

Evaluation of different levels of dietary protein and lipids on the growth, feed efficiency, and biometric and hematological indexes of juvenile white snooks, *Centropomus viridis*

Evaluación de diferentes niveles de proteína y lípidos dietéticos en el crecimiento, la eficiencia alimenticia y los índices biométricos y hematológicos de juveniles de robalo blanco *Centropomus viridis*

[María Isabel Abdo-de la Parra](#)^{1*}, [Luz Estela Rodríguez-Ibarra](#)¹, [Leonardo Ibarra-Castro](#)^{1,5,6},
[Juan Manuel Martínez-Brown](#)¹, [Carlos Alfonso Álvarez-González](#)², [Emyr Peña](#)³,
[Gabriela Velasco-Blanco](#)¹, [Patricia Domínguez-Jiménez](#)¹, [Gustavo Rodríguez-Montes de Oca](#)⁴

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán, 82112 Mazatlán, Sinaloa, Mexico.

² Laboratorio de Fisiología de Recursos Acuáticos, División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, 86039 Villahermosa, Tabasco, Mexico.

³ Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, 22860 Ensenada, Baja California, Mexico.

⁴ Laboratorio de Reproducción y Cultivo de Peces, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, 82000 Mazatlán, Sinaloa, Mexico.

⁵ Program in Fisheries and Aquatic Sciences, School of Forest, Fisheries, and Geomatics Sciences, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, Florida 32611, USA.

⁶ Whitney Laboratory for Marine Bioscience, St Augustine, Florida, 32080, USA.

* Corresponding author. E-mail: abdo@ciad.mx

ABSTRACT. An experiment was conducted to evaluate the effect of various levels of protein and dietary lipids on white snook (*Centropomus viridis*) performance. A 4 × 2 factorial design was used with 4 protein levels (40%, 46%, 52%, and 58%) and 2 lipid levels (10% and 13%), with 3 replicates per treatment. Fish with an initial weight of 14.80 ± 0.80 g were fed to apparent satiety 3 times a day for 6 weeks. Juvenile growth showed no significant differences among treatments. Feed efficiency was only affected by the protein level in the diet, and the best feed efficiency ratio was obtained with the 52% protein diets; the protein efficiency ratio was significantly lower with the 58% protein diets. The hepatosomatic index decreased with increasing protein content, and the peritoneal fat index increased with dietary lipid level. The condition factor was not affected by the dietary protein or lipid level. Hematocrit and total plasma protein were significantly higher at 40% protein; blood glucose and triglycerides were affected by both nutrients. It is concluded that juvenile *C. viridis* can be fed diets containing 40% protein and 10% lipids and a protein/energy ratio of 20.69 mg·kJ⁻¹, under the experimental conditions of this study.

Key words: protein, lipids, protein/energy ratio, *Centropomus viridis*.

RESUMEN. Se llevó a cabo un experimento para evaluar el efecto de varios niveles de proteína y lípidos dietéticos en el rendimiento de juveniles de robalo blanco (*Centropomus viridis*). Se realizó un diseño factorial 4 × 2 con 4 niveles de proteína (40%, 46%, 52% y 58%) y 2 niveles de lípidos (10% y 13%), con 3 replicados por tratamiento. Los peces con un peso inicial de 14.80 ± 0.80 g se alimentaron a saciedad aparente 3 veces al día durante 6 semanas. El crecimiento de los juveniles no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. La eficiencia alimenticia solo fue afectada por el nivel de proteína en la dieta, y la mejor tasa de eficiencia alimenticia se obtuvo con las dietas con 52% de proteína; el índice de eficiencia proteica fue significativamente menor con las dietas con 58% de proteína. El índice hepatosomático disminuyó al aumentar el contenido de proteína, y el índice de grasa peritoneal aumentó con el nivel de lípidos en la dieta. El factor de condición no fue afectado por el nivel de proteína o lípidos dietéticos. El hematocrito y la proteína total del plasma fueron significativamente mayores con las dietas con 40% de proteína; la glucosa y los triglicéridos en la sangre fueron afectados por ambos nutrientes. Se concluye que los juveniles de *C. viridis* pueden ser alimentados con dietas que contengan 40% de proteína y 10% de lípidos y una relación proteína/energía de 20.69 mg·kJ⁻¹, bajo las condiciones experimentales de este estudio.

Palabras clave: proteína, lípidos, relación proteína/energía, *Centropomus viridis*.



©María Isabel Abdo-de la Parra, Luz Estela Rodríguez-Ibarra, Leonardo Ibarra-Castro, Juan Manuel Martínez-Brown, Carlos Alfonso Álvarez-González, Emyr Peña, Gabriela Velasco-Blanco, Patricia Domínguez-Jiménez, Gustavo Rodríguez-Montes de Oca.

This is an Open Access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](#), which allows you to share and adapt the work, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. Figures, tables, and other elements in the article are included in the article's CC BY 4.0 license, unless otherwise indicated. You must seek permission from the copyright holder for use of material not covered by this license. The journal title is protected by copyrights owned by Universidad Autónoma de Baja California, and the journal title and logo are not subject to this license.

INTRODUCTION

Snooks are euryhaline fish of the Centropomidae family that inhabit tropical and subtropical zones along the Pacific and Atlantic coasts (Álvarez-Lajonchère et al. 2013). They are demersal fish with carnivorous habits that feed on mollusks, crustaceans, and fish (Macal-López et al. 2013). The Pacific white snook, *Centropomus viridis*, is found from the Gulf of California to southern Ecuador (Fischer et al. 1995). It has high economic value in the Mexican market due to the quality of its meat, and it is considered to have excellent potential for cultivation, since it can grow and reproduce in captivity and has high growth rates (Labastida-Che et al. 2013, Ibarra-Castro et al. 2017); however, to successfully carry out the cultivation of this species, it is necessary to determine its nutritional requirements to develop specific diets. In aquaculture, nutrition has been shown to be a limiting factor for the development of healthy and efficient aquaculture systems (Zhang et al. 2020). In this sense, the proteins and lipids in a diet are some of the main nutrients teleost fish need to carry out numerous physiological processes (NCR 2011, Dai et al. 2018, Teles et al. 2020). Protein is essential for fish growth, tissue maintenance, and the production of many key components, such as hormones, enzymes, and antibodies (Wang et al. 2019, Yan et al. 2020); protein deficiency affects growth and immune function and increases fish susceptibility to infectious diseases (Cho et al. 2021, Steinberg 2022), and excess protein in the diet increases feed cost and excretion of nitrogenous residues, which contaminates the culture medium (Wu and Gatlin 2014, Khan et al. 2019, Liu et al. 2021). Lipids and their main constituents, essential fatty acids, are the main source of metabolic energy for fish development; they are required for the structure, maintenance, and function of cell membranes, and for the transport and metabolism of fat-soluble vitamins and carotenoids, among other functions (Sargent et al. 2002, Tocher 2003). Both lipid deficiency and excess can compromise the immune response of fish (Steinberg 2022); in addition, a diet high in lipids can decrease appetite, which affects growth (Dai et al. 2018), cause fatty liver, promote fat accumulation in muscle tissue, and impair fish fillet quality (Han et al. 2014, González-Félix et al. 2015). Therefore, it is essential to develop diets with adequate levels of both nutrients for optimal fish development and growth, and to determine the optimal ratio of protein to lipid levels in the feed so that proteins are used only for growth and lipids act as the main energy source (Grisdale-Helland et al. 2008, Li et al. 2017, Ma et al. 2020); with this, we can reduce feed cost and increase the protein utilization efficiency, improve feed efficiency, and decrease the excretion of ammonia and the environmental impact of aquaculture (Jiang et al. 2016, Grapiuna-de Carvalho et al. 2017).

The protein-sparing effect of lipids has been reported in several species, such as *Melanogrammus aeglefinus* (Tibbetts et al. 2005), *Gadus morhua* (Grisdale-Helland et al.

INTRODUCCIÓN

Los robalos son peces eurihalinos de la familia Centropomidae que habitan en zonas tropicales y subtropicales a lo largo de las costas del Pacífico y del Atlántico (Álvarez-Lajonchère et al. 2013). Son peces demersales de hábitos carnívoros que se alimentan de moluscos, crustáceos y peces (Macal-López et al. 2013). El robalo blanco del pacífico, *Centropomus viridis*, se encuentra desde el golfo de California hasta el sur de Ecuador (Fischer et al. 1995). Presenta un alto valor económico en el mercado mexicano por la calidad de su carne, y se le considera con excelente potencial para cultivo, dado que puede crecer y reproducirse en cautiverio y presenta altas tasas de crecimiento (Labastida-Che et al. 2013, Ibarra-Castro et al. 2017); sin embargo, para llevar a cabo con éxito el cultivo de esta especie, es necesario determinar los requerimientos nutricionales para coadyuvar al desarrollo de dietas específicas. La nutrición acuícola ha demostrado ser un factor limitante para el desarrollo de sistemas acuícolas saludables y eficientes (Zhang et al. 2020). En este sentido, las proteínas y los lípidos en la dieta son algunos de los principales nutrientes para que los peces teleósteos puedan llevar a cabo numerosos procesos fisiológicos (NCR 2011, Dai et al. 2018, Teles et al. 2020). La proteína es esencial para el crecimiento de los peces, el mantenimiento de tejidos y la producción de muchos componentes clave, como hormonas, enzimas y anticuerpos (Wang et al. 2019, Yan et al. 2020); la deficiencia de proteína afecta el crecimiento y la función inmunológica y aumenta la susceptibilidad de los peces a las enfermedades infecciosas (Cho et al. 2021, Steinberg 2022), y el exceso de proteína en la dieta incrementa el costo de los alimentos y la excreción de residuos nitrogenados, lo que contamina el medio de cultivo (Wu y Gatlin 2014, Khan et al. 2019, Liu et al. 2021). Los lípidos y sus principales constituyentes, los ácidos grasos esenciales, son la principal fuente de energía metabólica para el desarrollo de los peces; son necesarios para la estructura, el mantenimiento y la función de las membranas celulares, así como para el transporte y el metabolismo de vitaminas liposolubles y carotenoides, entre otras funciones (Sargent et al. 2002, Tocher 2003). Tanto la deficiencia como el exceso de lípidos pueden comprometer la respuesta inmune de los peces (Steinberg 2022); además, una dieta con alta cantidad de lípidos puede disminuir el apetito, lo cual afecta el crecimiento (Dai et al. 2018), provocar hígado graso, promover la acumulación de grasa en el tejido muscular y deteriorar la calidad del filete de los pescados (Han et al. 2014, González-Félix et al. 2015). Por lo tanto, es esencial desarrollar dietas con niveles adecuados de ambos nutrientes para el óptimo desarrollo y crecimiento de los peces, así como determinar la proporción óptima entre los niveles de proteína y lípidos en el alimento para que la proteína se utilice solo para el crecimiento y los lípidos actúen como la principal fuente energética (Grisdale-Helland et al. 2008, Li et al. 2017, Ma et al. 2020); con esto, se puede reducir el costo del alimento y elevar la eficiencia de utilización de proteína, mejorar la

2008), *Nibea japonica* (Chai et al. 2013), *Diplodus vulgaris* (Bulut et al. 2014), *Nibea diacanthus* (Li et al. 2017), *Epinephelus akaara* (Wang et al. 2017), *Acanthopagrus schlegelii* (Wang et al. 2019), *Larimichthys polyactis* (Ma et al. 2020), and *Centropomus undecimalis* (Arenas et al. 2021b); however, in other species, such as *Diplodus sargus* (Ozorio et al. 2006), *Umbrina cirrosa* (Kokou et al. 2019), *Pomadasy commersonnii* (Hecht et al. 2003), and *Ocyurus chrysurus* (Arenas et al. 2021a), this effect has not been observed. To the best of our knowledge, there are no studies on the dietary protein and lipid requirements of *C. viridis* juveniles; therefore, the objective of this study was to determine the effect of different levels of protein and lipids in the diet on the productive parameters of juveniles of the white snook, *C. viridis*.

MATERIALS AND METHODS

Experimental diets

Eight diets were formulated with 4 protein levels (40%, 46%, 52%, and 58%) and 2 lipid levels (10% and 13%). Table 1 shows the ingredients and chemical composition (AOAC 2000) of each diet. Diets were identified as D40/10, D40/13, D46/10, D46/13, D52/10, D52/13, D58/10, D58/13. The ingredients were weighed according to the formulations with an analytical balance with a capacity of 2,000 g (Ohaus CS2000, China). Macronutrients were dry blended for 15 minutes using a CRT Global blender (model MIX-B30GA). Subsequently, micronutrients were added and mixed, and the fish oil and soybean lecithin were added. Finally, water was added (approximately 400 mL per kilogram of diet). The obtained mixture was placed in a 1-HP mill (Torrey, M-22RI; Monterey, CA) to obtain granules with a 5-mm diameter; these were dried in an oven at 60 °C for 12 hours and then refrigerated at 4 °C until their use. The diets were prepared and analyzed at the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Mexico.

Origin of fish

White snook juveniles were provided by the pilot production plant of marine fish juveniles of the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Mazatlán Unit, Mexico, according to the protocol developed by Ibarra-Castro et al. (2017).

Experimental design, feeding, and experimental conditions

A completely randomized factorial experimental design (4×2) was carried out, with 3 replicates per treatment. The bioassay was carried out in 24 circular fiberglass tanks with 600-L capacity that were equipped with individual air distributors and a continuous flow of filtered seawater. Each tank was stocked with 20 organisms with an average

eficiencia alimenticia y disminuir la excreción de amoníaco y el impacto ambiental de la acuicultura (Jiang et al. 2016, Grapiuna-de Carvalho et al. 2017).

El efecto ahorrador de proteínas por los lípidos ha sido reportado en varias especies, como *Melanogrammus aeglefinus* (Tibbetts et al. 2005), *Gadus morhua* (Grisdale-Helland et al. 2008), *Nibea japonica* (Chai et al. 2013), *Diplodus vulgaris* (Bulut et al. 2014), *Nibea diacanthus* (Li et al. 2017), *Epinephelus akaara* (Wang et al. 2017), *Acanthopagrus schlegelii* (Wang et al. 2019), *Larimichthys polyactis* (Ma et al. 2020) y *Centropomus undecimalis* (Arenas et al. 2021b); sin embargo, en otras especies, tales como *Diplodus sargus* (Ozorio et al. 2006), *Umbrina cirrosa* (Kokou et al. 2019), *Pomadasy commersonnii* (Hecht et al. 2003) y *Ocyurus chrysurus* (Arenas et al. 2021a), no se ha observado este efecto. Hasta donde sabemos, no existen estudios sobre los requerimientos de proteína y lípidos dietéticos en juveniles de *C. viridis*; por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de diferentes niveles de proteína y lípidos en la dieta sobre los parámetros productivos de juveniles del robalo blanco *C. viridis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dietas experimentales

Se formularon 8 dietas con 4 niveles de proteína (40%, 46%, 52% y 58%) y 2 niveles de lípidos cada una (10% y 13%). En la tabla 1 se muestran los ingredientes y la composición química (AOAC 2000) de cada dieta. Las dietas se identificaron como D40/10, D40/13, D46/10, D46/13, D52/10, D52/13, D58/10, D58/13. Los ingredientes se pesaron de acuerdo con las formulaciones utilizando una balanza analítica con una capacidad de 2,000 g (Ohaus CS2000, China). Los macronutrientes se mezclaron en seco durante 15 minutos usando una batidora CRT Global (modelo MIX-B30GA). Posteriormente, se añadieron los micronutrientes, se mezclaron y se adicionó el aceite de pescado y la lecitina de soya. Finalmente, se añadió agua (aproximadamente 400 mL por kilogramo de dieta). La mezcla obtenida se colocó en un molino de 1 HP (Torrey, M- 22RI; Monterey CA,) para obtener gránulos con un diámetro de 5 mm, y se secaron en una estufa a 60 °C durante 12 horas; posteriormente, se refrigeraron a 4 °C hasta su uso. Las dietas fueron elaboradas y analizadas en la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.

Origen de los peces

Los juveniles de robalo blanco fueron proporcionados por la planta piloto de producción de juveniles de peces marinos del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán, México, de acuerdo con el protocolo desarrollado por Ibarra-Castro et al. (2017).

Table 1. Formulation and proximate composition of the experimental diets.**Tabla 1.** Formulación y composición proximal de las dietas experimentales.

Diet	40/10	40/13	46/10	46/13	52/10	52/13	58/10	58/13
Ingredients (%)								
Fish meal ¹	42.72	42.72	49.15	49.15	55.60	55.60	62.00	62.00
Krill meal ¹	2.58	2.58	2.99	2.99	3.35	3.35	3.70	3.70
Poultry meal ¹	8.70	8.70	10.00	10.00	11.30	11.30	12.60	12.60
Pork meal ¹	9.38	9.38	10.75	10.75	12.20	12.20	13.60	13.60
Fish oil ¹	2.74	6.11	1.82	5.19	0.90	4.27	0.00	3.37
Starch ²	29.15	25.78	20.56	17.19	11.92	8.55	3.47	0.10
Alginate ³	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
Minerals premix ⁴	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
Vitamin premix ⁴	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Soy bean lecithin ⁵	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Vitamin C ³	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Choline ⁶	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Antioxidant ³	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Proximate composition (% dry matter)								
Humidity	7.71	8.29	8.07	8.68	8.10	8.55	7.08	7.48
Protein	40.60	40.77	46.20	45.91	52.19	51.81	58.45	57.94
Lipids	9.64	12.63	9.76	12.84	9.70	12.75	9.66	12.82
Ash	13.57	12.53	15.19	15.75	17.96	17.08	19.71	19.66
Protein/energy (kJ·g ⁻¹)	20.69	20.29	23.49	22.39	26.53	25.27	29.78	28.26

¹PROTMAGRO, Guadalajara, Jalisco, Mexico.

²IMSA Corn Industrializer, Guadalajara, Jalisco, Mexico.

³Droguería Cosmopolita, Mexico City, Mexico.

⁴ROVIMIX R C-EC (Roche) 35% active agent. Vitamin premix composition in grams, milligrams or international units (IU) per kilogram of diet: vitamin A, 10,000,000 IU; vitamin D3, 2,000,000 IU; vitamin E, 100,000 IU; vitamin K3, 4.00 g; thiamine B1, 8.00 g; riboflavin B2, 8.70 g; pyridoxine B6, 7.30 g; vitamin B12, 20.00 mg; niacin, 50.00 g; pantothenic acid, 22.20 g; inositol, 0.15 mg; nicotinic acid, 0.16 mg; folic acid, 4.00 g; biotin, 500.00 mg; vitamin C, 10.00 g; choline 0.30 mg, excipient q.s., 2.00 g; manganese, 10.00 g; magnesium, 4.50 g; zinc, 1.60 g; iron, 0.20 g; copper, 0.20 g; iodine, 0.50 g; selenium, 40.00 mg; cobalt, 60.00 mg. Excipient q.s., 1.50 g.

⁵Pronat Ultra, Mérida, Yucatán, Mexico.

⁶Sigma-Aldrich Chemical, Toluca, Mexico State, Mexico.

weight of 14.80 ± 0.80 g; organisms were fed by hand to apparent satiety with the experimental diets, until the food was no longer consumed and remained at the bottom of the tank (Correia-Pinto and Pinto-Nunes 2021), 3 times a day (8:00 AM, 12:00 PM, and 4:00 PM) for 6 weeks. Culture water temperature was kept at 28.50 ± 0.07 °C, salinity at 35.0 ± 1.0 , and dissolved oxygen at 5.8 ± 0.3 mg·L⁻¹. During the entire experimental period, the photoperiod was 12 hours light/12 hours dark.

Diseño experimental, alimentación y condiciones experimentales

Se realizó un diseño experimental factorial completamente al azar (4×2), con 3 replicados por tratamiento. El bioensayo se llevó a cabo en 24 tanques circulares de fibra de vidrio con capacidad de 600 L equipados con distribuidores individuales de aire y flujo continuo de agua de mar filtrada. En cada uno se colocaron 20 organismos con un peso promedio de

Calculated variables

At the end of the experiment, the fish from all the tanks, previously anesthetized with clove essence ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$), were weighed and measured to determine the gained weight (GW), growth rate (GR), specific growth rate (SGR), condition factor (CF), feed intake (FI), feed conversion ratio (FCR), feeding efficiency rate (FER), protein efficiency rate (PER), and survival rate (S); in addition, 3 fish from each tank were randomly selected to determine the hepatosomatic index (HI) and the peritoneal fat index (PFI) using the following formulas:

$$\text{GW (g)} = \text{FW} - \text{IW} \quad (1)$$

where FW is the average final weight and IW is the average initial weight;

$$\text{GR (\%)} = \frac{\text{average gained weight}}{\text{average initial weight}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{SGR (\%)} = \frac{100(\ln \text{ of weight for time} - \ln \text{ initial weight})}{\text{time}} \quad (3)$$

$$\text{CF} = \frac{\text{final weight}}{(\text{total length})^3} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{FCR} = \frac{\text{feed consumed}}{\text{gained weight}} \quad (5)$$

$$\text{FER} = \frac{\text{gained weight}}{\text{feed consumed}} \quad (6)$$

$$\text{PER} = \frac{\text{gained weight}}{\text{consumed protein}} \quad (7)$$

$$\text{HI (\%)} = \frac{\text{liver weight}}{\text{total weight}} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{PFI (\%)} = \frac{\text{peritoneal fat weight}}{\text{total weight}} \times 100 \quad (9)$$

$$\text{S (\%)} = \frac{\text{final number of fish}}{\text{initial number of fish}} \times 100 \quad (10)$$

Hematological indices

At the end of the experiment, 9 fish per treatment (3 fish per tank) were randomly taken for blood collection. The organisms remained without food for 24 hours before sampling, and later, they were anesthetized with clove oil ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). The determination of the indices was carried out according to del Rio-Zaragoza et al. (2011). Blood was extracted from each fish with a 1.0-mL insulin syringe by puncturing the caudal vein; $\sim 200.0 \mu\text{L}$ of blood were placed in an Eppendorf tube with ethylenediaminetetraacetic acid dipotassium (EDTA-K2) to evaluate the concentration of hemoglobin (HB) and hematocrit (HCT). Another $200.0\text{-}\mu\text{L}$ sample was placed in another Eppendorf tube without anticoagulant; this was centrifuged to separate the serum and determine the content of total protein (TP), glucose (GL), and triglycerides (TG).

$14.80 \pm 0.80 \text{ g}$; se alimentaron a mano a saciedad aparente con las dietas experimentales, hasta observar que el alimento ya no era consumido y permanecía en el fondo del tanque (Correia-Pinto y Pinto-Nunes 2021), 3 veces al día (8:00 A.M., 12:00 P.M. y 4:00 P.M.) durante 6 semanas. La temperatura del agua de cultivo se mantuvo a $28.50 \pm 0.07 \text{ }^\circ\text{C}$, la salinidad a 35.0 ± 1.0 y el oxígeno disuelto a $5.8 \pm 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Durante todo el periodo experimental, el fotoperiodo fue de 12 horas luz/12 horas oscuridad.

Variables calculadas

Al final del experimento, todos los peces de cada tanque, previamente anestesiados con esencia de clavo ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$), se pesaron y midieron para determinar el peso ganado (GW, por sus siglas en inglés), la tasa de crecimiento (GR), la tasa de crecimiento específica (SGR), el factor de condición (CF), el consumo de alimento (FI), la tasa de conversión alimenticia (FCR), la tasa de eficiencia alimenticia (FER), el índice de eficiencia proteica (PER) y la tasa de supervivencia (S); adicionalmente, se seleccionaron al azar 3 peces de cada tanque para determinar el índice hepatosomático (HI) y el índice de grasa peritoneal (PFI) mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{GW (g)} = \text{FW} - \text{IW} \quad (1)$$

donde FW es el peso promedio final e IW es el peso promedio inicial;

$$\text{GR (\%)} = \frac{\text{peso promedio ganado}}{\text{peso inicial promedio}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{SGR (\%)} = \frac{100(\ln \text{ de peso en ese tiempo} - \ln \text{ peso inicial})}{\text{tiempo}} \quad (3)$$

$$\text{CF} = \frac{\text{peso final}}{(\text{largo total})^3} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{FCR} = \frac{\text{alimento consumido}}{\text{peso ganado}} \quad (5)$$

$$\text{FER} = \frac{\text{peso ganado}}{\text{alimento consumido}} \quad (6)$$

$$\text{PER} = \frac{\text{incremento de peso}}{\text{consumo de proteína}} \quad (7)$$

$$\text{HI (\%)} = \frac{\text{peso del hígado}}{\text{peso total}} \times 100 \quad (8)$$

$$\text{PFI (\%)} = \frac{\text{peso de grasa peritoneal}}{\text{peso total}} \times 100 \quad (9)$$

$$\text{S (\%)} = \frac{\text{No. final}}{\text{No. inicial}} \times 100 \quad (10)$$

Índices hematológicos

Al final del experimento, se tomaron al azar 9 peces por tratamiento (3 peces por tanque) para realizar la extracción

Hematological parameters were determined using commercial kits from Biosystems and Randox Laboratories.

Statistical analyses

Data in percentage form were transformed to arcsine. Normality (Bartlett's test) and homoscedasticity (Levene's test) were determined for all results, which were subjected to a 2-way analysis of variance (ANOVA) ($P < 0.05$). To determine significant differences between treatments, Tukey's multiple comparison rank tests ($P < 0.05$) were applied (Zar 1996). Statistical analyses were carried out using the Statgraphics Centurion XVI v.16.204 program (Statpoint Technologies).

RESULTS

Growth and survival

Table 2 shows the growth and survival results of juvenile white snook fed with the different diets. FW, GW, GR, and SGR were not affected by dietary protein or lipid level ($P > 0.05$). The survival of juvenile white snook at the end of the experimentation period was 100% for all treatments, with the exception of D46/10 (96.6%), with no significant differences between the different treatments ($P > 0.05$).

Feed efficiency and biometric indices

The results of the feed efficiency and morphometric parameters evaluated are shown in Table 3. According to the 2-way ANOVA, FI, FCR, FER, and PER were affected by the protein content in the diet, and the lipid level did not affect these parameters. The highest FI was obtained with the fish fed with 58% protein, and it was significantly different ($P < 0.05$) from the FI obtained with fish fed with other protein levels; the lowest FCR was obtained with the fish fed with 52% protein and was significantly different ($P < 0.05$) from the FCR obtained with the juveniles fed with the rest of the protein levels. We obtained 100% FER with fish fed 52% protein, and this rate was significantly higher ($P < 0.05$) than the FER we obtained with the other protein levels; the lowest PER value was obtained with the fish fed with 58% protein, and this value was significantly different ($P < 0.05$) from that obtained with the juveniles fed with 40% protein. HI decreased significantly ($P < 0.05$) when the protein content in the diet increased, regardless of lipid level; meanwhile, PFI increased significantly ($P < 0.05$) when lipid levels in the diet increased. The protein level did not affect the PFI. Regarding the CF, no significant differences were found between the different protein and lipid levels in the diet ($P > 0.05$).

Hematological parameters

The results of the hematological parameters evaluated are shown in Table 4. According to the results of the 2-way

sanguínea. Los organismos permanecieron 24 horas sin alimento antes del muestreo, y posteriormente, se anestesiaron con aceite de clavo ($0.2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). La determinación de los índices se llevó a cabo de acuerdo con del Rio-Zaragoza et al. (2011). De cada pez, se extrajo sangre con una jeringa para insulina de 1.0 mL realizando una punción en la vena caudal; alrededor de $200.0 \mu\text{L}$ de sangre se colocaron en un tubo Eppendorf con ácido etilendiaminotetraacético dipotásico (EDTA-K2) para evaluar la concentración de hemoglobina (HB) y hematocrito (HCT). Otra muestra de $200.0 \mu\text{L}$ se colocó en otro tubo Eppendorf sin anticoagulante; esta se centrifugó para separar el suero y determinar el contenido de proteína total (TP), glucosa (GL) y triglicéridos (TG). Los parámetros hematológicos fueron determinados utilizando kits comerciales de Biosystems y Randox Laboratories.

Análisis estadístico

Los datos en porcentaje se transformaron a arcoseno. A todos los resultados se les determinó la normalidad (prueba de Bartlett) y la homocedasticidad (prueba de Levene), y se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) de 2 vías ($P < 0.05$). Para determinar las diferencias significativas entre tratamientos, se aplicaron pruebas de comparación múltiple de rangos de Tukey ($P < 0.05$) (Zar 1996). Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el programa Statgraphics Centurion XVI v.16.204 (Statpoint Technologies).

RESULTADOS

Crecimiento y supervivencia

En la Tabla 2 se presentan los resultados de crecimiento y supervivencia de los juveniles de robalo blanco alimentados con las diferentes dietas. Como se observa, el FW, el GW, la GR, y la SGR no fueron afectados por el nivel de proteína o lípidos en la dieta ($P > 0.05$). La supervivencia de los juveniles de robalo blanco al final del periodo de experimentación fue del 100% en todos los tratamientos, a excepción de la D46/10 (96.6%), sin diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ($P > 0.05$).

Eficiencia alimenticia e índices biométricos

Los resultados de la eficiencia alimenticia y los parámetros morfométricos evaluados se muestran en la Tabla 3. De acuerdo con el ANDEVA de 2 vías, el FI, la FCR, la FER y el PER fueron afectados por el contenido de proteína en la dieta, y el nivel de lípidos no afectó estos parámetros. El mayor FI se obtuvo de los peces alimentados con el 58% de proteína y fue significativamente diferente ($P < 0.05$) al presentado por los peces alimentados con los otros niveles de proteína; la menor FCR fue obtenida con los peces alimentados con el 52% de proteína y fue significativamente diferente ($P < 0.05$) a la obtenida con los juveniles alimentados con el resto

ANOVA, the level of protein or lipids in the diet did not influence the HB content in juveniles fed with the different treatments ($P > 0.05$); the HCT value was affected by the protein level regardless of the lipid level in the diet. Juveniles fed the 40% protein diets had the highest percentage of HCT, and this was significantly different ($P < 0.05$) from the HCT obtained with juveniles fed the 46% and 58% protein diets. Only the protein level affected the percentage of TP in the plasma of *C. viridis* juveniles; juveniles fed diets with 40% protein had a higher percentage of TP than juveniles fed with diets with 46% and 58% protein ($P > 0.05$). The content of plasma GL and TG increased significantly ($P < 0.05$) when

de los niveles de proteína. Se obtuvo el 100% de la FER con los peces alimentados con el 52% de proteína, y esta tasa fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que la obtenida con los otros niveles de proteína; en los peces alimentados con el 58% de proteína, se obtuvo el menor valor del PER, y este valor fue significativamente diferente ($P < 0.05$) al obtenido con los juveniles alimentados con el 40% de proteína. El HI disminuyó significativamente ($P < 0.05$) al aumentar el contenido de proteína en la dieta, independientemente del nivel de lípidos; en cambio, el PFI aumentó significativamente ($P < 0.05$) al incrementar el nivel de lípidos en la dieta. El nivel de proteína no afectó el PFI. En cuanto al CF, no se encontraron

Table 2. Growth and survival of juvenile *Centropomus viridis* fed the experimental diets. IW, initial average weight; FW, final average weight; GW, gained weight; GR, growth rate; SGR, specific growth rate; S, survival.

Tabla 2. Crecimiento y supervivencia de los juveniles de *Centropomus viridis* alimentados con las dietas experimentales. IW, peso promedio inicial; FW, peso promedio final; GW, peso aumentado; GR, tasa de crecimiento; SGR, tasa de crecimiento específica; S, supervivencia.

Diet	IW (g)	FW (g)	GW (g)	GR (%)	SGR (%)	S (%)
40/10	14.70 ± 0.14	58.86 ± 1.70	44.05 ± 1.93	299.24 ± 14.76	2.47 ± 0.05	100
40/13	14.71 ± 0.40	71.16 ± 7.75	56.45 ± 7.48	383.25 ± 43.85	2.80 ± 0.16	100
46/10	15.10 ± 0.22	66.13 ± 4.06	50.94 ± 4.28	336.14 ± 33.23	2.62 ± 0.13	96.66 ± 5.70
46/13	14.80 ± 0.80	62.90 ± 6.59	47.93 ± 7.19	327.07 ± 62.86	2.57 ± 0.28	100
52/10	15.20 ± 0.31	74.76 ± 7.43	59.55 ± 7.26	392.16 ± 45.80	2.83 ± 0.15	100
52/13	14.83 ± 0.39	67.89 ± 6.90	53.04 ± 7.08	358.74 ± 54.51	2.70 ± 0.20	100
58/10	14.90 ± 0.60	66.79 ± 5.47	51.90 ± 5.48	349.65 ± 33.22	2.67 ± 0.13	100
58/13	15.10 ± 0.60	68.60 ± 10.38	54.43 ± 10.30	360.62 ± 73.64	2.68 ± 0.28	100
Means of main effect						
Protein %						
40	14.70	65.01	50.25	341.24	2.64	100
46	14.90	64.51	49.44	331.60	2.60	98.33
52	15.00	71.32	56.29	375.45	2.77	100
58	15.00	67.69	53.16	355.13	2.67	100
Lipid %						
10	14.90	66.63	51.61	344.30	2.65	99.16
13	14.80	67.63	52.96	357.42	2.69	100
Two-way ANOVA (<i>P</i> value)						
Protein	0.6191	<i>P</i> = 0.3150	<i>P</i> = 0.3209	<i>P</i> = 0.4514	<i>P</i> = 0.4770	<i>P</i> = 0.4180
Lipid	0.5828	<i>P</i> = 0.7217	<i>P</i> = 0.6322	<i>P</i> = 0.5168	<i>P</i> = 0.6157	<i>P</i> = 0.3320
Interaction	0.6019	<i>P</i> = 0.1184	<i>P</i> = 0.1263	<i>P</i> = 0.2206	<i>P</i> = 0.2201	<i>P</i> = 0.4180

The results are the mean (mean ± SD) of 3 replicates ($n = 3$). ANOVA: analysis of variance.

Table 3. Feed efficiency and biometric indices of juvenile white snook, *Centropomus viridis*, fed the experimental diets. FI, food intake; FCR, food conversion ratio; FER, food efficiency rate; PER, protein efficiency rate; HI, hepatosomatic index; PFI, peritoneal fat index; CF, condition factor.

Tabla 3. Eficiencia alimenticia e índices biométricos de juveniles de robalo blanco *Centropomus viridis* alimentados con las dietas experimentales. FI, consumo de alimento; FCR, tasa de conversión alimenticia; FER, tasa de eficiencia alimenticia; PER, índice de eficiencia proteica; HI, índice hepatosomático; PFI, índice de grasa peritoneal; CF, factor de condición.

Diet	FI (g)	FCR	FER (%)	PER	HI (%)	PFI (%)	CF
40/10	55.69 ± 2.70	1.25 ± 0.04	79.12 ± 2.60	1.09 ± 0.05	1.49 ± 0.17	5.51 ± 1.03	0.88 ± 0.05
40/13	57.3 ± 3.70	1.01 ± 0.06	98.22 ± 6.50	1.40 ± 0.18	1.74 ± 0.28	6.41 ± 1.03	0.87 ± 0.03
46/10	56.77 ± 1.70	1.11 ± 0.10	89.79 ± 8.00	1.10 ± 0.09	1.49 ± 0.24	5.43 ± 0.78	0.83 ± 0.02
46/13	59.00 ± 6.40	1.23 ± 0.10	81.0 ± 6.60	1.03 ± 0.15	1.56 ± 0.18	6.47 ± 1.50	0.83 ± 0.03
52/10	54.13 ± 3.30	0.90 ± 0.06	109.84 ± 8.70	1.14 ± 0.14	1.50 ± 0.18	5.28 ± 0.86	0.89 ± 0.01
52/13	57.74 ± 7.40	1.08 ± 0.03	91.84 ± 2.60	1.01 ± 0.13	1.35 ± 0.18	6.27 ± 1.0	0.84 ± 0.02
58/10	65.53 ± 2.00	1.26 ± 0.10	79.11 ± 6.40	0.89 ± 0.09	1.30 ± 0.16	5.63 ± 1.01	0.86 ± 0.01
58/13	64.05 ± 9.20	1.18 ± 0.11	84.85 ± 8.50	0.93 ± 0.18	1.07 ± 0.17	5.77 ± 1.10	0.83 ± 0.02
Means of main effect							
Protein %							
40	56.50X	1.13Y	88.67X	1.25Y	1.62Z	5.96	0.88
46	57.92X	1.17Y	85.39X	1.06XY	1.52YZ	5.95	0.83
52	55.93X	0.99X	100Y	1.07XY	1.43Y	5.78	0.86
58	64.79Y	1.22Y	81.98X	0.91X	1.19X	5.70	0.84
Lipid %							
10	58.03	1.13	89.46	1.05	1.45	5.46A	0.86
13	59.54	1.13	88.97	1.09	1.43	6.25B	0.84
Two-way ANOVA (P value)							
Protein	0.0214	0.0015	0.0010	0.0053	0.0000	0.8481	0.1194
Lipid	0.4654	0.8487	0.8595	0.4609	0.6923	0.0031	0.1110
Interaction	0.8596	0.0020	0.0010	0.0604	0.0034	0.5498	0.7050

The results are the mean (mean ± SD) of 3 replicates ($n = 3$). Values in the same column with different letters are significantly different ($P < 0.05$). (Dietary protein = X, Y, Z; dietary lipid = A, B). ANOVA: analysis of variance.

the percentage of lipids in the diet increased. The content of protein in the diet also affected both parameters; the value of the GL was higher in the juveniles fed with the diets with 52% protein, and the value of the TG was significantly lower ($P < 0.05$) in the juveniles fed with the diets with 58% protein.

DISCUSSION

To be able to formulate balanced feeds and farm fish successfully, it is essential to determine the minimum requirements

diferencias significativas entre los diferentes niveles de proteína y lípidos en la dieta ($P > 0.05$).

Parámetros hematológicos

Los resultados de los parámetros hematológicos evaluados se muestran en la Tabla 4. De acuerdo con los resultados del ANDEVA de 2 vías, el nivel de proteína o lípidos en la dieta no influyó en el contenido de HB en los juveniles alimentados con los diferentes tratamientos ($P > 0.05$); el valor de HCT sí

of nutrients, such as protein and lipids, with which fish can achieve maximum growth and good health (NRC 2011). In the present study, we evaluated the effect of 4 protein levels (40%, 46%, 52%, and 58%) and 2 lipid levels (10% and 13%) on the growth of *C. viridis* juveniles. The results indicated that the protein and lipid levels evaluated did not affect the growth of juveniles of this species. Considering that *C. viridis* is a carnivorous fish (Macal-López et al. 2013), we expected growth to be higher in fish fed diets with high levels of protein (52%–58%), as has been reported for other snook species, such as *Centropomus parallelus* (de Souza et al. 2011,

fue afectado por el nivel de proteína independientemente del nivel de lípidos en la dieta. Los juveniles alimentados con las dietas con 40% de proteína obtuvieron el porcentaje más alto de HCT, y este fue significativamente diferente ($P < 0.05$) al obtenido con los juveniles alimentados con las dietas con 46% y 58% de proteína. El porcentaje de TP en el plasma de los juveniles de *C. viridis* fue afectado sólo por el nivel de proteína; los juveniles alimentados con las dietas con 40% de proteína obtuvieron mayor porcentaje de TP que el obtenido en los juveniles alimentados con las dietas con 46% y 58% de proteína ($P > 0.05$). El contenido de GL y TG en el

Table 4. Hematological parameters of juvenile white snook, *Centropomus viridis*, fed the experimental diets. HB, hemoglobin; HCT, hematocrit; TP, total protein; GL, glucose; TG, triglycerides.

Tabla 4. Parámetros hematológicos de juveniles de *Centropomus viridis* alimentados con las dietas experimentales. HB, Hemoglobina; HCT, hematocrito; TP, proteína total; GL, glucosa; TG, triglicéridos.

Diet	HB (g·dL ⁻¹)	HCT (%)	TP (g·dL ⁻¹)	GL (mg·dL ⁻¹)	TG (mg·dL ⁻¹)
40/10	18.10 ± 8.30	54.00 ± 4.90	7.24 ± 0.53	96.90 ± 2.90	371.56 ± 120.06
40/13	22.22 ± 4.40	56.10 ± 10.40	6.83 ± 0.67	103.70 ± 5.60	447.31 ± 95.10
46/10	18.23 ± 7.10	47.60 ± 6.80	5.76 ± 1.52	97.60 ± 3.80	292.56 ± 142.00
46/13	18.19 ± 7.00	46.20 ± 4.40	6.90 ± 0.49	100.20 ± 4.70	511.10 ± 61.14
52/10	23.37 ± 3.70	55.10 ± 6.30	7.02 ± 0.42	103.60 ± 3.80	242.12 ± 99.01
52/13	20.19 ± 9.20	46.60 ± 7.70	6.67 ± 0.23	105.90 ± 7.20	407.40 ± 26.91
58/10	24.29 ± 7.30	46.90 ± 7.10	6.30 ± 0.53	99.30 ± 4.50	161.41 ± 122.79
58/13	19.04 ± 7.80	44.00 ± 2.60	5.93 ± 0.67	100.30 ± 5.70	231.62 ± 100.25
Means of main effect					
Protein %					
40	20.16	55.06Y	7.04Z	100.29X	409.43Y
46	18.21	46.88X	6.33XY	98.88X	401.83Y
52	21.78	50.90XY	6.85YZ	104.77Y	324.76Y
58	21.66	45.43X	6.12X	99.75X	196.52X
Lipid %					
10	21.00	50.89	6.58	99.60A	284.46A
13	19.91	48.25	6.58	102.25B	381.80B
Two-way ANOVA (P-Value)					
Protein	0.4004	0.0003	0.0008	0.0030	0.0000
Lipid	0.5171	0.1045	1.0000	0.0258	0.0020
Interaction	0.2255	0.1508	0.0040	0.1437	0.0062

The results are the mean (mean ± SD) of 3 replicates ($n = 3$). Values in the same column with different letters are significantly different ($P < 0.05$). (Dietary protein = X, Y, Z; dietary lipid = A, B). ANOVA: analysis of variance.

Correia-Pinto and Pinto-Nunes 2021), *C. undecimalis* (Concha-Frías et al. 2018), and *Lates calcarifer* (Glencross 2006), and other carnivorous marine fish (NRC 2011, Bowyer et al. 2013, Teles et al. 2020, Steinberg 2022); however, the results obtained in this study are similar to those obtained for *C. undecimalis* by Gracia-López et al. (2003) and Arenas et al. (2021b), who reported good growth using diets with around 40% protein and 12% lipids. Likewise, to obtain optimal growth in other species of carnivorous fish, such as *Thymallus thymallus* (Rahimnejad et al. 2021), *Acanthopagrus berda* (Rahim et al. 2016), *Acanthopagrus schlegelli* (Wang et al. 2019), and *Cynoscion othonopterus* (Pérez-Velázquez et al. 2015), it has been suggested to feed them diets that contain 37%–40% protein and 9%–12% lipids. The present study did not verify the protein-sparing effect of dietary protein through lipids in the diet since no significant differences were obtained in the growth of *C. viridis* juveniles fed with the different treatments. The optimal protein/energy ratio in the diet allows the fish to utilize the highest amount of protein, just for growth (Ma et al. 2020). For most species of marine fish, the optimum ratio is between 20.00 and 32.00 mg·kJ⁻¹ (NRC 2011); the results of the protein/energy ratio in the diets of this study are within the recommended range. In relation to the FCR and FER obtained in the present study, it was observed that only the protein level had significant effects; the best FCR and FER were obtained with juveniles fed diets with 52% protein and both lipid levels. For *C. undecimalis* juveniles fed diets with 35%–50% protein and 5%–15% lipids, Catacutan and Coloso (1995) reported that the best FCR was obtained with a diet with 50% protein and 5% lipids; for this same species, Gracia-Lopez et al. (2003) reported that the best FCRs were obtained with diets with 40% and 53% protein. Regarding the PER, several authors have reported that it decreases when the level of protein in the diet increases, regardless of the lipid level (Catacutan and Coloso 1995, Ozorio et al. 2006, Bulut et al. 2014, Zhang et al. 2017, Wang et al. 2019, Arenas et al. 2021a), as was observed in this study. The PER reflects the efficiency of utilization and the quality of dietary protein (NRC 2011, Wang et al. 2021). In this study, the highest PER value was obtained with diets containing 40% protein, which could indicate that this protein level is adequate for protein synthesis by *C. viridis* juveniles and, possibly, for the inclusion of higher percentages of protein as an energy source, as has been observed in other species of marine fish, such as *Pomadasys commersonnii* (Hecht et al. 2003), *Melanogrammus aeglefinus* (Tibbets et al. 2005), *Epinephelus coioides* (Yan et al. 2020), *T. thymallus* (Rahimnejad et al. 2021), and *Sillago sihama* (Liu et al. 2021). Somatic indices such as HI, PFI, and CF are used to evaluate the response of fish to different nutritional conditions (Liu et al. 2021). This work showed that the HI decreased when the level of protein in the diet increased and that the level of lipids did not affect it; other authors have reported this negative correlation between HI and protein level for some species of marine fish (Tibbets et al. 2005, Grisdale-Helland et al. 2008, Chai et al.

plasma aumentó significativamente ($P < 0.05$) al aumentar el porcentaje de lípidos en la dieta. El contenido de proteína en la dieta también afectó ambos parámetros; el valor de la GL fue mayor en los juveniles alimentados con las dietas con 52% de proteína, y el valor de los TG fue significativamente menor ($P < 0.05$) en los juveniles alimentados con las dietas con 58% de proteína.

DISCUSIÓN

La determinación de los requerimientos mínimos de nutrientes, tales como proteína y lípidos, con los cuales los peces puedan alcanzar el máximo crecimiento y buen estado de salud es esencial para la formulación de alimentos balanceados y lograr el éxito del cultivo de peces (NRC 2011). En el presente estudio se evaluó el efecto de 4 niveles de proteína (40%, 46%, 52% y 58%) y 2 niveles de lípidos (10% y 13%) en el crecimiento de juveniles de *C. viridis*. Los resultados indicaron que los niveles de proteína y lípidos evaluados no afectaron el crecimiento de los juveniles de esta especie. Considerando que *C. viridis* es un pez carnívoro (Macal-López et al. 2013), se esperaba que el crecimiento fuera mayor en los peces alimentados con las dietas con altos niveles de proteína (52%–58%), como se ha reportado para otras especies de robalo, como *Centropomus parallelus* (de Souza et al. 2011, Correia-Pinto y Pinto-Nunes 2021), *C. undecimalis* (Concha-Frías et al. 2018) y *Lates calcarifer* (Glencross 2006), y otros peces marinos carnívoros (NRC 2011, Bowyer et al. 2013, Teles et al. 2020, Steinberg 2022); sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio son similares a los obtenidos para *C. undecimalis* por Gracia-López et al. (2003) y Arenas et al. (2021b), quienes reportaron un buen crecimiento con dietas con alrededor del 40% de proteína y el 12% de lípidos. Así mismo, para otras especies de peces carnívoros, tales como *Thymallus thymallus* (Rahimnejad et al. 2021), *Acanthopagrus berda* (Rahim et al. 2016), *Acanthopagrus schlegelli* (Wang et al. 2019) y *Cynoscion othonopterus* (Pérez-Velázquez et al. 2015), se ha sugerido alimentarlos con dietas que contengan niveles del 37%–40% de proteína y 9%–12% de lípidos para obtener un óptimo crecimiento. En el presente trabajo, no se pudo constatar el efecto ahorrador de proteína dietética a través de los lípidos en la dieta, debido a que no se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento de los juveniles de *C. viridis* alimentados con los diferentes tratamientos. La proporción de proteína/energía óptima en la dieta permite al pez utilizar la mayor cantidad de proteína, solo para el crecimiento (Ma et al. 2020). Para la mayoría de las especies de peces marinos, la proporción óptima oscila entre 20.00 y 32.00 mg·kJ⁻¹ (NRC 2011); los resultados de la relación proteína/energía en las dietas de este estudio se encuentran dentro de lo recomendado. En relación con las FCR y FER obtenidas en el presente estudio, se observó que solo el nivel de proteína tuvo un efecto significativo; las mejores FCR y FER se obtuvieron con los juveniles alimentados con

2013, Jiang et al. 2016, Li et al. 2017, Kokou et al. 2019). On the other hand, the PFI was not affected by the percentage of protein in the diet, but was affected by the lipid content; the highest PFI was observed with the highest level of lipids, which could suggest that fat deposition was significantly greater in the peritoneal cavity when the amount of lipids in the diet increased (NRC 2011, Wang et al. 2017, Correia-Pinto and Pinto-Nunes 2021).

Haematological parameters can provide information on nutritional status, digestive function, and routine metabolism of fish, and they act as non-specific biomarkers (Satheeshkumar et al. 2011, Ahmed et al. 2020). Malnutrition, even in the initial stages, can cause detectable alterations in the blood tissue of fish, mainly in the TP and GL parameters, which tend to be significantly lower or higher in response to nutritional conditions (Yoo et al. 2022). TP content could reflect protein absorption and metabolism in fish (Wang et al. 2019, 2021); the highest concentrations of TP in this study were obtained with diets with 40% protein, which could indicate that this level is adequate for *C. viridis* juveniles to carry out the digestion and absorption of proteins in the blood, and that higher levels of protein in the diet could have been improperly digested and not used by these organisms, as observed in *E. coioides* (Yan et al. 2020), *Thamnaconus septentrionalis* (Xu et al. 2021), and other species. Conversely, for other fish species, such as *N. diacanthus* (Li et al. 2017) and *A. schlegelii* (Wang et al. 2019), significantly higher TP values have been reported in fish fed with high levels of protein, indicating that these species require high levels of protein in the diet. In the present study, GL was significantly elevated in fish fed the highest lipid level. Rahimnejad et al. (2021) indicated that the increase in GL concentration in the serum of fish fed a high-fat diet could be associated with impaired GL homeostasis. The increase in GL concentration at higher lipid levels in this study agrees with that reported for *T. thymallus* (Rahimnejad et al. 2021), *Takifugu obscurus* females, and *Takifugu rubripes* males (Yoo et al. 2022). TG concentrations in the blood could be used as indicators to assess endogenous lipid transport (Ahmed et al. 2020). In the present work, the level of TG in the blood was higher in fish fed with the highest level of dietary lipids and lower in fish fed with the highest percentage of dietary protein, which may indicate that the transport of lipids was more active in the diets with the highest level of dietary lipids. Several authors have reported that the level of TG in the blood is inversely correlated with the protein content of food and positively correlated with the lipid content (Cho et al. 2015, Li et al. 2017, Wang et al. 2017, Xu et al. 2021, Yoo et al. 2022). To the best of our knowledge, there are no published reports on values of hematological parameters of *C. viridis* with which we can compare our results. Values of HB of 55%, HCT of 44%, GL of 64.2 mg·dL⁻¹, and TP of 4.7 mg·dL⁻¹ have been reported for *L. calcarifer* (Satheeshkumar et al. 2011); these values are similar to those obtained in the present study and are higher than those reported for fish species with sedentary

las dietas con 52% de proteína y ambos niveles de lípidos. Para juveniles de *C. undecimalis* alimentados con dietas con 35%-50% de proteína y 5%-15% de lípidos, Catacutan y Coloso (1995) reportaron que la mejor FCR se obtuvo con la dieta con 50% de proteína y 5% de lípidos; Gracia-López et al. (2003) reportaron, para esta misma especie, que las mejores FCR se obtuvieron con las dietas con 40% y 53% de proteína. En cuanto al PER, varios autores han reportado que disminuye al incrementar el nivel de proteína en la dieta, independientemente del nivel de lípidos (Catacutan y Coloso 1995, Ozorio et al. 2006, Bulut et al. 2014, Zhang et al. 2017, Wang et al. 2019, Arenas et al. 2021a), al igual que lo observado en este estudio. El PER refleja la eficiencia de utilización y la calidad de la proteína de la dieta (NRC 2011, Wang et al. 2021). En este estudio se obtuvo el valor más alto del PER con las dietas con 40% de proteína, lo cual puede indicar que este nivel de proteína es adecuado para la síntesis de proteína por parte de los juveniles de *C. viridis* y, posiblemente, para la inclusión de mayores porcentajes de proteína como fuente de energía, como ha sido observado en otras especies de peces marinos, como *Pomadasys commersonnii* (Hecht et al. 2003), *Melanogrammus aeglefinus* (Tibbets et al. 2005), *Epinephelus coioides* (Yan et al. 2020), *T. thymallus* (Rahimnejad et al. 2021) y *Sillago sihama* (Liu et al. 2021). Los índices somáticos como el HI, el PFI y el CF se utilizan como respuesta de los peces a diferentes condiciones nutricionales (Liu et al. 2021). En este trabajo, se observó que el HI disminuyó con el aumento del nivel de proteína en la dieta y no fue afectado por el nivel de lípidos; esta correlación negativa entre HI y el nivel de proteína ha sido reportada por otros autores para algunas especies de peces marinos (Tibbets et al. 2005, Grisdale-Helland et al. 2008, Chai et al. 2013, Jiang et al. 2016, Li et al. 2017, Kokou et al. 2019). Por otro lado, el PFI no fue afectado por el porcentaje de proteína en la dieta, pero sí por el contenido de lípidos; el mayor PFI se observó con el nivel más alto de lípidos, lo cual puede sugerir que hubo un depósito de grasa significativamente mayor en la cavidad peritoneal al aumentar la cantidad de lípidos en la dieta (NRC 2011, Wang et al. 2017, Correia-Pinto y Pinto-Nunes 2021).

Los parámetros hematológicos pueden proporcionar información sobre el estado nutricional, la función digestiva y el metabolismo de rutina de los peces; actúan como biomarcadores no específicos (Satheeshkumar et al. 2011, Ahmed et al. 2020). La desnutrición, aunque sea en etapas iniciales, puede provocar alteraciones que se detectan en el tejido sanguíneo de peces, principalmente en los parámetros de TP y GL, los cuales tienden a ser significativamente más bajos o altos en respuesta a las condiciones nutricionales (Yoo et al. 2022). El contenido de TP puede reflejar la absorción y el metabolismo de las proteínas en los peces (Wang et al. 2019, 2021); las concentraciones más altas de TP en este estudio se obtuvieron en las dietas con 40% de proteína, lo cual puede indicar que este nivel es adecuado para llevar a cabo la digestión y la absorción de proteínas

behavior. Filho et al. (1992) observed that active fish species, such as bass, have higher concentrations of HB and HCT in response to the high metabolic rates of these species.

According to the results obtained in the present study, it is concluded that, under the conditions of the present study, *C. viridis* juveniles can be fed with diets containing 40% protein, 10% lipids, and a protein/energy ratio of 20.69 mg·kJ⁻¹ to obtain adequate growth and feed efficiency without affecting their survival and their biometric and hematological indices. Future research is recommended to assess whether dietary protein requirements in juveniles of this species are below 40% and evaluate other dietary lipid levels to determine if there is a protein-sparing effect of dietary lipids.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Valerie Williams for writing the abstract in English, Juan Huerta for his technical support in the experiment, and the staff of the pilot plant of the Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo for the white bass juveniles they provided. The authors declare that there is no conflict of interest.

English translation by Claudia Michel-Villalobos.

REFERENCES

- Ahmed I, Reshi QM, Fazio F. 2020. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquac Int.* 28(3):869-899. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00501-3>
- Álvarez-Lajonchère LS, Tsuzuki M, Ibarra-Castro L. 2013. Cultivo de robalos, familia Centropomidae. In: Castello F (ed.), *Piscicultura Marina en Latinoamérica. Bases científicas y técnicas para su desarrollo*. Barcelona (Spain): Publicación i Edicions de la Universitat de Barcelona. p. 231-245.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 17th ed. Arlington: AOAC. 684 p.
- Arenas M, Álvarez-González A, Barreto A, Sánchez A, Cuzon G, Gaxiola G. 2021a. Evaluation of protein: lipid ratio on growth, feed efficiency, and metabolic response in juvenile yellowtail snapper *Ocyurus chrysurus* (Bloch, 1791). *LAJAR*. 49(2):329-341. <https://doi.org/10.3856/vol49-issue2-fulltext-2660>
- Arenas M, Álvarez-González CA, Barreto A, Sánchez-Zamora A, Suarez-Bautista J, Cuzon G, Gaxiola G. 2021b. Physiological and metabolic protein-sparing effects of dietary lipids on common snook *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) juveniles. *Aquacult Nutr.* 27(4):1089-1102. <https://doi.org/10.1111/anu.13250>
- Bowyer JN, Qin JG, Stone DAJ. 2013. Protein, lipid and energy requirements of cultured marine fish in cold, temperate and warm water. *Rev Aquac.* 5(1):10-32. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2012.01078.x>
- Bulut M, Yiğit M, Ergün S, Kesbiç OS, Acar Ü, Gültepe N, Karga M, Yilmaz S, Güroy D. 2014. Evaluation of dietary protein and lipid requirements of two-banded seabream (*Diplodus vulgaris*) cultured in a recirculating aquaculture system. *Aquac Int.* 22(3):965-973. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9720-z>
- en la sangre por los juveniles de *C. viridis*, y los niveles más altos de proteínas en la dieta tal vez no pudieron digerirse y utilizarse adecuadamente por estos organismos, como fue observado en *E. coioides* (Yan et al. 2020), *Thamnaconus septentrionali* (Xu et al. 2021) y otras especies. En cambio, se han reportado valores significativamente más altos de TP en peces alimentados con altos niveles de proteína, como *N. diacanthus* (Li et al. 2017) y *A. schlegelii* (Wang et al. 2019), lo que indica que estas especies requieren niveles altos de proteína en la dieta. En el presente estudio, la GL se elevó significativamente en los peces alimentados con el nivel más alto de lípidos. Rahimnejad et al. (2021) mencionaron que el incremento de la concentración de GL en el suero de los peces alimentados con una dieta alta en grasas podría estar asociado al deterioro de la homeostasis de la GL. El incremento de la concentración de la GL a mayor nivel de lípidos en este estudio concuerda con lo reportado para *T. thymallus* (Rahimnejad et al. 2021) y hembras de *Takifugu obscurus* y machos de *Takifugu rubripes* (Yoo et al. 2022). Las concentraciones de TG en la sangre se podrían utilizar como indicadores para evaluar el transporte endógeno de los lípidos (Ahmed et al. 2020). En el presente trabajo, el nivel de TG en la sangre fue mayor en los peces alimentados con el nivel más alto de lípidos en la dieta y menor en los peces alimentados con el mayor porcentaje de proteína dietética, lo cual puede indicar que el transporte de lípidos fue más activo en las dietas con mayor nivel de lípidos dietéticos. Varios autores han reportado que el nivel de TG en la sangre tiene una relación inversa con el contenido de proteína del alimento y una relación positiva con el contenido de lípidos (Cho et al. 2015, Li et al. 2017, Wang et al. 2017, Xu et al. 2021, Yoo et al. 2022). Hasta donde sabemos, no existen reportes publicados sobre valores de los parámetros hematológicos de *C. viridis* con los cuales podamos comparar nuestros resultados. Para *L. calcarifer*, se han reportado valores de HB del 55%, HCT del 44%, GL de 64.2 mg·dL⁻¹ y TP de 4.7 mg·dL⁻¹ (Satheeshkumar et al. 2011); estos valores son similares a los obtenidos en el presente estudio y son más altos que los reportados para especies de peces con comportamiento sedentario. Filho et al. (1992) observaron que las especies de peces activas, como los robalos, presentan concentraciones más altas de HB y HCT como respuesta a las altas tasas metabólicas que tienen estas especies.
- De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio, se concluye que los juveniles de *C. viridis* se pueden alimentar con dietas que contengan 40% de proteína, 10% de lípidos y una relación proteína/energía de 20.69 mg·kJ⁻¹ para obtener un crecimiento y una eficiencia alimenticia adecuados sin afectar su supervivencia ni sus índices biométricos y hematológicos, bajo las condiciones del presente estudio. Se recomiendan futuras investigaciones para evaluar si las necesidades de proteína dietética en los juveniles de esta especie están por debajo del 40% y evaluar otros niveles de lípidos en la dieta para determinar si existe un efecto ahorrador de proteínas por parte de los lípidos dietéticos.

- Catacutan MR, Coloso RM. 1995. Effect of dietary-protein to energy ratios on growth, survival, and body-composition of juvenile Asian sea-bass, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 131(1-2):125-133.
[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00358-u](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00358-u)
- Chai XJ, Ji WX, Han H, Dai YX, Wang Y. 2013. Growth, feed utilization, body composition and swimming performance of giant croaker, *Nibea japonica* Temminck and Schlegel, fed at different dietary protein and lipid levels. *Aquacult Nutr*. 19(6):928-935.
<https://doi.org/10.1111/anu.12038>
- Cho J-H, Lee S, Lee B-J, Hur S-W, Kim K-W, Son M-H, Yoo D-J. 2021. A preliminary study of dietary protein requirement of juvenile marbled flounder (*Pseudopleuronectes yokohamae*). *Anim Nut*. (2):548-555.
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.11.009>
- Cho SH, Kim HS, Myung SH, Jung W-G, Choi J, Lee S-M. 2015. Optimum dietary protein and lipid levels for juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*, Hilgendorf 1880). *Aqua Res*. 46(12):2954-2961.
<https://doi.org/10.1111/are.12450>
- Concha-Frías B, Álvarez-González CA, Gaxiola G, Chiappa X, Sánchez-Zamora A, Martínez-García R, Camarillo-Coop S, Peña E, Jiménez-Martínez LD, de la Cruz-Alvarado FJ. 2018. Dietary protein requirement in common snook (*Centropomus undecimalis*) juveniles reared in marine and brackish water. *Ecosis Rec Agrop*. 5(13):45-54.
<https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1393>
- Correia-Pinto RC, Pinto-Nunes AJ. 2021. Growth of juveniles of the fat snook, *Centropomus parallelus*, in response to dietary lipid, energy and protein. *Arq Ciên Mar*. 54(2):7-23.
<https://doi.org/10.32360/acmar.v54i2.43201>
- Dai Y-J, Jiang G-Z, Yuan X-Y, Liu W-B. 2018. High-fat-diet-induced inflammation depresses the appetite of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) through the transcriptional regulation of leptin/mammalian target of rapamycin. *Br J Nut*. 120(12):1422-1431.
<https://doi.org/10.1017/s000711451800288x>
- De Souza JH, Machado-Fracalossi D, Sachsida-Garcia AS, Furtado-Ribeiro F, Tsuzuki MY. 2011. Desempenho zootécnico e econômico de juvenis de robalo-peva alimentados com dietas contendo diferentes concentrações proteicas = Growth and economic performance of juvenile fat snook fed diets containing different protein levels. *Pesq Agropec Bras*. 46(2):190-195.
<https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000200011>
- Del Rio-Zaragoza OB, Fájér-Ávila EJ, Almazán-Rueda P, Abdo-de la Parra MI. 2011. Hematological characteristics of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) healthy and naturally infected by dactylogyrid monogeneans. *Tissue Cell*. 43(3):137-142.
<https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.01.002>
- Filho DW, Eble GJ, Kassner G, Caprario FX, Dafre AL, Ohira M. 1992. Comparative hematology in marine fish. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol Part A Physiol*. 102(2):311-321.
[https://doi.org/10.1016/0300-9629\(92\)90141-c](https://doi.org/10.1016/0300-9629(92)90141-c)
- Fischer W, Krupp F, Schneider W, Sommer C, Carpenter KE, Niem UH. 1995. Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacífico Centro-Oriental. Rome (Italy): Food and Agriculture Organization of the United Nations. 1200 pp.
- Glencross B. 2006. The nutritional management of barramundi, *Lates calcarifer* - a review. *Aquacult Nutr*. 12(4):291-309.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00410.x>
- González-Félix ML, Manjarrez-Osorio C, Pérez-Velázquez M, Urquidez-Bejarano P. 2015. Influence of dietary lipid on growth performance and body composition of the Gulf corvina, *Cynoscion othonopterus*. *Aquaculture*. 448:401-409.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.031>
- AGRADECIMIENTOS**
- Los autores agradecen a Valerie Williams la redacción del resumen en inglés, a Juan Huerta su apoyo técnico en el experimento y al personal de la planta piloto del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo los juveniles de robalo blanco que proporcionaron. Los autores manifiestan que no existe algún conflicto de intereses.
-
- Gracia-López V, García-Galano T, Gaxiola-Cortes G, Pacheco-Campos J. 2003. Efecto del nivel de proteína en la dieta y alimentos comerciales sobre el crecimiento y la alimentación en juveniles del robalo blanco, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792) = Effect of dietary protein level and commercial feeds on growth and feeding of juvenile common snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch, 1792). *Cienc Mar*. 29(4B):585-594.
<https://doi.org/10.7773/cm.v29i42.198>
- Grafiuna-de Carvalho MA, Loureiro-Fernandes LF, de Carvalho-Gomes L. 2017. Digestibility, protein retention rate and ammonia excretion in juvenile fat snook (*Centropomus parallelus*) fed with different protein levels. *Cienc Rural*. 47(7).
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160369>
- Grisdale-Helland B, Shearer K, Gatlin D, Helland S. 2008. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, protein digestibility, feed utilization and body composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*. 283(1-4):156-162.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.013>
- Han T, Li X, Wang J, Hu S, Jiang Y, Zhong X. 2014. Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition of juvenile giant croaker *Nibea japonica*. *Aquaculture*. 434:145-150.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.08.012>
- Hecht T, Irish A, Sales J. 2003. Effect of protein level and varying protein - Lipid concentrations on growth characteristics of juvenile spotted grunter *Pomadasys commersonnii* (Haemulidae). *Afr J Mar Sci*. 25:283-288.
<https://doi.org/10.2989/18142320309504017>
- Ibarra-Castro L, Navarro-Flores J, Sánchez-Téllez JL, Martínez-Brown JM, Ochoa-Bojórquez LA, Rojo-Cebreros AH. 2017. Hatchery production of Pacific white snook at CIAD-Unity Mazatlan, Mexico. *World Aquaculture*. 48(3):25-29.
- Jiang S, Wu X, Luo Y, Wu M, Lu S, Jin Z, Yao W. 2016. Optimal dietary protein level and protein to energy ratio for hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* female x *Epinephelus lanceolatus* male) juveniles. *Aquaculture*. 465:28-36.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.030>
- Khan KU, Rodrigues AT, Mansano CFM, Queiroz DMD, Sakomura NK, Romaneli RD, do Nascimento TMT, Fernandes JBK. 2019. Dietary protein quality and proper protein to energy ratios: a bioeconomic approach in aquaculture feeding practices. *Lat Am J Aquat Res*. 47(2):232-239.
<https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-3>
- Kokou F, Henry M, Nikoloudaki C, Kounna C, Vasilaki A, Fountoulaki E. 2019. Optimum protein-to-lipid ratio requirement of the juvenile shi drum (*Umbrina cirrosa*) as estimated by nutritional and histological parameters. *Aquacult Nutr*. 25(2):444-455.
<https://doi.org/10.1111/anu.12870>
- Labastida-Che A, Núñez-Orozco AL, Oviedo-Piamonte JA. 2013. Aspectos biológicos del robalo hocicudo *Centropomus viridis*, en el sistema lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *Cien Pesq*. 21(2):21-28.

- Li W, Wen X, Huang Y, Zhao J, Li S, Zhu D. 2017. Effects of varying protein and lipid levels and protein-to-energy ratios on growth, feed utilization and body composition in juvenile *Nibea diacanthus*. *Aquacult. Nutr.* 23(5):1035-1047. <https://doi.org/10.1111/anu.12471>
- Liu H, Dong X, Tan B, Du T, Zhang S, Yang Y, Chi S, Yang Q, Liu H. 2021. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, body composition, enzymes activity, expression of IGF-1 and TOR of juvenile northern whiting, *Sillago sihama*. *Aquaculture*. 533:736166. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736166>
- Ma B, Wang L, Lou B, Tan P, Xu D, Chen R. 2020. Dietary protein and lipid levels affect the growth performance, intestinal digestive enzyme activities and related genes expression of juvenile small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*). *Aquac. Rep.* 17:100403. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100403>
- Macal-López K, Velázquez-Velázquez E, Rivera-Velázquez G. 2013. Diversidad y Traslape de nicho trófico de los robalos (Perciformes:Centropomidae) en la Reserva de la Biósfera la Encrucijada, Chiapas, México. *Lacandonia*. 7(1):91-98.
- [NRC] National Research Council. 2011. *Nutrient Requirements of fish and shrimp*. Washington DC: The National Academies Press. 376 p.
- Ozorio ROA, Valente LMP, Pousao-Ferreira P, Oliva-Teles A. 2006. Growth performance and body composition of white seabream (*Diplodus sargus*) juveniles fed diets with different protein and lipid levels. *Aquac. Res.* 37(3):255-263. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01427.x>
- Pérez-Velázquez M, González-Félix M, Viana MT, Lazo-Corvera JP, Maldonado-Othón CA. 2015. Effects of dietary protein and lipid levels on growth and body composition of the Gulf corvina, *Cynoscion othonopterus*. *Int J Aqua Sci.* 6(2):11-28.
- Rahim A, Abbas G, Ferrando S, Gallus L, Ghaffar A, Mateen A, Hafeez-ur-Rehman M, Waryani B. 2016. Effects of varying dietary protein level on growth, nutrient utilization and body composition of juvenile blackfin sea bream, *Acanthopagrus berda* (Forsskal, 1775). *Pak J Zool.* 48(4):1089-1097.
- Rahimnejad S, Dabrowski K, Izquierdo M, Malinovskyi O, Kolářová J, Policar T. 2021. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, body composition, blood biochemistry, antioxidant capacity and ammonia excretion of European grayling (*Thymallus thymallus*). *Front Mar Sci.* 8:715636. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.715636>
- Sargent JR, Tocher DR, Bell JG. 2002. The lipids. In: Halver JE, Hardy RW (eds.), *Fish Nutrition*. New York: Academic Press. p. 181-257.
- Satheeshkumar P, Senthilkumar D, Ananthan G, Soundarapandian P, Bhaseer-Khan A. 2011. Measurement of hematological and biochemical studies on wild marine carnivorous fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comp Clin Pathol.* 20:127-134. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-0966-9>
- Steinberg CEW. 2022. *Aquatic Animal Nutrition*. Chapter 2, Protein Requirement—'Only Meat Makes You Strong'. Cham (Switzerland): Springer. p. 11-41. https://doi.org/10.1007/978-3-030-87227-4_2
- Teles AO, Couto A, Enes P, Peres H. 2020. Dietary protein requirements of fish—a meta-analysis. *Rev Aquac.* 12(3):1445-1477. <https://doi.org/10.1111/raq.12391>
- Tibbetts SM, Lall SP, Milley JE. 2005. Effects of dietary protein and lipid levels and DP DE-1 ratio on growth, feed utilization and hepatosomatic index of juvenile haddock, *Melanogrammus aeglefinus* L. *Aquacult. Nutr.* 11(1):67-75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00326.x>
- Tocher DR. 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev Fish Sci.* 11(2):107-184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Wang JT, Han T, Li XY, Yang YX, Yang M, Hu SX, Jiang YD, Harpaz S. 2017. Effects of dietary protein and lipid levels with different protein-to-energy ratios on growth performance, feed utilization and body composition of juvenile red-spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Aquacult. Nutr.* 23(5):994-1002. <https://doi.org/10.1111/anu.12467>
- Wang J, Huang R, Han T, Zheng P, Xu H, Su H, Wang Y. 2021. Dietary protein requirement of juvenile spotted knifejaw *Oplegnathus punctatus*. *Aquac. Rep.* 21:100874. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100874>
- Wang L, Zhang W, Gladstone S, Ng W-K, Zhang J, Shao Q. 2019. Effects of isoenergetic diets with varying protein and lipid levels on the growth, feed utilization, metabolic enzymes activities, antioxidative status and serum biochemical parameters of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture*. 513:734397. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734397>
- Wu X, Gatlin DM III. 2014. Effects of altering dietary protein content in morning and evening feedings on growth and ammonia excretion of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*. 434:33-37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.07.019>
- Xu Z, Zhang P, Chang Q, Chen S, Bian L, Wang Z. 2021. Effects of dietary protein and lipid levels on growth performance, muscle composition, immunity index and biochemical index of the greenfin horse-faced filefish (*Thamnaconus septentrionalis*) juvenile. *J Ocean Univ China.* 20(5):1245-1252. <https://doi.org/10.1007/s11802-021-4885-y>
- Yan X, Yang J, Dong X, Tan B, Zhang S, Chi S, Yang Q, Liu H, Yang Y. 2020. The optimal dietary protein level of large-size grouper *Epinephelus coioides*. *Aquac. Nut.* 26(3):705-714. <https://doi.org/10.1111/anu.13030>
- Yoo GY, Park IS, Lee S. 2022. Effects of graded dietary lipid levels on growth performance, fatty acid profile, and hematological characteristics of hybrid pufferfish (*Takifugu obscurus* x *T. rubripes*) juveniles. *Aquac. Rep.* 24:101120. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101120>
- Zhang Y, Sun Z, Wang A, Ye C, Zhu X. 2017. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, body and plasma biochemical composition and selective gene expression in liver of hybrid snakehead (*Channa maculata* female x *Channa argus* male) fingerlings. *Aquaculture*. 468(Part 1):1-9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.052>
- Zhang Y, Lu R, Qin CB, Nie G. 2020. Precision nutritional regulation and aquaculture. *Aquac. Rep.* 18:100496. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100496>