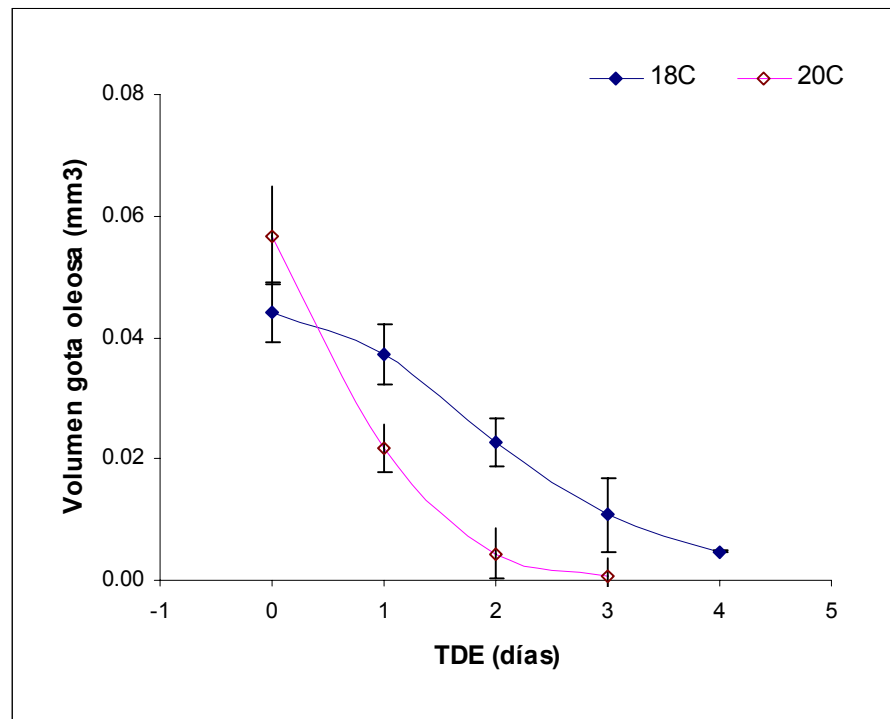


Figura 8. Volumen del saco vitelino (A) y la gota oleosa (B) en larvas de besugo. La línea punteada indica los valores de pre-eclosión (PE) teóricos en base al consumo típico del vitelo en

peces teleósteos (Heming y Buddington, 1988). Las barras verticales representan el desvío estándar.

Los resultados estadísticos muestran que no hubo diferencias significativas entre los individuos de los tanques experimentales ( $P < 0,01$ ).

La eficiencia del desarrollo ( $E_d$ ) se calculó para ambas temperaturas hasta el día en que el saco vitelino y la gota oleosa fueron totalmente reabsorbidos (Fig. 8). Las primeras larvas con alimento en el tracto digestivo se detectaron en los días 3 y 4 (TDE), para  $20^\circ\text{C}$  y  $18^\circ\text{C}$  respectivamente, existiendo un pequeño período de aproximadamente 24 hs entre la apertura de la boca y la aparición de alimento durante el cual las larvas tienen muy pocas reservas alimenticias endógenas disponibles. El rápido consumo de estas reservas internas (saco vitelino y gota oleosa) se refleja en el perfil del parámetro  $E_d$  (Fig. 9).

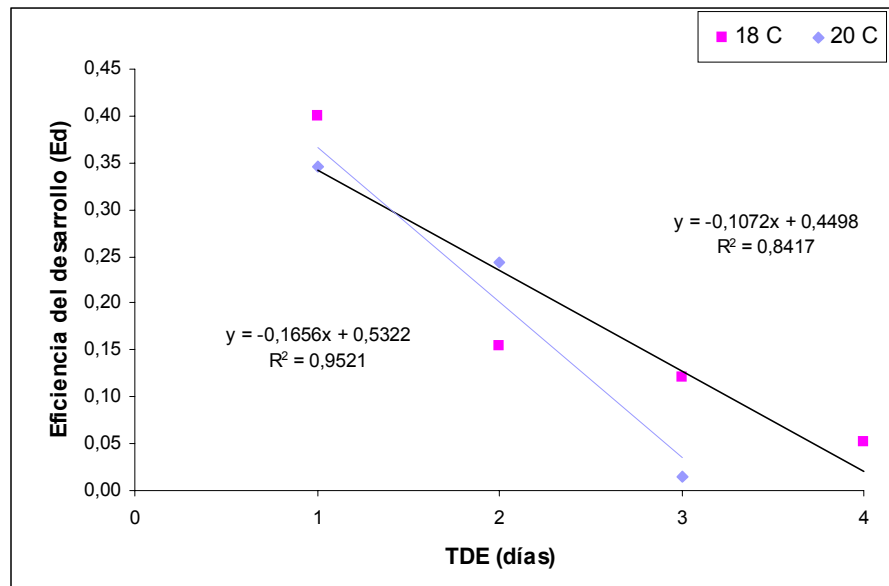


Figura 9. Relación entre la eficiencia del desarrollo larval y el tiempo después de la eclosión en besugo a  $18^\circ\text{C}$  y  $20^\circ\text{C}$ .

El peso seco libre de cenizas de las larvas recién eclosionadas estuvo en promedio en  $27,5 \mu\text{g}$  (Tabla II), el contenido de cenizas en  $11,67\%$  (PS) y el contenido calórico en  $661,34 \text{ mJ/larva}$ , esto es aproximadamente un  $82,1\%$  de la energía total contenida en el huevo (Capítulo II, Tabla II).

Cabría esperar que las eficiencias de conversión de huevo a larva fueran mayores en peso seco que en contenido de energía (Tabla III), debido al incremento en el contenido de cenizas por la absorción de iones inorgánicos desde el agua (Kamler et al., 1994); sin embargo, estos resultados invertidos también fueron encontrados por Ehrlich y Muszynski (1982) y Overnell (1997).



Tabla II. Peso seco (PS), carbono (C), nitrógeno (N<sub>2</sub>), ceniza, relación C/N y contenido de energía (J/mg) en larvas de besugo (n = 3 x 150, P<0,01).

Todos los valores están expresados en peso seco libre de cenizas (PSLC) ±. DE. Temperatura 18°C.

Día	Peso seco (µg/larva)	%C	%N <sub>2</sub>	Energía (J/mg)	%cenizas	µgC/ind	µgN <sub>2</sub> /ind	µg cenizas /ind	Energía (mJ/ind)	C/ N
0	27.5 ± 4.56	55.7 ± 1.64	10.5 ± 0.83	24.0 ± 0.90	11.67	15.3 ± 1.20	2.9 ± 0.10	3.2 ± 1.20	661.3 ± 42.1	5.32
1	25.4 ± 4.33	57.9 ± 1.54	11.2 ± 0.79	25.5 ± 0.97	15.34	14.7 ± 1.50	2.8 ± 0.30	3.9 ± 1.50	646.0 ± 40.3	5.19
2	23.9 ± 4.66	58.8 ± 1.69	11.6 ± 0.93	26.0 ± 1.00	16.25	14.1 ± 1.30	2.8 ± 0.12	3.9 ± 1.30	623.6 ± 48.6	5.07
3	22.2 ± 5.48	60.8 ± 1.78	12.3 ± 0.54	27.3 ± 1.06	19.19	13.5 ± 1.23	2.7 ± 0.23	4.3 ± 1.23	607.0 ± 42.3	4.95
4	21.3 ± 3.96	61.0 ± 1.58	12.6 ± 0.34	27.4 ± 1.07	18.58	13.0 ± 1.10	2.7 ± 0.12	4.0 ± 1.10	583.3 ± 50.1	4.83
5	16.0 ± 4.12	67.3 ± 3.11	13.0 ± 0.85	31.6 ± 1.27	26.00	10.8 ± 2.10	2.1 ± 0.34	4.2 ± 2.10	506.5 ± 46.3	5.17
6	18.9 ± 3.56	61.6 ± 2.87	12.8 ± 0.49	27.9 ± 1.09	17.28	11.7 ± 2.10	2.4 ± 0.25	3.3 ± 2.10	527.1 ± 42.1	4.82
7	22.6 ± 4.91	58.6 ± 3.09	12.4 ± 0.58	25.9 ± 0.99	14.60	13.3 ± 1.20	2.8 ± 0.28	3.3 ± 1.20	586.1 ± 40.5	4.73

Tabla III. Eficiencias de conversión de huevo a larva calculadas para larvas recién eclosionadas (0) y larvas que han consumido su vitelo (4), a 18°C.

Días (TDE)	Eficiencia en peso seco (%)	Eficiencia en contenido de energía (%)
0	77,65	82,11
4	63,73	72,43

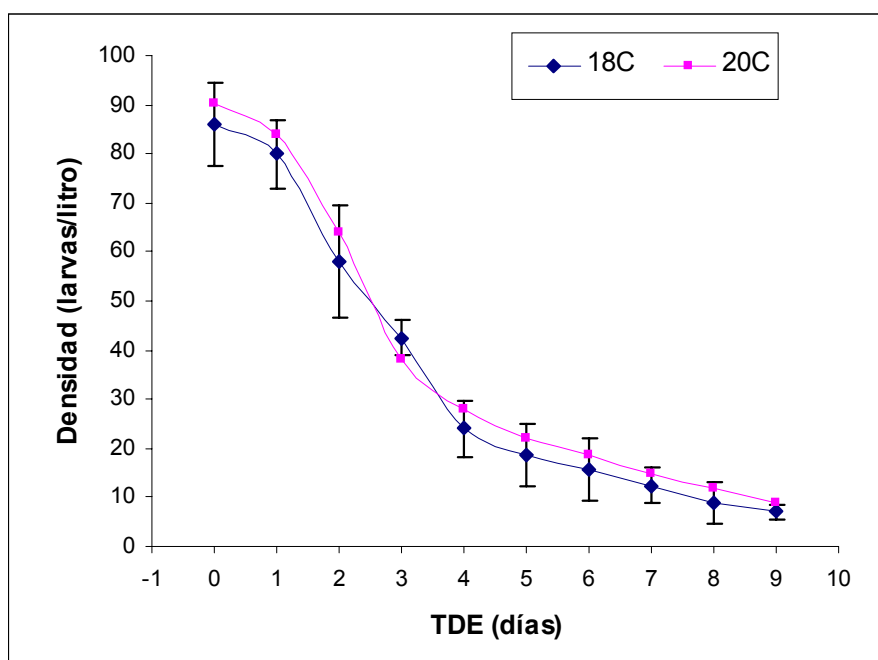


Figura 10. Número de larvas de besugo en los tanques de cría durante los primeros nueve días del experimento a 18°C y 20°C. Las barras verticales representan el desvío estándar.

La curva resultante de los conteos de densidad larval en los tanques de cría exhibió dos puntos de inflexión diferentes para ambas temperaturas, indicando que la tasa de mortalidad cambió dos veces durante el período estudiado (Fig. 10). Luego del día 1 (TDE), la mortalidad se incrementó substancialmente hasta los días 3 y 4 (TDE) para 20°C y 18°C respectivamente, tendiendo posteriormente a estabilizarse en un valor bajo. Esto ocurre desde que las reservas internas de alimento (saco vitelino y gota oleosa) se agotan hasta que el primer elemento alimenticio aparece en el tracto digestivo. Para el día 6 (TDE), aproximadamente el 82% (18°C) y 79% (20°C) de la población se ha perdido. La sobrevivencia

final se mantuvo casi estable en  $8 \pm 0,6\%$  ( $18^{\circ}\text{C}$ ) y  $10 \pm 0,5\%$  ( $20^{\circ}\text{C}$ ) larvas/l. Conides y Glamuzina (2001), obtuvieron una sobrevivencia final para el día 7 (TDE) de 15% en la misma especie. Stephanou *et al.* (1995), mencionan una altamortalidad larval en besugo pero no dan valores, mientras que Kentouri *et al.* (1995), obtuvieron una sobrevivencia promedio de 2% para el besugo. Nakagawa *et al.* (1991), trabajando con *Pagrus major* en dos sistemas de cría, estimaron una sobrevivencia final para el día 61 (TDE) de 9 y 23%, respectivamente. Polo *et al.* (1991), trabajando con larvas de *Sparus aurata* obtuvieron una sobrevivencia promedio hasta el momento de la apertura de la boca (día 3, TDE) de 70%. Además, se puede observar que las desviaciones estándar de la densidad media se redujeron con el tiempo (Fig. 10). No existieron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre los cálculos de densidad, por lo que el valor medio de ambas experiencias fue utilizado para el análisis y discusión posteriores.

La cantidad de rotíferos ingeridos por las larvas se incrementó con el transcurso del tiempo (Fig. 11), mostrando un incremento significativo ( $p < 0,05$ ) a partir del día 10 (TDE).

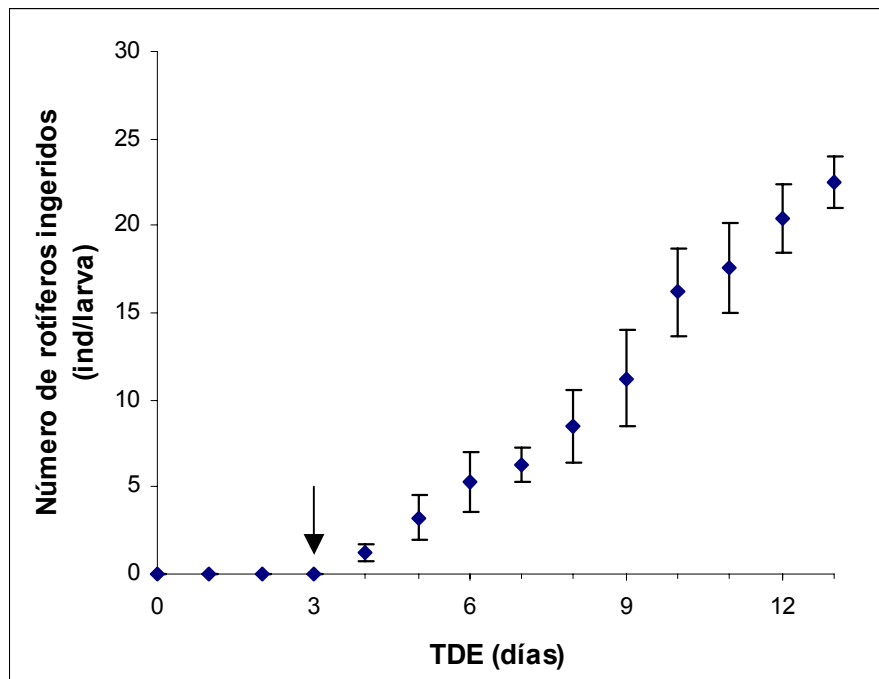


Figura 11. Cantidad de rotíferos (individuos/larva) encontrados en el intestino de las larvas de besugo a  $18^{\circ}\text{C}$ . La flecha indica el momento de la apertura de la boca. Las barras verticales indican el desvío estándar.

Durante el estadio vitelino, el contenido de carbono (C) decreció levemente desde la eclosión, mientras que el nitrógeno (N<sub>2</sub>) se mantuvo constante. (Fig.12). La relación C/N, consecuentemente, también decreció pero no lo hizo en forma significativa (Tabla II).

El peso seco (PS) también decreció levemente hasta el día 4 (Fig. 13), siguiendo un patrón similar al C. El contenido de energía de los principales substratos mostró el mismo patrón que el contenido de C, al cual está directamente relacionado (Fig. 14). Al acabarse el vitelo, las larvas tenían un 64% de su contenido de energía al momento de eclosionar. Los cambios en el contenido de ceniza desde la eclosión fueron más erráticos y variables. A partir del día 6 (TDE), el contenido de C, N<sub>2</sub> y el peso seco comenzaron a incrementarse.

La tasa de excreción de amonio al momento de la eclosión estuvo en 0,8 nmol/ind\*h, siendo baja en las primeras horas de vida de las larvas, para luego incrementarse gradualmente a  $18 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  (Fig. 15).

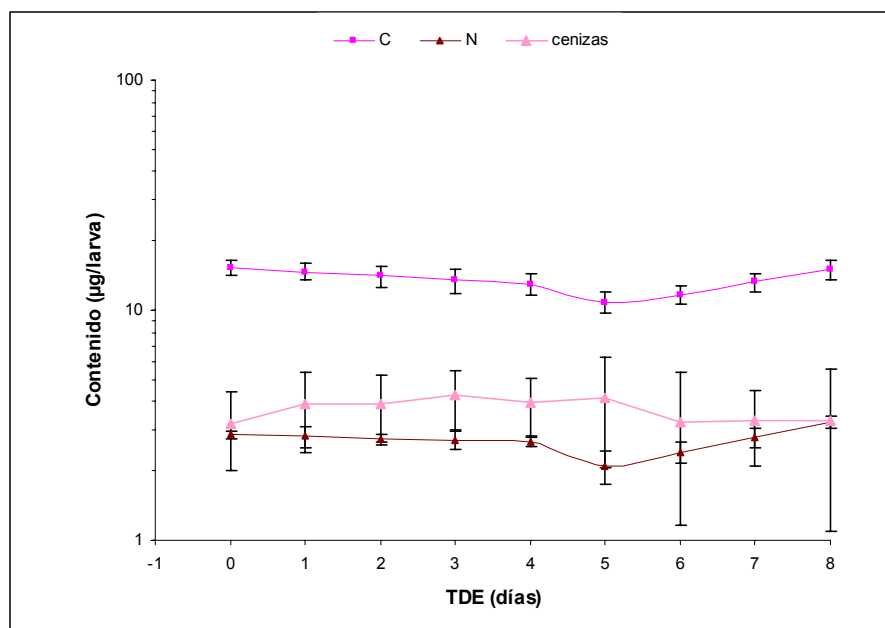


Figura 12. Cambios en los contenidos de carbono (C), nitrógeno (N) y cenizas durante el desarrollo larval. Las barras verticales representan el desvío estándar. Temperatura 18°C.

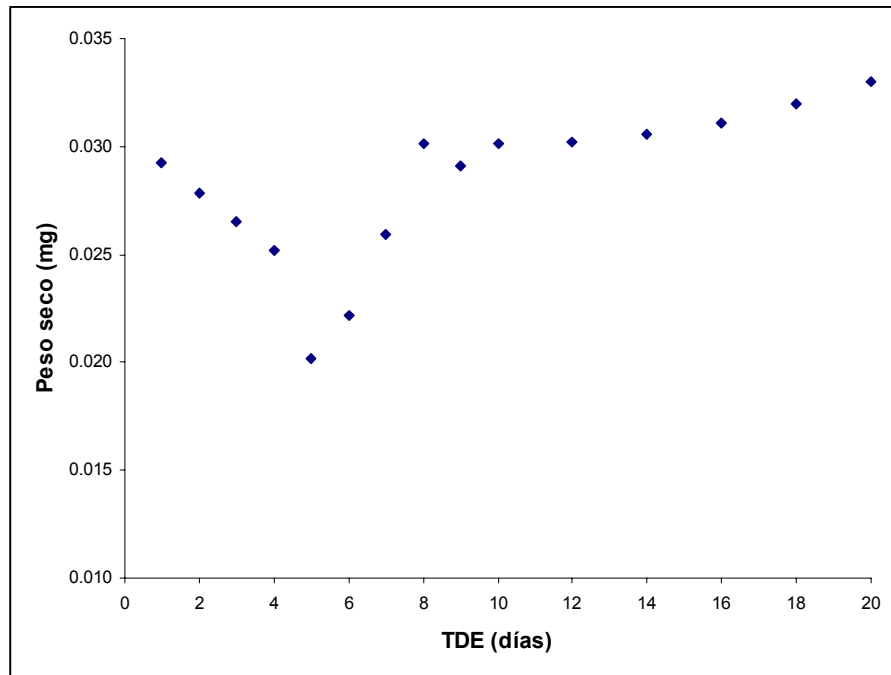


Figura 13. Cambios en el peso seco (mg) durante el desarrollo larval de besugo (18°C).

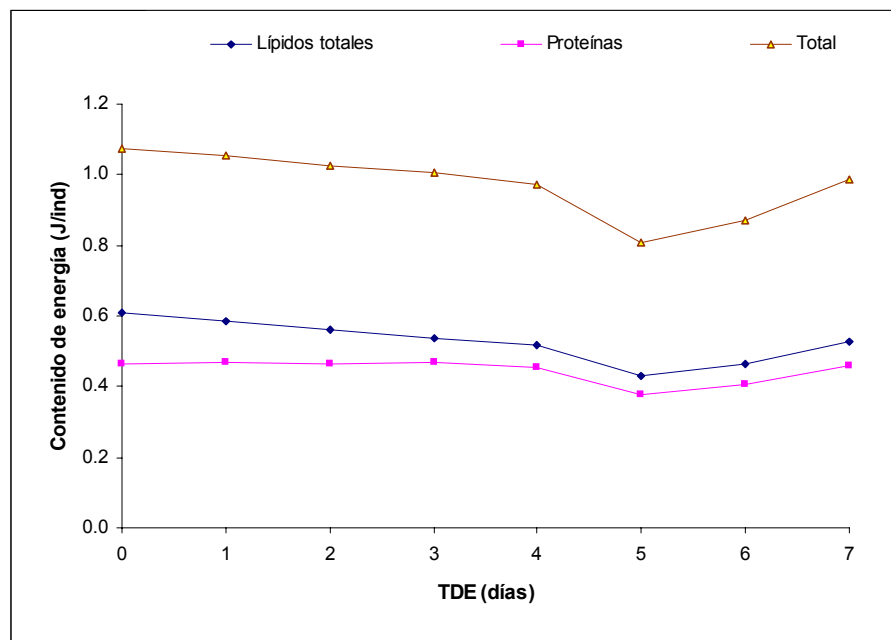


Figura 14. Cambios en el contenido de energía total y en la energía de lípidos y proteínas a través del desarrollo de las larvas de besugo (18°C). Cada punto representa el promedio de tres mediciones

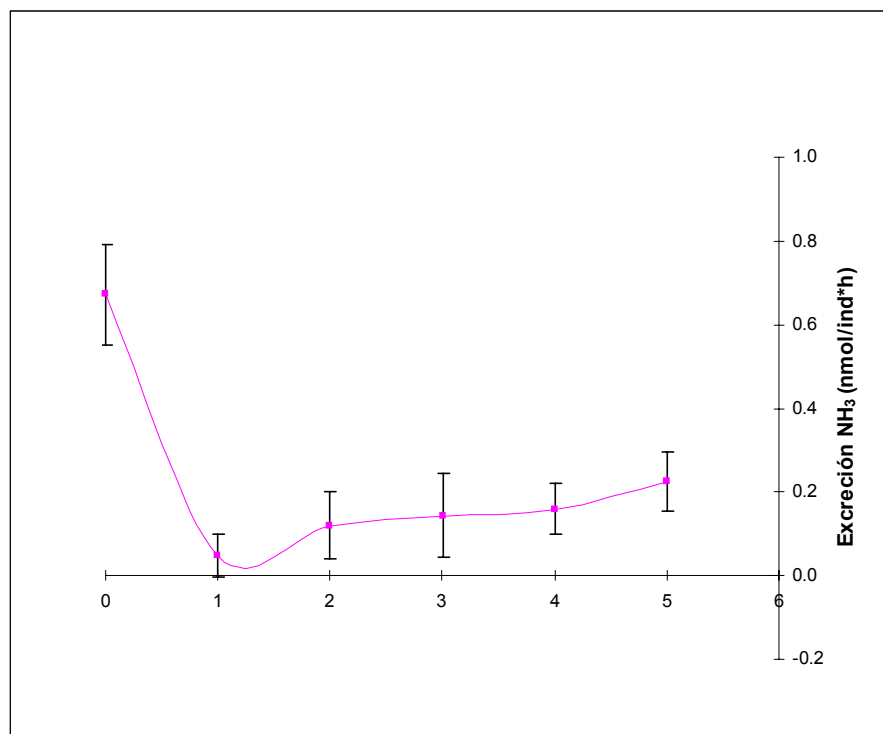


Figura 15. Excreción de amonio en larvas de besugo (18°C). Las barras verticales representan el desvío estándar.

El análisis de regresión potencial linealizado a la relación entre el consumo de oxígeno y el peso de las larvas (Fig. 16), resultó ser significativo ( $F(1,14)=66,106$ ; error estándar de  $b$  ( $S_b$ )= 0,111947;  $p<0,00000$ ). La prueba de isometría para contrastar la hipótesis  $H_0: b=1$  contra  $H_i: b\neq 1$  ( $p=0,435813$ ), confirmó un cambio isométrico en relación al peso, con un exponente de masa = 0,91.

La tasa metabólica peso-específica ( $\mu\text{O}_2/\text{g}\cdot\text{min}$ ) mostró un patrón ontogénico bifásico (Fig. 17, Tabla IV): Fase I, con un incremento lineal con la edad desde la eclosión hasta el día 6 aproximadamente, y Fase II, prácticamente constante con una suave pendiente negativa (18°C).

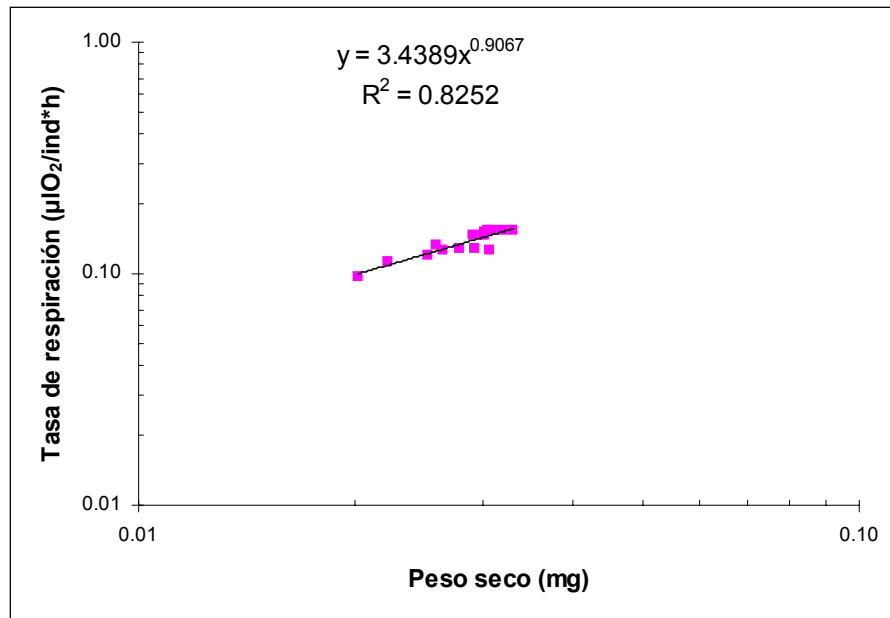


Figura 16 Relación entre la tasa de consumo de oxígeno y el peso seco en larvas de besugo (18°C).

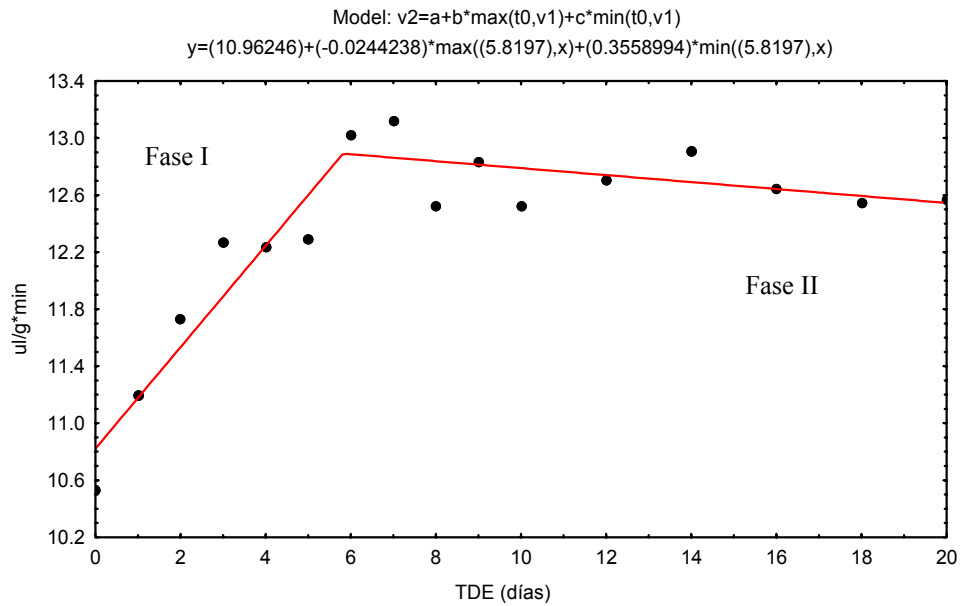


Figura 17. Cambios en el consumo de oxígeno peso-específico a lo largo del desarrollo de las larvas de besugo (18°C). Varianza explicada = 90,50%.

Tabla IV. Resultados de la estimación estadística no lineal correspondiente a las curvas de la Figura 13 (n=160; SE= error estándar).

	a	b	t0	c
Parámetro	10,96247	-0,02442	5,819701	0,355899
SE	0,26541	0,01597	0,900489	0,083578
t(12)	41,30405	-1,52961	6,462820	4,258287
p	0,00000	0,15204	0,000031	0,001111

En base a la relación entre el consumo de oxígeno y el peso seco, junto a los supuestos previamente mencionados, se pudo calcular el requerimiento alimenticio diario. En la Tabla V se muestran los valores medios del metabolismo (requerimiento alimenticio mínimo) y la ingestión como porcentaje del contenido total de C por día para dos estadios del desarrollo del besugo.

Tabla V. Presupuesto de carbono para el metabolismo y la alimentación de larvas recién eclosionadas basado en datos de respiración.

TDE (días)	TL(mm)	Peso ( $\mu\text{gC}/\text{ind}$ )	Metabolismo		Alimentación	
			( $\mu\text{gC}/\text{ind}*\text{día}$ )	(%C del cuerpo/día)	( $\mu\text{gC}/\text{ind}*\text{día}$ )	(%C del cuerpo/día)
4	3.316	12.96	0.80	6.17	2.40	18.52
7	4.203	13.25	0.82	6.19	2.46	18.56

## DISCUSION

El diámetro del huevo fue similar al indicado por otros autores para la misma especie (Machinandarena *et al.*, 2000; Kolios *et al.*, 1997; Manooch, 1976). El período de incubación fue de 50 hs a 18°C y de 40hs a 20°C. Kolios *et al.* (1990), obtuvieron un valor de 60 hs a 18°C. Estas diferencias podrían ser explicadas por el hecho de que estos autores incubaron los huevos en tanques exteriores de 15 m<sup>3</sup> donde es posible que se produjeran variaciones diarias de temperatura que contribuyesen a un incremento del tiempo de incubación. El porcentaje de eclosión se estimó en un 87%, siendo similar al obtenido por Kolios *et al.* (1997).

Luego de la fertilización, los huevos en desarrollo de los peces marinos operan como sistemas semicerrados donde sólo los gases respiratorios, algunos iones y el calor se intercambian libremente. Como resultado de la baja permeabilidad de la membrana superficial, sólo pequeñas cantidades de solutos y agua se intercambian con el medio ambiente (Potts y Rudy, 1969; Mangor-Jansen, 1987).

El ovocito recién liberado contiene un depósito de todas las sustancias necesarias para mantener la homeostasis y el desarrollo embrionario. Los lípidos neutros, y en especial los triglicéridos (TAG), son considerados generalmente como las reservas de energía más importantes en los huevos de teleósteos marinos (Vetter *et al.*, 1983; Blaxter, 1988), siendo los aminoácidos libres una fuente endógena adicional (Fyhn, 1989).

Roo *et al.* (1999), trabajando con la misma especie de besugo en el Mar Mediterráneo, determinaron histológicamente que las larvas recién eclosionadas carecen de ojos funcionales. Contrariamente a ello, las actividades llevadas a cabo en el laboratorio mostraron que las larvas recién eclosionadas detectan y reaccionan a la presencia de objetos cercanos (pipeta de vidrio) y a la luz, escapando activamente. El tamaño medio ( $2,316 \pm 0,120$  mm y  $2,310 \pm 0,240$  mm TL, a  $18^{\circ}\text{C}$  y  $20^{\circ}\text{C}$  respectivamente) fue inferior al de las larvas de dorada (*Sparus aurata*; 2,95 mm) y muy inferior al de las de *Dicentrarchus labrax* (3,20 mm) (Klaoudatos *et al.*, 1990). Stephanou *et al.* (1995), observaron que el tamaño de las larvas recién eclosionadas de besugo fue entre 2,50-3,20 mm TL a temperatura de  $17-18^{\circ}\text{C}$ . La alta tasa de crecimiento de las larvas de besugo durante las primeras horas después de la eclosión podría explicarse por la rápida reducción del saco vitelino. El besugo exhibe un saco vitelino bastante pequeño, por lo que la larva debe comenzar a alimentarse tan rápido como sea posible (Roo *et al.*, 1999). Los cambios en las tasas de crecimiento pueden atribuirse a procesos metabólicos y a la transición entre diferenciación interna y morfogénesis externa que ocurren durante este período. La fase de crecimiento lento de las larvas de besugo está asociada con altas mortalidades, observándose que, aunque la boca está abierta, las primeras partículas de alimento aparecen más tarde (día 3 y 4 TDE, para  $20^{\circ}\text{C}$  y  $18^{\circ}\text{C}$  respectivamente), coincidiendo con la detección de actividad digestiva en el intestino medio (Roo *et al.*, 1999). Las microalgas presentes en el tanque de cría serían un disparador del desarrollo del intestino (Kjorsvik y Reiersen, 1992), preparando el canal alimentario para la digestión de zoopláncteres. No sería de extrañar entonces, que las larvas de besugo se hallaran con algas en su intestino más frecuentemente antes de la primera alimentación que después de que la boca se volviera funcional. Luego de la absorción de las reservas energéticas endógenas, las larvas de besugo comenzaron la ingestión de su primer alimento o empezaban a mostrar signos de ayuno (contracción del intestino). Las tasas de crecimiento observadas en las larvas son mucho más bajas que las de otras especies, tal como sucede en *D. labrax* que alcanza los 5,63 mm en 6 días (TDE), y *S. aurata*, que alcanza 5 mm a las 12 hs (TDE) (Klaoudatos *et al.*, 1990).

La mayoría de los teleósteos ingieren su alimento a través de la succión creada por la presión negativa de la bomba de vacío bucal (Gerking, 1994). Kohno *et al.*

(1997), describió el cambio del mecanismo alimenticio de succión a captura en larvas de *Epinephelus coioides*. Al momento de la apertura de la boca, las larvas de besugo cuentan con los elementos estructurales fundamentales de la cavidad oral (Fig. 18). En base al desarrollo de la cavidad oral, se aprecia claramente que las larvas de besugo utilizan mecanismos alimenticios por succión y captura. Matsuoka (1987), documentó la existencia de un gran *levator arcus palatini* (músculos periféricos craneales) a las 12 hs de la apertura de la boca en larvas de *Pagrus major*. Dicha musculatura expande las cavidades oral y branquial permitiendo la succión para capturar alimento antes de que se inicie la alimentación exógena a las 24hs de la apertura de la boca (Moteki *et al.*, 2001)

Durante la fase inicial de alimentación, desde el día 4 TDE (18°C) al día 7 TDE, no aparecieron nuevos huesos, pero el largo de la cabeza y otros elementos estructurales, como el CCE, se incrementaron rápidamente. Durante esta etapa, se observó un aumento en la cantidad de rotíferos presentes en el intestino, desde 1 hasta 7 rotíferos/larva. La mejora en las capacidades de succión en esta fase dependería principalmente de la talla de la larva (Moteki *et al.*, 2001). La aparición de nuevos elementos en la cavidad oral a partir del día 10 (TDE), caracterizó una segunda fase de incremento de la alimentación por succión. La alimentación en esta etapa se realizó exclusivamente por succión, ya que no se observó ningún elemento que facilite la captura, como el premaxilar o dientes mandibulares (Fig. 18).

Posteriormente al día 10 (TDE), la aparición de nuevos elementos en la cavidad oral, el incremento del ancho de la boca y el crecimiento general de la larva, intensificaron la alimentación por succión. A partir del día 13 (TDE), el premaxilar óseo permitiría la captura de alimento (Moteki, 2002). La osificación de elementos pre-existentes y el incremento en largo de los huesos sugiere una mejora de los mecanismos de succión. Luego del día 16 (TDE), la natación de las larvas se volvió más activa y se mejoró la propulsión caudal, observándose a las larvas nadar continuamente realizando movimientos de ataque sobre los rotíferos.



Para documentar las variaciones morfológicas relativas con la edad, se eligieron estructuras críticas en el desarrollo. Tales caracteres morfológicos se consideran críticos para los procesos fisiológicos básicos necesarios para la sobrevivencia, como lo son la alimentación (saco vitelino, canal intestinal, desarrollo de la cabeza y estructuras de la boca), la respiración (branquias y desarrollo del opérculo) y la locomoción (aletas, vejiga natatoria) (Hunt *et al.*, 1996). Estas estructuras reflejan la naturaleza de los cambios morfológicos, fisiológicos y ecológicos que ocurren a lo largo del periodo larval. Como no existe una transición abrupta hacia el estadio juvenil en besugo, es justamente en estos estadios larvales donde los cambios morfológicos son más evidentes. Este tipo de cuantificación de las variaciones en las tasas de desarrollo de estructuras anatómicas contribuyen a elucidar eventos del desarrollo que afecten la sobrevivencia. Serán necesarias futuras investigaciones bioquímicas e histológicas para determinar índices de condición larval y su capacidad de sobrevivencia. Se consideró simultáneamente la estructura y función de los tejidos y sistemas de órganos asociados con la respiración, crecimiento, alimentación y locomoción. El suave perfil de desarrollo de las larvas de besugo también se ha observado más notoriamente en forma de “U” en *Clupea harengus*, *Sardinops ocellatus*, *Sprattus sprattus* y *Esox lucius* (Fuiman, 1983). La mayor producción de nuevo tejido en la zona de la cabeza en besugo posiblemente se priorice al desarrollo completo del intestino debido tanto a la necesidad de una captación inicial de alimento planctónico de fácil digestibilidad (Osse y van der Boogaart, 1995) como a una respiración branquial inicial. Se detectó una alta correlación entre el diámetro del ojo y el largo total de los ejemplares. Esto significa que el incremento en longitud otorga una mejor capacidad de natación, y el incremento del diámetro del ojo aumenta la capacidad visual y prepara a la larva para capturar presas de mayor tamaño, reaccionar y escapar a los predadores. Roo *et al.* (1999) demostraron que hasta que el sistema visual de la larva de besugo no está listo, tampoco lo está el sistema digestivo. La alometría es una característica común durante el desarrollo. La evolución asigna la inversión energética inicial al desarrollo de los órganos esenciales para las funciones primarias (alimentación, respiración, locomoción), dejando para estadios posteriores el desarrollo de órganos de menor prioridad para la sobrevivencia. (Osse y van den Boogaart, 1995).

Balon (1984), sugirió que la eclosión no debe ser considerada como un evento morfológico importante, ya que existen pocos cambios estructurales en ese momento. El define un estadio de eleuteroembrión, que va desde el huevo hasta la absorción del saco vitelino. En base a los resultados del presente trabajo, considero a la eclosión como un evento crítico. Aunque es cierto que se observan pocos cambios morfológicos en el besugo y otras especies, tales como *Gadus morhua* (Van der Meeran y Naess, 1993; Pedersen y Falk-Petersen, 1992),

*Trachurus symmetricus*, *Engraulis mordax* (Theilacker, 1978, 1980) e *Hippoglossus hippoglossus* (Kjorsvik y Reiersen, 1992), existen grandes cambios fisiológicos entre el embrión (ver Capítulo II) y la larva recién eclosionada de besugo a nivel del consumo de reservas endógenas, en el peso seco, en el contenido de triglicéridos, en el nivel de consumo de oxígeno, en los contenidos energéticos, C y N<sub>2</sub>. Durante la etapa de transición, el metabolismo del besugo cambió, lo que permitiría suponer que también lo hace el crecimiento al momento de la eclosión (Davenport y Lönning, 1980).

El perfil de crecimiento concuerda con la eficiencia de desarrollo (Ed) observada. La Ed fue decreciendo y se redujo a cero simultáneamente con la finalización de las reservas de alimento, dando una indicación de la importancia de estas reservas internas para el desarrollo de la larva. Es un momento crítico para el desarrollo larval. La Ed nunca llega a 0 en larvas de *D. labrax* (Klaoudatos *et al.*, 1990), siendo este período de superposición entre el agotamiento de las reservas alimenticias internas y la utilización de alimento externo (rotíferos) adecuado para la aclimatación de la larva a la alimentación externa. Cuando la Ed llega a 0, es obvio que la energía del alimento se ha eliminado y, consecuentemente, la mortalidad aumenta dramáticamente si la larva no consigue alimento externo.

En términos de tasa de consumo, se observaron dos fases distintivas en la absorción del vitelo a partir del momento de la eclosión. Existiría una tercera fase o pre-eclosión (PE), descrita por Heming y Buddington (1988), caracterizada por un lento pero constante incremento de la tasa de absorción de vitelo dentro del huevo. Previo al momento de la eclosión, la tasa de absorción de vitelo se incrementa rápidamente, probablemente en respuesta tanto a un incremento en la superficie de absorción como a un aumento en la actividad metabólica del sinsicio vitelino (Heming y Buddington, 1988). Esto marca el comienzo de la segunda fase o post-eclosión, la cual se caracterizó por una tasa de absorción de vitelo relativamente alta y constante. A medida que las reservas internas se acercaron al agotamiento, la tasa de absorción decreció, probablemente en respuesta tanto a la disminución de la superficie de absorción del saco vitelino como a los cambios en la composición del mismo (Heming y Buddington, 1988). Esto marca el inicio de la última fase de la absorción, durante la cual se terminaron de consumir las reservas internas, principalmente la gota oleosa. La tasa de absorción de las reservas energéticas internas también puede reducirse debido a, por ejemplo, un bajo tenor de oxígeno disuelto (Hamor y Garside, 1973), a bajas o altas salinidades (May, 1974; Santerre, 1976) o altas concentraciones de amonio (Heming y Buddington, 1988).

La rápida utilización de las reservas internas en las larvas de besugo y el lento desarrollo observado de los órganos internos, indican que podría existir un

período crítico en el que concuerdan el agotamiento del vitelo y el momento en que las primeras larvas son capaces de consumir y utilizar alimento externo (rotíferos). El estadio de 3 y 4 días (TDE) para 20°C y 18°C respectivamente, parece indicar el momento clave de desaparición del vitelo y la aparición de alimento externo en el tracto digestivo. Normalmente se ha documentado que existe un período de superposición que dura, dependiendo de la especie, aproximadamente 1-2 días, durante el cual la aclimatación de la larva al alimento externo se realiza mientras parte del saco vitelino y de la gota oleosa se mantienen intactos (Klaoudatos *et al.*, 1990; Glamuzina *et al.*, 1989; Jug-Dujakovic y Glamuzina, 1988), hecho observado típicamente en salmónidos y en bagres (Eda *et al.*, 1990).

La mayoría de las larvas de peces marinos comienzan su alimentación antes de que el saco vitelino se consuma completamente (Heming y Buddington, 1988). Fukuhara (1990), resaltó el rol de la temperatura en la utilización del saco vitelino y el hecho de que diferentes temperaturas resultan en diferentes secuencias de desarrollo de los caracteres morfológicos y patrones de comportamiento, aún dentro de la misma especie. En nuestro estudio, el besugo completó la absorción del saco vitelino a los 3,316±0,146 mm TL y 3,270±0,194 mm TL, 4 (18°C) y 3 (20°C) días después de la eclosión respectivamente, tiempo que coincidió con el inicio de la alimentación externa (rotíferos). Conides y Glamuzina (2001) obtuvieron resultados similares para el besugo del Mar Mediterráneo. En *P. major* la absorción del saco vitelino ocurre a los 3,2 mm TL (Kitajima, 1978). La absorción de la gota oleosa en besugo coincidió con la absorción del vitelo. En *Sparus aurata*, aproximadamente el 10% del volumen de la gota oleosa está presente durante el inicio de la alimentación exógena (Ronnestad *et al.*, 1994). Generalmente, en la larva de los peces fisoclistos, el inflado de la vejiga natatoria y el establecimiento de la regulación hidrostática ocurre al inicio de la alimentación externa y coincide con el agotamiento parcial o total del vitelo (Doroskev *et al.*, 1981).

La reducción del crecimiento justo después del inicio de la alimentación podría deberse a que la energía incorporada a través de la ingestión es excedida por la energía que se gasta buscando alimento. Esto último estaría asociado a una baja eficiencia de captura que incide sobre la alimentación. El proceso de aprendizaje de alimentación y el consecuente retraso en el crecimiento podrían estar afectados por el tipo de presa utilizado en el experimento (Polo *et al.*, 1992).

Los resultados revelan que la composición del cuerpo del besugo cambió básicamente durante la absorción del vitelo y luego del inicio de la alimentación exógena, como consecuencia de la transformación del vitelo en tejido larval o en energía. Luego de la eclosión y durante el estadio previo a la alimentación

exógena, las larvas consumieron preferentemente compuestos ricos en carbono. Patrones similares se encontraron en otros peces (Tucker, 1988). Los cambios en el contenido de C y N<sub>2</sub> observados sugieren que durante el estadio vitelino, las larvas convierten preferentemente compuestos ricos en carbono, principalmente lípidos, y sólo cuando las reservas de vitelo se acaban, lípidos y proteínas se consumen o incorporan a una tasa similar. Resultados coincidentes a los del presente Capítulo fueron publicados para larvas de dorada *Sparus aurata* (Yúfera *et al.*, 1993), de lenguado *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta y Capuzzo, 1982) y *Gadus morhua* (Jorgensen, 1985).

Ronnestad *et al.* (1994), analizaron la composición relativa de aminoácidos libres (AAL) y ácidos grasos (AG) en embriones y larvas vitelinas de *Sparus aurata*, y estableció un “aminoácido promedio”, cuya oxidación requiere 5,5 mol O<sub>2</sub> y rinde 1,3 mol NH<sub>3</sub>; y un “ácido graso promedio” unido a un triacilglicerol (TAG), cuya oxidación requiere 77 mol O<sub>2</sub> por cada mol de TAG. Utilizando como supuesto el coeficiente de nitrógeno NQ=0.24 (mol de NH<sub>3</sub> producido / mol O<sub>2</sub> consumido) derivado de estos cálculos para este espárido afín al besugo, podemos estimar la contribución de los aminoácidos (AA) y AG a la energía aeróbica del besugo (Tabla VI).

Tabla VI. Cociente de nitrógeno (NQ) y porcentaje de disipación de energía aeróbica derivada del catabolismo de amino ácidos (AA) y ácidos grasos (AG) en larvas de besugo criadas a 18±0,5°C.

TDE (días)	NQ	% energía AA	% energía AG
0	0,10	49,63	50,37
1	0,01	3,50	96,50
2	0,02	8,78	91,22
3	0,02	10,59	89,41
4	0,03	12,39	87,61
5	0,05	21,56	78,44

La producción de amonio y su correspondiente NQ, sugieren que el 49,63% de la energía disipada durante la eclosión fue aportada por AAL, pero sólo un 12,39%

durante la última parte del estadio vitelino (día 4 TDE, 18°C). La estrategia de utilización de lípidos y proteínas durante los primeros días de vida de la larva de besugo, indica que los AAL del saco vitelino tienen una importante participación como combustible celular hasta el momento de la eclosión (Tabla VI). A partir de aquí, el decrecimiento de los valores de NQ con el desarrollo larval implica un cambio importante de AAL a lípidos como principal sustrato energético. Los AAL dejan de ser utilizados como combustible celular y serían redirigidos hacia la formación de nuevo tejido (AAL). La presencia de AAL en vez de proteínas en el saco vitelino, tendría por objeto una absorción directa de los mismos por parte del intersticio vitelino y su rápida utilización en los procesos de organogénesis larval, evitando así la ruta enzimática del catabolismo proteico y la indeseable acumulación de desechos nitrogenados tóxicos. El incremento en la tasa de absorción de la gota oleosa luego del día 1 (TDE) (Tabla VI), sugiere que los lípidos derivados de ella son el combustible aeróbico dominante para las larvas de besugo durante este estadio de desarrollo.

A partir del día 5 (TDE, 18°C), la hidrólisis proteica parece ser más importante (Tabla VI), posiblemente debido al aporte de alimento externo que suministraría el N<sub>2</sub> faltante para la producción de NH<sub>3</sub>, ya que el vitelo se ha consumido. Estudios en otros embriones de peces que contienen una gota oleosa, como *Sciaenops ocellatus* (Vetter *et al.*, 1983), demostraron la baja contribución de amino ácidos como fuente de energía en el estadio de saco vitelino.

Los resultados observados en la mortalidad larval del besugo se podrían deber a factores físicos y/o biológicos. La boca de estas larvas es muy pequeña (Machinandiarena *et al.*, 2000) en comparación con otras especies tales como la lubina, *D. labrax*, y la dorada, *S. aurata*, por lo que el método tradicional de cría de larvas se ve complicado. Kolios *et al.* (1997), sugieren que parte de la mortalidad al inicio de la alimentación exógena podría deberse a problemas de adaptación y digestión de rotíferos por parte de las larvas. La temperatura de incubación y cría probablemente influya sobre el desarrollo asincrónico natural, que debe estar coordinado con la presencia de alimento adecuado en el medio.

### **Tasa metabólica**

La relación entre el metabolismo (M) y la masa (W) se describe por la ecuación alométrica  $M = aW^b$ , donde *a* y *b* son constantes. Cuando el exponente de masa (*b*) es menor a la unidad, la tasa metabólica peso-específica (M/W) decrece con el incremento de la masa del cuerpo. Este fenómeno se ha observado y discutido ampliamente tanto en homeotermos como en poiquilotermos (Winberg, 1956; Hughes y Al-Kadholmiy, 1988). La tasa de respiración de los peces es

directamente proporcional al peso del cuerpo elevado a la 0,80 (Winberg, 1956; Paloheimo y Dickie, 1965). Brett y Groves (1979), estimaron un valor medio para peces de  $0,84 \pm 0,03$ . Nuestro valor de  $b=0,91$  ( $18^{\circ}\text{C}$ ) se encuentra un poco por encima de lo establecido como general por estos autores, pero concuerda con los valores hallados por Glass (1969) en otras especies, quien encontró que el exponente del peso se ubicó entre 0,59-1,28 con una media de 0,88; Houde y Scheckter (1983), trabajando con el espárido *Archosargus rhomboidalis*, estimaron una media de 0,88; Yoshinaga *et al.* (1994) e Imabayashi y Takahashi (1987), obtuvieron valores superiores a los del presente trabajo, 0,92 y 0,98, para un rango más amplio de pesos larvales de *Pagrus major*. Otros autores midieron también altas constantes para larvas de peces subtropicales: 0,98 en *Anchoa mitchilli* y 0,94 en *Achirus lineatus* (Houde y Scheckter, 1983). El consumo de oxígeno en larvas de besugo mostró un cambio isométrico en relación al peso ( $b=0,91$ ), por lo que la tasa de consumo se considera prácticamente independiente del tamaño del cuerpo en este estadio del desarrollo. Resultados similares fueron encontrados en otras especies por Rombough (1988), Oikawa *et al.* (1991) y Oikawa e Itazawa (1992). Parecería que la relación entre metabolismo y peso corporal en los primeros estadios larvales presenta un valor de  $b$  superior a 0,8 y que, como generalizan Yoshinaga *et al.* (1994), la relación tendería a ser proporcional al peso ( $b=1$ ).

En los primeros estadios de vida de los peces se observan diferentes patrones en la relación metabolismo-biomasa (Tabla VII). Durante el estadio vitelino, la tasa metabólica peso-específica se incrementó rápidamente en *Cyclopterus lumpus* (Davenport, 1983) y en *Tautoga onitis* (Laurence, 1973), mientras que se mantuvo prácticamente constante en *Gadus morhua* (Davenport & Lönning, 1980). En alevines de *Salvelinus alpinus*,  $b$  se encontró cerca de la unidad (1,09) (Holeton, 1973); en *Coregonus sp.*,  $b$  estuvo en 0,99 desde el estadio vitelino a la metamorfosis (Forstner *et al.*, 1983); 0,93 a 0,96 en *Oncorhynchus mykiss* de alevines a juveniles (Wieser, 1985). En *Oreochromis niloticus*, la tasa metabólica peso-específica decreció con el crecimiento a partir de la eclosión, con una pendiente de 0,42 (DeSilva *et al.*, 1986). En *Ciprinus carpio* no se observaron valores de  $b$  significativamente diferentes entre los estadios larvales y posteriores (Winberg, 1956).

Los cambios en el tamaño relativo de las superficies respiratorias durante la ontogenia, podrían también explicar el patrón de relación masa-metabolismo observada en esta especie. Es un simple mecanismo área-volumen de las larvas, cuya relación decrece a medida que la larva crece (Blaxter, 1988). No hay dudas acerca de que los peces teleósteos siguen una rápida expansión de la superficie branquial después de la eclosión. Se supone que el incremento de la superficie branquial estaría asociado con un incremento en el metabolismo durante un

período en el que prácticamente no existe cambio en el peso (Oikawa e Itazawa, 1985; Hughes y Al-Kadhomy, 1988; Rombough y Moroz, 1990). Los cambios ontogénicos en el volumen (masa) limitarían la transferencia de oxígeno a medida que la relación área-volumen decrece. Se acepta normalmente que las superficies respiratorias limitan las tasas metabólicas de rutina estableciendo el límite máximo del metabolismo aeróbico (Oikawa e Itazawa, 1985; El-Fiky y Wieser, 1988; Kaufmann, 1990), pero también es cierto que delimitaría tanto el metabolismo estándar como el de rutina a través de efectos alométricos en la eficiencia de transferencia de oxígeno (Post y Lee, 1996).

La relación bifásica observada entre el consumo de oxígeno de rutina y el estadio de desarrollo del besugo para los tamaños estudiados, significaría que la disminución de la tasa metabólica peso-específica con el aumento del peso del cuerpo no sería un fenómeno universal, y que, a nivel intraespecífico durante la ontogenia del pez, podrían darse procesos complejos en los cuales se distinguirían varias fases. El límite entre ambas fases para el besugo se estableció en el día 6 (TDE; 18°C), momento que coincide con la aparición de la vejiga natatoria. La Fase I se considera el estadio de transición entre una larva vitelina hacia la post-larva carente de saco vitelino, la cual comenzaría a utilizar completamente su sistema branquial. El besugo eclosiona de un huevo pelágico, con la mayoría de sus órganos (boca, ano, branquias, ojos) en estado indiferenciado. Los órganos del sistema digestivo se diferencian rápidamente durante el final del periodo vitelino (Machinandiarena *et al.*, 2000).

Oikawa *et al.* (1991), proponen que la tasa metabólica peso-específica, constante a partir de la Fase II, podría estar reflejando un crecimiento isométrico de órganos con una alta tasa metabólica, como el cerebro y el canal alimentario, la disminución del área vitelina de baja actividad metabólica y el incremento de la actividad larval; mientras que Post y Lee (1996), lo atribuyen a la combinación de la eficiente transferencia de oxígeno a través de las superficies cutáneas y el rápido desarrollo de las superficies lamelares branquiales. Existe un mayor cuerpo de datos bibliográficos que avalan ésta última hipótesis (Post y Lee, 1996) en detrimento de la mencionada previamente por Oikawa *et al.* (1991).

La frecuencia cardíaca (latidos/min) siguió el mismo patrón bifásico que el metabolismo de rutina, evidenciando una alta tasa de consumo de oxígeno por unidad de peso en los primeros días de vida larval, para luego decrecer después de la apertura de la boca y la formación de las branquias. El intercambio de gases respiratorios es básicamente cutáneo hasta la apertura de la boca, por lo que el desarrollo completo del sistema respiratorio branquial debe estar listo para cuando la larva alcanza un cierto tamaño crítico.

En los primeros estadios de vida de la larva, la actividad es típicamente de corta duración (pulsos de actividad seguidos de inmovilidad), mientras que en peces más grandes son de mayor duración (natación sostenida) (Kaufmann, 1990; Rombough, 1988; Kamler, 1992). La alta tasa de crecimiento requiere altas tasas de consumo de oxígeno, y por lo tanto, el crecimiento competiría con la actividad por el suministro de oxígeno. La consecuencia de esto sería la existencia de un balance altamente dinámico entre el metabolismo de rutina, el metabolismo activo y el crecimiento en larvas de peces cuando se enfrentan a las necesidades de: a) crecer rápido para evitar la depredación; b) conseguir alimento activamente para maximizar el consumo de presas, y c) mantener los procesos fisiológicos y bioquímicos.

El análisis estadístico efectuado a los datos de consumo de oxígeno en larvas de besugo, dio como resultado un punto de inflexión correspondiente al día 6 (TDE; 18°C), a partir del cual se puede suponer que las branquias estarían totalmente formadas y funcionales y la eficiencia de transferencia de oxígeno declinaría exponencialmente a medida que la relación superficie-volumen decrece durante esta fase de rápido crecimiento en volumen (masa).

Tabla VII. Análisis de regresión de las relaciones entre el consumo de oxígeno por unidad de masa M/W ( $\mu\text{l/g}\cdot\text{min}$ ) y la edad D (TDE); entre el consumo de oxígeno M ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) y el peso del cuerpo W (g); y entre el peso del cuerpo y el largo total (Lt mm).

Especie	Estadio <sup>1</sup>	Peso del cuerpo (g) <sup>2</sup>	Temp. (°C)	Constantes		Referencia
				a	b	
<i>Cyclopterus lumpus</i>	V	0.00076-0.00086 (PS)	5	*	*	Davenport (1983)
<i>Tautoga onitis</i>	V	0.0015-0.0012 (PS) <sup>3</sup>	16	**	**	Laurence (1973)
<i>Gadus morhua</i>	V	0.000056 (PS medio) <sup>3</sup>	5	***	***	Davenport & Lönning (1980)
<i>Salvelinus alpinus</i>	A	0.05-0.12 (PH)	2	1.5	1.09	Holeton (1973)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	A-J	0.08-7.0 (PH)	4; 12	1.2; 2.5	0.96; 0.93	Weiser (1985)
<i>Coregonus sp.</i>	V-P	0.006-0.065 (PH)	10	6.5	0.99	Forstner <i>et al.</i> (1983)
<i>Anchoa mitchilli</i>	P	0.0000089-0.00042 (PS)	26	93	0.98	Houde & Schekter (1983)
<i>Aechosargus rhomboidalis</i>	P	0.000018-0.000066 (PS)	26	32	0.84	Houde & Schekter (1983)
<i>Oreochromis niloticus</i>	V-P	0.00012-0.013 (PS) <sup>4</sup>	30	2.9	0.42	DeSilva <i>et al.</i> (1986)

1) V= vitelino ; A= alevino ; J= juvenil ; P= post-larva

2) PS= peso seco ; PH= peso húmedo

3) Durante el estadio vitelino no se observaron cambios sustanciales.

4) Peso obtenido luego de extraer el vitelo.

\* Consumo de oxígeno =  $0.82\text{-}3.2 \mu\text{l}/\text{mg}\cdot\text{h}$

\*\* Consumo de oxígeno =  $3.7\text{-}9.1 \mu\text{l}/\text{ind}\cdot\text{dia}$

\*\*\* Consumo de oxígeno =  $1.6 \mu\text{l}/\text{mg}\cdot\text{h}$



No esta clara aún la razón de tales diferencias en la relación metabolismo-tamaño o metabolismo-edad en los estadios iniciales de diferentes especies de peces, pero se cree que estas relaciones deben ser diferentes entre larvas eclosionadas de huevos pelágicos y aquellas eclosionadas de huevos demersales (Oikawa *et al.*, 1991). Existe una gran diferencia en la extensión de la organogénesis entre larvas eclosionadas de huevos pelágicos (*Pagrus major*, *Besugo*, *Sparus aurata*) y larvas eclosionadas de huevos demersales (*Oncorhynchus mykiss*, *Ciprinus carpio*, *Carassius auratus*). De acuerdo a Oikawa *et al.* (1991): a) las larvas del último grupo eclosionan en un estadio más avanzado de la organogénesis que aquellas provenientes de huevos pelágicos y, b) las larvas del primer grupo tienen amplios espacios subdérmicos para incrementar la flotabilidad. Ambas características explicarían el mayor consumo de oxígeno en larvas pelágicas y su mayor tasa metabólica con el incremento del peso larval.

## CONCLUSIONES

Las larvas de besugo recién eclosionadas son más pequeñas que las de otros espáridos, como la dorada (*Sparus aurata*) y *Dicentrarchus labrax*. El patrón de crecimiento de tres fases observado en larvas de besugo mostró tasas de crecimiento mucho más bajas que las de las especies previamente mencionadas.

Los resultados del presente Capítulo indican que la eclosión es un evento crítico donde se conjugan cambios morfológicos y fisiológico. El pasaje de la alimentación endógena a exógena marca otro importante momento en la vida larval, en el cual se detectan cambios en la composición del cuerpo como consecuencia de la transformación del vitelo en tejido larval o energía.

El estadio de 3 y 4 días (TDE; 20°C y 18°C, respectivamente) parece indicar el momento clave de desaparición del vitelo y la aparición de alimento externo en el tracto digestivo. Los lípidos derivados de la gota oleosa son el combustible aeróbico dominante para las larvas de besugo a partir del día 1 (TDE). Los cambios en el contenido de C y N<sub>2</sub> sugieren que durante el estadio vitelino las larvas utilizan preferentemente compuestos ricos en carbono (lípidos) como sustrato respiratorio y que, cuando las reservas de vitelo se acaban, lípidos y proteínas se consumen o incorporan a una tasa similar. Es evidente que la composición cualitativa y cuantitativa de estos sustratos es específica de cada especie, y futuros estudios develarán esta información. El estadio de 5-6 días (TDE) también tiene consecuencias importantes en las larvas en desarrollo, con cambios en el metabolismo, en el peso seco y la frecuencia cardiaca, y el comienzo del inflado de la vejiga natatoria. El estudio de las variaciones de estos y otros parámetros, como la eficiencia del

desarrollo, podrían utilizarse en forma conjunta para ayudar a esclarecer los factores determinantes de la sobrevivencia larval.

El consumo de oxígeno en larvas de besugo mostró un cambio isométrico en relación al peso, por lo que la tasa de consumo se considera prácticamente independiente del tamaño del cuerpo en este estadio del desarrollo. La disminución de la tasa metabólica peso-específica con el aumento del peso del cuerpo no sería un fenómeno generalizado en el reino animal.

# **UTILIZACIÓN DEL ALIMENTO**



## UTILIZACION DEL ALIMENTO

### INTRODUCCION

El presente Capítulo trata sobre la utilización de la energía proveniente de la ingestión de alimento para la producción de tejido somático, y sobre la influencia que tiene la temperatura en el crecimiento.

La alimentación abarca todos los procesos involucrados en la toma del alimento, digestión y absorción de los nutrientes. En este caso, la alimentación se referirá exclusivamente al consumo de alimento (A).

Una vez ingerido, el alimento se digiere, y la mayoría de los nutrientes se absorben a nivel de la pared intestinal hacia el torrente sanguíneo. Aquellos elementos que no son absorbidos, continúan su camino intestinal hasta ser eliminados en la defecación (F). Algunos investigadores suelen incluir a las pérdidas energéticas fecales dentro de la excreción, pero la mayoría aplican este término a la descarga de productos resultantes de los procesos metabólicos post-absortivos. En el presente contexto utilizaremos el término excreción para hacer referencia a la descarga de productos nitrogenados finales resultantes del metabolismo proteico (U).

La mayoría de los procesos biológicos, incluyendo las tasas fisiológicas, son dependientes del tamaño del cuerpo. La relación entre una variable biológica y el peso del cuerpo normalmente responde a una función del tipo:

$$f(W) = aW^b \quad (4.1)$$

, donde la variable biológica o función  $f(W)$ , se incrementa alométricamente con el aumento del peso del cuerpo  $W$ . Los términos  $a$  y  $b$  son constantes, siendo  $b$  el exponente que relaciona  $f(W)$  con  $W$  (exponente del peso). La relación entre la alimentación y el peso del cuerpo se expresa como una ecuación de este tipo, y el exponente del peso ( $b$ ), es invariablemente menor a 1 (Tabla I).

La energía ingerida a través de los alimentos que no se pierde como heces o productos de excreción, ni se utiliza para el metabolismo, está disponible para el crecimiento. El crecimiento puede tomar la forma de crecimiento somático o reproductivo. Dentro del marco de la ecuación del balance energético, el crecimiento se define como el incremento del contenido de energía del cuerpo del pez (Jobling, 1994). En su forma más simple, la ecuación de balance energético se puede escribir como:

$$E(G) = E(\text{in}) - E(\text{out}) \quad (4.2)$$

, donde  $E(G)$  es la energía disponible para el crecimiento,  $E(\text{in})$  es la energía ingerida y  $E(\text{Out})$  representa las pérdidas de energía debidas al metabolismo y

otros procesos. Por lo tanto, cualquier factor abiótico que afecte las tasas de consumo de alimento y metabolismo, se verá reflejado profundamente en el crecimiento del pez.

Tabla I. Exponente del peso para las relaciones entre alimentación y peso del cuerpo en varias especies de peces.

Especie	Rango de peso (g)	Régimen alimenticio	Exponente del peso (b)	Fuente
<i>Oncorhynchus nerka</i>	4-216	Saciedad, 3 veces/día	0,657	Brett (1971)
<i>Salmo trutta</i>	5-300	Saciedad, 4 veces/día	0,761	Staples y Nomura (1976)
<i>Salvelinus alpinus</i>	10-700	<i>Ad libitum</i>	0,651	Pálsson et al (1992)
<i>Micropterus salmoides</i>	8-150	Saciedad, 2 veces/día	0,711	Niimi y Beamish (1974)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	2-180	Saciedad, 3 veces/día	0,727	Stirling (1977)

Los peces teleósteos excretan entre un 60-90% de sus desechos nitrogenados como amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), principales productos finales del catabolismo de las proteínas (Jobling, 1994). Otros compuestos nitrogenados que forman parte de la excreción son la urea, ácido úrico, creatina, creatinina, óxido de trimetilamina y aminoácidos (Lovell, 1989). Se producen en su mayor parte en el hígado y son transportados por la sangre principalmente a las branquias donde se excretan directamente al agua.

El amonio es el producto nitrogenado de la oxidación biológica de los aminoácidos y proteínas más eficiente y de menor energía (19,5 kJ/g de proteína; Wood, 1993). Químicamente, el amonio desempeña tres papeles diferentes pero interrelacionados, como buffer básico, como gas respiratorio y como catión (Cameron y Heisler, 1983). Así, el amonio total (TAM) en solución ( $\text{NH}_3 + \text{H}^+ \text{NH}_4^+$ ), presenta dos componentes: el gas  $\text{NH}_3$  y el catión  $\text{NH}_4^+$ . Al pH normal de los fluidos corporales, el amonio constituye más del 95% del TAM.

Existen varios mecanismos posibles de excreción de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  en las branquias, pero los más importantes son la difusión pasiva y el mecanismo de intercambio iónico. Ambas formas pueden difundir pasivamente a través de membranas biológicas a favor de sus respectivos gradientes de presión parcial, por lo que las difusiones de amoníaco e iones amonio representan dos rutas independientes, pero paralelas, de excreción de  $\text{N}_2$  en las branquias.

Las ventajas de la excreción de  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$  sobre la de otros productos nitrogenados como urea y ácido úrico son:

- El costo de síntesis es mínimo.
- El  $\text{NH}_4^+$  es una molécula relativamente pequeña que difunde fácilmente a través de las membranas de las células branquiales desde la sangre hacia el agua circundante.

- Cuando se excreta nitrógeno como ion  $\text{NH}_4^+$ , éste se puede intercambiar con sodio, facilitando su captura.

Otros productos del metabolismo del nitrógeno, como la urea y creatina, se producen en menor cantidad en el pez. Estos productos finales nitrogenados se excretan por la orina, por la piel o por las branquias. No es raro que los peces lleguen a excretar más del 80% de sus desechos nitrogenados como  $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ , pero la proporción de nitrógeno excretado como urea y otros productos metabólicos finales, puede alcanzar entre 30-40% en algunas especies marinas (Jobling, 1994).

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron varios ensayos de crecimiento por períodos de 50 días. Se establecieron rangos de peso para los ejemplares, los cuales se trabajaron en forma independiente (Tabla II). Previamente al inicio de los ensayos, los peces de cada rango se anestesiaron dentro de un tanque de 50 l de capacidad lleno de agua de mar con el agregado de entre 20-50 ml de una solución de benzocaína : acetona (2:1 p/v), dependiendo del tamaño de los ejemplares. Cuando los peces comenzaron a voltearse y nadar en forma invertida, se pesaron y distribuyeron al azar formando diferentes grupos con igual número de ejemplares. Se los aclimató durante 2-3 semanas a la dieta correspondiente a una tasa de alimentación del 2% del peso húmedo. Los tanques utilizados fueron rectangulares de entre 0,5-1,3 m<sup>3</sup>, con un recambio de agua cada hora dentro de un circuito de recirculación. Tanto al inicio como al final de las pruebas, los peces se dejaron en ayuno por 24 h antes de registrar sus pesos, para permitir el vaciado intestinal en los casos en que fuera necesario. Para formar los lotes de estudio, los peces se volvieron a medir y pesar, y se distribuyeron homogéneamente en los tanques. Los análisis químicos proximales fueron realizados por el Laboratorio de Nuevos Productos y el Laboratorio de Análisis para la Industria del INIDEP.

Tabla II. Rango de peso (g) de los ejemplares de besugo y temperatura de los ensayos

Tipo de alimento	14°C	20°C
Calamar	375-590g	490-630g 210-290g 45-100g

### Frecuencia alimenticia

Para establecer la frecuencia alimenticia óptima se dispusieron cuatro patrones de alimentación diferentes (Tabla III), utilizando calamar picado (*Illex argentinus*) como alimento suministrado a saciedad. Las pruebas se realizaron a una temperatura de 16°C por 45 días. Todos los días por la mañana se procedió a limpiar el fondo de los tanques por sifón, recolectando las heces y el alimento no ingerido, el cual se restó del consumo final. Las heces se secaron en estufa a 60°C durante 24 h hasta peso constante y se las almacenó a -18°C para su posterior análisis proximal.

Tabla III. Frecuencia alimenticia de los ensayos de alimentación en besugo.

Frecuencia	Número de comidas	Hora
1	1 cada 3 días	09:00
2	1 cada 2 días	09:00
3	1 por día	09:00
4	2 por día	08:30 y 15:00

### Crecimiento

El alimento (Tabla IV) se suministró en una sola toma diaria (09:00h) durante 10-15' a 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 y 4,0% de la biomasa húmeda por día, a 14° y 20°C de temperatura. A medida que se suministró el alimento, se observó el comportamiento y estado general de los individuos, con el objeto de detectar anomalías de comportamiento. Las heces se colectaron de la manera descripta previamente. Las condiciones fisico-químicas del agua de mar de los sistemas de recirculación se resumen en la Tabla V.

Tabla IV. Composición proximal (%) del calamar y dieta utilizados como alimento.

	CALAMAR	DIETA
Proteínas	18,2	37,14
Lípidos	2,0	15,47
Carbohidratos	-	-
Cenizas	1,7	15,27
Humedad	78,8	7,50
Energía (KJ/100g)	496,6	1469,93

Tabla V. Valores de los parámetros físico-químicos más importantes en el agua de los tanques en recirculación cerrada.

NH <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,01-0,15 ppm
Nitritos	0,01-0,30 ppm
Nitratos	5-150 ppm
Oxígeno disuelto	6-7 ppm
Salinidad	33-34‰
pH	7,2-7,8

La tasa de crecimiento específica (G%) de los peces se expresó en términos de incremento del peso húmedo del cuerpo por día, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$G\% = \frac{\text{Ln } W_2 - \text{Ln } W_1}{t} \times 100$$

donde  $W_1$  y  $W_2$  son los pesos iniciales y finales de los peces (g) y  $t$  es el tiempo transcurrido en días. La tasa de conversión de alimento se calculó como  $F/G$ , donde  $F$  es la tasa de consumo de alimento o tasa de alimentación (% peso húmedo del cuerpo/día). Los factores de condición (FC), se calcularon para cada uno de los peces al inicio y al final de los experimentos, utilizando la expresión  $W/L^3 \times 100$ , donde  $L$  es el largo total (cm). La tasa de absorción ( $J/g \cdot \text{día}$ ) = tasa de alimentación / tasa de conversión.

### Consumo de oxígeno

La variación de los niveles de oxígeno (O<sub>2</sub>) del agua se midió en una cámara de 1 x 0,5 x 0,5m de capacidad, con tapa estanca especialmente construida en fibra de vidrio para medir gases disueltos. Una vez aclimatados los peces, se procedió a cortar el flujo de agua y medir la concentración de oxígeno disuelto en ppm (mgO<sub>2</sub>/l) con un electrodo de O<sub>2</sub> conectado a un medidor Orion 720A. El incremento del consumo de O<sub>2</sub> por efecto del alimento o acción dinámica específica (SDA) se registró de igual forma pero alimentando a los ejemplares aproximadamente al 1% del peso húmedo del cuerpo. Se registraron los valores de concentración de O<sub>2</sub> entre 0,5-1h, ya que bajos niveles de oxígeno en el agua pueden afectar el ritmo respiratorio e influenciar sobre las mediciones. El consumo de oxígeno se estimó mediante la ecuación 3.1 (Capítulo III).

En el presente estudio se midió el *metabolismo de rutina*, el cual hace referencia a la tasa metabólica de un organismo durante su actividad espontánea normal (Beamish, 1964) y aclimatado térmicamente a su ambiente. En él se incluyen actividades de natación, flotación, equilibrio, búsqueda de alimento, alimentación, asimilación, etc. El metabolismo de rutina representa el requerimiento de energía para el mantenimiento de la actividad espontánea. No incluye, por lo tanto, la energía requerida para la digestión y asimilación del alimento (acción dinámica específica o SDA), ni la energía perdida durante su conversión en energía libre (incremento de calor) (Hepher *et al.*, 1983).

### **Excreción y producción de heces**

Se utilizaron dos lotes de peces similares en peso (200-400g y 600-800g), de acuerdo al siguiente protocolo: 1) alimentación normal al 3% del peso húmedo (PP: post-absorción) en una única toma diaria (09:00AM), 2) ayuno 24 h (A-24), 3) ayuno por 48 h (A-48), y 4) alimento balanceado (Tabla IV) al 1% del peso húmedo, en una única toma diaria (09:00AM). En todos los casos el período de adaptación al alimento (calamar y alimento balanceado) fue de 3 semanas, luego del cual comenzaron las mediciones. Se determinaron primeramente los niveles de excreción ( $\text{mgN}_2/\text{h}$ ) normales para la especie bajo estudio.

En todos los casos, los peces fueron medidos y pesados al inicio y final de cada ensayo, previo período de ayuno de 24 hs en aquellos casos que correspondiera. La temperatura se mantuvo en  $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Las mediciones del contenido de  $\text{NH}_4^+$  en los diferentes lotes se realizaron a intervalos de una hora, tomando muestras por triplicado a la entrada y a la salida de los tanques con el objeto de corregir los valores por el  $\text{N}_2$  existente en el sistema de recirculación. Las muestras se analizaron con un electrodo para  $\text{NH}_4^+$  Cole-Parmer conectado a un medidor ORION 720A. El valor de excreción de urea se tomó de la bibliografía existente para *Pagrus major*, cuyo valor correspondió a  $14 \text{ mgN}_2/\text{kg} \cdot \text{día}$  (Kakuta *et al.*, 1992).

Las heces se recolectaron diariamente mediante sifoneado del fondo y filtrado con papel de filtro. Se secaron en estufa a  $105^\circ\text{C}$  hasta peso constante y se congelaron a  $-18^\circ\text{C}$  hasta su posterior análisis.

### **Análisis estadístico**

Para el análisis estadístico de los datos, se realizó un ANOVA de dos vías sin réplicas. Los datos se compararon con el test t de Student. Las regresiones múltiples, sus parámetros y estadísticos se obtuvieron con el programa Statistica 6.0.

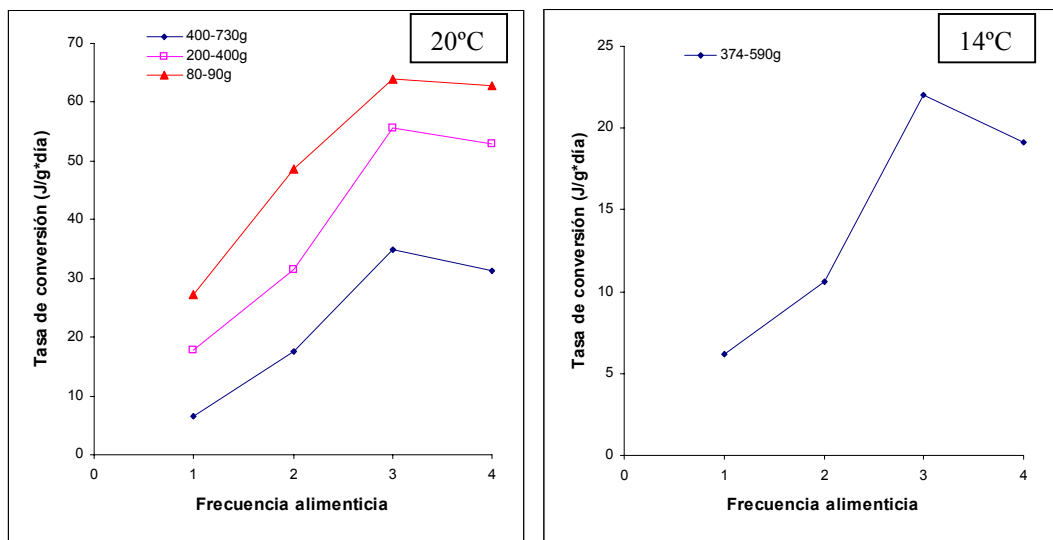
## RESULTADOS Y DISCUSION

### Frecuencia alimenticia y crecimiento

No todos los tamaños de ración pudieron ser utilizados, ya que en algunas experiencias aquellas mayores al 4% peso/día no fueron totalmente ingeridas.

La tasa de alimentación y la tasa de conversión de alimento se incrementaron con el aumento de la frecuencia alimenticia en todas las pruebas realizadas (Figs. 1 y 2). La mayor frecuencia alimenticia (4) no produjo las tasas máximas de alimentación ni crecimiento.

**A**



**B**

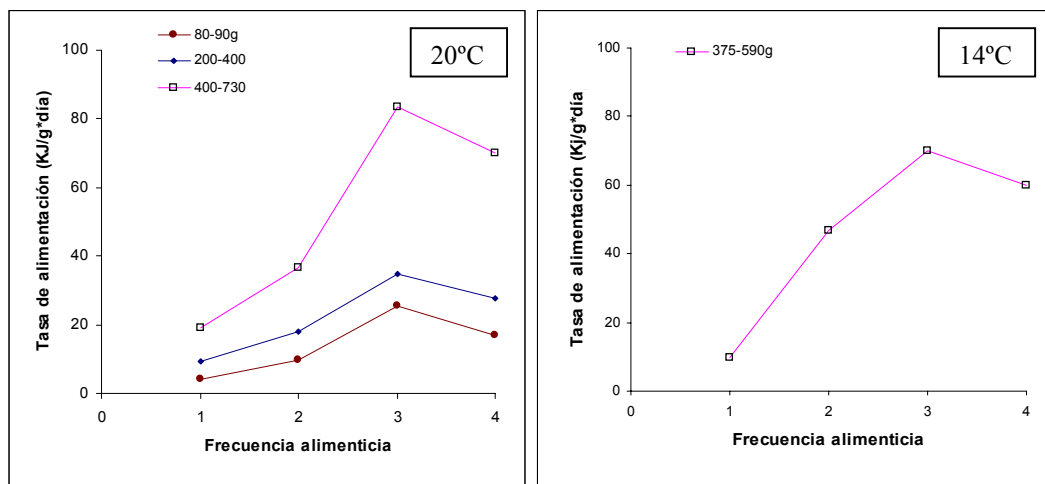


Fig. 1. Tasas de conversión de alimento (A) y tasa de alimentación (B) a 14°C y 20°C de temperatura, expresada en términos de energía para las distintas frecuencias alimenticias: 1) 1 cada 3 días; 2) 1 cada 2 días; 3) 1 por día y 4) 2 por día. Alimento utilizado: calamar.

La dependencia del crecimiento sobre el tamaño de la ración en besugo mostró la misma relación que se describe generalmente en esta clase de estudios (Brett, 1979; Brett y Groves, 1979). El período de tiempo de los ensayos permitió determinar las variaciones en los pesos de los ejemplares (Tablas VI y VII) por efecto de las diferentes raciones alimenticias utilizadas, incrementándose los pesos medios con el correspondiente incremento del tamaño de ración.

Tabla VI. Resultados de las pruebas de alimentación utilizando calamar como alimento a 14°C. Los pesos están expresados en gramos. FC<sub>i</sub> y FC<sub>f</sub> = factor de condición inicial y final, respectivamente.

Lote	Talla (cm)	Peso medio inicial	Desvío	Biomasa inicial	Peso medio final	Desvío	% incremento en peso	N	Tasa alim.	FC <sub>i</sub>	FC <sub>f</sub>
1	26-30	442,25	41,10	2653,50	458,83	30,28	3,75	5	2,5	2,0	2,1
2	25-29	375,67	64,88	2254,00	420,33	74,05	11,89	6	2,3	1,9	2,1
3	29-34	590,80	46,42	2954,00	669,00	44,70	13,24	5	2,1	1,9	2,1
4	26-29	436,17	38,77	2617,00	502,67	41,58	15,25	6	1,6	2,1	2,4
5	27-33	561,52	85,02	3369,10	658,38	82,88	17,25	8	1,3	2,1	2,4
6	28-34	463,50	69,37	2781,00	546,80	69,46	17,97	8	1,6	1,6	1,8
7	28-33	455,68	62,09	2278,40	475,98	71,59	4,45	6	0,4	1,6	1,7
8	29-35	511,33	73,15	3068,00	564,15	66,65	10,33	7	0,8	1,6	1,7
9	26-30	543,25	79,46	3259,50	575,70	69,68	5,97	6	0,4	2,5	2,6

Tabla VII. Resultados de las pruebas de alimentación utilizando calamar como alimento a 20°C. Los pesos están expresados en gramos. FC = factor de condición.

Lote	Talla (cm)	Peso medio inicial	Desvío	Biomasa inicial	Peso medio final	Desvío	% incremento en peso	N	Tasa alim.	FC ini	FC fin
1	25-32	521,35	100,79	3128,10	530,48	99,86	1,75	7	0,2	2,3	2,3
2	27-34	593,18	86,74	3559,10	656,60	75,30	10,69	8	3,6	2,1	2,3
3	28-32	493,27	70,94	2959,60	635,30	80,35	28,79	8	2,8	1,8	2,4
4	30-36	518,52	107,91	2592,60	682,48	83,59	31,62	6	1,3	1,4	1,9
5	28-33	521,35	100,79	3128,10	570,93	104,64	9,51	9	0,7	1,8	2,0
6	23-30	513,52	73,94	3081,10	635,20	85,37	23,70	8	1,0	2,8	3,4
7	25-33	576,83	55,42	3461,00	676,67	55,32	17,31	8	3,0	2,4	2,8
8	28-35	628,70	101,89	3143,50	826,88	53,86	31,52	6	1,6	2,0	2,6
9	24-28	514,70	100,25	3088,20	635,78	103,05	23,53	8	3,0	2,9	3,6
10	18-29	254,72	79,02	1528,30	325,48	76,86	27,78	6	1,0	2,0	2,5
11	18-30	287,17	82,67	1723,00	413,90	108,27	44,13	6	1,2	2,1	3,0
12	17-25	213,48	92,94	1067,40	313,86	87,87	47,02	5	1,5	2,3	3,4
13	18-25	221,83	83,40	1331,00	347,33	91,42	26,57	6	2,1	2,2	3,5
14	15-23	204,27	81,65	1225,60	363,18	81,48	37,80	6	2,5	3,0	5,3
15	15-25	214,80	83,19	1288,80	350,22	74,08	63,04	6	3,0	2,7	4,4
16	15-25	211,38	59,03	1268,30	258,65	66,45	22,36	6	0,9	2,6	3,2
17	15-17	86,23	4,24	517,35	106,25	5,79	23,22	20	0,8	2,1	2,6
18	15-17	85,48	5,24	637,50	117,57	8,58	10,65	20	1,1	2,2	3,0
19	15-17	86,55	4,75	519,30	126,50	7,48	46,16	20	1,8	2,1	3,0
20	15-17	86,60	3,31	519,60	137,47	7,33	58,74	20	4,0	2,1	3,8
21	13-14	55,89	4,12	838,35	78,36	6,11	40,20	15	1,0	2,0	3,6
22	14-15	65,99	3,95	989,85	103,21	7,03	56,40	15	1,2	2,2	3,1
23	15-16	78,40	4,26	1176,00	110,25	8,12	40,63	15	1,5	2,2	3,3
24	15-17	89,39	4,55	1340,85	120,30	9,60	34,58	15	2,2	2,1	3,3
25	16-17	99,70	5,88	1495,50	141,03	11,80	41,45	15	1,8	2,3	3,4
26	16-18	113,92	6,12	1708,80	166,33	13,06	46,01	15	1,6	2,2	3,5

El factor de condición (FC) se utiliza para medir la variación del peso individual esperado en peces de la misma talla, como indicio del estado general. Excepto en el caso de aquellas raciones por debajo de los requerimientos de mantenimiento, el factor de condición fue mayor en cada sucesivo aumento de la ración, y esto es consistente con el hecho de que un pez bien alimentado tendrá un factor de condición mayor que un pez del mismo tamaño mantenido a un nivel alimenticio menor (Tablas VI y VII).

El crecimiento se registra normalmente como la ganancia en peso, y se asume que un incremento en el peso del cuerpo es sinónimo de un aumento de energía. En otras palabras, se asume que la composición de los tejidos de los peces es constante, y que un cambio en el peso reflejará exactamente los cambios en el contenido de energía del cuerpo. Pero la composición del cuerpo del pez no es constante, y la proporción relativa de proteínas, lípidos, cenizas y agua que producen una ganancia en peso varía con las condiciones de alimentación y niveles de ingestión de alimento (Jobling, 1994). Los depósitos de lípidos tiende a incrementarse con el incremento de la cantidad de alimento ingerido, por lo que peces alimentados a altas raciones generalmente tendrán proporcionalmente más lípidos que aquellos mantenidos a raciones menores. Del mismo modo, los peces tienden a depositar mayores cantidades de lípidos con la edad. El almacenamiento de 1 g de lípidos (38 kJ) en los tejidos lleva a un incremento de 1 g, mientras que el de 1 g de proteínas (24 kJ), produce una incorporación de 3-4 g de agua. Así, el depósito de 1 g de proteínas llevará a la ganancia de 4-5 g de peso corporal. De esta manera se observa que los cambios en el peso no siempre reflejan exactamente el crecimiento en términos de ganancia de energía. Si no se registran los cambios en la composición proximal de los peces bajo diferentes regímenes alimenticios, los resultados pueden llevar a conclusiones incorrectas sobre la eficiencia con la cual la energía ingerida en los alimentos se ha depositado como tejido corporal.

En las pruebas realizadas a 14°C y 20°C, se obtuvieron las curvas que describen el efecto de la tasa de alimentación sobre el crecimiento (Fig. 2). Como era de esperar, los peces más pequeños mostraron mayor velocidad de crecimiento con igual ración de alimento que los peces más grandes a igual temperatura. La pendiente de las curvas decreció progresivamente hacia una asíntota que corresponde a una tasa de crecimiento y ración máximas. La relación entre alimentación y crecimiento graficada en las figuras es de particular interés, ya que como expresan Carline y Hall (1973), la parte ascendente de la curva tiene más importancia ecológica que la descendente, debido a que los peces en la naturaleza subsisten a niveles de ración bajos.

El examen de las curvas de alimentación y crecimiento revela un par de aspectos importantes al respecto de la utilización eficiente del alimento (Fig. 2). Primero, las tasas de alimentación que producen el máximo crecimiento no son aquellas que rinden la más eficiente utilización del alimento. Segundo, las curvas de alimentación y crecimiento a diferentes temperaturas no se superponen unas a otras, ni necesariamente corren paralelas unas a otras. Las condiciones

alimenticias que dieron las mejores utilidades del alimento variaron con la temperatura. En las condiciones experimentales de raciones restringidas ensayadas, es de esperar cambios en las relaciones entre temperatura y tasa de crecimiento. La explicación más obvia a esto resulta de considerar los efectos de la temperatura sobre la tasa metabólica. Con el aumento de la temperatura hay un incremento de la tasa metabólica y, consecuentemente, la cantidad de alimento requerido para mantener constante el peso corporal se incrementa (ración de mantenimiento). Así, para cualquier tamaño de ración el *rango de crecimiento* (energía disponible del alimento menos el requerimiento de mantenimiento) decrece a medida que aumenta la temperatura. En consecuencia, a medida que se reduce el tamaño de ración, el rango de crecimiento se amplía a temperaturas más bajas.

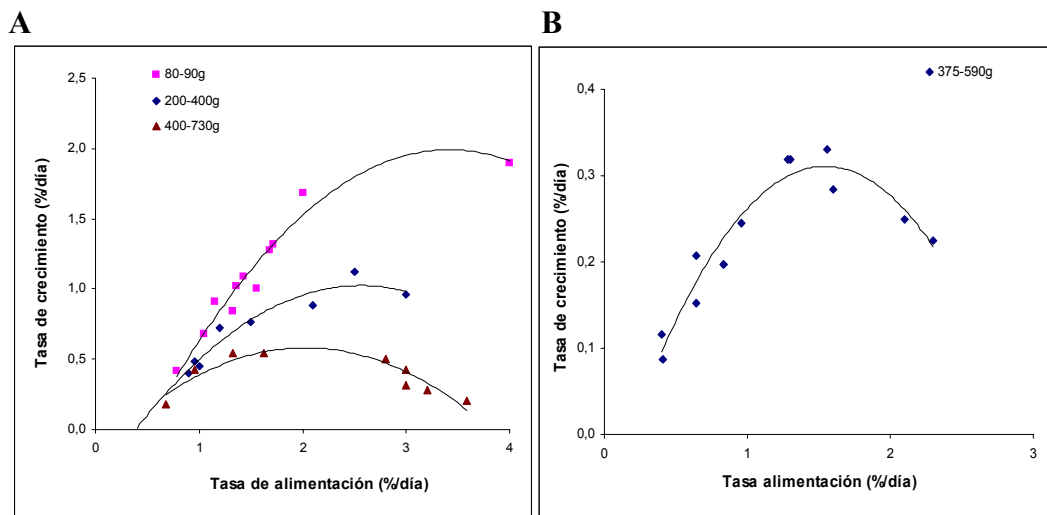


Fig. 2. Relación entre la tasa de alimentación y la tasa de crecimiento para ejemplares de besugo alimentados con calamar. A) 20°C y B) 14°C.

Se entiende por tasa óptima de alimentación aquella que rinde la mayor eficiencia de utilización de alimento, vale decir, el mayor crecimiento con la menor cantidad de alimento. La misma se obtiene trazando la tangente a la curva desde el origen. A nivel de la ración óptima, la tasa de crecimiento fue del 64,26% y 66,77% de la tasa de crecimiento a ración máxima, para 20° y 14°C respectivamente (Fig. 2). Esta especie presenta una baja tasa de crecimiento evidenciada en los bajos valores de eficiencia.

Las dos temperaturas ensayadas no influyeron significativamente sobre la cantidad de alimento ingerido ( $P > 0,000$ ), pero sí lo hicieron sobre la tasa de crecimiento (Fig. 2) y tasas de alimentación óptima y máxima (Tabla VIII).

Tabla VIII. Tasas de alimentación de mantenimiento, óptima y máxima para besugo obtenidas en las pruebas de laboratorio a dos temperaturas.

	Tasa mantenimiento	Tasa óptima	Tasa máxima
20°C (80-90g)	0.29	1.55	4.20
20°C (200-400g)	0.39	1.40	2.60
20°C (400-730g)	0.25	0.96	2.00
14°C (400-600g)	0.17	0.75	1.50

Es importante diferenciar entre el efecto de la temperatura *per se*, y los efectos sobre el crecimiento inducidos por las interacciones entre la temperatura y una cantidad del alimento restringido. Bajo condiciones de alimentación ilimitada, un incremento en la temperatura llevará a un incremento en la ingestión de alimento, pero a altas temperaturas habrá una abrupta declinación en las tasas de ingestión.

La eficiencia de absorción también resultó afectada por la temperatura y la cantidad de alimento (Fig. 3).

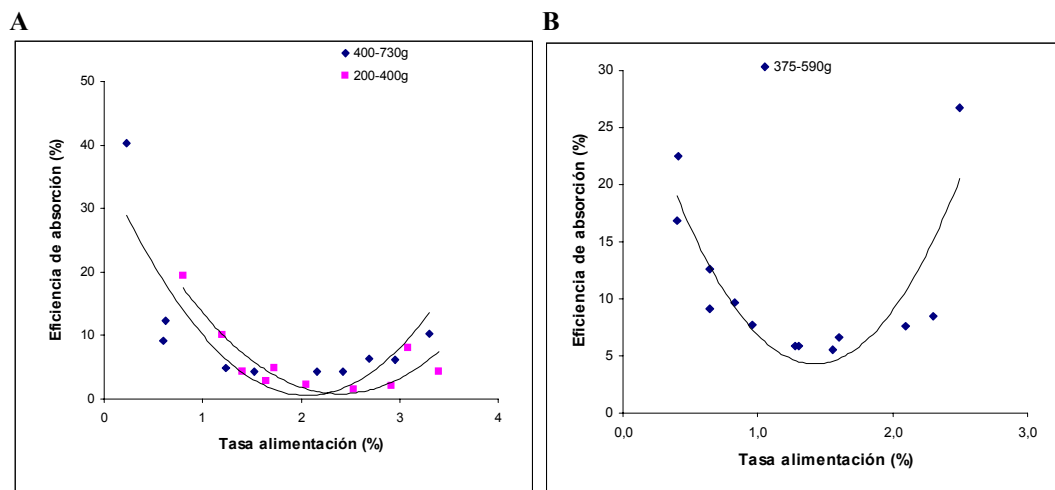


Figura 3. Relación entre la tasa de alimentación y la eficiencia de absorción para ejemplares de besugo. A) 20°C y B) 14°C. EA% = (tasa de absorción j/g\*día / tasa de alimentación j/g\*día) x 100.

Las mediciones del consumo de alimento se caracterizan por presentar amplias variaciones individuales y entre individuos de la misma especie (Jobling, 1994). Se ha observado durante las tareas de acuario que cuando los peces se alimentan en grupos las interacciones sociales y el establecimiento de jerarquías dominantes pueden llevar a la reducción, y a veces la eliminación de la ingestión de alimento y el crecimiento de algunos individuos. El efecto de tales interacciones se aprecia más marcadamente cuando el suministro de alimento está restringido, como lo es en las pruebas de alimentación y crecimiento.

A niveles de ración mayores que la tasa máxima, la eficiencia de conversión fue baja (Fig. 4) Aunque se consumió más alimento, el crecimiento de los peces a raciones de alimento mayores no se incrementó notablemente, comparada con aquel a nivel de la ración óptima. La eficiencia de conversión frecuentemente se ha empleado como indicador del efecto de factores internos y externos sobre la fisiología y bioenergética de los peces (Zanuy y Carrillo, 1985).

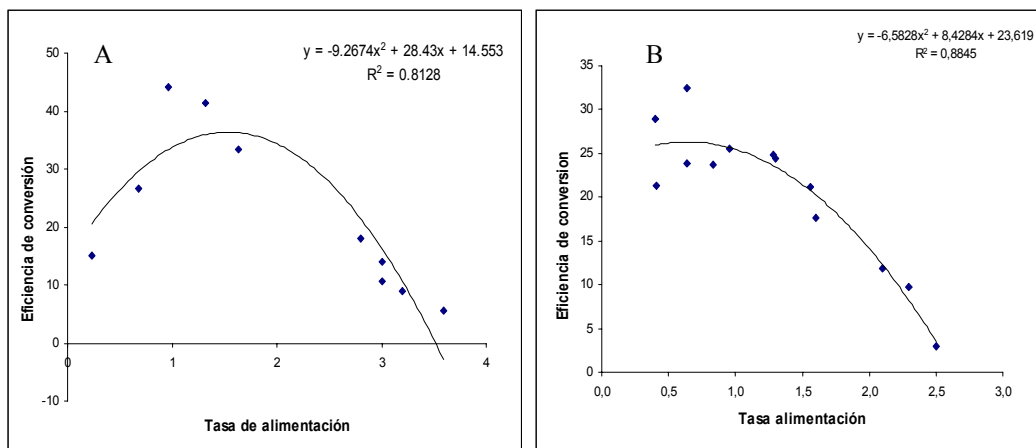


Figura 4. Eficiencia de conversión de alimento para ejemplares de besugo de 400-730g de peso. A) 20°C y B) 14°C. Eficiencia de conversión = peso ganado / alimento consumido \* 100.

A partir de las pruebas realizadas en el laboratorio con besugos bajo condiciones controladas de temperatura (t), fotoperíodo, salinidad y alimento ingerido (A), se obtuvo la siguiente regresión para la predicción del consumo de alimento en base al peso (P) de los ejemplares y las tasas específicas de crecimiento (G) observadas:

$$\ln(A) = -0,115201 + 1,398250 \times \ln(P) + 0,675869 \times \ln(G) \quad (4.3)$$

donde A son los gramos de alimento consumido por día y P el peso inicial (g). Esta regresión representó el 57% de la varianza en la variable dependiente ( $F_{obs}=20,774$ ;  $p<0,000$ ; SE 0,57595). Debido a que las pruebas de crecimiento se realizaron con raciones de alimento restringidas (0,5-4,0%/día), el efecto de la temperatura sobre el consumo de alimento no tuvo efecto significativo en el análisis.

La producción de heces (H) en g seco/kg\*día, se estimó como:

$$H = -0,242232 + 0,10688 \times A + 0,496699 \times G + 0,000622 \times P + 0,212998 \times t \quad (4.4)$$

donde A es la tasa de alimentación (%/día), G la tasa de crecimiento (%/día), P el peso (g) y t la temperatura (1=20°C y 2=14°C) ( $F=31,07$ ; SE=0,10178;  $r^2=0,92$ ). Esta regresión explica el 84,96% de la varianza observada. Los valores obtenidos

están subestimados debido al efecto de disolución de las heces en el fondo del tanque hasta el momento de su extracción y secado.

Consumo de oxígeno

El nivel metabólico de rutina (M) se calculó en base a las regresiones obtenidas entre el consumo de oxígeno (mgO<sub>2</sub>/kg\*h) y el peso del cuerpo (Fig. 5):

$$M = 1319,2 \times W^{-0,40} \quad (r^2=0,94; 20^\circ\text{C}) \quad (4.5)$$

$$M = 1025,9 \times W^{-0,39} \quad (r^2=0,93; 14^\circ\text{C}) \quad (4.6)$$

donde W es el peso seco en gramos.

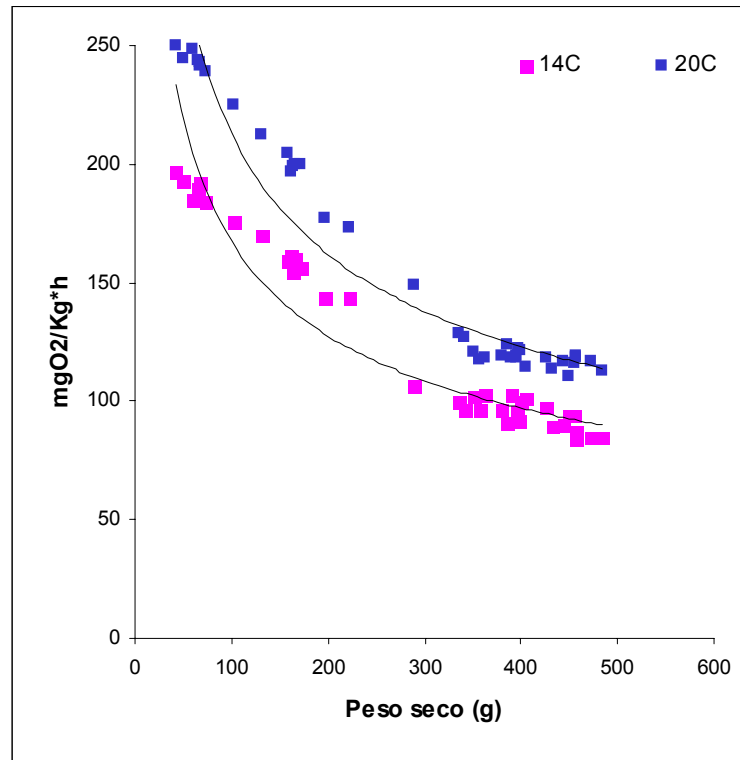


Figura 5. Tasa metabólica en relación al peso seco del cuerpo de besugo a diferentes temperaturas.

La tasa metabólica de rutina fue inversamente proporcional al peso del cuerpo para ejemplares juveniles y adultos. Los peces más grandes consumen más oxígeno que los pequeños, pero si lo referimos por unidad de peso, éstos últimos consumen más oxígeno que los individuos más grandes de su misma especie. La disminución en el consumo de oxígeno por unidad de peso que acompaña al incremento en el tamaño del cuerpo se atribuye, en parte, a los cambios ontogenéticos en el tamaño relativo de los distintos órganos (Weatherley y Gill, 1987). Además de estos cambios, existe evidencia que sugiere que la intensidad metabólica de los diferentes tejidos del cuerpo tienden a disminuir a medida que aumenta el tamaño o la edad del pez (Jobling, 1994).

La ingesta de alimento provocó un pico de consumo de O<sub>2</sub> después de 3 hs (Fig. 6). Este incremento metabólico luego de la alimentación se conoce como acción dinámica específica (SDA), y está en relación al tipo y cantidad de alimento, su valor energético, la especie bajo estudio, temperatura y otros factores (Beamish y Trippel, 1990). Este proceso sustrae energía para la formación de nuevo tejido, disminuyendo el crecimiento y la eficiencia de absorción. La relación entre la SDA y el alimento consumido en términos de energía (1  $\mu\text{molO}_2 = 0,45 \text{ J}$ ), se conoce como “coeficiente SDA”, que representa la magnitud del consumo de oxígeno en relación a la cantidad de energía ingerida. La energía perdida en el SDA del besugo, estimada en 18,7%, se encuentra dentro del rango para peces carnívoros, que es del 10-30% de la energía del alimento consumido (Jobling, 1981b; Soofiani y Hawkins, 1982; Wootton, 1990). Es difícil diferenciar entre el SDA y la respiración adicional debida a la excitación, estrés y actividad de la alimentación. Esto podría explicar las variaciones encontradas en la literatura (Jobling, 1981b).

El SDA es considerado como el impuesto que se debe pagar por la conversión de alimento, el cual aumenta con el aumento del contenido proteico del mismo. Se lo expresa como  $\text{SDA} = mA$ , donde  $m$  varía entre 0,05 (carbohidratos puros) y 0,3 (proteína pura), y  $A$  es el alimento consumido. Presentados de esta manera, el SDA y el crecimiento tisular parecen *competidores*, ya que si el SDA sube, el crecimiento debe disminuir. Contrariamente, Jobling (1983b) propone considerar al SDA como un gasto energético asociado al crecimiento  $\text{SDA} = rP$ , donde  $r$  es el costo energético por unidad de crecimiento y  $P$  es la producción (anabolismo). Desde este punto de vista, el SDA y el crecimiento serían *interactivos*.

La SDA incluye la energía utilizada en el proceso de síntesis de proteínas y desaminación (LeGrow y Beamish, 1986; Lyndon *et al*, 1992), y en el procesamiento mecánico y bioquímico del alimento (Tandler y Beamish, 1979), todos los cuales pueden acelerarse por efecto de la temperatura (Guinea y Fernandez, 1997). De acuerdo a Vahl (1979), la sangre tendría una capacidad de transporte máxima y el nivel del SDA reflejaría el grado de retroalimentación negativa de los metabolitos en sangre. Aparentemente, las

6,5 hs de intervalo entre las dos comidas diarias (Tabla III, frecuencia 4) y su correspondiente contribución alimenticia a los niveles de metabolitos circulantes, no fueron adecuadas para una buena utilización de alimento. En base a los resultados obtenidos, el óptimo trófico para la utilización del alimento en besugo se alcanzó con una comida diaria (Tabla III, frecuencia 3), la cual rindió las mayores tasas de alimentación y conversión.

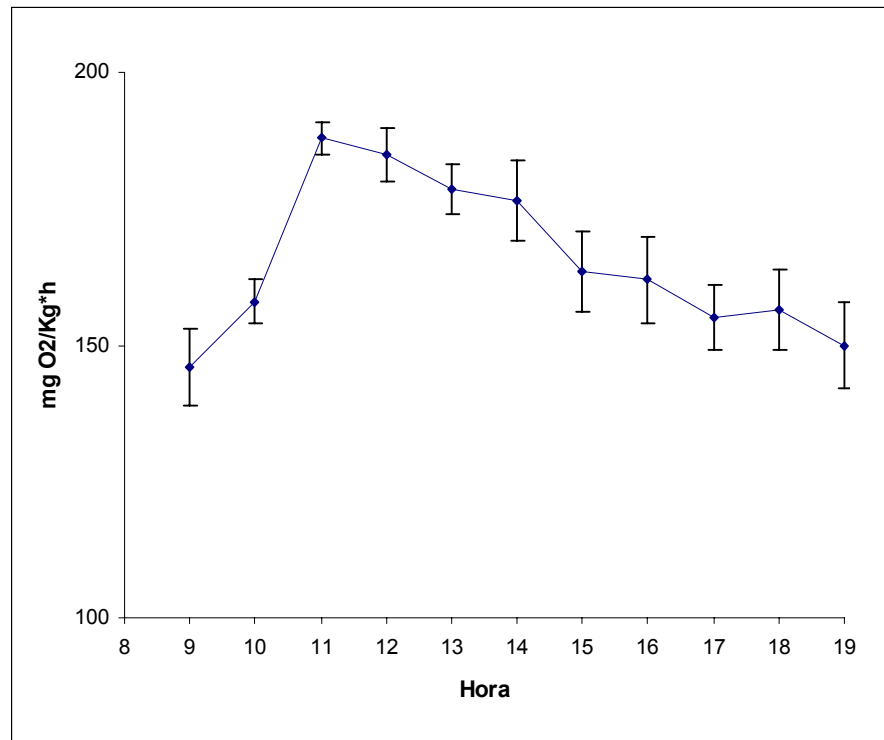


Figura 6. Efecto de la ingestión de alimento (calamar al 1% del peso húmedo / día) sobre el consumo de oxígeno ( $\text{mgO}_2/\text{kg}\cdot\text{h}$ ) en besugos de 500g de peso total. Hora de la ingesta 08:00.

Otro importante indicador del patrón de distribución de energía de los alimentos es el coeficiente de trabajo neto ( $\eta_{\text{neto}}$  = incremento en peso / SDA), que representa la cantidad de energía metabólica, más allá del requerimiento de rutina, depositada como tejido nuevo. El valor promedio de  $\eta_{\text{neto}}$  se ubicó en  $0,35 \text{ mg}/\mu\text{molO}_2$  o aproximadamente  $2,89 \mu\text{molO}_2/\text{mg}$  de peso húmedo o  $12,05 \mu\text{molO}_2/\text{mg}$  de peso seco (76% humedad)(Tabla IX). Asumiendo que las proteínas de un pez equivalen aproximadamente a la mitad del peso seco (Wieser y Medgyesy, 1991), este valor se convierte en  $24,11 \mu\text{molO}_2/\text{mg}$  de proteína y, que el peso molecular promedio de los residuos aminoácidos en las proteínas es de 110 (Wieser *et al.*, 1988), se transforma en  $2651,61 \mu\text{molO}_2/\text{mmol}$  en uniones peptídicas. Esto equivale a 3,2 veces el costo bioquímico aeróbico de síntesis peptídica de  $835 \mu\text{molO}_2/\text{mmol}$  (Adolph, 1983, citado por Wieser y Medgyesy, 1991).

Tabla IX. Componentes del presupuesto energético en diez grupos de besugos medidos en un respirómetro durante 10 h (09:00-19:00) y alimentados una vez al día con calamar al 1%/día. La duración total del engorde fue de 50 días a una temperatura de  $20\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Coeficiente de trabajo total ( $\eta_{\text{tot}}$ ): incremento en peso / metabolismo de rutina ( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ ). Coeficiente de trabajo neto ( $\eta_{\text{neto}}$ ): incremento en peso / acción dinámica específica (SDA)( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ ).

Peso medio inicial (g)	D.E.	Peso medio final (g)	D.E.	Incremento medio en peso (g)	SDA ( $\text{mgO}_2/50$ días)	$\eta_{\text{tot}}$ ( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ )	Metabolismo de rutina ( $\text{mgO}_2/50$ días)	$\eta_{\text{neto}}$ ( $\text{mg}/\mu\text{molO}_2$ )
521,35	100,79	530,48	99,86	9,13	8006,32	0,028	88056,13	0,038
593,18	86,74	656,60	75,30	63,42	9909,74	0,161	97416,34	0,213
493,27	70,94	635,30	80,35	142,03	9588,27	0,382	84321,81	0,493
518,52	107,91	682,48	83,59	163,96	10300,33	0,413	87681,83	0,530
521,35	100,79	570,93	104,64	49,58	8616,81	0,143	88056,13	0,192
513,52	73,94	635,20	85,37	121,68	9586,76	0,325	87019,00	0,423
576,83	55,42	676,67	55,32	99,83	10212,59	0,248	95308,61	0,326
628,70	101,89	826,88	53,86	198,18	12479,69	0,416	101952,05	0,529
514,70	100,25	635,78	103,05	121,08	9595,56	0,323	87175,90	0,420
516,93	96,99	596,08	93,59	79,15	8996,39	0,221	87471,79	0,293

Esto sugiere un cierto grado de flexibilidad de la inversión metabólica en el crecimiento, el cual es explotado por el pez si la distribución de la energía debe ajustarse a las necesidades biológicas o a las cambiantes condiciones ambientales.

### **Excreción**

La excreción de  $\text{NH}_4^+$  varió significativamente con el tratamiento ( $\text{FS}=84.85$ ;  $\text{P}<0,01$ ) y con el tiempo ( $\text{FS}=4.7$ ;  $\text{P}<0,025$ ). La producción de  $\text{NH}_4^+$  se incrementó marcadamente luego de la ingestión de alimento. Los valores de excreción en ayuno por 24 h (A-24), muestran un patrón de excreción similar al de post-absorción (PP), pero con valores muy inferiores (Fig. 7). El segundo pico no se manifestó a las 48 h de ayuno (A-48), manteniendo valores de excreción constantes.

Los resultados de las mediciones PP mostraron dos picos que sugieren una naturaleza bifásica de la excreción de amonio (Fig. 7). El tiempo de aparición del primer pico es similar a aquellos encontrados en otras especies de espáridos (Porter *et al.*, 1987). El tiempo requerido para la aparición y desaparición de este pico estaría determinado por el volumen de la ingesta, su composición proteica y de aminoácidos y la temperatura del agua (Jobling, 1994). Se observó que la excreción exógena fue mayor cuando se alimentó a los peces con alimento artificial rico en proteínas (Fig. 7), hecho observado en otras especies (Savitz, 1971; Forsberg y Summerfelt, 1992; Ballestrazzi *et al.*, 1994; Robiana *et al.*, 1999). La fuente principal de amonio es el catabolismo de los alimentos o de las proteínas estructurales (Wood, 1993). Cuando las proteínas se digieren, los aminoácidos que no se utilizan en la síntesis proteica son desaminados antes de que su esqueleto carbonado sea utilizado como sustrato energético (Lehninger, 1981). Bajo estas condiciones, la excreción de  $\text{NH}_3$  aumenta debido a que es el producto final de la desaminación oxidativa.

La presencia del primer pulso de excreción de  $\text{NH}_4^+$  luego de 24 y 48 h de ayuno podría explicarse suponiendo que existiese un ritmo biológico de excreción sincronizado con la hora de alimentación, de tal manera que se manifieste hasta por lo menos dos días después que el estímulo periódico exógeno haya desaparecido. Aunque no existe evidencia en peces, se han descrito en mamíferos dos tipos de oscilaciones: aquellas comandadas por los ciclos luz / oscuridad, con centros ubicados principalmente en los núcleos supraquiasmáticos del hipotálamo, y aquellos producidos por los estímulos de períodos de comida/ayuno posiblemente ubicados en los núcleos ventromediales del hipotálamo (Echevarría *et al.*, 1993).

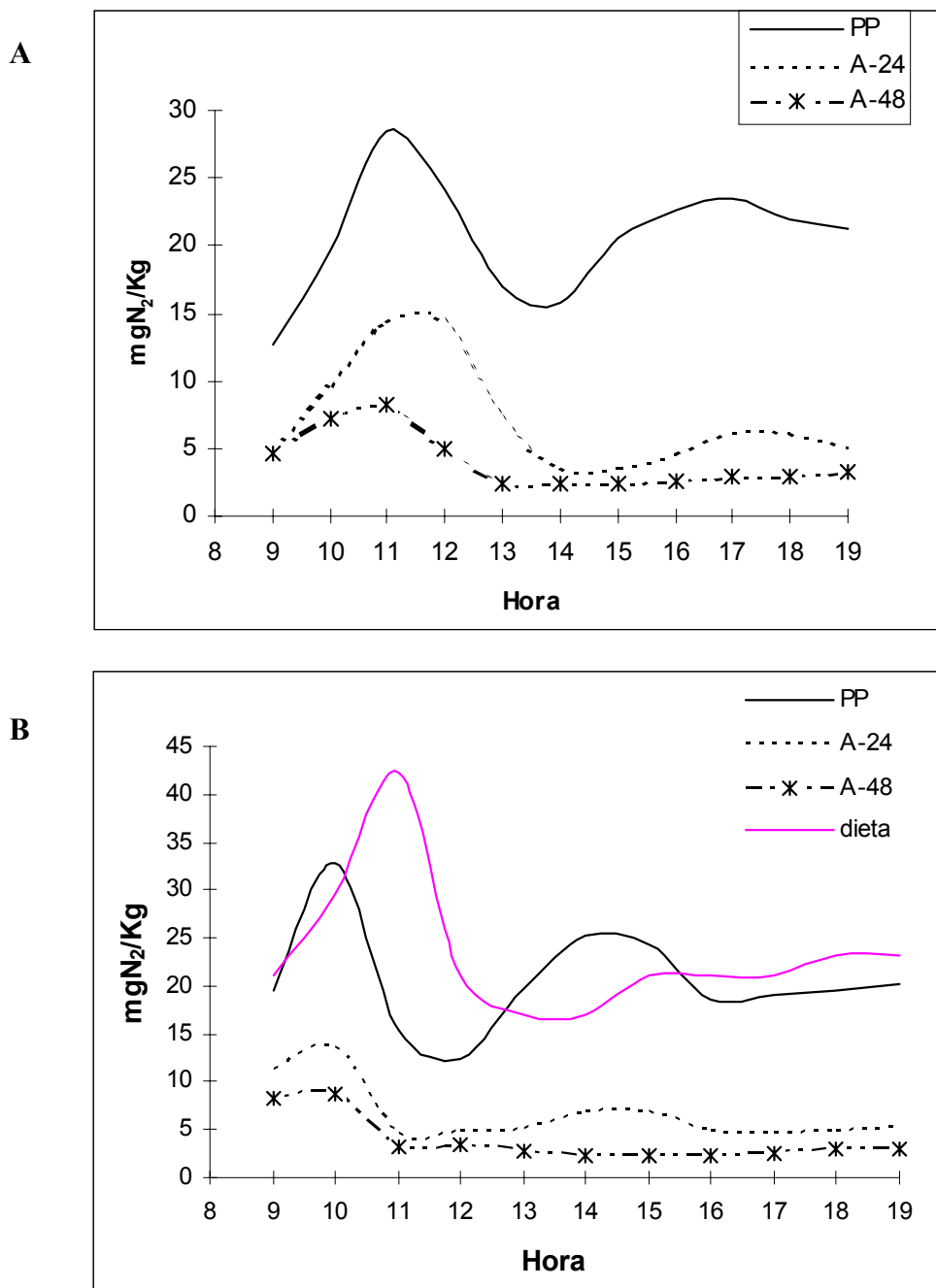


Figura 7. Influencia de la hora de la ingesta sobre la excreción de nitrógeno (N<sub>2</sub>) en ejemplares de besugo de A) 600-800g B) 200-400g. El alimento utilizado fue calamar y balanceado (dieta). La alimentación se realizó a las 08:00 h al 1% del peso húmedo del cuerpo. PP: post-absorción, A-24: ayuno por 24 h, A-48: ayuno por 48 h; dieta: alimento artificial.

Se cree que los ritmos de excreción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> están controlados por osciladores de éste último tipo: la alimentación de los peces a la misma hora cada día dispararía una señal anticipatoria del comportamiento. El besugo presenta un ritmo alimenticio circadiano a lo largo del año (Paspatis *et al*, 2000). Esto podría explicar por qué, aún en ausencia de alimento, la mayoría de los ritmos digestivos y metabólicos continúan oscilando igual que en las condiciones previas de

alimentación. El establecimiento real de las causas que inducen estas oscilaciones escapa a los objetivos del presente trabajo.

Si a los peces se les suministra alimento carente de proteínas ( $N_2$ ), siguen excretando algunos productos nitrogenados resultantes del catabolismo de las proteínas corporales. Así, se define la *excreción endógena* como los productos nitrogenados de excreción resultantes de la transaminación y desaminación de los aminoácidos provenientes de la ruptura de proteínas tisulares. Debido a que la gran mayoría de los aminoácidos liberados en este proceso son reutilizados para la síntesis de proteínas (normalmente más del 90%), la tasa de excreción endógena de  $N_2$  es muy baja. En la práctica, es extremadamente difícil hacer que los peces acepten una dieta carente de proteínas, por lo que normalmente se acostumbra a dejarlos en ayuno por varios días. El nivel de excreción endógena de  $N_2$  del besugo obtenido de esta manera, resultó ser de  $2,4 \pm 0,8 \text{ mgN}_2/\text{kg} \cdot \text{h}$ .

Por lo expuesto, se sugiere que el primer pulso de la excreción post-absorción (PP) tendría una doble componente, endógena-exógena (Echevarría *et al.*, 1993). El segundo pulso aparentemente depende de los procesos digestivos, es decir, del tiempo, ya que no está presente a las 48 h de ayuno (A-48, Fig. 7). A pesar de no existir un segundo pico en A-48, se comprueba la existencia de un mínimo de excreción endógena de  $N_2$ . Esta pérdida endógena ( $57,6 \text{ mgN}_2/\text{kg}/\text{día}$ ) sería un indicador del requerimiento proteico diario de estos peces.

La fracción indigerible de la dieta, junto con los restos de células epiteliales del intestino, mucus, enzimas digestivas y bacterias constituyen el componente principal de las heces. Smith y Thorpe (1976), incluyen también el  $N_2$  fecal metabólico excretado (5-17% del  $N_2$  fecal total). La cuantificación de la excreción de productos nitrogenados es importante, especialmente cuando consideramos que el  $NH_3$  es tóxico para los peces bajo condiciones de cultivo intensivo (Randall y Wright, 1987). La excreción nitrogenada es un indicador de los efectos de varios factores ambientales y nutricionales sobre el metabolismo y balance proteico (Jobling, 1981a). Una vez eliminado en el medio líquido, el  $NH_3$  se encuentra en equilibrio con el amonio ( $NH_4^+$ ), y su balance es función del pH del agua y de la temperatura (Trussell, 1972). Desde un punto de vista práctico, es importante determinar el patrón diario de excreción de amoníaco para establecer el régimen óptimo de alimentación en sistemas de cultivo.

La contribución relativa de los diferentes mecanismos de excreción branquial de  $N_2$  no se conoce con exactitud, pero se ha sugerido que la difusión de amoníaco puede llegar a un 60% o más de la excreción. Aproximadamente un 20% de la excreción puede realizarse mediante intercambio iónico, y el restante 80% se llevaría a cabo por la difusión pasiva de  $NH_4^+$  a través de las membranas biológicas de las células branquiales (Jobling, 1994).

La producción de  $NH_4^+$  también está afectada por otros factores, entre los cuales se encuentran la biomasa (Guerin-Ancey, 1976), la tasa de alimentación y los niveles proteicos (Lied y Braaten, 1984). La cantidad de lípidos presentes en el alimento es importante, especialmente en peces carnívoros. Si la dieta es deficiente en lípidos, una mayor proporción de las proteínas del mismo se metabolizan para producir energía o se desaminan para convertirse en grasas o carbohidratos, se excreta más amonio y disminuye el porcentaje de  $N_2$  retenido para el crecimiento (Atherton y Aitken, 1970). La fracción proteica del alimento normalmente se digiere y se absorbe eficientemente, pero si la cantidad de aminoácidos absorbidos está en exceso para una utilización inmediata, serán desaminados y oxidados en el ciclo de Krebs, o el esqueleto carbonado se utilizará para la síntesis de productos de almacenamiento (Wood, 1993). Esto ocurre en muchos tejidos, incluyendo músculo, branquias y riñones, pero la mayor actividad enzimática se da en el hígado. Los grupos amino resultantes se excretarán en lo que se conoce como *fracción exógena de la excreción nitrogenada*, debido a que el  $N_2$  eliminado proviene directamente de la desaminación de los aminoácidos absorbidos desde el alimento. Ya que la excreción exógena se la considera el resultado de la desaminación directa de los aminoácidos existentes en los alimentos ingeridos, este componente exógeno de la excreción nitrogenada estará influenciado por factores tales como la tasa de alimentación, el contenido proteico del alimento y la composición de aminoácidos de la dieta en relación a los niveles de aminoácidos esenciales y no esenciales.

## CONCLUSIONES

La tasa de alimentación y la tasa de conversión de alimento se incrementaron con el aumento de la frecuencia alimenticia hasta un valor máximo, luego del cual, el aumento de la frecuencia alimenticia redujo los valores significativamente.

De acuerdo a los resultados, el óptimo trófico para la utilización del alimento en besugo se alcanzó con una comida diaria, la cual rindió las mayores tasas de alimentación y conversión.

A niveles de ración mayores que la tasa máxima, la eficiencia de conversión fue baja. Aunque se consumió más alimento, el crecimiento de los peces a raciones de alimento mayores no se incrementó notablemente, comparado con aquel a nivel de la ración óptima.

Esta especie presentó una baja tasa de crecimiento evidenciada en los bajos valores de eficiencia.

Se sugiere que el primer pulso de la excreción post-absorción de  $\text{NH}_4^+$  tendría una doble componente endógena-exógena. El segundo pulso aparentemente dependería de los procesos digestivos.

La distribución de la energía metabólica entre el crecimiento, la actividad y el mantenimiento se basaría en una estrategia flexible de respuesta a las condiciones internas y externas para asegurar que la energía satisfaga las demandas prioritarias.

**HACIA UNA ESTIMACION DEL  
BALANCE ENERGETICO DEL  
BESUGO**



## HACIA UNA ESTIMACION DEL BALANCE ENERGETICO DEL BESUGO

### INTRODUCCION

El estudio de la Bioenergética conlleva el examen de las ganancias, pérdidas y transformaciones energéticas que resultan en la partición de la energía procedente de la ingesta entre los principales componentes fisiológicos de la ecuación. En su forma más simple, ésta puede presentarse como la ecuación (4.2):

$$E(A) = E(O) + E(G)$$

donde E(A) es la energía liberada de los alimentos ingeridos, E(O) representa las pérdidas de energía y E(G) es la energía retenida como producción o crecimiento. La ecuación normalmente se expande a su forma más general (ecuación 1.4):

$$A = F + U + M + G$$

De la energía obtenida desde el alimento (A), parte se pierde como heces (F) y parte se utiliza para proveer de energía a una variedad de funciones corporales o metabólicas (M). El metabolismo tiene como resultado la producción de dióxido de carbono, agua, calor, y en algunos casos, productos intermedios parcialmente oxidados, los cuales representan otra fuente de pérdida de energía (U). Si la masa corporal debe mantenerse constante, el ingreso de energía desde el exterior (alimento) debe ser igual a los requerimientos de mantenimiento y actividad. Cuando la energía externa supera estas necesidades, se produce crecimiento o almacenamiento de energía (G). Si por el contrario, el ingreso de energía es insuficiente para cubrir los requerimientos energéticos, las reservas corporales serán metabolizadas y el pez perderá peso. El metabolismo (M) puede dividirse en costos metabólicos relativos al mantenimiento de las funciones corporales básicas, metabolismo relacionado a la actividad, y metabolismo referido a las funciones digestivas, absorción y procesamiento del alimento. La energía retenida como crecimiento (G) suele subdividirse en crecimiento somático (Gs) y aquella dirigida a la formación de gametos (Gr).

No existe debate en el hecho de que los organismos gastan energía para vivir y reproducirse. Cualquier característica que reduzca los requerimientos de energía por unidad de biomasa debe considerarse evolutivamente ventajosa en el sentido de que una mayor proporción de la energía disponible puede dirigirse hacia, por ejemplo, producir mayor descendencia (Townsend y Calow, 1981).

El objetivo de este Capítulo fue estimar en forma preliminar el balance energético en larvas, juveniles y adultos de besugo, para conocer la estrategia de utilización de la energía en estas etapas del desarrollo.

## **MATERIALES Y METODOS**

La estimación del porcentaje de cada componente bioenergético se realizó utilizando y transformando los datos obtenidos en los capítulos anteriores.

Los valores energéticos correspondientes a larvas se estimaron hasta el día 3 (TDE, 18°C), periodo durante el cual el alimento provino exclusivamente del saco vitelino. El crecimiento larval expresado en energía se calculó como el producto del incremento en peso por su valor calórico (Capítulo III, Tabla II). El factor de conversión oxicalórico necesario para transformar el consumo de oxígeno larval (Capítulo III, Fig. 16) en energía, fue de 13,84 J/mgO<sub>2</sub> (Guinea y Fernandez, 1997). La energía de combustión del amonio empleada fue de 68,9 kcal/mol (Kleiber, 1961).

Para los besugos juveniles y adultos, se utilizó la regresión de consumo de alimento del Capítulo IV (ecuación 4.3). El consumo de oxígeno se calculó en base a la regresión 4.5 (Capítulo IV). El nivel de excreción se obtuvo a partir de los datos graficados en la Figura 7 del Capítulo IV. La producción de heces se calculó mediante la ecuación 4.4 (Capítulo IV).

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

La excreción nitrogenada representó una pequeña porción de la energía perdida por las larvas de besugo (Fig. 1A), mientras que la inversión energética en crecimiento ( $75,1 \pm 2,4$  mJ/día) superó al gasto metabólico ( $53,7 \pm 3,2$  mJ/día)(Tabla I).

El vitelo absorbido (Va) por la larva en alimentación endógena provee el material necesario para la formación de nuevo tejido (G) y energía para el metabolismo (M). Excepto en acipencéridos, no se producen heces en larvas previamente al inicio de la alimentación exógena (Kamler, 1992), sólo se excretan metabolitos (U):

$$Va = G + M + U = D$$

(5.2)

donde D es la energía digerible (Brett y Groves, 1979). La energía digerible para larvas de besugo de entre 0-3 días (TDE), se estimó en  $129,5 \pm 5,19$  mJ/día (Tabla I). Debemos asumir en este método que tanto el valor calórico del vitelo como la gravedad específica del mismo se mantienen constantes durante el período de alimentación endógena. Existe bibliografía apoyando este supuesto (Lasker, 1962; Smith, 1957) y contrastandolo (Loewe y Eckmann, 1988).

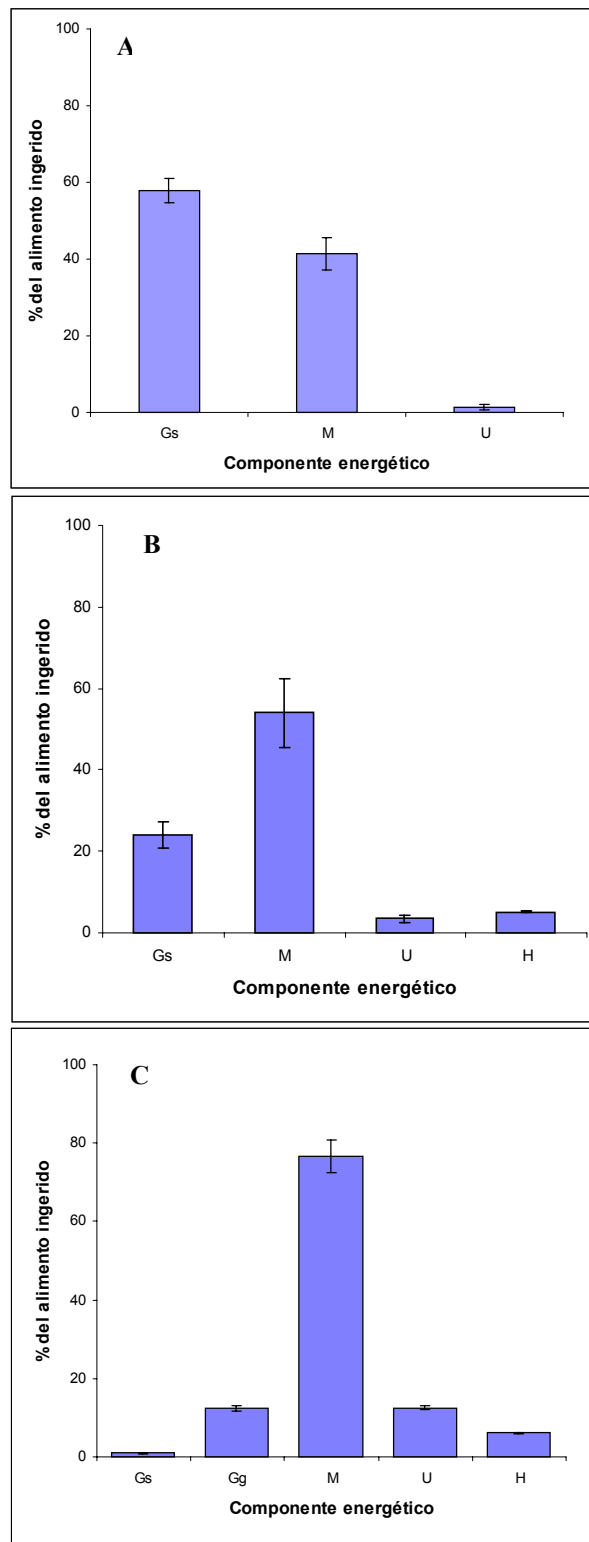


Figura 1. Componentes energéticos expresados como: A) porcentaje diario del vitelo absorbido (Va) en larvas de besugo de entre 0 y 3 días (TDE, 18°C). B) porcentaje diario de la energía del alimento ingerido en besugos juveniles (45-100g). C) porcentaje anual de la energía del alimento ingerido en hembras adultas de besugo (758,4±30,1g). Gg= crecimiento somático; Gg= crecimiento gonadal; M= metabolismo de rutina; U= excreción; H= heces. Las barras verticales indican el desvío estándar.

Tabla I. Componentes energéticos y eficiencias (%) en larvas vitelinas de entre 0-3 días (TDE), juveniles (45-100g) y hembras adultas (758,4±30,1g) de besugo. Juveniles y adultos alimentados con calamar. A= alimento consumido; Gs= crecimiento somático; Gg= crecimiento gonadal; M= metabolismo; H= heces; U= excreción; EM= energía metabolizable (G+M); EA= eficiencia de absorción (A-U)/A; M/A= proporción de la energía utilizada en el metabolismo

Componente energético	ADULTOS		JUVENILES		LARVAS	
	KJ/año	SD	KJ/día	SD	mJ/día	SD
<b>A</b>	44,6	0,8	22,3	1,2	129,5	5,9
<b>Gs</b>	0,4	0,1	5,3	0,7	75,1	2,4
<b>Gg</b>	5,1	0,3	-	-	-	-
<b>M</b>	31,5	1,7	12,1	1,8	53,7	3,2
<b>H</b>	5,1	0,2	0,3	0,2	-	-
<b>U</b>	2,5	0,1	0,8	0,2	1,8	0,5
<b>EM</b>	37,0	1,8	17,4	1,9	128,8	5,5
<b>Eficiencias (%)</b>						
<b>EM</b>	83,0	5,6	78,0	11,4	99,4	4,3
<b>EA</b>	94,4	0,3	97,4	0,1	99,4	0,3
<b>M/A</b>	70,6	3,3	54,3	3,4	41,4	2,5

El crecimiento somático representó una parte muy pequeña del presupuesto de los peces adultos, superando el 20% en peces juveniles (Fig. 1). El crecimiento del tejido gonadal (Gg) mostró ser un componente importante a lo largo del año (12,3%), con una marcada estacionalidad (Capítulo II).

Tanto en los peces juveniles como en los adultos la energía metabolizable (EM) se aproximó al 80% (Tabla I), valor tomado como referencia para peces carnívoros (Winberg, 1956; Jobling, 1994). En el caso de las larvas, la EM fue casi del 100%, producto de la falta de un intestino funcional.

La eficiencia de absorción (EA) fue muy alta en todos los ejemplares estudiados y se incrementó progresivamente desde adultos hasta larvas (Tabla I). En los adultos, la mayor parte de esta energía se utilizó en el metabolismo, mientras que en larvas y juveniles una mayor parte se destinó al crecimiento somático (Fig. 1).

La mayor parte de la energía de los alimentos en juveniles y adultos (Fig. 1B y C) se invirtió en el metabolismo (M). A medida que el pez creció, el porcentaje de la energía del alimento dedicada al metabolismo (M/A) se incrementó (Tabla I), pero calculado por unidad de peso del cuerpo, hemos visto previamente que para juveniles y adultos la relación entre el metabolismo peso-específico y la masa corporal es inversamente proporcional (Capítulos III y IV).

La excreción se incrementó a medida que el tamaño del pez fue en aumento (Fig. 1), ya que mayores cantidades de proteínas ingeridas producen más desechos nitrogenados.

En algunos estudios, uno de los componente del presupuesto energético se estima indirectamente mediante la ecuación 1.4 (Capítulo I), mientras que el resto se obtiene en forma independiente (Staples y Nomura, 1976; Elliot, 1975; Xie y Sun, 1993). Este componente estimado en forma indirecta, incluirá todos los errores de las estimaciones del resto de los componentes energéticos. Pocos estudios en peces establecen en forma independiente todos los parámetros necesarios para la evaluación, y la mayoría fallan en obtener un buen balance. Por ejemplo, el presupuesto energético de diez grupos experimentales en *Perca fluviatilis* (Solomon y Brafield, 1972), resultó en pérdidas de energía de entre 84,1-248,8% de la energía ingerida. Los errores en el presupuesto energético de *Crenimugil labrosus* (Flowerdew y Grove, 1980), se encontraron entre -35 – 47% de la energía consumida (las pérdidas de energía fueron 65 – 147% de la energía del alimento). Diana (1983), estudió el presupuesto energético de *Esox lucius* y encontró que los errores promedio entre las raciones estimadas a campo y aquellas predichas por el modelo, fueron entre el 30 y el 160%. Xie y Sun (1993), tuvieron errores en los componentes estimados independientemente del orden del 85,3-150,5% de la energía ingerida.

Este desequilibrio en los presupuestos energéticos se puede deber a varias causas. La cantidad de alimento ingerido puede estar subestimada a campo si el tipo de muestreo hace que los peces regurgiten alimento, reduciendo el peso promedio de los contenidos estomacales. Las estimaciones del consumo de alimento en laboratorio pueden contener errores relacionados con la dificultad para determinar los restos de alimento no ingerido en los tanques de prueba (Diana, 1983). Otras fuentes de errores se refieren a problemas metodológicos, tales como la recolección de heces y la estimación de las tasas metabólicas (Healey, 1972; Minton y Mclean, 1982; Henken *et al.*, 1986).

## CONCLUSIONES

A pesar de que el calamar no es un ítem normal en la dieta del besugo, los ensayos de alimentación realizados en esta tesis permitieron establecer el destino de la energía proveniente de la dieta utilizando calamar como alimento.

La estrategia de utilización de las reservas de energía endógena en los tres primeros días de vida de la larva, muestra claramente la prioridad asignada a la organogénesis, la cual debe preparar a los individuos para el inicio de la alimentación exógena.

A medida que los peces crecen, el almacenamiento de energía como nuevo tejido (crecimiento) va disminuyendo para darle prioridad al crecimiento gonadal y al metabolismo. Es normalmente aceptado que la prioridad de los organismos adultos es perpetuar la especie, por lo que el incremento de la energía almacenada en las gónadas (Gg) en los peces capaces de reproducirse, estaría mostrando esa estrategia evolutiva. Sin embargo, parecería que la reproducción agrega un esfuerzo extra a las actividades metabólicas de mantenimiento (M), incrementando su costo con la edad, y sustrayendo de esta manera más energía de los alimentos.

# **CONCLUSIONES GENERALES**

## CONCLUSIONES GENERALES

1. La luz y la temperatura fueron los desencadenantes del proceso de maduración gonadal en el tanque de reproductores. Durante diciembre y enero el pico reproductivo en el tanque se produjo alrededor de las 4 PM. La puesta estuvo precedida y acompañada por un comportamiento característico de persecución.
2. A pesar de mantenerse las mismas condiciones constantes en el tanque de reproductores a lo largo de varios meses, la tasa de eclosión de los huevos y la sobrevivencia larval sufrieron variaciones entre las distintas camadas, probablemente debido a factores nutricionales de los reproductores en cautiverio.
3. La tasa de eclosión y la tasa de sobrevivencia larval (SAI) no son buenos indicadores de calidad de huevos y larvas por sí solos debido a las amplias variaciones encontradas en sus valores y a que son especie-específicos. Por ello, es recomendable prestar atención exclusivamente a sus tendencias para los mismos períodos a lo largo de los años, y así poder determinar variaciones y estimar valores precisos para cada especie.
4. El diámetro de los huevos varió a lo largo de la temporada reproductiva, indicando posiblemente el desove de hembras de diferentes tamaños.
5. La inversión energética anual en el crecimiento reproductivo no estaría reflejada completamente por el índice gonadosomático en peces, ya que, además de los costos involucrados en el desarrollo de las gametas, existen costos energéticos adicionales asociados con la migración desde áreas de alimentación hacia áreas de reproducción, defensa del sitio de puesta, cortejo y expulsión de gametas, entre otros.
6. Durante el verano (principalmente diciembre y enero), las hembras de besugo poseen tanto ovocitos en estado final de vitelogénesis, como otros en procesos iniciales de maduración. Esto evidencia que el vitelo continuamente se produce en los ovarios durante varios meses del año y que la dieta juega un papel importante en las hembras desovantes por su potencial efecto en la calidad de huevos y larvas.
7. El contenido de energía de los ovarios muestreados se incrementó significativamente a partir de junio, como preparación al período de desoves de la primavera tardía y verano.

8. La estimación del esfuerzo reproductivo reveló que aproximadamente la misma proporción de la energía de los alimentos fue dirigida a los ovarios entre marzo y junio, mostrando a las hembras de besugo menos comprometidas energéticamente con la reproducción durante el otoño e invierno.
9. La estrategia de distribución de la energía en el besugo puede caracterizarse por una convergencia de reservas corporales y desarrollo gonadal a través del año en conjunción con pulsos estacionales de productividad del ecosistema.
10. Las larvas de besugo recién eclosionadas son más pequeñas que las de otros espáridos, como la dorada (*Sparus aurata*) y *Dicentrarchus labrax*. El patrón de crecimiento de tres fases observado en larvas de besugo mostró tasas de crecimiento mucho más bajas que las de las especies previamente mencionadas.
11. Se considera a la eclosión como un evento crítico, donde se conjugan cambios morfológicos y fisiológico.
12. El pasaje de la alimentación endógena a exógena marca otro importante momento en la vida larval, en el cual se detectan cambios en la composición del cuerpo como consecuencia de la transformación del vitelo en tejido larval o energía.
13. El estadio de 3 y 4 días (TDE; 20°C y 18°C, respectivamente) parece indicar el momento clave de desaparición del vitelo y la aparición de alimento externo en el tracto digestivo.
14. Los lípidos derivados de la gota oleosa son el combustible aeróbico dominante para las larvas de besugo a partir del día 1 (TDE).
15. Durante el estadio vitelino, las larvas convierten preferentemente compuestos ricos en carbono, principalmente lípidos, y sólo cuando las reservas de vitelo se acaban, lípidos y proteínas se consumen o incorporan a una tasa similar.
16. El estadio de 5-6 días (TDE) también tiene consecuencias importantes en las larvas en desarrollo, observándose cambios en el metabolismo, en el peso seco y la frecuencia cardiaca, coincidiendo este momento con el comienzo del inflado de la vejiga natatoria.
17. El consumo de oxígeno en larvas de besugo mostró un cambio isométrico en relación al peso, por lo que la tasa de consumo se considera prácticamente independiente del tamaño del cuerpo en este estadio del desarrollo. La disminución de la tasa metabólica peso-

especifica con el aumento del peso del cuerpo no sería un fenómeno generalizado en el reino animal.

18. El patrón de crecimiento observado en las larvas de besugo estaría reflejando los complejos procesos metabólicos de diferenciación interna y morfogénesis externa que ocurren durante este período. La inversión energética inicial se destina principalmente al desarrollo de los órganos más esenciales para las funciones primarias, dejando para estadios posteriores el desarrollo de órganos de menor prioridad para la sobrevivencia.
19. La tasa de alimentación y la tasa de conversión de alimento se incrementaron con el aumento de la frecuencia alimenticia. La mayor frecuencia alimenticia no produjo las tasas máximas de alimentación ni crecimiento.
20. El óptimo trófico para la utilización del alimento en besugo se alcanzó con una comida diaria, la cual rindió las mayores tasas de alimentación y conversión.
21. A niveles de ración mayores que la tasa máxima, la eficiencia de conversión fue baja. Aunque se consumió más alimento, el crecimiento de los peces a raciones de alimento mayores no se incrementó notablemente, comparado con aquel a nivel de la ración óptima.
22. La utilización del alimento mostró el comportamiento característico observado en otras especies de peces. La relación entre la tasa de crecimiento y el nivel de ración se aproxima a una asíntota cuando los tamaños de ración son altos. Consecuentemente, las eficiencias de crecimiento fueron máximas a niveles de alimentación intermedios (óptimas). Las mayores raciones no fueron eficientemente aprovechadas debido a los mayores gastos involucrados en su procesamiento (SDA, nivel metabólico).
23. Se sugiere que el primer pulso de la excreción post-absorción de amonio tendría una doble componente endógena-exógena. El segundo pulso aparentemente depende de los procesos digestivos, es decir, del tiempo.
24. Las observaciones realizadas en diferentes estadios del desarrollo del besugo, muestran patrones de utilización y almacenamiento de energía propios del pez en respuesta a las condiciones ambientales.
25. La distribución de la energía metabólica entre el crecimiento, la actividad y el mantenimiento se basaría en una estrategia flexible de respuesta a las condiciones internas y externas para asegurar que la energía satisfaga las demandas prioritarias.

26. La estrategia de utilización de las reservas de energía endógena en los tres primeros días de vida de la larva, muestra claramente la prioridad asignada a la organogénesis, la cual debe preparar a los individuos para el inicio de la alimentación exógena.
27. A medida que los peces crecen, el almacenamiento de energía como nuevo tejido (crecimiento) va disminuyendo para darle prioridad al crecimiento gonadal y al metabolismo.

### **Presupuesto energético como indicador de cambios ambientales**

Los peces son animales ectotermos cuyos requerimientos energéticos metabólicos son mucho más bajos que los correspondientes a vertebrados endotermos de igual tamaño. En los teleósteos marinos, esta energía es suministrada principalmente por las proteínas y los lípidos como sustratos respiratorios, ya que estas especies tienen una capacidad limitada para utilizar los carbohidratos. También existen requerimientos nutricionales de ácidos grasos y aminoácidos, necesarios para la sobrevivencia larval y el correcto desarrollo.

Las pruebas llevadas a cabo en el laboratorio del INIDEP acerca del efecto de la temperatura y la salinidad sobre la alimentación y el crecimiento de juveniles de besugo, mostraron que estos individuos tienen un amplio rango de resistencia a estas variables, adaptándose a estos desafíos del ambiente acuático con una variedad de cambios fisiológicos y de comportamiento observados. A medida que nos alejamos de las condiciones “normales” de su hábitat natural, los peces experimentan un estrés que se verá reflejado en algún parámetro bioenergético, como por ejemplo, crecimiento o consumo de oxígeno, los cuales nos da un indicio de la manera en que la energía de los alimentos está siendo utilizada. La ecuación de balance energético y los modelos derivados de ella están siendo cada vez más utilizados como herramientas en las ciencias pesqueras y en la acuicultura. La exactitud y confiabilidad de tales modelos dependerá tanto de los métodos utilizados para su estimación como de su precisión. La mayoría de esta información bioenergética proviene de ensayos en laboratorio. Son muy escasos los datos energéticos de peces en su ambiente natural, pero recientemente la telemetría ha posibilitado a los investigadores obtener patrones de actividad de los peces en sus hábitats.

Las observaciones realizadas en diferentes estadios del desarrollo del besugo, muestran patrones de utilización y almacenamiento de energía propios del pez en respuesta a las condiciones ambientales. ¿Cuán sensibles son los componentes del presupuesto energético para responder a los cambios ambientales?. Por encima de un determinado umbral, el cambio ambiental invariablemente afectará el flujo y distribución de la energía metabólica, por lo que el análisis de los presupuestos energéticos provee información acerca de cuán estresante puede ser para una población una condición ambiental determinada. Por ejemplo, en el límite de

distribución de una especie, la inversión extra en reparación de tejidos o en otro mecanismo puede incrementar la sobrevivencia pero decrecerán los recursos disponibles para el crecimiento y la reproducción (Wieser y Medgysey, 1991).

Como en todos los fenómenos biológicos, existen factores internos y externos que actúan sobre el metabolismo. Los factores internos son, por su propia naturaleza, extremadamente diversos. Por ejemplo, el metabolismo está influenciado, no solo por hormonas y sustancias transmisoras, sino también por agentes estresantes y por el estado fisiológico general del animal (Lucas, 1996). Entre los factores externos podemos citar: el alimento, la temperatura, la concentración de oxígeno y la salinidad. Un aspecto central de esta energética ecológica es si un cambio ambiental dado simplemente altera la tasa de la función biológica o si afecta la partición de la energía metabólica de una manera más fundamental. Para distinguir entre estas dos posibilidades, no solo a nivel de tasas individuales sino también a nivel de patrones de almacenamiento de energía, se necesitarán realizar estudios encuadrados dentro de la situación ecológica del organismo.

Uno de los indicadores más sensibles del ajuste de un organismo, y también de calidad ambiental, es la tasa de crecimiento (Calow y Townsend, 1981). Los estudios de crecimiento han producido un gran cuerpo de datos sobre las relaciones ambientales de los peces (Brett, 1979; Brett y Groves, 1979). Sin embargo, cuando ocurre un cambio en las condiciones ambientales que lleve, por ejemplo, a una reducción en la tasa de crecimiento, no es posible decidir si se debe al factor ambiental en cuestión que controla las tasas de los procesos de producción, o si el factor impone una carga metabólica adicional que absorbe energía que de otro modo se habría invertido en el crecimiento (Wieser y Medgysey, 1991). Esta es la distinción que hace Fry (1971) sobre los factores controladores y los factores enmascaradores. Decidir entre ambas alternativas requiere detalladas investigaciones sobre los costos metabólicos de las funciones biológicas (Soofiani y Hawkins, 1982; Koch y Wieser, 1983; Forstner y Wieser, 1990).

Se considera que la hipótesis planteada es válida porque:

- La utilización del alimento en peces juveniles se volcó totalmente a satisfacer las demandas metabólicas y de crecimiento, mientras que las hembras adultas desovantes mostraron además un patrón de almacenamiento de energía gonadal acorde a la época del año. La estrategia de distribución de la energía en el besugo puede caracterizarse por una convergencia de reservas corporales y desarrollo gonadal a través del año en conjunción con pulsos estacionales de productividad del ecosistema.
- Las larvas de besugo utilizaron una combinación de aminoácidos libres y lípidos internos durante la etapa de organogénesis hasta el inicio de la alimentación exógena. La velocidad del desarrollo y la tasa de utilización

de estas reservas están íntimamente ligadas a la temperatura del agua y a la actividad metabólica. Existe un período crítico en el cual concuerdan el agotamiento de las reservas endógenas y el inicio de la alimentación exógena.

- La temperatura tiene un importante rol en las diferentes secuencias de desarrollo de los caracteres morfológicos, y por lo tanto, de los patrones de comportamiento de la especie. Por ejemplo:
  - La tasa metabólica peso-específica larval evidenció dos fases totalmente diferentes cuyo punto de inflexión coincidió con la transición de la respiración cutánea a la respiración branquial. El metabolismo de rutina en los primeros días de vida estuvo sujeto a la velocidad de desarrollo y fue independiente de la masa corporal. Existen procesos complejos durante la ontogenia del pez que producen diferentes tasas metabólicas.
- La alta tasa de crecimiento larval requiere altas tasas de consumo de oxígeno, y por lo tanto, el crecimiento competiría con la actividad por el suministro de oxígeno. La consecuencia de esto sería la existencia de un balance altamente dinámico entre el metabolismo de rutina, el metabolismo activo y el crecimiento en larvas de peces cuando se enfrentan a las necesidades de: a) crecer rápido para evitar la depredación; b) capturar alimento activamente para maximizar el consumo de presas, y c) mantener los procesos fisiológicos y bioquímicos.

Se propone la utilización de las características energéticas de los peces adultos como un indicador del balance entre mantenimiento y reproducción, en respuesta a las condiciones ambientales durante un periodo estacional y/o a lo largo de la vida del pez.

La elaboración de un modelo bioenergético para el besugo, aplicable a las poblaciones del sector bonaerense, requerirá de una mayor cantidad de datos experimentales y de campo, como por ejemplo, el consumo de oxígeno a distintas velocidades de natación, un mejor conocimiento de la dieta y cantidad de alimento ingerido en la naturaleza, así como estudios sobre ecología y fisiología en los distintos estadios del desarrollo. Este trabajo es el primer paso hacia la elaboración de un modelo que complementará los estudios biológico-pesqueros de esta especie.

# **BIBLIOGRAFIA**



## BIBLIOGRAFIA

Adams, S.M., R.B. McLean and J.A. Parrotta. 1982. Energy partitioning in largemouth bass under conditions of seasonally fluctuating prey availability. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 111: 549-558

Adams, S.M. and J.E. Breck. 1990. Bioenergetics. En: *Methods for fish biology*. C.B. Schreck and D.B. Moyle (eds.), American Fisheries Society, Bethesda, Meryland, USA, pp. 389-415

Aksnes, A., B. Gjerde and S.O. Rodd. 1986. Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 53: 7-20

Antonacopoulos, N. 1968. Entwurf zum: FAO-Geberalstandard CODEX Fish Al Anlage 3. Analysenmethoden, pp. 11-12

Aristizabal Abud, E.O., Muller, M., Bambil, G., López, A., Sabatini, M., Costagliola, M., Incorvaia, S., Vega, A., Carrizo, J.C. y E. Manca. 1997. Producción de alimento vivo y cría de besugo. Período 1995-1996. *Inf. Téc. Int. INIDEP N°83*, 92 pp.

Arnold, C.R. 1988. Controlled year-round spawning of red drum, *Sciaenops ocellatus* in captivity. *Contr.Mar.Sci.*, 30: 65-70

Atherton, W.D. and A. Aitken. 1970. Growth, nitrogen metabolism and fat metabolism in *Salmo gairdneri*, Rich. *Comp.Biochem.Physiol.*, 36: 719-723

Balon, E. 1984. Reflections on some decisive events in the early life history of fishes. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 113: 178-185

Ballestrazzi, R., D. Lanari, E. D'Agaro and A. Mion. 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture* 127: 197-206

Beachman, T.D. and C.B. Murray. 1985. Effect of female size, egg size and water temperature on chum salmon (*Oncorhynchus keta*) from the Nitinat River, British Columbia. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 42: 1755-1765

Beamish, F.W.H. 1964. Influence of starvation on standard and routine oxygen consumption. *Trans.Am.Fish.Soc.* 93: 103-107

Beamish, F.W.H. and E.A. Trippel. 1990. Heat increment: a static or dynamic dimension in bioenergetic models?. *Trans.Am.Fish.Soc.* 119: 649-661

Bevelhimer, M.S. 2002. A bioenergetic model for white *sturgeon Acipenser transmontanus*: assessing differences in growth and reproduction among Snake River reaches. *J.Appl.Ichthyol.*, 18: 550-556

Bevelhimer, M.S., R.A. Stein and R.F. Carline. 1985. Assessing significance of physiological differences among three esocids with a bioenergetics model. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 42: 57-69

Bianchi, G. 1984. Study on the morphology of five mediterranean and atlantic sparid fishes with a reinstatement of the genus *Pagrus* Cuvier, 1817. *Cybum* 8(4): 31-56

Blaxter, J.H.S. and G. Hempel. 1996. Utilization of the yolk by herring larvae. *J.Mar.Biol.Assoc.UK*, 46: 219-234

Blaxter, J.H.S. 1988. Patterns and variety in development. En: Hoar, W.S. and D.J. Randall (eds.), *Fish Physiology* vol. XIA. Academic Press, NY, pp. 1-58

Boisclair, D. and W.C. Leggett. 1989. The importance of activity in bioenergetics models of actively foraging fishes. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 46: 1859-1867

Borgmann, V. and D.M. Whittle. 1992. Bioenergetics and PCB, DDE, and mercury dynamics in Lake Ontario lake trout (*Salvelinus namaycush*): a model based on surveillance data. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 49: 1086-1096

Brandt, S.B. and K.J. Hartman. 1993. Innovative approaches with bioenergetics models: future applications to fish ecology and management. *Trans. Am. Fish. Soc.* 122(5): 731-735

Brandt, S.B. and J. Kirsch. 1993. Spatial explicit models of striped bass growth potential in Chesapeake Bay. *Trans.Am.Fish.Soc.* 122: 845-869

Brett, J.R. 1971. Satiation time, appetite and maximum food intake of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 28: 409-415

Brett, J.R. 1979. Environmental factors and growth. En: *Fish Physiology*, Vol. III. W.S. Hoar, D.J. Randall and J.R. Brett (eds.). Academic Press, Londres, pp. 599-675

Brett, J.R., J.E. Shelbourne and C.T. Sloop. 1969. Growth rate and body composition of fingerling sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, in relation to temperature and ration size. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 26: 2363-2369

Brett, J.R. and T.D.D. Groves, 1979. Physiological Energetics. En: Fish Physiology, Vol.8, Hoar, W.S., D.J. Randall and J.R. Brett (eds.). Academic Press Inc., pp. 279-252

Bromage, N. 1995. Broodstock management and seed quality. General considerations. En: Bromage, N.R. and R.J. Roberts (eds.), Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science, London, pp.1-24.

Bromage, N.R., J. Jones, C. Randall, M. Thrush, B. Davis, J. Springate, J. Duston and G. Barker. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 100: 141-166

Bromage, N.R., M. Bruce, N. Basavaraja and K. Rana. 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*. J.World Aquaculture Soc., 25: 13-21

Brooks, S., C.R. Tyler and J.P. Sumpter. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg?. Rev.Fish Biol.Fish., 7: 387-416

Brown, M.E. 1957. The Physiology of Fishes. Brown, M.E. (ed.), Vol. I, Academic Press Inc., NY, 446 pp.

Buckley, L.J. and D.W. Dillmann. 1982. Nitrogen utilization of larval summer flounder, *Paralichthys dentatus* (Linnaeus). J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 59: 243-256

Bulow, F.J., C.B. Coburn and C.S. Cobb. 1978. Comparison of two bluegill populations by means of the RNA-DNA ratio and liver-somatic index. Trans.Am.Fish.Soc. 107: 799-803

Burton, M.P. and D.R. Idler. 1987. An experimental investigation of the non-reproductive, post-mature state in winter flounder. J.Fish Biol., 30: 643-650

Calow, P. 1979. The cost of reproduction. A physiological approach. Biol. Rev., 54: 23-40

Calow, P. and C.R. Townsend. 1981. Resource utilization in growth. En: Townsend, C.R. and Calow P. (eds.), Physiological Ecology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 220-244

Cameron, J.N. and N. Heisler. 1983. Studies of ammonia in the rainbow trout: physico-chemical parameters, acid-base behaviour, and respiratory clearance. J.Exp.Biol., 105: 107-112

Carline, R.F. and J.D. Hall. 1973. Evaluation of a method for estimating food consumption rates of fishes. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 30: 623-639

Carrillo, M., N. Bromage, S. Zannuy, R. Serrano and F. Prat. 1989. The effects of modifications in photoperiod on spawning time, ovarian development and egg quality in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 81: 351-365

Caulton, M.S. 1978. The importance of habitat temperatures for growth in the tropical cichlid *Tilapia rendalli* Boulenger. *J.Fish Biol.*, 13: 99-112

Cech, J.J. 1990. Respirometry. En: *Methods for fish biology*. C.B. Schreck and P.B. Moyle (eds). American Fisheries Society, USA, pp. 335-356

Cetta, C.M. and J.M. Capuzzo. 1982. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar.Biol.*, 71: 327-337

Cho, C.Y., S.J. Slinger and H.S. Bamey. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: Energy intake, expenditure and productivity. *Comp. Biochem. Physiol.* 73B(1): 25-41

Ciechomski, J.D. de y G. Weiss. 1973. Desove y desarrollo embrionario y larval del besugo, *Pagrus pagrus* (Linne) en el Mar Argentino (Pisces, Sparidae). *Physis, Secc.A, Vol.32(85)*: 481-487

Ciechomski, J.D. de y M.C. Cassia. 1974. Reproducción y fecundidad del besugo *Pagrus pagrus* (Linne) en el Mar Argentino (Pisces, Sparidae). *Physis, Secc.A, 33(87)*: 443-452

Conides, A.J. and B. Glamuzina. 2001. Study on the early larval development and growth of the red porgy, *Pagrus pagrus* with emphasis on the mass mortalities observed during this phase. *Sci.Mar.*, 65(3): 193-200

Cotrina, C. 1989. Estudio biológico del besugo (*Pagrus pagrus*) del Ecosistema Costero Bonaerense. Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires, 161 pp.

Cotrina, C. y M.B. Cousseau. 1977. Informe sobre el muestreo bioestadístico de desembarque de pescado en el puerto de Mar del Plata. Período enero de 1972-diciembre de 1974. *Contr.Nº330, IBM*, 34 pp.

- Cotrina, C.P. y H.E. Christiansen. 1994. El comportamiento reproductivo del besugo (*Pagrus pagrus*) en el ecosistema costero bonaerense. *Rev.Invest. Des.Pesq.*, 9: 25-58
- Cotrina, C.P. y M.C. Raimondo. 1997. Estudio de edad y crecimiento del besugo (*Pagrus pagrus*) del sector costero bonaerense. *Rev.Invest.Des.Pesq.*, 11: 95-118
- Cowey, B. C. and M.J. Walton. 1989. Intermediary Metabolism. En: Halver, J.E. (ed.) *Fish Nutrition*. Academic Press, pp. 259-329
- Dabrowski, K. and S.J. Kaushik. 1984. Rearing of coregonid (*Coregonus schizipalea* Cuv. Et Val.) larvae using dry and live food. II. Oxygen consumption and nitrogen excretion. *Aquaculture*, 41: 333-344
- Dave, G., M.-L. Johansson-Sjoberg, A. Larsson, K. Lewander and U. Lidman. 1975. Metabolic and haematological effects of starvation in the European eel, *Anguilla anguilla* L.-I. Carbohydrate, lipid, protein and inorganic ion metabolism. *Comp.Biochem.Physiol.*, 52A: 423-430.
- Davenport, J. 1983. Oxygen and the developing eggs and larvae of the lumpfish, *Cyclopterus lumpus*. *J.Mar.Biol.Assoc.U.K.*, 63: 633-640
- Davenport, J. and S. Lönning. 1980. Oxygen uptake in developing eggs and larvae of the cod, *Gadus morhua* L. *J.Fish Biol.*, 16: 249-256
- DeAngelis, D.L., B.J. Shuter, M.S. Ridgway and M. Scheffer. 1993. Modeling growth and survival in the age-0 fish cohort. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 122: 927-941
- DeSilva, C.D., S. Premawansa and C.N. Keembiyahetty. 1986. Oxygen consumption in *Oreochromis niloticus* (L.) in relation to developmental, salinity, temperature and time of day. *J.Fish Biol.*, 29: 267-277
- Devauchelle, N., J.C. Alexandre, N. Le Corre and Y. Letty. 1987. Spawning of the sole (*Solea solea*) in captivity. *Aquaculture* 66: 125-147
- Diana, J.S. 1983. An energy budget for northern pike (*Esox lucius*). *Can.J.Zool.*, 61: 1968-1975

Divanach, P., M. Kentouri, G. Charalambakis, F. Pouget and A. Steriotti. 1993. Comparison of growth performance of six Mediterranean fish species reared under intensive farming conditions in Crete (Greece) in raceways with the use of self feeders. En: Barnabe, G and P. Kestemont (eds.). Production, Environment and Quality. Bordeaux Aquaculture'92. European Aquaculture Society, Special Publication N°18, Ghent, Belgium, pp. 285-297

Doroskev, S.I., J.W. Cornacchia and K. Hogan 1981. Initial swim bladder inflation in the larvae of physoclistous fishes and its importance for larval culture. Rapp. P.-V.Reun.. -Cons. Int.Explor. Mer., 178: 495-500

Dygert, P.H. 1990. Seasonal changes in energy content and proximate composition associated with somatic growth and reproduction in a representative age-class of female English sole. Trans.Am.Fish.Soc., 119: 791-801

Echevarría, G., N. Zarauz, J. López-Ruiz and S. Zamora. 1993. Study of nitrogen excretion in the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): influence of nutritional state. Comp. Biochem. Physiol. 105A: 17-19

Eda, H., R. Murashige, Y. Oozeki, A. Hagiwara, B. Eastham, P. Bass, C.S. Tamaru and C. -S. Lee. 1990. Factors affecting intensive larval rearing of striped mullet, *Mugil cephalus*. Aquaculture, 91: 281-293

Ehrlich, K.F. and G. Muszynski. 1982. Effect of temperature on interactions of physiological and behavioural capacities of larval California grunion: adaptations to the planktonic environment. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 60: 223-244

Eldridge, M.B., J.A. Whipple and M.J. Bowers. 1982. Bioenergetics and growth of striped bass *Morone saxatilis*, embryo and larvae. Fish.Bull., 80: 461-474

El-Fiky, N. and W. Wieser. 1988. Life styles and patterns of development of gill and muscles in larval cyprinids (Cyprinidae:Teleostei). J.Fish Biol., 33: 135-145

Elliot, J.M. 1975. The energetics of feeding, metabolism and growth of brown trout (*Salmo trutta* L.) in relation to body weight, water temperature and ration size. J.Animal Ecology, 45: 923-948

El-Rayis, O. 1985. Re-assessment of the titration method for determination of organic carbon in recent sediments. Rapp. Comm. Int. Mer Médit., 29(7): 45-47

- Flath, L.E. and J.S. Diana. 1985. Seasonal energy dynamics of the alewife in southeastern Lake Michigan. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 114: 328-337
- Flowerdew, M.W. and D.J. Grove. 1980. An energy budget for juvenile thicklip mullet, *Crenimugil labrosus* (Risso). *J. Fish Biol.*, 17: 395-410
- Forsberg, J.A. and R.C. Summerfelt. 1992. Ammonia excretion by fingerling walleyes fed two formulated diets. *Prog.Fish.-Cult.*, 54: 45-48
- Forstner, H. and W. Wieser. 1990. Patterns of routine swimming and metabolic rate in juvenile cyprinids at three temperatures: analysis with a respirometer-activity-monitoring system. *J.Comp.Biochem.Physiol.*, 160: 71-76
- Forstner, H., S. Hinterleitner, K. Mähr and W. Weiser. 1983. Towards a better definition of "metamorphosis" in *Coregonus sp.*: Biochemical, histological, and physiological data. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 40: 1224-1232
- Fry, F.E. 1971. The effect of environmental factors on the physiology of fish. En: Hoar W.S. & Randall D.H. (eds.), *Fish Physiology*, Vol 6, Academic Press, New York, pp. 1-99
- Fuiman, L.A. 1983. Growth gradients in fish larvae. *J.Fish Biol.*, 23: 117-123
- Fujii, M. and Y. Yone. 1976. Studies on nutrition of red sea bream- XI. Effect of dietary linolenic acid w3 polyunsaturated fatty acids on growth and feed efficiency. *Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.*, 42: 583-588.
- Fukuhara, O. 1990. Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish larvae. *Mar.Biol.*, 106: 169-174
- Fyhn, H.J. 1989. First feeding of marine fish larvae. Are free amino acids the source of energy?. *Aquaculture*, 88: 111-120
- Gaudette, H.E., Flight, W.R., Toner, L. and W. Folger. 1974. An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *J. Sedimentary Petrology*, 44(1): 249-253
- Gerking, S.D. 1978. Ecology of freshwater fish production. Gerking, S.D. (ed.), Blackwell Scientific Publications, London, 520 pp.
- Gerking, S.D. 1994. Feeding ecology of fishes. Academic Press, London, 420 pp.

Glamuzina, B. and J. Jug-Dujakovic. 1989. Preliminary studies on reproduction and larval rearing of common dentex, *Dentex dentex* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 77: 75-84

Glass, N.R. 1969. Discussion of calculation of power function with special reference to respiratory metabolism in fish. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 26: 2643-2650

Gnaiger, E. and G. Bitterlich. 1984. Proximate biochemical composition and caloric content calculated from elemental CHN analysis: a stoichiometric concept. *Oecologia*, 62: 289-298

González, V.M. 1983. Estudio bioquímico y características biológicas del besugo *Pagrus pagrus* (Linné 1758). Tesis de grado, Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, 81 pp.

Govoni, J.J., D.S. Peters and J.V. Merriner. 1982. Carbon assimilation during the larval development of marine teleost *Leiostomus xanthurus* (Lacepede). *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, 3: 1-17

Goyke, A.P. and S.B. Brandt. 1993. Spatial models of salmonine growth rates in Lake Ontario. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 122: 870-883

Guerin-Ancey, O. 1976. Etude experimentale de l'excretion azotee du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance. I. Effets de la temperature et du poids du corp sur l'excretion d'ammoniac et d'uree. *Aquaculture*, 9: 71-80

Guinea, J. and F. Fernandez. 1997. Effect of feeding frequency, feeding level and temperature on energy metabolism in *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 148: 125-142

Healey, M.C. 1972. Bioenergetics of sand goby (*Gobius minutus*) population. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 29: 187-194.

Halver, J.E. 1989. *Fish Nutrition*. Academic Press, London.

Hamor, T. and E.T. Garside. 1973. Peroxisome-like vesicles and oxidative activity in the zona radiata and yolk of the ovum of the atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Comp.Biochem.Physiol.*, 45B: 147-151

Hardy, R.W. 1989. Diet preparation. En: Halver, J.E. (ed.) *Fish Nutrition*. Academic Press, pp. 476-549

Hartman, K.J. and F.J. Margraf. 1992. Effects of prey and predator abundance on prey consumption and growth of walleye in western Lake Erie. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 121: 245-260

Heming, T.A. and R.K Buddington. 1988. Yolk absorption in embryonic and larval fishes. In: Hoar, W.S. and D.J. Randall (eds.), *The physiology of developing fish. Fish Physiology*, vol XI, Academic Press, San Diego, pp. 407-446

Henken, A.M.; H. Lucas, P.A.T. Tijssen and M.A.M. Michiels. 1986. A comparison between methods used to determine the energy content of feed, fish and faeces samples. *Aquaculture*, 58: 195-201

Hepher, B., I.C. Liao, S.H. Cheng and C.S. Hsieh. 1983. Food utilization by red tilapia. Effect of diet composition, feeding level and temperature on utilization efficiencies for maintenance and growth. *Aquaculture*, 32: 255-275

Hislop, J.R.G., A.P. Robb and J.A. Gaud. 1978. Observations on effects of feeding level on growth and reproduction in haddock *Melanogrammus aeglefinus* (L.) in captivity. *J.Fish Biol.*, 13: 85-98

Holeton, G.F. 1973. Respiration of the arctic charr (*Salvelinus alpinus*) from a high arctic lake. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 30: 717-723

Houde, E.D. and R.C. Schekter. 1983. Oxygen uptake and comparative energetics among eggs and larvae of three subtropical marine fishes. *Mar.Biol.*, 72: 283-293

Houde, E.D. and R.C. Schekter. 1983. Oxygen uptake and comparative energetics among eggs and larvae of their subtropical marine fishes. *Mar.Biol.*, 72: 283-293

Hughes, G.M. and N.K. Al-Kadhomy. 1988. Changes in scaling of respiratory systems during the development of fishes. *J.Mar.Biol.Assoc.U.K.*, 68: 489-498

Hunt von Herbing, I., R.G. Boutilier, T. Miyake and B.K. Hall. 1996. Effects of temperature on morphological landmarks critical to growth and survival in larval Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Mar.Biol.*, 124(4): 593-606

Hunter, J.R. and R. Leong. 1981. The spawning energetics of female northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish.Bull.*, 79: 215-230.

Hunter, J.R. and C.A. Kimbrell. 1983. Early life history of pacific mackerel, *Scomber japonicus*. *Fish.Bull.*, 78: 89-101

Imabayashi, H. and M. Takahashi. 1987. Oxygen consumption of postlarval and juvenile red sea bream, *Pagrus major*, with special reference to group effect. J.Fac.Appl.Biol.Sci., Hiroshima University, 26: 15-21

Ikenoue, H. and T. Kafuku. 1992. Modern methods of aquaculture in Japan. Developments in Aquaculture and Fisheries Sciences 24. En: Ikenoue, H. and T. Kafuku (eds.), Elsevier, Tokyo-Amsterdam, 272 pp.

JICA/ITP, 1982. Métodos químicos de análisis, pp 3-11

Jobling, M. 1981a. Some effects of temperature, feeding, and body weight on nitrogen excretion in young plaice, *Pleuronectes platessa* L. J. Fish Biol., 18: 87-96

Jobling, M. 1981b. The influence of feeding on the metabolic rate of fish: a short review. J.Fish Biol., 18: 385-400

Jobling, M. 1982. Food and growth relationships of the cod, *Gadus morhua* L., with special reference to Balsfjorden, north Norway. J.Fish Biol., 21: 357-372

Jobling, M. 1983a. Influence of body weight and temperature on growth rates of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). J.Fish Biol., 22: 471-475

Jobling, M. 1983b. Towards an explanation of specific dynamic action (SDA). J.Fish Biol., 23: 549-555

Jobling, M. 1994. Fish Bioenergetics. Fish and Fisheries Series 13. Chapman and Hall, London, 309 pp.

Jobling, M. 1995. Environmental biology of fishes. Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series 16, 455 pp.

Jorgensen, L. 1985. Carbon and nitrogen utilization in developing eggs and larvae of cod (*Gadus morhua*, L) and variation among different parents. Fish.Res., 3: 337-342

Jug-Dujakovic, J. and B. Glamuzina. 1988. Preliminary studies of reproduction and early life history of *Diplodus vulgaris* (E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1817) in captivity. Aquaculture, 69: 367-377

Kakuta, I., K. Namba, K. Uematsu, M. Takaba and S. Murachi. 1992. Changes in urine properties of cultured red seabream exposed to diluted seawater. Nippon Suisan Gakkaishi, 58(8): 1465-1469

Kamler, E. 1992. Early life history of fish. Chapman & Hall, London, 183 pp.

Kamler, E., M. Szlaminska, M. Kuczynski, J. Hamackova, J. Kouril and R. Dabrowski. 1994. Temperature-induced changes of early development and yolk utilization in the African catfish *Clarias gariepinus*. J.Fish Biol., 44: 311-326

Kanazawa, A., S.-I. Teshima and K. Ono. 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. Comp.Biochem.Physiol., 63B: 295-298.

Kaufmann, R. 1990. Respiratory costs of swimming in larval and juvenile cyprinids. J.Exp.Biol., 150: 343-366

Kelso, J.R.M. 1973. Seasonal energy change in walleye and their diet in west blue lake, Manitoba. Trans.Am.Fish.Soc., 102: 363-368.

Kentouri, M., M. Pavlidis, N. Papandroulakis and P. Divanach. 1995. Culture of the red porgy, *Pagrus pagrus*, in Crete. Present knowledge, problems and perspectives. Cah.Options Mediterr., 16: 65-78

Kerr, C.E. 1982. Estimating the energy budgets of actively predatory fishes. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 39: 371-379

Kissil, G. and I. Lupatsch. 1989. Growth of gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) on n-3 and n-6 rich lipids and their abilities to elongate and desaturate linoleic (18:2n-6) and linolenic (18:3n-3) acids. Presentado en el III International Symposium of Feeding and Nutrition in Fish, Toba, Japón, 28 de Agosto al 1 de Septiembre.

Kitajima, C. 1978. Acquisition of fertilized eggs and mass-culture of juveniles of red seabream, *Pagrus major*. Spec.Rep.Nagasaki Pref. Inst.Fish., 5, 92 pp. (In Japanese with English abstract)

Kitchell, J.F., D.J. Stewart and D. Weininger. 1977. Applications of a bioenergetics model to yellow perch (*Perca flavescens*) and walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*). J.Fish.Res.Bd.Can., 34: 1922-1935

Kitchell, J.F. and J.E. Breck. 1980. Bioenergetics model and foraging hypothesis for sea lamprey (*Petromyzon marinus*). Can.J.Fish.Aquat.Sci., 37: 2159-2168

Kjesbu, O.S., J. Klungsoeyr, H. Kryvi, P.R. Witthames and M. Greer Walker. 1991. Fecundity, atresia, and egg size of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to proximate body composition. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 48: 2333-2343

Kjesbu, O.S., P. Solemdal, P. Bratland and M. Fonn. 1996. Variation in annual egg production in individual captive Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 53: 610-620

Kjorsvik, E., A. Mangorjensen and I. Holmefjord. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology*, 26: 71-113

Kjorsvik, E. and A.L. Reiersen. 1992. Histomorphology of the early yolk-sac larvae of the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.), an indication of the timing of functionality. *J.Fish Biol.*, 41: 1-19

Klaoudatos, S., N. Tsevis and A. Conides. 1990. Energy sources during early larval development of the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L). *Aquaculture*, 87: 361-372

Kleiber, M. 1961. *The fire of life, an introduction to animal energetics.* John Wiley and Sons, Inc., New York.

Klumpp, D.W. and H. Westernhagen. 1986. Nitrogen balance in marine fish larvae: influence of developmental stage and prey density. *Mar.Biol.*, 93: 189-199

Koch, F. and W. Wieser. 1983. Partitioning of energy in fish: can reduction of swimming activity compensate for the cost of production?. *J.Exp.Biol.*, 107: 141-146

Kohler, C.C., R.J. Sheehan, C. Habicht, J.A. Malison and T.B. Kayes. 1994. Habituation to captivity and controlled spawning of white bass. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 123:964-974

Kohno, H., R. Ordonio-Aguilar, A. Ohno and Y. Taki. 1997. Why is grouper larval rearing difficult?. An approach from the development of the feeding apparatus in early stage larvae of the grouper, *Epinephelus coioides*. *Ichthyol.Res.*, 44: 267-274

Kolios, P., S. Kiritsis and N. Katribusas. 1997. Larval rearing and grow-out of the red porgy (*Pagrus pagrus*) in the Riopesca hatchery (Greece). *Hydrobiologia*, 358: 321-325

LaBar, G.W. 1993. Use of bioenergetic models to predict the effect in increased lake trout predation on rainbow trout smelt following sea lamprey control. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 122: 942-950

Lam, T.J. 1983. Environmental influences on gonadal activity in fish. En: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (eds.). *Fish Physiology*, Vol. IXB, Academic Press, NY, pp. 81-154

Lambert, Y. and J.-D. Dutil. 1977. Condition and energy reserves of Atlantic cod (*Gadus morhua*) during the collapse of the northern Gulf of St. Lawrence stock. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 54: 2388-2400

Lambert, Y. and J.J. Dodson. 1990. Freshwater migration as a determinant factor in the somatic cost of reproduction of two anadromous coregonines of James Bay. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 47: 318-334

Lambert, Y. and J.-D. Dutil. 2000. Energetic consequences of reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in relation to spawning level of somatic energy reserves. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 57(4): 815-825

Lasker, R. 1962. Efficiency and rate of yolk utilization by developing embryos and larvae of the Pacific sardine *Sardinops caerulea* (Girard). *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 19: 867-875

Laurence, G.C. 1973. Influence of temperature on energy utilization of embryonic and prolarval tautog, *Tautoga onitis*. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 30: 435-442

Laurence, G.C. 1977. A bioenergetic model for the analysis of feeding and survival potential of flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, larvae during the period from hatching to metamorphosis. *Fish.Bull.*, 75: 529-546

LeGrow, S.M. and F.W.H. Beamish. 1986. Influence of dietary protein and lipid on apparent heat increment of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 43: 19-25

Lehninger, A.L. 1981. *Bioquímica*. Segunda Edición. Ediciones Omega S.A., Barcelona, 1117 pp.

Lewander, K., G. Dave, M.-L. Johansson, A. Larsson and U. Lidman. 1974. Metabolic and haematological studies on the yellow and silver phases of the European eel, *Anguilla anguilla* L.-I. Carbohydrate, lipid, protein and inorganic ion metabolism. *Comp.Biochem.Physiol.*, 47B: 571-581.

Lied, E. and B. Braaten. 1984. The effect of feeding and starving, and different ratios of protein energy to total energy in the feed on the excretion of ammonia in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 78A: 49-52

Loewe, H. and R. Eckmann. 1988. The ontogeny of the alimentary tract on coregonid larvae: normal development. *J.Fish Biol.*, 33: 841-850

Lucas, A. 1996. *Bioenergetics of aquatic animals*. Tylor & Francis Publishers, UK. 169 pp.

Lucas, M.C., I.G. Priede, J.D. Armstrong, A.N.Z. Gindy and L. DeVera. 1991. Direct measurement of metabolism, activity and feeding behaviour of pike, *Esox lucius* L., in the wild by the use of heart rate telemetry. *J.Fish Biol.*, 39: 325-345

Lucas, M.C., A.D.F. Johnstone and I.G. Priede. 1993. Use of physiological telemetry as a method of estimating metabolism of fish in the natural environment. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 122: 822-833.

Lyndon, A.R., D.F. Houlihan and S.J. Hall. 1992. The effect of short-term fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod, *Gadus morhua*. *Comp.Biochem.Physiol.*, 162: 209-215

Machinandiarena, L., M. Muller, A. López, E. Aristizabal Abud y G. Bambill. 2000. Desarrollo de los estadios iniciales del besugo (*Pagrus pagrus*) en cautiverio, en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Inf.Téc.Int. INIDEP Nro.30*, 16 pp.

MacKinnon, J.C. 1972. Summer storage of energy and its use for winter metabolism and gonad maturation in American plaice (*Hippoglossoides platessoides*). *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 29: 1749-1759

Madon, S.P. and D.A. Culver. 1993. Bioenergetics model for larval and juvenile walleye: an *in situ* approach with experimental ponds. *Trans.Am.Fish.Soc.*, 122(5): 797-813

Majkowski, J. and K.G. Waiwood. 1981. A procedure for evaluating the food biomass consumed by a fish population. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 38: 1199-1208

Mandunjian, C.P. 1991. Limits to growth of young-of-the-year walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*): an individual-based model perspective. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 48: 1492-1499

Mangor-Jensen, A. 1987. Water balance in developing eggs of the cod *Gadus morhua* L. *Fish.Physiol.Biochem.*, 3: 17-24

Manooch, C.S. 1976. Reproductive cycle, fecundity and sex ratios of the red porgy, *Pagrus pagrus* (Pisces:Sparidae) in North Carolina. *Fish.Bull.*, 74(4): 775-782

Marais, J.F.K. and T. Erasmus. 1977. Body composition of *Mugil cephalus*, *Liza dumerili*, *Liza richardsoni* and *Liza triscuspiciens* (Teleostei : Mugilidae) caught in the Swartkops Stuary. *Aquaculture*, 10: 75-86.

- Mason, D.M. and E.V. Patrick. 1993. A model for the space-time dependence of feeding for pelagic fish populations. *Trans. Am.Fish.Soc.*, 122: 884-901
- Matsuoka, M. 1987. Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in red sea bream. *Bull.Seikai Reg.Fish.Res.Lab.*, 65: 1-114
- May, R.C. 1971. Effects of delayed initial feeding on larvae of the grunion, *Leuresthes tenuis*. *Fish.Bull.*, 69: 411-425
- May, R.C. 1974. Effects of temperature and salinity on yolk utilization in *Bairdiella icistia* (Jordan & Gilbert)(Pisces:Sciaenidae). *J.Exp.Mar.Biol.Ecol.*, 16: 213-225
- McEveroy, L. -A., 1984. Ovulatory rhythms and over-ripening of eggs in cultivated turbot, *Scophthalmus maximus* L. *J.Fish Biol.*, 24: 437-448
- Medford, B.A. and W.C. MacKay. 1978. Protein and lipid content of gonad, liver, and muscle of northern pike (*Esox lucius*) in relation to gonad growth. *J. Fish.Res.Bd.Can.*, 35: 213-219.
- Mihelakakis, A., T. Yoshimatsu and C. Tsoikas. 2001. Spawning in captivity and early life history of cultured red porgy, *Pagrus pagrus*. *Aquaculture*, 199: 333-352
- Minton, J.W. and R.B. Mclean. 1982. Measurements of growth and consumption of sauger (*Stizostedion canadense*): implication for fish energetics studies. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 39: 1396-1403.
- Moteki, M., T. Ishikawa, N. Teraoka and H. Fushimi. 2001. Transition from endogenous to exogenous nutritional sources in larval sea bream, *Pagrus major*. *Suisanzoshoku*, 49: 323-328
- Moteki, M. 2002. Morphological aspects of feeding and improvement in feeding ability in the early larval stages of red sea bream *Pagrus major*. *Fish.Sci.*, 68: 996-1003
- Mourente, G. and J.M. Odriozola. 1990. Effect of broodstock diet on total lipid and fatty acid composition of larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) during yolksac stage. *Fish Physiol.Biochem.*, 8: 103-110
- Nakagawa, H., H. Imabayashi, H. Kurokura and S. Kasahara. 1991. Changes in body constituents of young red sea bream, *Pagrus major*, in reference to survival during experimental stocking. *Biochemistry Systematics and Ecology*, 19(2): 105-110

Ney, J.J. 1990. Trophic economics in fisheries: assessment of demand-supply relationships between predators and prey. *Rev.Aquat.Sci.*, 2: 55-81

Ney, J.J. 1993. Bioenergetics modeling today: growing pains of the cutting edge. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 122(5): 736-748

Nielsen, J.J. y E.M. Escribano. 1997. Valores alimenticios entre especies marinas análogas. CCI, publicación oficial de la Red de Cooperación Latinoamericana de Control de Calidad e Inspección de Productos Pesqueros, 7: 11-18

Niimi, A.J. and F.W. Beamish. 1974. Bioenergetics and growth of large mouth bass (*Micropterus salmoides*) in relation to body weight and temperature. *Can.J.Zoo.*, 52: 447-454

Nikolsky, G.V. 1963. *The Ecology of Fishes*. Academic Press Inc., NY, 352 pp.

Norberg, B., V. Valkner, J. Huse, I. Karlsen and G.L. Grung. 1991. Ovulatory rhythms and egg viability in the Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, 97: 367-371

Norstrom, R.J., A.E. McKinnon and A.W. DeFreitas. 1976. A bioenergetics-based model for pollutant accumulation by fish. Simulations of PCB and methylmercury residue levels in Ottawa River yellow perch (*Perca flavescens*). *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 33: 248-267

Ng, T.B. and D.R. Idler. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. En: W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson (eds.), *Fish Physiology*, Vol. IXA. Reproduction. Academic Press, NY, pp. 373-404

Oikawa, S. and Y. Itazawa. 1992. Comparison of oxygen consumption of larval and juvenile carp determined by three different methods. *Fish.Sci.*, 61: 487-490

Oikawa, S., Y. Itazawa and M. Gotoh. 1991. Ontogenetic changes in the relationship between metabolic rate and body mass in a sea bream *Pagrus major* (Temminck & Schlegel). *J.Fish Biol.*, 38(4): 483-496

Osse, J.W.M. and J.G.M. van den Boogaart. 1995. Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. *ICES Mar.Sci.Symp.*, 201: 21-34

Oswald, R.L. 1978. The use of telemetry to study light synchronization with feeding and gill ventilation rates in *Salmo trutta*. *J.Fish Biol.*, 13: 729-739

- Overnell, J. 1997. Temperature and efficiency of development during endogenous feeding in herring embryos and yolk-sac larvae. *J.Fish Biol.*, 50: 358-365
- Paloheimo, J.E. and L.M. Dickie. 1965. Food and growth of fishes. II. Effects of food and temperature on the relation between metabolism and body weight. *J.Fish.Res.Bd.Can.*, 23(6): 869-908
- Pálsson, J.O., M. Jobling and E.H. Jorgensen. 1992. Temporal changes in daily food intake of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L., of different sizes monitored by radiography. *Aquaculture*, 106: 51-61
- Pascual, E. and M. Yúfera. 1993. Energy content and chemical composition of gilthead seabream, *Sparus aurata* L., eggs. *Aquaculture and Fisheries Management*, 24: 423-429
- Paspatis, M., D. Maragoudaki and M. Kentouri. 2000. Self-feeding activity in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), red porgy (*Pagrus pagrus*) and their reciprocal hybrids. *Aquaculture*, 190: 389-401.
- Paul, A.J., J.M. Paul and R.L. Smith. 1993. The seasonal changes in somatic energy content of gulf of Alaska yellowfin sole, *Pleuronectes asper*. *J.Fish Biol.*, 43: 131-138.
- Pedersen, B.H. and K. Hjelmeland. 1988. Fate of trypsin and assimilation efficiency in larval herring (*Clupea harengus*) following digestion of copepods. *Mar.Biol.*, 97: 467-476
- Pedersen, T. and T. Falk-Petersen. 1992. Morphology changes during metamorphosis in cod (*Gadus morhua* L.) with particular reference to the development of the stomach and pyloric caeca. *J.Fish Biol.*, 41: 449-461
- Polo, A., M. Yúfera and E. Pascual. 1991. Effects of temperature on egg and larval development of *Sparus aurata* L. *Aquaculture*, 92: 367-375
- Polo, A., M. Yúfera and E. Pascual. 1992. Feeding and growth of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae in relation to size of the rotifer strain used as food. *Aquaculture*, 103: 45-54
- Porter, C.B., M.D. Krom, M.G. Robbins, L. Brickell and A. Davidson. 1987. Ammonia excretion and total N budget for gilthead seabream (*Sparus aurata*) and its effect on water quality conditions. *Aquaculture*, 66: 287-297
- Post, J.R. and J.A. Lee. 1996. Metabolic ontogeny of teleost fishes. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 53: 910-923

Potthoff, T. 1984. Clearing and staining techniques. In: Ontogeny and systematics of fishes. Am.Soc.Ichtyol.Herpet., Spec.Publ. N° 1, pp. 35-37

Potts, W.T.W. and P.P. Rudy. 1969. Water balance in eggs of the Atlantic salmon, *Salmo salar*. J.Exp.Biol., 50: 223-237

Priede, I.G. and A.H. Young. 1977. The ultrasonic telemetry of cardiac rhythms of wild brown trout (*Salmo trutta* L.) as an indicator of bioenergetics behaviour. J.Fish Biol., 10: 299-318

Puckett, K.J. and L.M. Dill. 1984. Cost of sustained and burst swimming of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Can.J.Fish.Aquat.Sci., 41: 1546-1551

Radín, E. y E.O. Aristizabal Abud. 2001. Proyecto Besugo: Fisiología de peces. Inf. Téc. Interno INIDEP N° 84, pp. 8

Rajasilta, M. 1992. Relationship between food, fat, sexual maturation, and spawning time of baltic herring (*Clupea harengus membras*) in the Archipiélago Sea. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 49: 644-654.

Randall, D.J. and P.A. Wright. 1987. Ammonia distribution and excretion in fish. Fish Physiol. Biochem., 3: 107-120

Rice, J.A. 1990. Bioenergetics modeling approaches to evaluation of stress in fishes. En: Biological indicators of stress in fish. S.M. Adams (ed.). Am.Fish.Soc.Symp., 8: 80-92

Rice, J.A. and P.A. Cochran. 1984. Independent evaluation of a bioenergetic model for largemouth bass. Ecology, 65: 732-739

Ricker, W.E. 1979. Growth rates and models. In: W.S. Hoar and D.J. Randall (eds.), Fish Physiology: Bioenergetics and Growth, vol VIII, Academic Press, NY, pp. 677-743

Robiana, L., G. Corraze, P. Aguirre, D. Blanc, J.P. Melcion and S. Kaushik. 1999. Digestibility, postprandial ammonia excretion and selected plasma metabolites in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed pelleted or extruded diets with or without wheat gluten. Aquaculture, 179: 45-56.

- Roff, D.A. 1982. Reproductive strategies in flatfish: a first synthesis. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 39: 1686-1698.
- Roff, D.A. 1983. An allocation model of growth and reproduction in fish. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 40(9): 1395-1404.
- Roff, D.A. 1984. The evolution of life history parameters in teleosts. *Can.J.Fish.Aquat.Sci.*, 41(6): 989-1000.
- Rogers, S.C. and A.H. Weatherley. 1983. The use of opercular muscle electromyograms as an indicator of the metabolic cost of fish activity in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson, as determined by radiotelemetry. *J.Fish Biol.*, 23: 535-547
- Rogers, S.C., D.W. Church, A.H. Weatherley and D.G. Pincock. 1984. An automated ultrasonic telemetry system for the assessment of locomotor activity in free-ranging rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J.Fish Biol.*, 25: 697-710
- Rombough, P.J. 1988. Respiration gas exchange, aerobic metabolism, and effect of hypoxia during early life. En: *Fish physiology*, Vol. II, parte A. Eggs and larvae. W.S. Hoar and D.J. Randall (eds.). Academic Press, NY, pp. 59-161
- Ronnestad, I., W.M. Koven, A. Tandler, M. Harel and H.J. Fyhn. 1994. Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Mar.Biol.*, 120: 187-196
- Roo, F.J., J. Socorro, M.S. Izquierdo, M.J. Caballero, C.M. Hernández-Cruz, A. Fernández and H. Fernández-Palacios. 1999. Development of red porgy *Pagrus pagrus* visual system in relation with changes in the digestive tract and larval feeding habits. *Aquaculture*, 179: 499-512
- Rosenthal, H. and D.F. Alderdice. 1976. Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 2047-2065
- Ross, M.J. and J.H. McCormick. 1981. Effects of external radio transmitters on fish. *Prog.Fish.-Cult.*, 43: 67-72
- Salonen, K., J. Sarvala, I. Hakala and M.L. Viljanen. 1976. The relation of energy and organic carbon in aquatic invertebrates. *Limnol. Oceanogr.*, 21: 724-730
- Santerre, M.T. 1976. Effects of temperature and salinity on the eggs and early larvae of *Caranx mate* (Cuv. & Valenc.)(Pisces:Carangidae) in Hawaii. *J. Exp. Mar.Biol.Ecol.*, 21: 51-68

Sargent, J.R., J. Henderson and D.R. Tocher. 1989. The lipids. En: Halver, J.E. (ed.) Fish Nutrition. Academic Press, pp. 154-219

Sargent, J.R. 1995. Origin and functions of egg lipids: Nutritional implications. En: Broodstock management and egg and larval quality. Bromage, N.R. and R.J. Roberts (eds.), Blackwell Science, pp. 353-372

Savitz, A. 1971. Nitrogen excretion and protein consumption of the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*). J. Fish. Res. Bd. Can., 28: 449-451

Schneider, D.W. 1992. A bioenergetics model of zebra mussel (*Dreissenia polymorpha*) growth in the Great Lakes. Can.J.Fish.Aquat.Sci., 49: 1406-1416

Schwalme, K. and G.A. Chouinard. 1999. Seasonal dynamics, organweights, and reproductive maturation of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the southern Gulf of St. Lawrence. ICES, J.Mar.Sci., 56: 303-319.

Shirota, A. 1970. Studies on the mouth size of fish larvae. Bull.Jap.Soc.Sci.Fish., 36(4): 353-368

Smith, S. 1957. Early development and hatching. En: M.E. Brown (ed.), The Physiology of Fish, Vol. 1, Metabolism. Academic Press, NY, pp. 323-359

Smith, M.A.K. and A. Thorpe. 1976. Nitrogen metabolism and trophic input in relation to growth in freshwater and saltwater *Salmo gairdneri*. Biol.Bull., 150: 139-151

Solomon, D.J. and A.E. Brafield. 1972. The energetics of feeding, metabolism and growth of perch (*Perca fluviatilis* L.). J. Animal Ecology, 41: 699-718

Soofiani, N.M. and A.D. Hawkins, A.D. 1982. Energetic cost at different levels of feeding in juvenile cod, *Gadus morhua* L. J.Fish Biol., 21: 577-592

Staples, D.J. and M. Nomura. 1976. Influence of body size and food ration on the energy budget of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J.Fish Biol., 9: 29-43

Stasko, A.B. and R.M. Horrall. 1976. Method of counting tailbeats of free-swimming fish by ultrasonic telemetry techniques. J.Fish.Res.Bd.Can., 33: 2596-2598

Stasko, A.B. and D.G. Pincock. 1977. Review of underwater biotelemetry, with emphasis on ultrasonic techniques. J.Fish.Res.Bd.Can., 34: 1261-1285

Stephanou, D., G. Georgiou and E. Shoukri. 1995. Reproduction and larval rearing of the common sea bream (*Pagrus pagrus*), an experimental culture.

Workshop on Diversification in Aquaculture, Cyprus. Cah.Options Mediterr., 16: 79-87

Stepin, W.P.J. 1976. Feeding of laboratory-reared larvae of the sea bream, *Archosargus rhomboidalis* (Sparidae). Mar.Biol., 38: 1-16

Stewart, D.J., J.F. Kitchell and L.B. Crowder. 1981. Forage fishes and their salmonid predators in Lake Michigan. Trans.Am.Fish.Soc., 110: 751-763

Stewart, D.J. and F.P. Binkowski. 1986. Dynamics of consumption and food conversion by Lake Michigan alewives: an energetics-modeling synthesis. Trans.Am.Fish.Soc., 115: 643-661

Stirling, H.P. 1977. Growth, food utilization and effect of social interactions in the European bass *Dicentrarchus labrax*. Mar.Biol., 40: 173-184

Sureau, D. and J.-P. Lagardere. 1991. Coupling of heart rate and locomotory activity in sole, *Solea solea* (L.) and bass, *Dicentrarchus labrax* (L.) in their natural environment by using ultrasonic telemetry. J.Fish Biol., 38: 399-405

Tandler, A. and F.W.H. Beamish. 1979. Mechanical and biochemical components of apparent specific dynamic action in largemouth bass, *Micropterus salmoides* L. J.Fish Biol., 14: 343-350

Tátrai, I. 1981. Diurnal pattern of the ammonia and urea excretion of feeding and starved bream, *Abramis brama* L. Comp. Biochem. Physiol., 70A: 211-215

Taylor, W.R. and G.C. van Dyke. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. Cybium, 9(2): 107-119

Theilacker, G.H. 1978. Effect of starvation on the histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus* larvae. Fish.Bull., 76: 403-414

Theilacker, G.H. 1980. Changes in body measurements of larval northern anchovy, *Engraulis mordax*, and other fishes due to handling and preservation. Fish.Bull., 78: 685-692

Theilacker, G.H. 1987. Feeding ecology and growth energetics of larval northern anchovy, *Engraulis mordax*. Fish.Bull., 85: 213-228

Thorpe, J.E., M.S. Milles and D.S. Keay. 1984. Developmental rate, fecundity and egg size in the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. Aquaculture, 43: 289-305

Townsend, C.R. and P. Calow. 1981. Physiological Ecology: An Evolutionary Approach to Resource Use. Townsend, C.R. and P. Calow (eds.), Blackwell Scientific Publications, 393 pp.

Townsend, D.W., R.L. Radtke, S. Corwin and D.A. Libby. 1992. Strontium:calcium ratios in juvenile atlantic herring *Clupea harengus* L: otoliths as a function of water temperature. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 160: 131-140

Trussell, R.P. 1972. The percent un-ionized ammonia in aqueous ammonia solutions at different pH levels and temperatures. J.Fish.Res.Bd.Can., 29: 1505-1507

Tucker Jr., J.W. 1988. Energy utilization in bay anchovy, *Anchoa mitchilli*, and black sea bass, *Centropristris striata striata*, egg and larvae. Fish.Bull., 78: 279-293

Tyler, A.V. and R.S. Dunn. 1976. Ration, growth, and measures of somatic and organ condition in relation to meal frequency in winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, with hypothesis regarding population homeostasis. J.Fish.Res.Bd.Can., 33: 63-75

Tyler, C.R. and J.P. Sumpter. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Rev.Fish Biol.Fish., 6: 287-318

Van der Meeran, T. and T. Naess. 1993. How does *Gadus morhua* cope with variability in feeding conditions during early larval stages?. Mar.Biol., 116: 637-647

Vahl, O. 1979. An hypothesis on the control of food intake in fish. Aquaculture, 17: 221-229

Vetter, R.D., R.E. Hudson and C. Arnold. 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). Can.J.Fish.Aquat. Sci., 40:627-634

Ware, D.M. 1975. Relation between egg size, growth, and natural mortality of larval fish. J.Fish.Res.Bd.Can., 32: 2503-2512

Ware, D.M. 1980. Bioenergetics of stock and recruitment. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 37: 1012-1024

Ware, D.M. 1982. Power and evolutionary fitness of teleosts. Can.J.Fish.Aquat. Sci., 39: 3-13

Warren, E.W. and G.E. Davis. 1967. Laboratory studies on the feeding bioenergetics and growth of fish. En: The biological basis of freshwater fish production, S.P. Gerking (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 175-214

Washburn, B.S., D.J. Frye, S.S.O. Hung, S.I. Doroshov and F.S. Conte. 1990. Dietary effects on tissue composition, oogenesis and the reproductive performance of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 90: 179-195

Watanabe, T. and V. Kiron. 1995. Read seabream (*Pagrus major*). En: Bromage, N.R. and R.J. Roberts (eds.), *Broodstock management and egg and larval quality*. Blackwell Science, London. pp. 389-413

Watanabe, T., T. Arakawa, C. Kitajima and S. Fujita. 1984. Effect of nutritional quality of broodstock diet on reproduction of red seabream. *Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.*, 50: 495-501

Watanabe, T., T. Koizumi, H. Suzuki, S. Satoh, T. Takeuchi, N. Yoshida, T. Kitada and Y. Tsukashima. 1985. Improvement of quality of red seabream eggs by feeding broodstock on a diet containing cuttlefish meal on a raw krill shortly before spawning. *Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.*, 51: 1511-1521

Watanabe, T., T. Fujimura, M. Lee, K. Fukusho, S. Satoh and T. Takeuchi. 1991a. Effect of polar and non-polar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 695-698

Watanabe, T., M.J. Lee, J. Mizutani, T. Yamada, S. Satoh, T. Takeuchi, N. Yoshida, T. Kitada and T. Arakawa. 1991b. Nutritional studies in the seed production of fish. 20. Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red seabream *Pagrus major* eggs. *Bull.Jap.Soc. Sci.Fish.*, 57: 681-694

Watanabe, T., T. Fujimura, M.J. Lee, K. Fukusho, S. Satoh and T. Takeuchi. 1991c. Nutritional studies in the seed production of fish. 21. Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red seabream *Pagrus major*. *Bull.Jap.Soc.Sci.Fish.*, 57: 695-698

Watanabe, T., T. Takeuchi, S. Satoh and V. Kiron. 1996. Digestible energy: Methodological influence and a mode of calculation. *Fish.Sci.*, 62(2): 288-292

Weatherley, A.H. and H.S. Gill. 1987. *The biology of fish growth*. Academic Press, London.

Weatherley, A.H., S.C. Rogers, D.G. Pincock and J.R. Patch. 1982. Oxygen consumption of active trout, *Salmo gairdneri* Richardson, derived from electromyograms obtained by radiotelemetry. *J.Fish Biol.*, 20: 479-489

Weiser, W. 1985. Developmental and metabolic constraints of the scope for activity in young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J.Exp.Biol., 118: 133-142

Wieser, W. and N. Medgyesy. 1991. Metabolic rate and cost of growth in juvenile pike (*Esox lucius* L.) and perch (*Perca fluviatilis* L.): the use of energy budgets as indicators of environmental change. Oecologia, 87: 500-505

Winberg, G.G. 1956. Rate of metabolism and food requirements of fishes. Nauchn. Tr. Belorussovo Gos. Univ. imeni V. I. Lenina, Minsk. J.Fish. Res.Bd.Can., Translation Serie 194, 202 pp.

Wohlschlag, D.E. 1981. Natural factors affecting recruitment. En: H. Clepper (ed.), Marine Recreational Fisheries 6. Proceedings of the Sixth Annual Marine Recreational Fisheries Symposium. Sport Fishing Institute, Washington, D.C., USA, pp. 177-188

Wood, C. 1993. Ammonia and urea metabolism and excretion. En: The physiology of fishes, D.H. Evans (ed.), CRC Press, FL, pp. 379-425

Wootton, R.J., J.R. Allen and S.J. Cole. 1980. Energetics of the annual reproductive cycle in female stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. J.Fish Biol., 17:387-394

Wootton, R.J. 1990. Ecology of teleost fish. Chapman & Hall, Fish and Fisheries Series, 1, 404 pp.

Xie, X.J. and R. Sun. 1993. Pattern of energy allocation in the southern catfish (*Silurus meridionalis*). J.Fish Biol., 42: 197-207

Yamaguchi, M. 1988. Bases y prácticas de la acuicultura de *Pagrus major*. (en japonés). Koseisha Press, Japón, pp. 44-45

Yone, Y. and M. Fujii. 1975. Studies on nutrition of red sea bream- XI. Effect of w3 fatty acid supplement in a corn oil diet on growth and feed efficiency. Bull.Jap.Soc.Sci.Fish., 41:73-77

Yoshinaga, K., J. Hiromi and S. Kadota. 1994. Respiration and food requirement by larvae and juveniles of red seabream, *Pagrus major*. Bull. College Agriculture Vet. Medicine Nihon Univ., 51: 174-181

Young, A.H., P. Tytler, F.G.T. Holliday and A. MacFarlane. 1972. A small sonic tag for measurements of locomotor activity in fish. J. Fish Biol., 4: 57-65

Yúfera, M., A. Polo and E. Pascual. 1993. Changes in chemical composition and biomass during the transition from endogenous to exogenous feeding of *Sparus*

*aurata* L. (Pisces, Sparidae) larvae reared in the laboratory. J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 167: 149-161

Zanuy, S. and M. Carrillo. 1985. Annual cycles of growth, feeding rate, gross conversion efficiency and hematocrit levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) adapted to two different osmotic media. Aquaculture, 44:11-25

Zohar, Y., M. Harel, S. Hassin and A. Tandler. 1995. Gilthead sea bream (*Sparus aurata*). En: Bromage, N.R. and R.J. Roberts (eds.), Broodstock management and egg and larval quality. Blackwell Science, London. pp. 94-117