

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS**



**BALANCE ENERGÉTICO DE LOS ESTADIOS LARVARIOS DE
CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*, BOONE) CON
LA DIETA TRADICIONAL Y CON OTRA NO TRADICIONAL**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS PECUARIAS**

PRESENTA

PABLO PIÑA VALDEZ

Xalisco, Nayarit. México, agosto de 2004

DEDICATORIA

A

TODOS

LOS

QUE

FORMAN

PARTE

DE

MI

FAMILIA

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, particularmente a la Facultad de Ciencias del Mar por el permiso y las facilidades otorgadas.

A mi Director de Tesis, Domenico Voltolina, un especial reconocimiento por toda la paciencia, la experiencia y la dedicación vertidas en la elaboración de este trabajo.

A mi Codirectora, Dra. Beatriz Cordero Esquivel por su desinteresado y sincero apoyo durante mi estancia en el CICESE y por sus acertadas sugerencias en el desarrollo de la Tesis.

A mis tutores-asesores, Dres. Elaine Espino Barr, María de Lourdes Robledo Marengo y Mario Nieves Soto por sus minuciosas revisiones y críticas para que el escrito final fuera mejor.

A nuestra Secretaria L.A.E. y C.P. Beatriz Elena García Llamas por todo el apoyo en la teclada del escrito.

Al personal y a los tesisistas del laboratorio que contribuyeron con su valiosa colaboración en este proyecto: los M. en C. María Alejandra Medina Jasso, Rocío Salazar Rojas y Cesar Orlando Chavira Ortega; al B.P. Martín Alejandro Guerrero Ibarra y los B.A. Bárbara Guadalupe Rodríguez García, Irma de Jesús Villalobos Lazcano, Irasema Elizabeth Luis Villaseñor, Gonzalo Abundis Torres, Luis Ramos Brito, Otoniel Tovar Guillén y Jorge Alberto Ulloa Moreno.

Al Laboratorio Interinstitucional UAS-CIBNOR, al proyecto CONACyT 38232-B y al proyecto interno del CIBNOR AC1.4 por el apoyo logístico.

A la Facultad de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, particularmente al Dr. Arturo Aguirre Hernández, Coordinador del PICP-Nayarit y a la Lic. Yulma Isabel López García por el apoyo administrativo incondicional y sin restricciones, que siempre mostraron.

A las empresas Maricultura del Pacífico S.A. de C.V. y PROLAMAR S.A. de C.V. por su donación de los lotes de larvas que se usaron en los experimentos.

A PROMEP por la beca económica otorgada durante tres años de tesis de doctorado.

RESUMEN

El crecimiento de los organismos mantenidos en una determinada situación ambiental puede ser medido directamente mediante pruebas de largo plazo, o estimado con el balance energético de las diferentes fases de su ciclo de vida determinado con experimentos de corto plazo, los cuales tienen la ventaja adicional que este tipo de pruebas permite determinar la eficiencia con la cual los organismos utilizan su dieta y los porcentajes de la energía absorbida que canalizan a su metabolismo y a su crecimiento.

El desarrollo de la acuicultura depende de la disponibilidad de juveniles de calidad adecuada para su siembra en los sistemas de engorda, que se cultivan en laboratorios especializados. En particular, el camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* es la especie más importante para la camaronicultura mexicana y sus larvas se cultivan utilizando como alimento microalgas, principalmente *Chaetoceros* spp., para los tres estadios de zoea, y nauplios de *Artemia* complementados con esta misma microalga para los tres siguientes subestadios de mysis, pero se desconoce el balance energético de su desarrollo larvario, el cual pudiera servir también para verificar si los nauplios de *Artemia*, cuya disponibilidad constituye un cuello de botella para esta actividad, pueden ser sustituidos por otro tipo de presas.

En este trabajo se evaluó el balance energético parcial y global del desarrollo larvario de *L. vannamei* desde el primer subestadio de zoea hasta la aparición de las primeras postlarvas, utilizando para el estadio de zoea el alimento tradicional (*Chaetoceros muelleri*), que fue complementado con nauplios de *Artemia* o con el rotífero *Brachionus plicatilis* para las tres etapas de mysis, y el crecimiento calculado mediante el balance energético de las varias etapas se comparó con el que se obtuvo mediante pruebas de cultivo realizadas con los mismos cuatro lotes de organismos experimentales.

En los experimentos de corto plazo se determinaron en términos de energía (en J) las tasas de ingestión (I) y de asimilación del alimento (A), el campo de crecimiento (G), los costos metabólicos y de mantenimiento, el contenido de energía en la exuvia (E_x), así como la parte del alimento desechada en las heces (H) y el balance se expresó mediante la ecuación:

$$I = G + E_x + R + U + H$$

Para el estadio de zoea el balance de energía estimado fue:

$$11.61 = 2.51 + 0.10 + 2.92 + 0.18 + 5.90$$

Para mysis alimentadas con nauplios de *Artemia* el balance energético fue:

$$18.78 = 10.77 + 0.43 + 2.89 + 0.22 + 4.47$$

Y cuando éstas se alimentaron con rotíferos el balance que se obtuvo fue:

$$17.91 = 10.03 + 0.40 + 2.99 + 0.24 + 4.25$$

En zoea la ingestión por unidad de biomasa y por hora disminuyó en forma progresiva con el desarrollo larvario; en mysis alimentadas con *Artemia* aumentó de 3.0 a 3.5 KJ·g⁻¹, y varió de 3.2 a 2.6 KJ·g⁻¹ en el caso de las alimentadas con rotíferos. El total de energía canalizada al campo de crecimiento desde zoea I hasta mysis III con la dieta de microalgas-*Artemia* fue de 13.28 J·org⁻¹ y con la dieta alternativa llegó a ser de 12.54 J·org⁻¹.

Los experimentos de cultivo duraron 114 horas hasta mysis I, y 90 horas adicionales para obtener la primera postlarva con las dos dietas. Al final de los experimentos, la talla de 3.69 mm para la dieta de rotíferos resultó estadísticamente mayor a la de 3.44 mm que se estimó para las larvas alimentadas con *Artemia*. Considerando todo el desarrollo larvario desde nauplio V hasta postlarva 1, los incrementos en peso seco y en contenido energético fueron mayores en las larvas suministradas con rotíferos con 90.35 μ g y 1.98 J·larva⁻¹ en comparación con 79.53 μ g y 1.85 J·larva⁻¹ en el caso de las alimentadas con *Artemia*, demostrando que los experimentos de corto plazo sobrestiman el crecimiento real en un orden de magnitud. Asimismo cuando las tasas de respiración y de excreción amoniacal se retrocalcularon para éstos últimos experimentos se obtuvo una sobrestimación para las zoeas y una subestimación en las mysis causadas probablemente por variaciones en la disponibilidad de alimento, en la permanencia en el tracto digestivo y en la eficiencia de absorción.

SUMMARY

The growth of organisms kept in a given environmental situation may be measured directly with long-term experiments, or estimated from the energy budget determined for each stage of their life cycle using short-term experiments, with the added advantage that these allow an evaluation of the feeding efficiency of the target organisms, and of the relative amounts of the absorbed energy which are channeled into metabolism and growth.

The success of aquaculture depends on the availability of juveniles with a quality adequate for growout in outdoor conditions, which are grown in specialized hatcheries. In these, the larvae of *Litopenaeus vannamei*, which is the most important species for mexican commercial aquaculture, are usually fed the microalgae *Chaetoceros* spp. during the three zoea substages, and *Artemia* nauplii with a complement of the same microalga throughout the mysis stage. However, there is no information on the energy budget of the larval development of this species, which could be used also to determine if the rotifer *Brachionus plicatilis* may be used as an alternative to *Artemia* nauplii, whose limited availability may become a bottleneck for mexican commercial shrimp culture.

The energy budget of the larval development of *L. vannamei* whose obtained with short-term experiments for each larval substages, using as food traditional *Chaetoceros muelleri* during the three zoea substages, and with *Artemia* nauplii or *B. plicatilis* throughout the mysis stage. At the end, the growth estimated from the energy budget was compared to that obtain culture experiment run with the same for batches of larvae used for the short-term trials. The rates of ingestion, absorption, respiration and ammonia excretion, were used to calculate the energy budget (in J) for each developmental stage, assuming 4% of the absorbed energy for exuviae, using the equation:

$$I = G + E_e + R + U + H$$

Where I = ingestion, A = absorption and H = energy loss in faeces, G = scope for growth, E_e = Exuviae and R and U = metabolic rates of respiration and ammonia excretion. The resulting equation for the three zoea substages was:

$$11.61 = 2.51 + 0.10 + 2.92 + 0.18 + 5.90$$

For *Artemia*-fed mysis:

$$18.78 = 10.77 + 0.43 + 2.89 + 0.22 + 4.47$$

And when rotifers were used as an alternative diet:

$$17.91 = 10.03 + 0.40 + 2.99 + 0.24 + 4.25$$

The ingestion rate per unit biomass decreased progressively, with increasing development during the zoea stage, increased from 3.0 to 3.5 $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ for *Artemia*-fed mysis and varied from 3.2 to 2.6 $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ with *B. plicatilis*. According to the results of short-term experiments, the total energy devoted to growth from zoea I to the time of moulting into postlarve I would be 13.28 $\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$ and 12.54 $\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$ with *Artemia* and rotifer-fed larvae, respectively.

In the growth experiments, the duration of the zoea stage to mysis I was 114 h, with an additional 90 h to the end of mysis III, without any difference due to diets. Total weight, as well as energy gains throughout the whole larval development, were higher with rotifers (90.35 μg and 1.98 $\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$) than with *Artemia* (79.53 μg and 1.85 $\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$), showing that the results of short-term experiments overestimate real growth by close to an order of magnitude. In addition, if respiration and excretion rates were back-calculated from real growth and assimilation, the results were an overestimation for the herbivorous zoea stages, and an underestimation for mysis, which is mainly carnivorous, probably due to the progressive changes in food availability, which caused variations in the retention time in the gut and in the absorption efficiency of the two types of diet.

ÍNDICE

	PÁGINA
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. HIPÓTESIS	13
I.2. OBJETIVOS	13
II. ANTECEDENTES	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
III.1. CULTIVOS DE APOYO	20
III.1.1. MICROALGAS	20
III.1.2. ROTÍFEROS	24
III.1.3. OBTENCIÓN DE NAUPLIOS DE <i>Artemia</i>	27
III.2. CULTIVOS LARVIARIOS	30
III.2.1. EXPERIMENTOS DE CORTO PLAZO	31
III.2.2. EXPERIMENTOS DE LARGO PLAZO	34
IV. RESULTADOS	38
IV.1. CULTIVOS DE APOYO	38
IV.2. PESO DE LAS LARVAS DE <i>Litopenaeus vannamei</i>	42
IV.3. EXPERIMENTOS DE CORTO PLAZO	43
IV.3.1. TASA DE INGESTIÓN	43
IV.3.2. EFICIENCIA DE ASIMILACIÓN Y ALIMENTO ASIMILADO	48
IV.3.3. RESPIRACIÓN	53
IV.3.4. EXCRECIÓN AMONICAL	55
IV.3.5. COSTOS METABÓLICOS Y PROPORCIÓN O:N	57
IV.3.6. BALANCE ENERGÉTICO	59
IV.4. EXPERIMENTOS DE LARGO PLAZO	62
IV.4.1. SOBREVIVENCIA	62
IV.4.2. DESARROLLO LARVIARIO	65
IV.4.3. CRECIMIENTO	67
IV.4.3.1. TALLA	67
IV.4.3.2. PESO Y TASAS DE CRECIMIENTO	69
IV.4.4. CONSUMO DE ALIMENTO	73
IV.4.5. BALANCE ENERGÉTICO	76
V. DISCUSIÓN	80
VI. CONCLUSIONES	92
VII. BIBLIOGRAFÍA	95
VIII. ANEXOS	113

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página	
1	Valores promedio y desviación estándar de pH, densidad óptica (DO), concentración de organismos (N, en 10^6 org·ml ⁻¹ y en org·ml ⁻¹), peso seco unitario (PSU, en pg·org ⁻¹ y en μ g·org ⁻¹) peso orgánico unitario (POU, en pg·org ⁻¹ y en μ g·org ⁻¹) y materia inorgánica (M.I.) en porcentajes, para la microalga <i>Chaetoceros muelleri</i> , el rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> o el nauplio de <i>Artemia</i> , respectivamente.	39
2	Valores promedio y desviación estándar del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P, C y L, respectivamente), en pg·cel ⁻¹ para <i>C. muelleri</i> , y en μ g·org ⁻¹ para <i>B. plicatilis</i> y nauplio de <i>Artemia</i> ; E (PS) y E (PO): contenido energético por unidad de peso seco y orgánico, ambos en KJ·g ⁻¹ .	41
3	Valores promedio y respectiva desviación estándar de los pesos seco y orgánico unitarios (PSU y POU, en μ g·lar ⁻¹) y porcentajes de materia inorgánica (M.I.) de las larvas zoea y mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> usadas para los experimentos de corto plazo.	42
4	Ingestión horaria promedio y desviación estándar para cada subestadio de zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i> , en número de células de <i>Chaetoceros muelleri</i> , en unidades de peso seco total y en unidades de energía por individuo (A), o por unidad de peso seco total de larvas (B). Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios, para cada variable de respuesta (análisis de varianza de una vía, $\alpha = 0.05$).	44
5	Ingestión media y desviación estándar para cada subestadio de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> , en número de células y de organismos, en unidades de peso seco total y de energía, por individuo (A) y por unidad de peso seco total de larvas (B) y por unidad de tiempo. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Letras iguales o comunes indican falta de diferencia significativa entre datos en la misma línea (análisis de varianza de dos vías, $\alpha = 0.05$).	48

CONTINUACIÓN DE ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
6	Eficiencia de asimilación (EA%) promedio y desviación estándar para cada subestadio de zoea (análisis de varianza de una vía, $\alpha=0.05$) (A) y de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> (análisis de varianza de dos vías, $\alpha=0.05$) (B). Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Letras diferentes indican diferencias significativas.	49
7	Asimilación horaria promedio y desviación estándar por subestadio de zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i> , en unidades de peso seco de <i>Chaetoceros muelleri</i> y de energía por individuo (A) y por unidad de peso seco de larvas (B). Letras diferentes indican diferencias significativas entre datos en la misma línea (ANAVA de una vía, $\alpha=0.05$).	50
8	Asimilación media y desviación estándar por subestadio de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> , en unidad de peso seco y de energía por individuo (A) y por unidad de peso seco de larvas (B), y por unidad de tiempo. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (análisis de varianza de dos vías, $\alpha=0.05$).	52
9	Consumo promedio de oxígeno y desviación estándar de las tres etapas de zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i> . Los resultados se dan en $\mu\text{g O}_2$ y en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg O_2 y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos en la misma línea (análisis de varianza no paramétrica de una vía, $\alpha=0.05$).	53
10	Consumo promedio de oxígeno y desviación estándar para las tres etapas de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Los datos se dan en $\mu\text{g O}_2$ y en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg O_2 y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de dos vías, $\alpha=0.05$).	55

CONTINUACIÓN DE ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
11	Valores promedio y desviación estándar de la tasa de excreción de amonio de las tres etapas de zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i> . Los datos se dan en μg de N-NH_4^+ y en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg de N-NH_4^+ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales indican falta de diferencias significativas (ANOVA de una vía, $\alpha=0.05$).	56
12	Valores promedio y desviación estándar de la excreción de amonio para las tres etapas de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Los datos se dan en μg de N-NH_4^+ y en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg de N-NH_4^+ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANOVA de dos vías, $\alpha=0.05$).	57
13	Gasto energético total por respiración y excreción en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco y razón (átomo:átomo) O:N de las fases de zoea I, II y III de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	58
14	Gasto energético total por respiración y excreción en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco y razón (átomo:átomo) O:N de las fases de mysis I, II y III de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot).	59
15	Tiempo (en horas) de duración de las tres fases de zoea y campo de crecimiento horario (G) y global (GT) calculado por larva (A) y normalizado en unidades de energía por gramo de peso seco de larvas (B). K_1 y K_2 : porcentajes de eficiencias de utilización de alimento ingerido y asimilado, respectivamente.	60
16	Tiempo (en horas) de duración de las tres fases de mysis y campo de crecimiento horario (G) y global (G_T) calculado por larva (A) y normalizado en unidades de energía por gramo de peso seco de larvas (B). K_1 y K_2 : porcentajes de eficiencias de utilización de alimento ingerido y asimilado respectivamente. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot).	61

CONTINUACIÓN DE ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
17	Sobrevivencia promedio (en %) y respectiva desviación típica durante los experimentos de cultivo de larvas zoea y mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> . ma: zoea alimentadas con <i>Chaetoceros muelleri</i> ; ma+nau: mysis alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> ; ma+rot: mysis alimentadas con microalgas y el rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> . Letras iguales indican falta de diferencias significativas (prueba para dos muestras de t Student, $p > 0.05$).	65
18	Tallas (en mm) y tasas de crecimiento (en mm·día ⁻¹) medias y respectiva desviación estándar de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con nauplios de <i>Artemia</i> y con rotíferos <i>Brachionus plicatilis</i> (prueba para dos muestras t-Student, $\alpha = 0.05$).	68
19	Valores medios y desviación estándar de los pesos secos total y orgánico (PS y PO) y del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P, C y L), en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$ de los nauplio V y zoea I a III de <i>Litopenaeus vannamei</i> . E: contenido energético en $\text{J}\cdot\text{larva}^{-1}$.	69
20	Medias y desviación estándar de los pesos seco total y orgánico (PS y PO) y contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P,C y L), en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$. E= contenido energético en $\text{J}\cdot\text{larva}^{-1}$ de las mysis I a III y postlarva 1 de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con nauplios de <i>Artemia</i> y con <i>B. plicatilis</i> .	71
21	Modelos de crecimiento lineal y exponencial para los pesos seco total (PS) y orgánico (PO) y el contenido energético (E) de las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con <i>Chaetoceros muelleri</i> durante los tres subestadios de zoea (0 a 102 horas) y los tres de mysis alimentados con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> o con microalgas y el rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> (126 a 204 horas). Total: modelos globales, desde dominancia de zoea I a postlarva I.	72
22	Valores medios y desviación estándar del consumo diario de <i>Chaetoceros muelleri</i> de los tres subestadios de zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i> , en porcentaje (%), en unidades de peso seco y de energía por individuo ($\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$), por unidad de peso seco de larvas ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$). Σ = consumo de todo el estadio. Entre paréntesis, días de duración de cada subestadio.	74

CONTINUACIÓN DE ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
23	Consumo diario medio y desviación estándar de los tres subestadios de mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> cultivados con <i>Chaetoceros muelleri</i> y nauplios de <i>Artemia</i> (ma+nau) o con microalgas y <i>Brachionus plicatilis</i> (ma+rot), en %, en unidades de peso seco y de energía por individuo ($\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$), por unidad de peso seco de larvas ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$) y consumo de todo el estadio (Σ). Entre paréntesis días de duración de cada subestadio.	76
24	Incremento de contenido energético para cada etapa de desarrollo larvario ($\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$) calculada mediante las pruebas de corto plazo (G_P), medido en los experimentos de cultivo (G_R), porcentajes de crecimiento y de ingestión reales con respecto a las potenciales. Σ = Incremento global por estadio.	77
25	Valores medios de los costos metabólicos (R+U) y de la cantidad de energía asimilada (A) medidos experimentalmente o calculados a partir de las pruebas de largo plazo, durante la duración de cada subestadio de desarrollo y para la duración total de cada estadio (Σ). Todos los valores se dan en $\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$. % = porcentaje del valor calculado con respecto al medido.	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página	
1	<p>Sobrevivencia global (en porcentaje) registrada durante los experimentos de cultivo de larvas zoea de <i>Litopenaeus vannamei</i>. Media (○); error estándar (caja); desviación estándar (bigote).</p>	63
2	<p>Sobrevivencia global promedio (en porcentaje) registrada durante los experimentos de cultivo de larvas mysis de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> (●) o con microalgas y el rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> (○). Error estándar (caja); desviación estándar (bigote)</p>	64
3	<p>Índice de desarrollo larvario (I.D.) de <i>Litopenaeus vannamei</i> durante las tres fases de zoea (●) y de mysis alimentadas con nauplios de <i>Artemia</i> (●) o con el rotífero <i>Brachionus plicatilis</i> (○).</p>	66
4	<p>Longitud media (mm) de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i>. Zoea (●), mysis alimentada con nauplios de <i>Artemia</i> (●) o con el rotífero <i>B. plicatilis</i> (○).</p>	68



I. INTRODUCCIÓN

La capacidad de modificar y manejar su entorno para la producción controlada de alimentos vegetales y animales se manifestó hace por lo menos unos 10,000 años y marcó el inicio del cambio de la forma de vida del hombre, transformándolo de recolector y cazador nómada o trashumante a agricultor sedentario (Wheaton, 1982; Pillay, 1997).

Por otra parte, debido a la menor facilidad de desenvolverse en el medio acuático que tiene el ser humano, la pesca conservó su característica de actividad de extracción durante la mayor parte de la historia de la humanidad y en efecto, hasta hace poco más de 70 años, el hombre no contaba con la tecnología y con la capacidad para mermar en forma significativa las poblaciones de los recursos pesqueros.

Sin embargo, a partir del final de la primera y en mayor medida de la segunda guerra mundial, el desarrollo de nuevas tecnologías de navegación, de localización y de extracción de las presas ha permitido el incremento en las capturas de las flotas pesqueras, a tal grado que en la actualidad muchas poblaciones acuáticas se encuentran al límite de su explotabilidad, otras son sobreexplotadas y algunas especies se consideran en peligro de extinción (Wheaton, 1982; FAO, 2000).

Es en este punto donde la acuicultura juega un papel sumamente importante, sirviendo como válvula de escape a la presión ejercida sobre la mayoría de los recursos pesqueros, en vista de que permite satisfacer en gran parte la creciente demanda de alimentos de origen acuático, la cual continúa aumentando a causa del incesante incremento de la población humana.

El confinamiento de organismos acuáticos para su cosecha en el tiempo más apropiado es casi tan antiguo como las civilizaciones humanas, como resulta por un bajorrelieve egipcio de hace unos 5,500 años y un escrito chino de unos 20 siglos más tarde, además que por varios registros posteriores (Wheaton, 1982; Pillay, 1997). Por otra parte, la acuicultura a gran escala es un suceso reciente y ha tenido un gran auge solamente en las últimas décadas, con un

crecimiento que sobrepasa ampliamente a los otros rubros de producción de alimento (Currie, 2000; Ferlin y La Croix, 2000).

Por ejemplo, durante las tres décadas comprendidas entre los años 1970 y el 2000 la pesca y la ganadería crecieron con tasas promedio anuales de 1.4% y 2.8%, respectivamente, mientras que se estimó que el incremento promedio anual de la producción por acuicultura osciló entre el 8.9 y el 9.2% (Tacon, 2003; FAO, 2002).

Es innegable que en la última década la acuicultura ha jugado un papel preponderante en el incremento de la producción de alimentos y de proteínas de origen animal a nivel mundial, contribuyendo con esto a la seguridad alimenticia, al alivio de la pobreza y al bienestar rural, además que a la generación de divisas y de empleos tanto directos como indirectos en muchos países subdesarrollados (FAO, 2003; Halwart *et al.*, 2003; Subasinghe, 2003).

Sin embargo, todavía queda mucho por hacer para que la acuicultura pueda alcanzar el mismo nivel de desarrollo que tienen la agricultura y las demás industrias agropecuarias, debido a que en la actualidad todavía tiene que enfrentar a varios retos como el diagnóstico y el control de enfermedades, la selección de especies o variedades y su domesticación, el desarrollo de alimentos apropiados y de mecanismos de alimentación, el manejo de la calidad de agua, entre otros (Subasinghe *et al.*, 2003).

En contraste a los sistemas de cultivo terrestres, en los cuales la producción está basada sobre un número limitado de especies animales y vegetales, las granjas acuícolas reportaron en el año 2000 el cultivo de 210 especies, de las cuales 131 son de peces, 42 de moluscos, 27 de crustáceos, 8 de plantas, 1 de anfibio y 1 de reptiles y esta cifra podría ser todavía mayor, pues aproximadamente el 21.2% de la producción total no fue reportada a nivel de especie (Tacon, 2003).

La producción total global en el 2000 por cultivos acuáticos fue de 45.71 millones de toneladas métricas; de éstas, el 50.3% corresponde a la producción por cultivos marinos, 45.1% a los de agua dulce y 4.6% a los de agua salobre.

Los peces contribuyen a este total con el 50.4%, los moluscos con el 23.5%, las plantas con el 22.2%, los crustáceos con el 3.6% y los otros grupos con el 0.3% restante. El crecimiento de la producción de los cuatro grupos principales en este mismo año con respecto al anterior fueron de 6.8% para los crustáceos, 6.7 para los peces, 6.1 para las plantas acuáticas y 5.8% para los moluscos (Tacon, 2003).

Entre los crustáceos, los camarones peneidos han dominado la producción por cultivos representando en peso el 66% del total de este grupo obtenido en el 2000 a nivel mundial a través de la acuicultura y el 73.4% del valor de los crustáceos cultivados que se comercializaron en el transcurso de ese año. Entre las especies más importantes por su volumen producido (86% del total de camarón) están *Penaeus monodon*, *P. chinensis* y *Litopenaeus vannamei* (Tacon, 2003).

En muchos países, pero principalmente en los asiáticos y los latinoamericanos que están en vía de desarrollo, el cultivo de camarones peneidos ha tenido un gran impulso debido a la alta demanda y a los altos precios que alcanzan estos productos en países desarrollados como los Estados Unidos de Norteamérica, los que integran la Comunidad Económica Europea y el Japón. En efecto, el fomento de esta actividad puede ser considerado como una política de desarrollo, debido a que causa un aumento de la demanda de servicios y permite el ingreso de divisas a los países productores (Primavera, 1997; Alceste Oliviero y Martínez Espinosa, 2000).

En parte por estos motivos y posiblemente por tratarse de organismos con una alta tasa de crecimiento, que permite una recuperación rápida del capital invertido en su cultivo, la producción por acuicultura de este grupo de especies es la que ha demostrado una de las mayores tasas de crecimiento a nivel mundial (Lucien-Brun, 1997; Lem y Shehadeh, 1997; Primavera, 1997).

Se ha estimado que el límite máximo sostenible de la producción por captura de camarón silvestre en todos los océanos del mundo oscila actualmente entre 1.6 y 2.2 millones de toneladas métricas, por lo cual la demanda de este recurso,

que se incrementa cada vez más, puede ser satisfecha solamente mediante la producción a través de técnicas de acuicultura (Páez Osuna, 2001).

Como reflejo, la producción de camarón cultivado ha ido avanzando a pasos agigantados teniendo un incremento del 300% en la década de entre 1975 a 1985. Para los siguientes diez años el aumento de la producción de peneidos cultivados fue del 250% y para 1998 la producción se estimó en 840,200 toneladas métricas, obtenidas en 999,350 hectáreas, de las cuales la mayor parte se produjo en la región de Asia, seguida por Latinoamérica (Roseberry, 1998; FAO, 1999).

De las poco más de 30 especies de peneidos que se han estudiado para su posible utilización en acuicultura, siete son las más importantes para la producción a escala comercial, cinco de las cuales se utilizan en Asia. Entre éstas, la más atractiva por su tamaño y su crecimiento rápido es el camarón tigre (*Penaeus monodon*), mientras que en América Latina la mayor parte de los volúmenes de producción corresponde principalmente a dos especies, que son el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) y el azul (*L. stylirostris*) (Roseberry, 1998).

En México, los primeros intentos de cultivo de camarón a nivel experimental se dieron desde los años sesentas y su producción a escala comercial inició durante la década de los setentas, teniendo un crecimiento acelerado a partir de los años ochentas. El mayor desarrollo de la camaronicultura mexicana se ha dado principalmente en los estados de Sinaloa y Sonora, en los cuales existen más de 120 granjas y donde este número sigue aumentando, y además se están implementando o ya están en funcionamiento otras granjas en los estados de Baja California Sur, Nayarit y Oaxaca (Martínez Córdova, 1999).

Como todo nuevo cultivo a gran escala promovido por el hombre para su beneficio, la camaronicultura inicialmente fue una actividad no sustentable debido a que incidía y dependía de las poblaciones silvestres para su desarrollo. Hasta hace pocos años, las postlarvas y juveniles de estas especies que se usaban para su siembra y engorda en granjas solían ser del medio

natural (Puello Cruz, 1999) y eran muy apreciadas por los camaronicultores por su bajo precio y por su etapa avanzada de desarrollo, que permitía obtener una alta supervivencia y cosechar en un menor tiempo.

Sin embargo, las postlarvas silvestres no se encuentran disponibles todo el año y cuando lo están sus cantidades son inferiores a la demanda de las granjas, que va en aumento conforme se implementan nuevas y mejores tecnologías y se incrementa el área de estanquería debido a la expansión de las granjas ya existentes y al creciente número de nuevas granjas. Además, hay que considerar los conflictos que se generaron con los operadores del sector pesquero, que al ver disminuidas sus capturas señalaron como responsables a los recolectores de larvas (Acosta Castañeda, 1997).

A estos problemas se suma la aparición y proliferación de varias enfermedades, entre las cuales destacan la del síndrome de Taura, de la cabeza amarilla y de la mancha blanca, que condujeron a las autoridades federales a establecer normas sanitarias estrictas, hasta el punto de cerrar las fronteras a la importación de postlarvas no certificadas procedentes de otros países (SAGARPA, 2004) y en ocasiones hasta a prohibir la transferencia de organismos de dudosa calidad entre los diferentes estados de la República Mexicana.

Con el surgimiento de laboratorios comerciales productores de postlarvas como fuentes estables, controladas y que no impactan de manera directa a las poblaciones silvestres, por lo menos en este renglón el grado de sustentabilidad de la camaronicultura llegó casi al 100% y actualmente son pocos los laboratorios que en ocasiones capturan reproductores de poblaciones silvestres, debido a que éstos son adquiridos de líneas genéticas seleccionadas que se producen en laboratorios especializados y se crían en sistemas de cultivo altamente controlados.

Esto ha generado un libre mercado, en el cual los larvicultores compiten mediante la producción de postlarvas que tienen cada vez una mejor calidad y que puede además ser certificada por las autoridades competentes, lo cual es

de gran importancia ya que el éxito de las granjas de camarón depende en gran medida de la calidad de las postlarvas que se siembran en los estanques de crecimiento y engorda (Hernández González, 1997).

Por estos motivos, las postlarvas de camarón que se usan hoy en día para los cultivos de engorda en granjas provienen prácticamente en su totalidad de los laboratorios comerciales, que son la alternativa más segura para cubrir esta demanda ya que éstos pueden programar su producción para que los granjeros las puedan conseguir en las cantidades necesarias y en el tiempo en el cual tienen previstas sus siembras.

Aún cuando en los laboratorios las larvas se cultivan en ambientes controlados, éstos no están exentos de problemas relacionados con la calidad de agua y con el tipo y la cantidad de alimento que se proporciona a los reproductores y a las larvas en sus diferentes estadios, que son factores críticos para la viabilidad de los huevos de los primeros y para la sobrevivencia y el crecimiento de las segundas (Alfonso *et al.*, 1993). Esto ha llevado a que los laboratorios implementen cuidados cada vez mayores los cuales, aunque aumentan los costos de operación, permiten satisfacer las expectativas de calidad que exige su mercado (Hernández González, 1997).

Además de una dieta adecuada de los reproductores para que sus productos sexuales sean de buena calidad, el crecimiento y el desarrollo equilibrado de las larvas de camarón en sus diferentes etapas depende del suministro de alimento vivo, principalmente de microalgas y de nauplios de *Artemia* (Cook y Murphy, 1969; Mock y Murphy, 1970; Kuban *et al.*, 1985; Chu, 1989; Arellano Moncayo, 1990). Estos alimentos representan una fracción considerable de los costos de operación (Puello Cruz, 1999), pues su producción requiere de personal calificado, de una infraestructura adecuada y de los insumos necesarios, que son generalmente productos químicos para preparar los medios para el cultivo de microalgas (Fulks y Main, 1991; Coutteau y Sorgeloos, 1992), además de los quistes de *Artemia*.

Según Fulks y Main (1991), los costos del área de producción de microalgas pueden llegar a representar hasta un 40-50 % de los gastos de operación de un laboratorio de producción de larvas de peces; por su lado, Coutteau y Sorgeloos (1992) investigaron mediante una encuesta los costos de operación generados en laboratorios de producción de larvas de moluscos y encontraron que a nivel mundial el 30 % del total de los gastos corresponde a la sección de microalgas. Este porcentaje coincide con los resultados de un estudio similar realizado por Boeing (2004), según el cual los gastos relacionados con la producción de microalgas en los laboratorios comerciales de larvicultura de peneidos son del orden de 20-30%; coincidentemente, Lango Alemán (1999) determinó que los costos del área de microalgas de un laboratorio comercial productor de larvas de camarón del estado de Sonora, representaron el 23 % del total de los gastos totales de operación.

En estas evaluaciones no se ha considerado el costo involucrado en la compra de quistes de *Artemia* (sin considerar la mano de obra y los productos químicos que se usan para la eclosión y desinfección de quistes y nauplios). En el caso del laboratorio comercial estudiado por Lango Alemán (1999), el costo de los quistes representó el 28 % de los costos totales que, aunado al gasto de la producción de microalgas, suma más de la mitad de todos los costos de operación del laboratorio.

Esta fuerte inversión en el rubro de alimentación de las larvas no es el único problema para los productores de postlarvas, ya que la disponibilidad de quistes de *Artemia* es incierta año con año debido a los cambios climáticos y a las políticas que determinan el tiempo de cosecha en la zona de mayor producción mundial de quistes, que es el Gran Lago Salado en el estado de Utah, E.U.A., en el cual las producciones de las tres temporadas anuales entre 1997 y 2000 fue de aproximadamente 2,000 toneladas métricas. Éstas representan menos de la tercera parte de las cantidades cosechadas en los ciclos 1995-1996 y 1996-1997 (alrededor de 6,600 toneladas métricas) y en efecto se estima que

en la actualidad este nivel de producción es inferior a la demanda del mercado (Lavens y Sorgeloos, 2000; Anónimo, 2000).

Se han estudiado varias alternativas que pudieran permitir la sustitución de la dieta tradicional de las larvas de camarón, con la doble finalidad de abatir los costos y de tener una fuente de abastecimiento más confiable, en especial usando alimentos formulados con ingredientes inertes y presentados en microcápsulas o en micropartículas.

Sin embargo, aún cuando existe un buen número de dietas alternativas disponibles comercialmente, su composición nutritiva, digestibilidad, presentación y especialmente su flotabilidad y facilidad de ingerir no han sido optimizados (Jones *et al.*, 1979; Campabadal y Celis, 1999; Lavens y Sorgeloos, 2000) y por tanto tampoco se han obtenido los resultados que se esperaban de ellos, por lo cual los larvicultores siguen usando alimento vivo, por lo menos durante las primeras fases de desarrollo larvario (Alfonso *et al.*, 1988; Duerr *et al.*, 1998).

Además, cuando este tipo de alimento preparado no es utilizado rápidamente por las larvas pierde su valor nutritivo, en parte por lixiviación y además porque es fácilmente degradado, lo cual inclusive deteriora la calidad del agua y favorece el crecimiento bacteriano. Si bien esto no es siempre nocivo, esta degradación aumenta el riesgo de contaminación por la excesiva proliferación de organismos potencialmente patógenos y de las enfermedades asociadas con éstos (Mora, 1990; Boeing, 2004).

En vista de esto y dada la incertidumbre en el abastecimiento de alimento vivo para las larvas de camarón, sobre todo en lo que se refiere a la disponibilidad en el mercado de quistes de *Artemia*, el problema de la alimentación de las larvas amenaza con convertirse en un verdadero cuello de botella para el crecimiento de este importante sector de la actividad camaronícola, el cual puede ser evitado investigando la posibilidad de utilizar dietas basadas en otros organismos, que sean fáciles de producir y que puedan sustituir parcial o



totalmente a los nauplios de *Artemia*, por lo menos durante una parte del desarrollo larvario.

Con el objeto de proponer alternativas viables al uso de los nauplios de *Artemia*, se ha experimentado con otros grupos zooplanctónicos, como son copepódos, cladóceros, rotíferos y ciliados, entre otros (Lavens y Sorgeloos, 1996). Entre éstos, uno que reúne varias de las características que se consideran deseables para un organismo presa es el rotífero *Brachionus plicatilis*, el cual presenta un tamaño que puede variar entre 130 y 340 μm (Dhert, 1996). Esto es menor del tamaño de un nauplio de *Artemia* y por lo tanto los rotíferos pueden ser consumidos por las larvas de algunas especies de camarón desde la etapa de zoea II (Yúfera *et al.*, 1984; Samocha *et al.*, 1989). Además, puede ser cultivado en concentraciones de hasta 20,000 rotíferos- ml^{-1} (Hagiwara *et al.*, 2001), posee una alta tasa de reproducción, tiene una baja velocidad de natación y a diferencia de otros rotíferos permanece constantemente suspendido en la columna de agua.

Los primeros estudios sobre esta especie de rotífero tienen su origen en Japón durante los primeros años de la segunda mitad del siglo pasado, cuando se descubrió que era el principal causante del fenómeno conocido con el nombre de "misukawari", que era uno de los más serios problemas en los sistemas de producción de alevines de anguila japonesa (*Anguilla japonica*), pues sus altas densidades causadas por la alta productividad de estos sistemas tenían como consecuencia una degradación de la calidad del agua, produciendo fuertes mortalidades entre los organismos cultivados (Ito, 1955).

Más tarde, se encontró que controlando su densidad en los cultivos larvarios, los rotíferos son un excelente alimento para las larvas de peces marinos (Ito, 1960), y con esta finalidad se inició la producción de *B. plicatilis* en cultivos masivos en la Yashima Station de la Seto Island Sea Farming Fisheries Association (SISFFA, 1964 a y b; Hirata, 1979). Los resultados de estas primeras experiencias fueron tan positivas, que en la actualidad este rotífero es el más ampliamente utilizado como primer alimento para alevines de peces

marinos, principalmente por su tamaño ideal y además porque es posible producirlo en grandes cantidades y con un costo aceptable, usando técnicas relativamente sencillas de cultivo masivo (Rivas *et al.*, 1990; Caric *et al.*, 1993; Li *et al.*, 1996; Lie *et al.*, 1997).

Su uso como alimento en los cultivos de larvas de peneidos ha sido de tipo exclusivamente experimental, dando generalmente buenos resultados (Yúfera *et al.*, 1984; Akamine, 1985; Samocha *et al.*, 1989). Además de tener un alto valor dietético, que es un factor de suma importancia para la supervivencia y el crecimiento larvario, se han descrito varias técnicas para el cultivo eficiente de este organismo (Whyte y Nagata, 1990; Watanabe *et al.*, 1992), por lo cual su producción no debiera constituirse en un problema técnico o económico que pudiera afectar la operatividad y rentabilidad de un laboratorio de producción comercial.

Como es el caso de cualquier otro organismo, el desarrollo y la supervivencia de las larvas de camarón son afectados por el tipo, la calidad y la cantidad del alimento ingerido (Yúfera *et al.*, 1984; Sánchez, 1992), y de como la energía contenida en la dieta es asimilada y repartida en los diferentes procesos metabólicos, pues una alimentación adecuada permite que las larvas puedan contar con una reserva de energía para su crecimiento hasta alcanzar la fase de desarrollo siguiente (Rosas, 1999; Lemos y Phan, 2001 a).

Sin embargo, a pesar de la gran variedad de alimentos propuestos para larvas, juveniles y adultos de peneidos (Liao *et al.*, 1983), existen muy pocos estudios sobre los procesos del flujo de energía en los sistemas de producción de camarón, inclusive en los sistemas de cultivo intensivo de larvas o en los estanques de engorda. A nivel de individuos, la literatura existente es todavía más limitada.

En acuicultura los estudios bioenergéticos permiten la utilización de modelos, que son de especial interés para una aplicación adecuada de las técnicas de cultivo y de alimentación, y que pueden servir también para estimar la cantidad de biomasa que es posible obtener bajo una determinada condición ambiental.

Además, cuando se relacionan con la calidad nutritiva de las dietas que se están utilizando, es posible determinar el tipo de alimento con el cual los animales pueden ser más eficientes (Zúñiga Romero, 1983; Lucas, 1996; Rosas, 1999; Lora Vilchis, 2004).

Aún cuando se reconoce que los estudios de balance de energía de los organismos son necesarios para verificar la cantidad de energía consumida que es asimilada y la fracción de ésta que es utilizada para realizar los diferentes procesos fisiológicos de los individuos (Cho y Bureau, 1999), existen pocos trabajos completos sobre este tópico dedicados al desarrollo larvario de los peneidos.

Entre éstos destacan el de Kurmaly *et al.* (1989 a y b) los cuales investigaron los procesos bioenergéticos durante el desarrollo larvario de *Penaeus monodon*, la especie de mayor producción en el mundo que se cultiva principalmente en Asia, y el de Lemos y Phan (2001 a y b), los cuales trabajaron con una especie del Atlántico americano que constituye una de los principales recursos pesqueros de la costa brasileña (*Farfantepenaeus paulensis*), pero es de importancia secundaria para la acuicultura latinoamericana.

A pesar de la importancia que tienen las dos especies *Litopenaeus stylirostris* y *Litopenaeus vannamei* para la camaronicultura del continente americano (Chamberlain *et al.*, 1981; Smith *et al.*, 1985; Boyd y Teichert Coddington, 1995; Brito *et al.*, 2001), existen solamente estudios sobre aspectos de cultivo y de alimentación (Mock *et al.*, 1980; Akamine, 1985; Arellano Moncayo, 1990), de nutrición (Kanazawa, 1985; Leger y Sorgeloos, 1992; Sánchez, 1992), de sobrevivencia y de crecimiento (Kuban *et al.*, 1985; Sangha *et al.*, 2000), mientras que no se ha encontrado información sobre los procesos involucrados en el balance energético de las diferentes etapas de desarrollo larvario de estas dos especies.

Debido a la ausencia de estos estudios, en el presente trabajo se pretende estimar, en primer lugar, el balance de energía de los diferentes estadios

larvarios de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) alimentados según la rutina tradicional, que consiste en el suministro de microalgas y de nauplios de *Artemia*, para posteriormente verificar si los nauplios de *Artemia* se pueden sustituir con rotíferos (alimento no tradicional) y obtener un balance energético por lo menos similar, que permitiría ofrecer una solución alternativa al problema de la dependencia de los quistes de *Artemia*.

1.1. HIPÓTESIS

El balance de energía de las larvas de *Litopenaeus vannamei* es el mismo cuando se utilizan como alimento nauplios de *Artemia* y cuando éstos son sustituidos por rotíferos.

Para poderla verificar se propusieron los objetivos siguientes:

1.2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el balance energético de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con el régimen tradicional y compararlo con el que se obtiene cuando los tres subestadios de la etapa de mysis se alimentan con rotíferos en vez que con nauplios de *Artemia*.

OBJETIVOS PARTICULARES

Determinar el balance energético de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con microalgas y con nauplios de *Artemia*.

Determinar el balance de energía de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con microalgas y con rotíferos.

Verificar si no hay diferencias entre los dos balances energéticos.

Comparar los resultados de crecimiento potencial calculados con estos balances y los obtenidos mediante pruebas de cultivo desde la fase de zoea I hasta la fase final de desarrollo larvario y la aparición de la primera etapa de postlarva.

II. ANTECEDENTES

La bioenergética se puede definir como la disciplina que se dedica a la cuantificación de la energía que se intercambia y se transforma de forma intrínseca entre los seres vivos y extrínseca con su medio ambiente (Klekowski y Duncan, 1975; Phillipson, 1975; Jobling, 1995; Lucas, 1996; Rosas, 1999). De acuerdo a esta definición, la evaluación del flujo de energía en los ecosistemas acuáticos requiere de información sobre las tasas de alimentación, de crecimiento y de gastos metabólicos para una determinada cantidad de biomasa de cada una de las varias especies presentes en la comunidad que se está estudiando (Kurmaly *et al.*, 1989 a).

A nivel de individuo, la bioenergética estudia la tasa de incorporación y de pérdida de la energía contenida en el alimento ingerido y su transformación dentro del organismo. Además de ser una herramienta útil para investigar la relación entre la razón de alimentación y de crecimiento de un individuo expuesto a diferentes condiciones del medio ambiente (Jobling, 1995; Lemos y Phan, 2001 a), estas tasas son esenciales para estimar la eficiencia con la cual la materia orgánica del alimento se transfiere a los diferentes sistemas y se transforma en tejidos, o en reservas que resulten accesibles para el siguiente nivel trófico (Logan y Epifanio, 1978; Díaz Iglesia, 1988; Kurmaly *et al.*, 1989 a).

En el caso de las larvas de peneidos, al igual que para otros organismos sujetos a cultivos, estos estudios son importantes porque pueden dar respuesta a problemas de tipo práctico (Lucas, 1996) dirigidos a la optimización de las técnicas de cultivo, la cual depende de la utilización eficiente y económica de alimentos seleccionados por ser los más adecuados (Logan y Epifanio, 1978; Zuñiga Romero, 1983; Loya Javellana, 1989; Kurmaly *et al.*, 1989 a) para el desarrollo ontogenético bajo condiciones de cultivo específicas (Lemos y Phan, 2001 b).

Estos conocimientos permiten optimizar las condiciones de cultivo, con el fin de obtener postlarvas saludables y resistentes a enfermedades, de las cuales depende en gran medida el éxito de la producción en las granjas de camarón.

No obstante lo anterior, muchos autores han coincidido en que la investigación sobre la nutrición y el balance energético de las larvas de decápodos comercialmente importantes es sumamente escasa (Logan y Epifanio, 1978; Zuñiga Romero, 1983; Puello Cruz, 1999; Lemos y Phan, 2001 a) y que los estudios en esta área del conocimiento son todavía insuficientes.

El modelo general del balance energético de un sistema biológico abierto, que puede ser representado por una entera comunidad o por un solo organismo, se puede expresar de acuerdo a la simbología utilizada por muchos autores tales como Klekowski (1970), Zuñiga Romero (1983), Rosas (1999), Lemos y Phan (2001 a), entre otros, mediante la ecuación

$$C = P + R + H + U \quad [1]$$

donde C es la energía consumida o ingerida por el organismo o sistema; P es la energía utilizada en crecimiento somático, en productos reproductivos y en otros que después son eliminados como pelo, plumas o exuvias; R es la parte energética del alimento dirigida al mantenimiento de los procesos metabólicos (respiración); H es la energía contenida en el alimento que no es utilizada y es desechada al exterior del organismo en forma de heces; U es la energía eliminada en el proceso de catabolismo de las proteínas, que es disipada a través de la excreción urinaria.

Para el caso del modelo de balance de energía para los estadios larvarios del camarón, la ecuación anterior se puede modificar de acuerdo al modelo propuesto por Kurmaly *et al.* (1989 a) el cual se expresa como

$$I = G + R + H + U + E, \quad [2]$$

I es la energía consumida (C de la ecuación [1]) y se estima con la tasa de ingestión propuesta por Paffenhofer (1971), la cual supone una disminución lineal de la concentración celular con el tiempo cuando se utilizan organismos unicelulares como alimento, y cuya ecuación es

$$I = \frac{V(C_0 - C_t)}{nt} \quad [3]$$

donde V (ml) es el volumen por unidad experimental; C_0 y C_t son las concentraciones celulares ($\text{cel}\cdot\text{ml}^{-1}$) inicial y final, respectivamente, n es el número de larvas por acuario y t es el tiempo en horas. Esta tasa, cuyas unidades son células-larva⁻¹·hora⁻¹ ($\text{cel}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) puede ser incorporada al modelo de balance energético después de su transformación a unidades de energía, Joules ($\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Cuando el alimento está constituido por organismos del zooplancton, la tasa de ingestión se estima por la disminución causada por el consumo de las larvas de camarón, también expresada en unidades de energía por unidad de tiempo.

G (P de la ecuación [1]) es la tasa de crecimiento en $\text{J}\cdot\text{individuo}^{-1}$ ($\text{J}\cdot\text{ind}^{-1}$), que se calcula con la diferencia del contenido de energía por individuo entre estadios adyacentes y la duración de cada estadio.

R es el gasto de energía calculado como la suma de la actividad metabólica de rutina y de la acción dinámica específica, que es el efecto calorígeno causado por la transformación del alimento ingerido, conocido también como incremento de calor aparente (Rosas, 1999; Lemos y Phan, 2001 a). Este gasto se estima a partir de la cantidad de oxígeno consumido por las larvas durante un determinado número de horas dentro de un respirómetro sellado, convirtiendo posteriormente el oxígeno consumido a unidades de energía bajo el supuesto que 1 mg de O_2 consumido es equivalente a 14.06 Joules (Gnaiger, 1983), por lo cual R se expresa en $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Bajo este esquema, H y U representan la energía del alimento no absorbida contenida en las heces y la excretada en forma de amonio como un producto residual causado por la metabolización de las proteínas, respectivamente. H se determina como la diferencia entre la energía ingerida (I) y la asimilada (A), y U se estima a partir de la cantidad de amonio excretado por las larvas durante un número determinado de horas, convertido a unidades de energía con la equivalencia dada en Elliot y Davison (1975) de $24.87 \text{ J}\cdot\text{mg}^{-1}$ de nitrógeno amoniacal ($\text{N}\cdot\text{NH}_3$), por lo que U es expresado en $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

La cantidad de alimento o de energía asimilados (A) se determina a partir de I y de la eficiencia de asimilación EA, que a su vez se evalúa con la fórmula propuesta por Conover (1966 a y b) y cuya expresión es la siguiente

$$EA = \frac{F - E}{(1 - E)F} \quad [4]$$

donde F es la razón entre los pesos secos orgánico y total del alimento, y E es la razón entre los pesos secos orgánico y total de las heces. Aplicando este factor, la cantidad de energía absorbida se obtiene como

$$A = I \times EA \quad [5]$$

Finalmente, E_x es la energía contenida en la exuvia, la cual frecuentemente no se considera, ya que se estima ser solamente entre 4 y 6% del contenido energético de un individuo (Johns, 1982; Dawirs, 1983; Lemos y Phan, 2001 a). A partir de los elementos anteriores (I, G, R, U y E_x), se pueden estimar los siguientes parámetros:

El porcentaje del alimento ingerido que fue efectivamente utilizado (UT%) (Crisp, 1984) se estima con la ecuación

$$UT\% = \frac{G + R + U + E_x}{I} \times 100 \quad [6]$$

La eficiencia de crecimiento bruta (K_1), la cual representa el porcentaje de alimento ingerido que se convierte en crecimiento (Conover, 1968), se determina mediante la expresión

$$K_1 = \frac{G + E_x}{I} \times 100 \quad [7]$$

Y por último, la eficiencia de crecimiento neta (K_2) se calcula con la igualdad

$$K_2 = \frac{G + E_x}{G + R + U + E_x} \times 100 \quad [8]$$

la cual indica el porcentaje de alimento asimilado que se incorpora como crecimiento, en forma de energía o de biomasa (Duncan y Klekowski, 1975).

En toda la literatura sobre peneidos relacionada con este tema, se encontró solamente un trabajo sobre los procesos bioenergéticos involucrados en el desarrollo larvario de la especie más cultivada en el mundo (Kurmaly *et al*,

1989 a), además de dos estudios sobre especies de la costa del Atlántico americano que son potencialmente explotables mediante la acuicultura (Rosas, 1999; Lemos y Phan, 2001 a).

Kurmaly *et al.* (1989 a) cultivaron larvas de *Penaeus monodon* desde zoea I hasta postlarva 1, utilizando como alimento microalgas y nauplios de *Artemia* y determinando para cada estadio las tasas de ingestión, de respiración y de crecimiento, con el fin de calcular el balance energético para todo el desarrollo larvario. De acuerdo a sus resultados, estimaron una eficiencia de asimilación de 16.3% y eficiencias de crecimiento bruta y neta con valores porcentuales de 11.1 y 68.5%, respectivamente.

Rosas (1999) encontró que durante el desarrollo ontogenético de las larvas de *Penaeus setiferus* la tasa de ingestión y el gasto de energía metabólica sufren cambios, mostrando inicialmente un aumento en la ingestión individual de la diatomea *Chaetoceros cerastoporum* hasta el subestadio mysis I. Cuando se pasó a un régimen de alimentación mixta, con la flagelada *Tetraselmis chuii* y nauplios de *Artemia*, el nivel máximo de ingestión de microalgas se alcanzó en mysis II, mientras que el consumo de nauplios de *Artemia* fue en aumento progresivo desde zoea III hasta el final del experimento.

De lo anterior, este autor deduce que la relación entre el comportamiento metabólico y la tasa de ingestión muestran que las microalgas están asociadas al incremento de la energía metabólica entre zoea I a III, mientras que la contribución de las flageladas disminuye progresivamente entre los subestadios mysis I y III, en paralelo con el desarrollo de sus hábitos carnívoros y depredadores.

Lemos y Phan (2001 a) realizaron algunos experimentos con larvas de *Farfantepenaeus paulensis*, con la finalidad de cuantificar la distribución de la energía derivada del alimento en los procesos de crecimiento, de metabolismo de mantenimiento, de excreción y de muda, encontrando que el gasto energético por procesos metabólicos se incrementó con cada cambio de estadio larvario representando globalmente el 52%; en el crecimiento las larvas

invertieron 42% en promedio y en la exuvia un 6% de la energía total asimilada, mientras que en la excreción amoniacal se gastó 0.46 J-ind^{-1} de la energía total digerida, con una eficiencia de crecimiento neta del 48%.

Este tipo de información, que no está disponible en el caso de *L. vannamei*, puede ser importante para varias finalidades, desde verificar las condiciones ambientales que permiten obtener los mejores resultados en sobrevivencia y en crecimiento, hasta seleccionar el régimen alimenticio más conveniente y más eficiente, tanto biológica, como económicamente.

Mediante el presente trabajo se pretende en primer lugar medir la eficiencia con la cual las larvas de *L. vannamei* utilizan su dieta tradicional y como ésta se refleja en un incremento de las reservas energéticas de los organismos, para posteriormente verificar si este balance puede ser modificado por un cambio del régimen dietético tradicional, en el caso que se utilizaran rotíferos en lugar de los nauplios de *Artemia*.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los experimentos de corto y de largo plazo y el mantenimiento de los cultivos de apoyo para la producción de alimento se realizaron en el Laboratorio Interinstitucional UAS-CIBNOR, el cual se encuentra ubicado dentro de las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Mazatlán, Sinaloa.

Este laboratorio cuenta con dos salas, las cuales están equipadas con aparatos de aire acondicionado de ventana (una con tres y otra con dos aparatos) para el control de la temperatura ambiental y con una red de tuberías de PVC para la distribución de agua dulce o salada y de aire filtrado, de acuerdo a los requerimientos de los experimentos que se realizan.

Cada sala tiene cinco estantes de madera con tres entrepaños para colocar los recipientes de cultivo. Entre los entrepaños están colocadas horizontalmente 6 lámparas fluorescentes de luz blanca de día, además de las tomas de aire filtrado necesarias para la agitación y aeración de los cultivos experimentales.

El resto del laboratorio consiste de tres salas donde se encuentran los instrumentos y el material para el tratamiento y análisis de muestras, además de un centro de cómputo para el análisis de los datos generados.

III.1. CULTIVOS DE APOYO

III.1.1. MICROALGAS

La especie de microalga que se utilizó para los cultivos es la Bacillariophyceae *Chaetoceros muelleri*, la cual se obtuvo por donación de la Colección de Microalgas del Departamento de Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), en donde está catalogada con la clave CH-M-1 (Trujillo Valle, 1993), misma con la que ha permanecido en este laboratorio.

Esta especie de diatomea se presenta generalmente como células aisladas con dimensiones de 4-6 x 6-8 μm y fue seleccionada porque es la más comúnmente usada en los laboratorios comerciales productores de larvas de peneidos, principalmente como alimento de los subestadios de zoea (López Elias *et al.*,

2003), aunque por su tamaño también se puede utilizar como alimento para larvas de otras especies de crustáceos, adultos de *Artemia*, larvas y adultos de moluscos, entre otras (López Elías, 1990; Cordero Esquivel, 1994; Sánchez Saavedra, 1994).

El medio nutritivo para los cultivos de microalgas fue el medio F preparado de acuerdo a la formulación propuesta por Guillard y Ryther (1962) con la metodología descrita en Voltolina *et al.* (1989), utilizando agua de mar de la bahía de Mazatlán previamente pasada por una serie de 5 filtros de cartucho. Los primeros tres tienen una capacidad progresiva de retención de partículas con diámetros de 10, 5 y 1 μm , respectivamente, y los últimos dos son de carbón activado y se usan principalmente con el fin de eliminar la materia orgánica disuelta, la cual es frecuentemente abundante en el agua de la bahía.

Después de la filtración, el agua se almacenó en recipientes de 200 litros adicionando para su mejor esterilización 1 $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ de hipoclorito de sodio comercial que se dejó actuar hasta el momento de su utilización, cuando se eliminó el cloro libre residual mediante la adición de 50 mg de tiosulfato de sodio por cada mililitro de hipoclorito agregado (Hemerick, 1973). Este proceso se aceleró con aeración profusa durante 20 minutos, comprobando posteriormente la ausencia de cloro libre con el método colorimétrico tradicional basado en el uso del indicador ortotoluidina.

El aire para los cultivos se suministró en forma continua con un soplador (blower) de 2.5 hp de potencia y antes de entrar a los cultivos fue pasado por un filtro de cartucho de 1 μm . La aeración facilitó el intercambio de gases y además permitió mantener las microalgas en suspensión, procurando con esto que todas las células estuvieran expuestas a la misma cantidad de luz, la cual era emitida por las 6 lámparas de cada entrepaño con una intensidad de 6000-6500 lux, que es equivalente a un flujo de fotones de aproximadamente 120-130 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. La temperatura de la sala de los cultivos se mantuvo constante promediando 22.2 $^{\circ}\text{C}$, con un coeficiente de variabilidad de 7%.

Las microalgas se cultivaron en recipientes de plástico transparente con capacidad de 19 litros pero con 15 litros de volumen útil, empleando el método de cultivo semicontinuo (Walne, 1966) que las mantuvo en crecimiento desacelerado (0.36 duplicaciones celulares-día⁻¹) mediante cosechas diarias de 4.5 litros por garrafón que es equivalente a un 30% del volumen de cultivo de cada recipiente, cantidad que se reponía con medio de cultivo fresco.

De cada uno de los recipientes se tomaron muestras cada 24 horas para verificar, mediante un espectrofotómetro Hach modelo DR/4000U, su densidad óptica a una longitud de onda de 550 nm, y para las lecturas de pH se utilizó un potenciómetro Corning Checkmate modelo pH-10 precalibrado con estándares (amortiguadores) de pH conocidos de 7 y 10. De esta forma se verificaron cotidianamente la viabilidad y la estabilidad de todos los cultivos y además, para evitar que las microalgas tuvieran cambios en su metabolismo, se controló el pH con la adición por burbujeo de CO₂ cada 12 horas después de cada cosecha, el cual era inyectado durante un minuto directamente al suministro de aire.

Se obtuvieron muestras de la mezcla homogenizada de las cosechas de los cultivos de microalgas para determinar la concentración celular mediante conteos en un microscopio compuesto utilizando un hematocítmetro de 0.1 mm de profundidad, equipado con reglilla de Neubauer, lo cual permitió calcular las cantidades necesarias para alimentar los rotíferos y las larvas de camarón. Después de 24 horas el volumen restante de la cosecha se desechaba, para proceder a utilizar la mezcla de las nuevas cosechas.

En el transcurso de los experimentos, en días alternos se tomaron muestras por quintuplicado de las cosechas, de volumen y densidad celular conocidos, las cuales sirvieron para la determinación de los pesos secos total y orgánico y de la composición proximal de las microalgas. En los mismos días se obtuvieron también muestras adicionales, con el fin de verificar el contenido energético de la biomasa mediante combustión directa en una bomba calorimétrica.

Para la estimación de los pesos seco y orgánico, las muestras se concentraron sobre filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 47 mm que fueron previamente

lavados en agua destilada con el propósito de eliminar los residuos e impurezas, quemados en un horno Thermolyne modelo 48000 a una temperatura de 450 °C para calcinar cualquier vestigio orgánico, y precalibrados en una balanza analítica Denver Instruments modelo M-220D con precisión de lectura de 0.01 mg.

Una vez concentradas en el filtro, las muestras se lavaron con 2-3 ml de una solución de formiato de amonio al 4%, que es aproximadamente isosmótica con el agua de mar, con el fin de eliminar los residuos de sal marina que interfieren en el cálculo final de los pesos, preservando a la vez la integridad de las microalgas.

Los filtros con las muestras se colocaron en una estufa a una temperatura de 60 °C durante un periodo de 48 horas, al final del cual se empezaron a pesar cada 24 horas hasta verificar que alcanzaron un peso constante. Después se volvieron a calcinar a 450 °C y de nuevo se pesaron hasta peso estable para obtener el contenido inorgánico de las muestras y el peso orgánico de las mismas se calculó por diferencia entre los dos pesos, de acuerdo a la metodología propuesta por Sorokin (1973). Cabe mencionar que el formiato de amonio evapora a 54 °C, por lo cual no interfiere con la cuantificación del peso seco total.

La composición proximal de las microalgas se estimó con las técnicas analíticas convencionales, usando muestras filtradas en filtros Whatman GF/C de 25 mm. La determinación de proteínas se hizo por el método de Lowry *et al.* (1951), previa extracción en calor durante 15 minutos con hidróxido de sodio 0.1 N. La extracción de los carbohidratos se realizó con ácido sulfúrico de acuerdo a Whyte (1987), procediendo posteriormente a la cuantificación con el procedimiento de Dubois *et al.* (1956). Los lípidos se extrajeron con la técnica de Bligh y Dyer (1959) y se cuantificaron con el método de Pande *et al.* (1963). En todos los casos se observaron las modificaciones sugeridas por López Elias *et al.* (1995) y Cordero Esquivel (1999).

Las curvas de calibración se hicieron con los estándares (SIGMA) de albúmina de suero de bovino, de glucosa anhidra y de tripalmitina para proteínas, carbohidratos y lípidos, respectivamente; en el mismo orden se utilizaron las longitudes de onda 750, 485 y 590 nm para las lecturas de absorbancia de los estándares y de las muestras, que se realizaron usando un espectrofotómetro Hach modelo 4000U.

Para estimar la energía contenida en las microalgas, las muestras centrifugadas, lavadas con formiato y concentradas nuevamente por centrifugación se almacenaron en un ultracongelador a -70 °C hasta cuando fueron liofilizadas y pulverizadas en un mortero para la elaboración de pastillas por compactación en una prensa. Las pastillas se mantuvieron en una estufa a 60 °C y fueron pesadas hasta peso constante para su posterior combustión en una atmósfera de oxígeno en un calorímetro semimicro Parr modelo 1425, según el procedimiento descrito en el manual de operación de este equipo (Parr Instrument Company, 1991).

III.1.2. ROTÍFEROS

La especie de rotífero utilizada en los experimentos es *Brachionus plicatilis*, la cual fue obtenida por donación de una cepa local que se encuentra depositada en la colección del Laboratorio de Fitotecnia y Zootecnia del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) de La Paz, B.C.S. Este organismo es habitante zooplanctónico de algunos cuerpos de aguas continentales alcalinas de Baja California Sur, de donde se aisló y se mantiene como cepa por investigadores del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) del Instituto Politécnico Nacional, ubicado en La Paz.

El rotífero *Brachionus plicatilis* es uno de los organismos usados con mayor frecuencia para la alimentación de larvas de peces, debido a la amplitud del intervalo de su talla. En efecto, según Fuiks y Main (1991), su tamaño puede variar entre los 70 y 300 μm , dependiendo de la edad del organismo y de la cepa o variedad a la cual pertenece, aunque ahora se reconoce que existen dos

especies (*B. rotundiformis* y *B. plicatilis*), la primera de las cuales es de dimensiones notablemente más reducidas (Dhert, 1996).

En este caso la identidad taxonómica de la especie fue certificada mediante consultas directas del Dr. D. Voltolina (Laboratorio UAS-CIBNOR) con el Dr. S.S.S. Sarma (UNAM, ENEP, Unidad Iztacala). En el Laboratorio Interinstitucional UAS-CIBNOR se mantiene como cepa de trabajo en matraces de vidrio de 500 ml y en frascos vitroleros de 4 litros, utilizando como alimento la diatomea *Chaetoceros muelleri*. En este laboratorio, este rotífero se ha utilizado en experimentos de cultivo con diferentes dietas basadas en microalgas (Campos Rojas, 1999; Enríquez Álvarez, 2001; Martínez Brown, 2001; Zenil Larrondo, 2001; González González, 2002) y se ha empleado también como alimento de mantenimiento para larvas de *L. vannamei* (Méndez Payán, 1999), aunque su efectividad como dieta no ha sido cuantificada y comparada con otras dietas.

El agua de mar y el aire que se utilizaron para los cultivos de rotíferos se trataron como se describió para los cultivos de microalgas, a excepción que el agua no se esterilizó con cloro para evitar la formación de compuestos orgánicos clorados. La aeración se suministró mediante burbujeo suave para impedir el estrés mecánico de los organismos; además, los cultivos se mantuvieron en penumbra con el fin de evitar un incremento excesivo del pH, causado por la actividad fotosintética de las microalgas usadas como alimento. Esta precaución permitió mantener el pH aproximadamente constante y en valores de 7.8 a 8.2, que se consideran los niveles óptimos para la producción de *B. plicatilis*, los cuales son cercanos o inferiores a las 8 unidades (Hoff y Snell, 1999). La temperatura promedio de los cultivos fue de 26 °C con una desviación estándar de 1.4 °C.

Desde la cepa de trabajo, los cultivos se fueron escalando volumétricamente hasta alcanzar el volumen de cultivo necesario para la alimentación de las larvas. La producción se llevó a cabo en garrafones de 19 litros recortados con una capacidad útil de 15 litros, utilizando también en este caso la técnica de

cultivo semicontinuo. Diariamente se cosechó el 30% del volumen de cada recipiente, que fue reemplazado con agua de mar filtrada.

Uno de los problemas más serios de los cultivos tradicionales de rotíferos son las inesperadas caídas de las poblaciones que, según estudios sobre este punto, son causadas por el deterioro de la calidad del agua, por lo cual se recomiendan cambios periódicos del agua como una manera de remediar por lo menos parcialmente este problema (Meragelman *et al.*, 1985) ya que la falta de disponibilidad constante de presas afecta directamente a la alimentación de las larvas y por ende su sobrevivencia, reflejándose en una menor rentabilidad de los laboratorios que se dedican a esta actividad (Fulks y Main, 1991).

Con el fin de evitar este problema, diariamente y después de la cosecha se sifoneó cada cultivo con el fin de eliminar las heces y las microalgas sedimentadas, y se recambió hasta un 80% del volumen de agua cada día, y un 100% cada tercer día, además de pasar a recipientes limpios todos los rotíferos presentes en cada unidad de cultivo, con el propósito de no producir condiciones de estrés por acumulación de metabolitos.

Cada ración diaria de alimento consistió en 1×10^5 cel·ml⁻¹ de *Chaetoceros muelleri* suministrada en dos porciones iguales cada 12 horas, lo cual permitió mantener en cada acuario una población de rotíferos no menor a 150 ind·ml⁻¹, con entre un 20 y un 40% de hembras ovígeras y, con un número de repeticiones necesario, se cosechó diariamente la cantidad suficiente para la alimentación de las larvas de camarón. Con esta técnica fue posible mantener los cultivos de rotíferos en la fase de reproducción amictica (hembras partenogenéticas), que es la forma más adecuada para producirlos con fines comerciales.

Con la finalidad de vigilar el buen crecimiento poblacional de los rotíferos, se realizaron muestreos diarios en cada recipiente, que se usaron para verificar la concentración de los organismos activos y de las hembras ovígeras mediante conteos en un estereoscopio con una cámara de Sedgwick-Rafter de 1 ml de capacidad, modificada con una regilla cuadrículada para facilitar el recuento.

Después de la dilución, las cosechas se mezclaron en un recipiente común y se procedió a valorar nuevamente la concentración de rotíferos presentes en por lo menos tres muestras, con el fin de calcular las raciones diarias para los cultivos larvarios, en este caso considerando como listos para ser consumidos también a los huevecillos libres, que se supusieron próximos a la eclosión.

Para la primera alimentación de los cultivos larvarios, que siguió la operación de recambio de agua, los rotíferos se suministraron vivos y con su propio alimento directamente de la mezcla de las cosechas, con el fin de minimizar la competencia entre rotíferos y larvas. El volumen restante se alimentó nuevamente y se mantuvo en las mismas condiciones de los cultivos semicontinuos para su uso posterior en los experimentos de corto plazo, además que para el suministro de la porción de la tarde que se proporcionó a los cultivos larvarios 12 horas después del recambio de agua.

Una parte de la mezcla se concentró en un tamiz con luz de malla de 55 μm , se lavó profusamente con agua de mar filtrada para eliminar las heces y las microalgas y se resuspendió en un volumen conocido de agua para evaluar su concentración, antes de tomar cinco muestras para la determinación del peso seco total y orgánico y 15 adicionales para verificar el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos, en quintuplicado en cada caso.

Todas estas muestras se concentraron en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 25 mm de diámetro y el resto se recolectó libre de agua de mar con el fin de usarlo posteriormente para la determinación del contenido energético de su biomasa. En todos los casos las muestras se guardaron a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de los análisis, para los cuales se usaron los mismos procedimientos utilizados para las microalgas.

III.1.3. OBTENCIÓN DE NAUPLIOS DE *Artemia*

Se usaron dos lotes comerciales de quistes de *Artemia franciscana*, ambos procedentes del Gran Lago Salado, envasados en 1999 y 2001 y comercializados bajo el nombre de SELECT Brine Shrimp Eggs, por la empresa Salt Creek Inc. de Salt Lake City, Utah, E.U.A.

La descapsulación de los quistes se llevó a cabo con la técnica tradicional descrita en Van Stappen (1996). Los quistes a eclosionar se enjuagaron y se mantuvieron con aireación continua en agua destilada durante una hora y media para que permanecieran en suspensión, con la finalidad de hidratarlos y al mismo tiempo eliminar los residuos y los quistes no viables.

Después de este pretratamiento y luego de eliminar por decantación los quistes vacíos y los otros residuos flotantes, se pasaron a un recipiente que contenía una solución de hipoclorito comercial al 5%, donde permanecieron con un copioso burbujeo de aire por un lapso de 5 minutos, o hasta cuando su color se tornó anaranjado intenso, señalando el desprendimiento de la membrana protectora de los embriones latentes.

Inmediatamente se volvieron a enjuagar con abundante agua dulce hasta eliminar todo el cloro residual, que se constató verificando la ausencia del olor característico del hipoclorito, y posteriormente se pasaron a un recipiente cónico invertido con agua de mar tratada como para los cultivos de rotíferos, precalentada a una temperatura de 28 °C que se mantuvo constante con un controlador de temperatura y un calentador para acuarios de 25 watts. También se proporcionó luz continua, que es el estímulo necesario para dar inicio al desarrollo de los embriones y se suministró aeración desde el fondo del recipiente, con el propósito de que los embriones libres se mantuvieran en suspensión durante su eclosión.

Al cabo de aproximadamente 18-22 horas, se suspendieron la aeración y la iluminación, dando tiempo para que los quistes no eclosionados sedimentaran y las envolturas residuales de la eclosión flotaran a la superficie. La cosecha de los nauplios se realizó colocando una fuente de luz en la mitad de la pared exterior del recipiente, para que los nauplios se agruparan en el centro de la columna de agua a causa de su fototropismo positivo, que permitió colectarlos por sifoneo en un tamiz semisumergido en agua para minimizar el daño físico causado por el manejo.

Los nauplios recién eclosionados se inactivaron por tratamiento con agua calentada a 70 °C durante 5 minutos, con el objeto de evitar el deterioro de su calidad dietética debido a su desarrollo, además de facilitar su captura por las larvas mysis de camarón (Smith *et al.*, 1992). Después de este tratamiento los nauplios se colocaron en un recipiente con un volumen conocido de agua de mar, en el cual se determinó su concentración con el mismo procedimiento utilizado para los rotíferos.

Después de alimentar las larvas de camarón, los nauplios restantes se concentraron en un tamiz para liberarlos del agua y se guardaron en seco en un congelador doméstico a una temperatura de -20 °C, para su conservación y uso posterior en el transcurso de las pruebas siguientes.

Para comprobar que este tratamiento no modifica sustancialmente la composición orgánica y el valor dietético de los nauplios, con respecto a los recién eclosionados, se llevaron a cabo pruebas preliminares para verificar el peso seco total, el peso seco orgánico, el contenido energético y el de los principales componentes orgánicos, tanto inmediatamente después de la eclosión como después del tratamiento con agua caliente y después de 30 días de preservación a -20 °C.

Para estas determinaciones se utilizaron filtros de fibra de vidrio de 25 mm con cantidades conocidas de nauplios de *Artemia*, usando la misma metodología y los mismos criterios ya indicados para microalgas y rotíferos, con la diferencia que para la extracción de las proteínas se utilizó hidróxido de sodio 1 N.

Los resultados de estas pruebas no mostraron diferencias de peso entre los nauplios frescos y recién cocidos; sin embargo las pérdidas de los preservados en congelación durante 30 días fueron de 8 y 12% en peso seco total y orgánico, respectivamente. En estas muestras, los componentes orgánicos mostraron un aumento en el contenido proteínico (13-14%) y de manera respectiva, una disminución en el porcentaje de los carbohidratos (3-6%) y de los lípidos (12-7%), tanto en el caso de los nauplios frescos con respecto a los

recién tratados con agua caliente, como entre éstos y los conservados en congelación por 30 días.

El contenido energético, verificado por combustión directa en un calorímetro, fue un poco menor por unidad de peso seco de organismos frescos que de los recién inactivados, con 16.3 y 17.0 J·mg⁻¹, respectivamente. Por consiguiente y debido a que en el transcurso de los experimentos el periodo de conservación de estos nauplios nunca fue mayor a 7 días, se consideró que la variación de su composición orgánica y de su valor energético fue irrelevante para los fines de esta investigación.

III.2. CULTIVOS LARVARIOS

En total, se realizaron cuatro experimentos de cultivo de larvas zoea hasta la aparición de las primeras mysis y cuatro adicionales desde la fecha de dominancia de mysis I hasta la aparición de las primeras postlarvas. En dos de éstos se utilizaron larvas del mismo desove para los dos estadios, mientras que para dos de los experimentos con mysis se utilizaron larvas procedentes de desoves diferentes de los usados para el estadio de zoea.

En todos los casos, las larvas que se utilizaron para las pruebas a corto plazo dirigidas a evaluar el balance energético de cada subestadio de desarrollo larvario, fueron las mismas usadas para los cultivos de mayor duración. Con esta finalidad, se consiguieron por donación larvas en la fase de nauplio III o de zoea II, según fuera el caso, de los laboratorios comerciales Maricultura del Pacífico, S.A. de C.V. o Prolamar, S.A. de C.V., que se transportaron al laboratorio en bolsas de plástico con agua con oxígeno a saturación y temperaturas de 26-27 °C.

Una vez aclimatadas a la temperatura experimental, que fue 29±0.2 °C en todos los casos, las larvas se transfirieron a recipientes de 200 ó 400 litros, con agua de mar filtrada a 1 µm y tratada con carbón activado, con agitación constante por burbujeo profuso con aire filtrado a 1 µm, en los cuales se mantuvieron con las técnicas tradicionales, con recambios de agua diarios de 25 a 30%, alimentación de acuerdo a las tablas de Arellano Moncayo (1990) y

eliminación de los biodepositos con un sifón protegido por una malla nytex de 200 μm .

Cuando las larvas alcanzaron la fase deseada para iniciar los experimentos de cultivo (> 70% de zoea I o de mysis I), se concentró en un tamiz sumergido en agua el número necesario de organismos, que se repartió en los respectivos acuarios experimentales con una concentración inicial de 100 individuos·l⁻¹ en todos los casos y se obtuvieron las muestras necesarias para determinar el peso, el contenido energético y la composición de las larvas.

Las larvas restantes se mantuvieron en el recipiente común hasta cuando se observó que por lo menos el 95% se encontraban en la misma fase. A este punto se retiró la cantidad necesaria para los experimentos de corto plazo, hasta finalizar todas las pruebas previstas con ese lote.

También en cada ocasión y para cada etapa larvaria se colectaron 50 organismos en filtros de fibra de vidrio de 25 mm de diámetro previamente calibrados y tratados de la misma manera que para microalgas, rotíferos y nauplios de *Artemia* que sirvieron para estimar los pesos seco y orgánico individual de las larvas de *Litopenaeus vannamei*.

III.2.1. EXPERIMENTOS DE CORTO PLAZO

Estos experimentos tenían la finalidad de evaluar el potencial de crecimiento máximo de un organismo mantenido en una combinación definida de variables ambientales que se suponen constantes o por lo menos con una variabilidad limitada, aunque las variables de respuesta que es necesario medir requieren o pueden requerir diferentes números de organismos, de repeticiones y tiempos diferentes de observación, dictados por la sensibilidad y la reproducibilidad de los métodos que se utilizan en cada caso.

Para cada uno de los experimentos de evaluación de la ingestión, se utilizaron cuatro acuarios de 15 litros (6000 larvas en total), verificando la concentración de alimento restante después de dos y cuatro horas de incubación y considerando que el volumen de 10 ml disponible para cada larva era suficiente para no modificar sustancialmente la disponibilidad de alimento, que pudiera

haber modificado a la vez la tasa de ingestión horaria. Ésta se calculó como el promedio general de todos los datos recabados en las cinco repeticiones de cada uno de los cuatro experimentos, con un total de 20 repeticiones para cada subestadio y cada tipo de dieta.

Al final de las cuatro horas, y después de tomar las últimas muestras para la evaluación del consumo, se procedió a recambiar el 100% del agua inicial con agua filtrada que se siguió adicionando en forma continua con el fin de eliminar totalmente el alimento sobrante a través de un control de nivel, protegido con malla nyltex de 250 μm para zoea y de 600-700 μm para mysis.

Posteriormente, se obtuvieron cuatro submuestras de 300 ml de cada recipiente, que se confinaron en frascos BOD para la determinación de las tasas respiratoria y de excreción nitrogenada después de dos y cuatro horas, al final de las cuales la concentración de oxígeno era todavía superior al 70% de la inicial. Dos de éstas se utilizaron a las dos horas y posteriormente se eliminaron, ya que se usaron como respirómetros cerrados, y las dos restantes se usaron para obtener el consumo de O_2 y la producción de amonio después de cuatro horas de incubación (total de datos por subestadio y por dieta: 32 determinaciones de O_2 y NH_4^+ a las 2 y un número igual a las 4 horas).

El resto de las larvas de cada recipiente se incubó durante aproximadamente 2.5 a 3 horas, al final de las cuales las larvas tenían el tracto digestivo vacío y la cantidad de heces producidas era suficiente para determinar la eficiencia de absorción con el método de Conover (1966 a), que consiste en verificar el cambio de la razón entre peso total y orgánico de alimento y de heces, de acuerdo a la ecuación:

$$EA = \frac{F - E}{(1 - E)F} \quad [9]$$

en donde F y E son las razones entre peso seco orgánico y peso seco total del alimento y de las heces y EA es la eficiencia de absorción bajo el supuesto, que ha sido confirmado en diferentes organismos del zooplancton, que la parte

inorgánica del alimento no es absorbida en el tracto digestivo (Sick, 1976; Navarro y Thompson, 1994).

Las heces se concentraron en dos filtros GF/C precalibrados para cada repetición y los pesos secos total, orgánico e inorgánico se determinaron como en las muestras de los respectivos alimentos. Las concentraciones de oxígeno y de amonio se midieron con un electrodo polarográfico en el primer caso y con la técnica descrita en Rodier (1981) para el segundo. En los dos casos las técnicas y los instrumentos fueron calibrados antes de analizar las muestras, la manualidad y los operadores fueron los mismos y se usaron los respectivos controles sin organismos para evaluar el metabolismo general del sistema en ausencia de larvas, con el fin de corregir los resultados de las pruebas de incubación.

Los resultados que se recabaron con estos experimentos se consideraron representativos de cada subestadio de desarrollo, ya que en ningún caso el porcentaje de larvas en los subestadios anterior o sucesivo superó el 5%, por lo cual no se consideró necesaria una corrección de los resultados debida a la interferencia de larvas en fases de desarrollo diferentes a la que se estaba evaluando.

Para comparar y diferenciar las tasas de ingestión, de asimilación, de consumo de oxígeno y de excreción de amonio de los subestadios de zoea y de mysis, se realizaron pruebas de análisis de varianza paramétricas o de distribución libre dependiendo de los resultados de las pruebas de normalidad (Lilliefors) y de homoscedasticidad (Bartlett), realizando asimismo las respectivas pruebas de comparaciones múltiples cuando se encontraron diferencias significativas en los análisis de varianza (Zar, 1996). En el caso de los subestadios de zoea las pruebas de análisis de varianza fueron de una vía, mientras que para las fases de mysis fueron de dos factores (subestadio y dieta), considerando siempre un nivel de significancia del 5%.

En vista de que las larvas se obtuvieron de desoves comerciales, con un mínimo de cinco y hasta 8-10 hembras/desove y que además éstas procedían

de dos laboratorios, cada uno de los cuales cuenta con su propio banco de reproductores, se consideró procedente promediar los resultados de estos experimentos para describir los procesos que definen el balance energético y por ende el crecimiento de *L. vannamei* en los cultivos larvarios comerciales de esta especie, además que para verificar la efectividad de la dieta animal que se propuso como una posible alternativa a la utilización de los tradicionales nauplios de *Artemia*, por lo cual se procedió a calcular los balances energéticos parciales y globales y a compararlos para evaluar esta posibilidad.

Con estos cálculos se obtuvo la cantidad de energía que cada etapa tiene disponible para su crecimiento y para la formación de las nuevas estructuras que caracterizan el cambio entre una etapa y la otra, a la cual se restó en cada caso el 4%, que representa la pérdida debida a las exuvias formadas al inicio de cada subestadio, que por este motivo deberían ser calculadas como crecimiento, pero que posteriormente se pierden en cada proceso de muda.

El crecimiento potencial (campo de crecimiento) horario se multiplicó posteriormente por el número de horas de duración de cada etapa determinado en las pruebas de cultivo, para obtener el incremento del contenido energético total de cada fase.

III.2.2. EXPERIMENTOS DE LARGO PLAZO

Estos experimentos iniciaron con aproximadamente un 70% de larvas en la fase deseada (zoea I y mysis I) y terminaron en todos los casos cuando aparecieron las primeras larvas del estadio de desarrollo siguiente (mysis I y postlarva I, respectivamente).

En el primer caso, el alimento consistió exclusivamente en *C. muelleri* suministrado en raciones diarias progresivamente crecientes, de 100, 120 y 150 cel· μl^{-1} para zoea I, II y III, equivalentes a 1, 1.2 y 1.5×10^6 cel·larva $^{-1}$, respectivamente.

En el caso del siguiente estadio, la ración diaria de microalgas se mantuvo igual para los tres subestadios y disminuyó a 50 cel· μl^{-1} , mientras que los nauplios de *Artemia* se suministraron a razón de 30, 40 y 50 nauplios para cada larva (3, 4 y

5 nau·ml⁻¹), en las respectivas fases de mysis I, II y III, que se sustituyeron con 180, 240 y 360 rot·lar⁻¹ para fines de comparación de las dietas, utilizando una información preliminar sobre los pesos orgánicos individuales de rotíferos y nauplios, de acuerdo a la cual 7 rotíferos serían equivalentes a la biomasa de un nauplio.

En todos los casos, el alimento se suministró en dos porciones iguales, inmediatamente después del cambio de agua y 12 horas más tarde, respetando el tamaño de las raciones individuales mediante ajustes diarios del volumen de cada cultivo de acuerdo a la mortalidad registrada durante la operación de recambio del agua.

Los porcentajes de sobrevivencia se calcularon considerando en todos los casos los valores de los días sucesivos a la fecha de siembra, solamente en términos de porcentaje con respecto a la concentración inicial (sobrevivencia absoluta). Además, los cálculos se realizaron por separado para los estadios de zoea y de mysis, en vista del hecho que para el segundo los cultivos se reiniciaron para comparar los dos tipos de dieta.

El seguimiento de los cultivos consistió en observaciones realizadas en muestras tomadas cada 6 horas, que tenían la finalidad de registrar la etapa de desarrollo de entre 20 y 30 larvas de cada recipiente, que sirvió para el cálculo del índice de desarrollo (I.D.) con la ecuación propuesta por Villegas y Kanazawa (1979):

$$I.D. = \frac{\sum i n_i}{n} \quad [10]$$

en donde *i* es el valor absoluto asignado a cada etapa de desarrollo (desde *i* = 0 para nauplio V hasta *i* = 7 para postlarva 1), *n_i* es el número de organismos de la fase correspondiente al valor *i* encontrados en una muestra y *n* es el total de especímenes observados en cada muestra.

Las larvas de estas muestras se observaron en vivo con un estereoscopio y se retornaron a los respectivos recipientes para minimizar la mortalidad por muestreo, en el caso de las obtenidas a las 6, 12 y 18 horas después del

recambio del agua, mientras que las obtenidas durante esta operación se preservaron con la solución fijadora propuesta por Correa Sandoval y Bückle Ramírez (1993), para posteriormente medir su longitud total en un microscopio con reglilla ocular precalibrada. Los recambios de agua se efectuaron a intervalos de 24 horas, eliminando en todos los casos las heces y el alimento sobrante mediante un sifón protegido con una malla nytex de tamaño apropiado para evitar la pérdida de organismos y después de obtener las muestras necesarias para evaluar el consumo de alimento en cada cultivo.

Una vez terminada esta primera parte de la operación, las larvas se suspendieron en 500 ml de agua filtrada y precalentada a 29 °C y, después de verificar el número de larvas sobrevivientes mediante 15 a 20 conteos con reemplazo de muestras de 10 ml, se procedió a ajustar el volumen de cada cultivo con el fin de mantener constante la concentración de organismos y con esto mantener constantes también la ración y el volumen de agua disponible para cada larva.

Cuando los índices de desarrollo indicaron que en el transcurso de las 24 horas anteriores las larvas habían alcanzado el nuevo subestadio (asumiendo que un I.D.=2 indica 100% de zoea II; I.D.=3 es 100% de zoea III y así sucesivamente), se obtuvieron muestras adicionales que sirvieron para determinar el peso seco total y orgánico y la composición proximal de las larvas, y se inició el suministro de la ración prevista para ese subestadio.

El cálculo del balance energético se puede realizar en forma individual para cada una de las fases de desarrollo, lo cual permite calcular la cantidad de energía disponible para el crecimiento de cada larva y para que ésta pueda hacer frente a los requerimientos energéticos causados por la formación de las nuevas estructuras que caracterizan las varias fases de desarrollo durante el proceso de cambio desde una etapa larvaria a la sucesiva.

Por otra parte, durante su desarrollo las larvas siguen aumentando tanto en talla como en peso individual, por lo cual es de esperar que la ingestión y el metabolismo aumenten de acuerdo a estos incrementos, aunque es posible que

no exista una relación proporcional entre el aumento en peso y en ingestión y que de igual manera cambien las tasas metabólicas cuando se normalizan por unidad de peso, en vista de que en general éstas disminuyen con la edad, la cual está relacionada con los cambios en peso y en talla individuales (Schmidt-Nielsen, 1997).

Por este motivo, estos cálculos se realizaron tanto en forma individual como por unidad de biomasa para cada uno de los subestadios de desarrollo y se expresaron en $J \cdot h^{-1} \cdot individuo^{-1}$ y $J \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$ de peso seco total.

Para verificar la existencia de diferencias en el tamaño de las larvas por efecto de las dietas suministradas a las larvas mysis de *Litopenaeus vannamei*, que consistieron en nauplios de *Artemia* o en rotíferos *Brachionus plicatilis*, los valores finales de crecimiento en talla se compararon mediante pruebas para dos muestras t de Student, verificando previamente la normalidad y la homogeneidad de varianza de las muestras (Zar, 1996).

IV. RESULTADOS

IV.1. CULTIVOS DE APOYO

Los cultivos de microalgas y de rotíferos se utilizaron como alimento entre tres y cuatro días después de la fecha en la cual las concentraciones poblacionales, que se verificaron diariamente junto con las variables ambientales, demostraron que no existían cambios importantes con respecto a los valores registrados antes de la dilución del día anterior, que fue cuando los cultivos se consideraron estabilizados.

Los datos que se obtuvieron a partir de ese día indican que la densidad óptica de los cultivos de *C. muelleri* se mantuvo en valores elevados, con lecturas medias de absorbancia de 0.83 y que además su variabilidad fue limitada, lo cual es demostrado por el bajo valor del coeficiente de variación, que fue solamente del 16%. Sin embargo, en vista de esta baja variabilidad, la cual comprueba que la tasa de crecimiento de los cultivos se mantuvo aproximadamente constante, además que por los valores medios elevados del pH y de la concentración celular (9.6 y 4.7×10^6 cel·ml⁻¹, respectivamente), se infiere que la penetración de la luz fue suficiente para que el proceso fotosintético permitiera mantener con regularidad el alto nivel de producción diaria que se consideró necesario para el mantenimiento de los cultivos de rotíferos y para las pruebas de alimentación de las larvas de camarón.

Los pesos secos celulares unitarios que se determinaron con los muestreos periódicos de las cosechas coinciden con la parte central de los intervalos señalados por Cordero Esquivei (1994), Sánchez Saavedra (1994) y López Elías (2002), de acuerdo a los cuales los pesos secos total y orgánico de una célula de esta especie pueden variar, en dependencia de las condiciones de cultivo, entre 50 y 100 y de 25 a 60 picogramos·cel⁻¹ (pg·cel⁻¹) respectivamente. Usando los valores medios de la concentración celular y de los pesos unitarios recabados durante las pruebas de alimentación (Tabla 1), se calculó que los 4.5 litros cosechados diariamente de cada recipiente redituaron aproximadamente 1.67 y 0.95 g de biomasa seca total y orgánica, respectivamente.

Los cultivos de rotíferos se mantuvieron en penumbra y con un bajo nivel de agitación por burbujeo. De esta manera se evitó o por lo menos se minimizó el estrés mecánico causado por la excesiva turbulencia, además del químico debido a los elevados valores de pH generados por la actividad fotosintética microalgal. A pesar de la alta concentración de rotíferos y de microalgas y de su respiración, estos factores no causaron cambios importantes de pH, el cual se mantuvo con un valor medio de 7.9 y un coeficiente de variación del 3.6%, el cual demuestra que esta variable se mantuvo dentro del intervalo que se considera normal para agua de mar, que es el más apropiado para el cultivo de este organismo (Hoff y Snell, 1999).

Tabla 1. Valores promedio y desviación estándar de pH, densidad óptica (DO), concentración de organismos (N, en $10^6 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$ y en $\text{org}\cdot\text{ml}^{-1}$), peso seco unitario (PSU, en $\text{pg}\cdot\text{cel}^{-1}$ y en $\mu\text{g}\cdot\text{org}^{-1}$) peso orgánico unitario (POU, en $\text{pg}\cdot\text{cel}^{-1}$ y en $\mu\text{g}\cdot\text{org}^{-1}$) y materia inorgánica (M.I.) en porcentajes, para la microalga *Chaetoceros muelleri* y el rotífero *Brachionus plicatilis* o el nauplio de *Artemia*, respectivamente.

	DO	pH	N	PSU	POU	M.I.
			$10^6 \text{ cel}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\text{pg}\cdot\text{cel}^{-1}$	$\text{pg}\cdot\text{cel}^{-1}$	%
<i>C. muelleri</i>	0.83	9.59	4.73	78.66	44.69	42.20
	± 0.13	± 0.43	± 0.62	± 19.11	± 9.94	± 8.40
			$\text{org}\cdot\text{ml}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{org}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{org}^{-1}$	%
<i>B. plicatilis</i>		7.90	231.35	0.37	0.29	21.90
		± 0.29	± 65.21	± 0.09	± 0.05	± 6.40
Nauplio de <i>Artemia</i>				2.52	2.23	11.40
				± 0.57	± 0.53	± 7.70

La densidad diaria fluctuó entre 125 y 410 organismos· ml^{-1} , con un promedio de 231 rotíferos· ml^{-1} y los pesos individuales variaron en un intervalo relativamente amplio, debido a las variaciones de natalidad que causaron porcentajes variables de neonatos y de adultos, con valores promedio de 0.37 y 0.29 μg de

sustancia seca total y orgánica, por lo cual las cosechas medias diarias de cada recipiente fueron de 0.39 y 0.30 g, respectivamente (86 y 67 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$).

Los nauplios de *Artemia* se obtuvieron de dos lotes de quistes procedentes de diferentes cosechas, que explica el valor relativamente elevado del coeficiente de variación (23-24%) del peso seco medio individual, que fue 2.52 μg , el cual es similar al valor de 2.42 μg reportado por Van Stappen (1996) para los nauplios recién eclosionados de *A. franciscana* del Gran Lago Salado. El contenido orgánico fue aproximadamente 89%, el cual es ligeramente inferior del valor indicado por la compañía que comercializa estos quistes, que debería ser alrededor del 94% (Salt Creek Inc., 1999).

Los análisis proximales de las tres dietas mostraron en los tres casos que las proteínas fueron las más abundantes, seguidas por los lípidos y los carbohidratos. Con respecto al peso orgánico, las microalgas resultaron estar compuestas de un 56% de proteínas, 15% de carbohidratos y un 26% de lípidos y su contenido energético, evaluado por medio de combustión directa, fue de 14.0 ± 2.0 kilojoules (KJ) por cada gramo de biomasa seca.

Cuando se recalculó para el mismo peso de materia orgánica, este valor se incrementó hasta 24.22 KJ, el cual es solamente poco más del 8% inferior al valor de 26.87 $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}$ que se calculó utilizando los equivalentes calóricos tradicionales de 23.65, de 17.16 y de 39.56 $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}$, que se usan para valorar la contribución energética de proteínas, carbohidratos y lípidos, respectivamente (Parsons *et al.*, 1984).

Los rotíferos dieron el mayor porcentaje individual de proteínas, las cuales alcanzaron un valor cercano al 69%, mientras que su contenido de carbohidratos fue el menor, con un 10%. Los lípidos representaron el 28% restante, que es similar al de las microalgas que constituyen su dieta y no se aleja de los valores que se reportan para la gran mayoría de los organismos del plancton (Tacon, 1990).

El primer instar (nauplio) de *Artemia* es lecitotrófico, por lo cual los nauplios inactivados inmediatamente después de su eclosión deberían ser

particularmente ricos en reservas; en efecto, su contenido porcentual de lípidos resultó ser de 36.8%, que fue superior al que se encontró en los demás alimentos, y para los carbohidratos se determinó un contenido del 15%.

En comparación con las otras dietas, los nauplios tuvieron el menor porcentaje de proteínas, con aproximadamente un 50% el cual, al igual que los carbohidratos, es similar al valor reportado por Lora Vilchis *et al.* (2004) y no difiere de mucho del intervalo (41.6-47.2%) indicado por Léger *et al.* (1986).

Los contenidos energéticos que se obtuvieron por calorimetría directa resultaron muy semejantes para los rotíferos y los nauplios de *Artemia*, y fueron 20.1 y 22.1 KJ·g⁻¹ de peso seco, equivalentes a 25.6 y 25.0 KJ·g⁻¹ de peso orgánico, respectivamente. Cuando estos valores se calcularon con los equivalentes energéticos de los componentes orgánicos, se obtuvieron contenidos de energía de 29.0 y de 28.6 KJ·g⁻¹ para rotíferos y nauplios de *Artemia*, respectivamente, los cuales son un 13 y un 14% mayores de los estimados por combustión directa (Tabla 2).

Tabla 2. Valores promedio y desviación estándar del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P, C y L, respectivamente), en pg·cel⁻¹ para *C. muelleri*, y en µg·org⁻¹ para *B. plicatilis* y nauplio de *Artemia*; E (PS) y E (PO): contenido energético por unidad de peso seco y orgánico, ambos en KJ·g⁻¹.

	P	C	L	E (PS)	E (PO)
	pg·cel ⁻¹	pg·cel ⁻¹	pg·cel ⁻¹	KJ·g ⁻¹	KJ·g ⁻¹
<i>C. muelleri</i>	24.90 ± 1.00	6.50 ± 2.20	11.40 ± 5.60	14.00 ± 1.96	24.72 ± 3.50
	µg·org ⁻¹	µg·org ⁻¹	µg·org ⁻¹	KJ·g ⁻¹	KJ·g ⁻¹
<i>B. plicatilis</i>	0.20 ± 0.04	0.03 ± 0.01	0.08 ± 0.02	20.05 ± 0.92	25.59 ± 1.17
Nauplio de <i>Artemia</i>	1.09 ± 0.25	0.33 ± 0.13	0.82 ± 0.38	22.11 ± 4.18	24.99 ± 4.73

IV.2. PESO DE LAS LARVAS DE *Litopenaeus vannamei*

Los datos medios de peso seco total y orgánico de las larvas que se utilizaron para los experimentos de corto plazo demuestran que desde los 11.3 y 8.7 μg registrados para la fase de zoea I, los organismos incrementaron progresivamente su peso hasta 92 y 72 μg , pero los aumentos entre un subestadio y el sucesivo procedieron con tasas diversas: hasta la fase de mysis I los aumentos en peso total variaron entre un 47 y un 74%; en el caso de las dos etapas siguientes disminuyeron hasta entre 28 y 35% y la primera postlarva pesó solamente un 10% más de las mysis III.

La misma tendencia se puede notar con el peso orgánico individual aunque, debido al menor porcentaje de compuestos minerales de las mysis III, en este caso el incremento representó aproximadamente el 47% del peso orgánico de mysis II. Durante los aproximadamente 8.5 a 9 días transcurridos desde la dominancia (> 70%) de zoea I hasta la aparición de las primeras postlarvas, los incrementos en peso seco y orgánico representaron entre 715 y 725% de los respectivos valores iniciales (Tabla 3).

Tabla 3. Valores promedio y respectiva desviación estándar de los pesos seco y orgánico unitarios (PSU y POU, en $\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}$) y porcentajes de materia inorgánica (M.I.) de las larvas zoea y mysis de *Litopenaeus vannamei* usadas para los experimentos de corto plazo.

	PSU	POU	M.I.
	$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}$	%
ZOEA I	11.31 \pm 2.68	8.67 \pm 1.78	22.59 \pm 6.05
ZOEA II	16.66 \pm 3.30	12.54 \pm 2.63	24.54 \pm 8.73
ZOEA III	28.95 \pm 4.56	21.67 \pm 3.64	25.01 \pm 6.02
MYSIS I	48.23 \pm 6.91	36.57 \pm 5.37	24.00 \pm 5.70
MYSIS II	61.93 \pm 7.67	47.15 \pm 5.84	23.73 \pm 4.82
MYSIS III	84.17 \pm 6.39	69.47 \pm 4.85	17.37 \pm 3.16
PL 1	92.07 \pm 11.36	71.73 \pm 5.85	21.25 \pm 9.49

IV.3. EXPERIMENTOS DE CORTO PLAZO

IV.3.1. TASA DE INGESTIÓN

En vista de los pesos progresivamente crecientes, la tasa horaria de ingestión individual aumentó progresivamente desde cerca de 75,000 hasta 127,000 cel-larva⁻¹·h⁻¹ para la primera y la tercera de las tres fases de zoea alimentadas con la diatomea *C. muelleri*, que son equivalentes a entre el 7.5 y el 8.5% de la cantidad disponible y a un consumo horario de 5.9 a 10.0 µg en peso total y desde 82 a 140 mJ-larva⁻¹·h⁻¹.

Por otra parte, la tasa de ingestión no aumentó en forma proporcional al incremento del peso individual: con un peso equivalente al 147% de la fase de zoea I, la cantidad de alimento ingerido por una zoea II aumentó solamente un 12% y de igual manera una zoea III ingirió solamente un 15% más microalgas con respecto a la fase anterior, aunque la diferencia entre pesos fue cercana al 75%, y en efecto las pruebas estadísticas demostraron que solamente en este caso la ingestión horaria fue significativamente mayor de la registrada para las dos etapas anteriores, mientras que no se encontraron diferencias significativas entre las cantidades de microalgas consumidas por las larvas en las fases de zoea I y II (Tabla 4 A).

La relación inversa que se esperaba encontrar entre las tasas metabólicas y el peso de los organismos, quedó comprobada para las tres fases de este estadio de desarrollo larvario, durante el cual se registró una disminución progresiva de la cantidad de microalgas ingeridas por unidad de peso total de las larvas: la ingestión horaria de 1 µg de zoea II resultó equivalente al 75% del alimento ingerido por el mismo peso de larvas en la etapa de zoea I y este porcentaje se redujo aún más, hasta cerca del 66%, en el caso de zoea III (87% de la ingestión de zoea II).

De acuerdo a los resultados de estos experimentos, la ingestión potencial horaria de una zoea I es equivalente al 52% de su peso individual. Este porcentaje disminuye abruptamente hasta cerca del 40% para la fase siguiente,

con una disminución menos importante entre zoea II y zoea III. Contrariamente al caso del consumo horario individual, las pruebas estadísticas realizadas con los datos normalizados por unidad de biomasa indican que la ingestión porcentual fue significativamente mayor para la fase de zoea I en comparación con las dos etapas siguientes, pero no se encontraron diferencias significativas entre zoea II y zoea III (Tabla 4 B).

Tabla 4. Ingestión horaria promedio y desviación estándar para cada subestadio de zoea de *Litopenaeus vannamei*, en número de células de *Chaetoceros muelleri*, en unidades de peso seco total y en unidades de energía por individuo (A), o por unidad de peso seco total de larvas (B). Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios, para cada variable de respuesta (análisis de varianza de una vía, $\alpha = 0.05$).

	ZOEI I	ZOEI II	ZOEI III
A			
$10^4 \text{ cel}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$7.48^a \pm 1.19$	$8.39^a \pm 0.90$	$12.70^b \pm 1.05$
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$5.89^a \pm 0.94$	$6.60^a \pm 0.71$	$9.99^b \pm 0.82$
$\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$0.08^a \pm 0.01$	$0.09^a \pm 0.01$	$0.14^b \pm 0.01$
B			
$10^4 \text{ cel}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$0.66^b \pm 0.11$	$0.50^a \pm 0.05$	$0.44^a \pm 0.04$
$\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$0.52^b \pm 0.08$	$0.40^a \pm 0.04$	$0.35^a \pm 0.03$
$\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$7.29^b \pm 1.16$	$5.55^a \pm 0.60$	$4.83^a \pm 0.40$

En el caso de las siguientes etapas de mysis, la ingestión de microalgas que se verificó en el caso de los recipientes alimentados con nauplios de *Artemia* adicionados con *C. muelleri*, se refiere en forma prácticamente exclusiva al consumo activo de las larvas, en vista de que los nauplios de *Artemia* no se alimentan durante las primeras 8 a 10 horas posteclosión y porque además, después de su inactivación mediante el tratamiento con agua caliente y el período de preservación a $-20\text{ }^\circ\text{C}$, la sobrevivencia que se verificó con algunas pruebas de incubación fue generalmente inferior a entre el 2 y el 5%.

Por otra parte, los rotíferos son filtradores activos y son además altamente eficientes, que explica la mayor ingestión de microalgas en los recipientes alimentados con *B. plicatilis*. No obstante, se optó por utilizar los datos sin correcciones, considerando a los rotíferos como bioencapsuladores de microalgas ya que, de acuerdo a las pruebas de largo plazo, los rotíferos fueron consumidos prácticamente en su totalidad en periodos variables entre las 12 y las 15–16 horas, por lo cual las microalgas que éstos ingirieron fueron consumidas en forma indirecta por las larvas que los utilizaron como alimento.

De acuerdo a los datos de estas pruebas, la ingestión individual de las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* aumentó en paralelo con su fase de desarrollo, desde 1.8 hasta 4.4 nauplios-larva⁻¹·h⁻¹ para mysis I y III, respectivamente, mientras que el consumo de rotíferos se incrementó de un 75% solamente entre mysis I y mysis II y permaneció prácticamente invariado para la tercera y última etapa de esta fase de desarrollo larvario.

Debido a esto, cuando los consumos de alimento se calcularon en términos de peso y de su equivalente energético, las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* aumentaron su ingestión con la edad de los organismos y el consumo individual fue menor con esta dieta para mysis I y II, en comparación con las larvas de la misma edad que recibieron *B. plicatilis*, mientras que para mysis III la ingestión fue mayor con la dieta tradicional.

El análisis estadístico demostró la existencia de diferencias significativas tanto entre dietas como entre fases de desarrollo. Examinando por separado la ingestión de cada dieta, se encontraron diferencias significativas entre las tres etapas de mysis en el caso de las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, mientras que se confirmó que con la dieta basada en *B. plicatilis* el consumo de energía y de biomasa fue similar para las fases de mysis II y III, que en ambos casos fueron superiores que para mysis I. Por otra parte, comparando la ingestión de cada etapa alimentada con las dos dietas, el consumo individual fue significativamente mayor con rotíferos que con *Artemia* para mysis I y mysis

II, pero en el caso de mysis III el consumo fue mayor con nauplios de *Artemia* (Anexos 1 A y B).

Por este motivo, para los cálculos de cantidad de alimento y de energía asimilados, se utilizaron los valores que se obtuvieron por separado para cada etapa y cada tipo de dieta, que permitió comparar el balance energético del desarrollo larvario completo de *L. vannamei* cultivado con los dos regímenes alimenticios propuestos. Aunque esta información podría ser utilizada para optimizar la alimentación en un cultivo de larvas con fines comerciales, no se consideró la posibilidad de modificaciones del tipo de alimento suministrado, de acuerdo a la fase de desarrollo de las larvas en cultivo.

Por otra parte, cuando se analizaron los mismos datos considerando el efecto de la interacción entre dietas y fases de desarrollo, la ingestión de nauplios de *Artemia* no resultó diferente para mysis I y II y fue similar a la de las mysis I alimentadas con *B. plicatilis*.

Con la segunda de estas dietas, la ingestión de mysis II y III fue similar y fue además superior a los tres casos anteriores y el mayor consumo individual fue el de las mysis III alimentadas con nauplios de *Artemia*, aunque el mayor contenido energético de los nauplios modificó ligeramente los resultados cuando se evaluó la ingestión en términos de energía consumida, en vez que como materia seca total (Tabla 5 A).

Contrariamente a las etapas de zoea, para los cuales la ingestión horaria por unidad de biomasa disminuyó en paralelo con la edad de las larvas, el efecto de los importantes aumentos de ingestión de las tres fases de mysis no fue contrarrestado por los incrementos de peso, por lo cual la tasa de ingestión normalizada se incrementó desde $0.16 \mu\text{g}$ y $3.0 \text{ mJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ de peso para mysis I hasta $0.18 \mu\text{g}$ y $3.5 \text{ mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para las mysis III alimentadas con nauplios de *Artemia*.

En el caso de la dieta basada en *B. plicatilis*, el consumo normalizado aumentó solamente para las dos primeras etapas, pero se redujo drásticamente en la fase de mysis III, para la cual la cantidad de biomasa y de energía ingeridas

disminuyeron hasta representar respectivamente el 75 y el 72% de las calculadas para la etapa de desarrollo anterior.

Como para la ingestión individual, se encontraron diferencias significativas, las cuales resultaron relacionadas con la interacción entre dietas y fases de desarrollo en el caso de la ingestión de biomasa mientras que, debido a los diferentes contenidos energéticos de rotíferos y nauplios de *Artemia* (Tabla 2), las diferencias en la ingestión de energía resultaron relacionadas también con la fase de desarrollo.

Por otra parte, examinando la ingestión por unidad de peso de cada una de las tres etapas de mysis, se encontraron diferencias significativas entre el consumo de rotíferos y de *Artemia* para las fases de mysis II (*B. plicatilis* > *Artemia*) y mysis III (*Artemia* > *B. plicatilis*), mientras que en cantidad de energía la diferencia fue significativa solo en el caso de mysis III.

Comparando la ingestión normalizada de la misma dieta para las tres fases de desarrollo, ésta fue significativamente mayor para mysis III que para mysis I en el caso de las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, mientras que cuando se alimentaron con *B. plicatilis* la única diferencia significativa fue la menor ingestión de mysis III, comparada con la de mysis II (Anexos 1 C y D).

Aunque el efecto interactivo modificó algunos de estos resultados, el análisis global confirmó el mayor consumo de rotíferos o por lo menos la falta de diferencias entre éstos y los nauplios de *Artemia* para las dos primeras fases de mysis, pero hizo evidente la importancia de utilizar una presa de dimensiones mayores en el caso de mysis III (Tabla 5 B).

Tabla 5. Ingestión media y desviación estándar para cada subestadio de mysis de *Litopenaeus vannamei*, en número de células y de organismos, en unidades de peso seco total y de energía, por individuo (A) y por unidad de peso seco total de larvas (B), y por unidad de tiempo. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Letras iguales o comunes indican falta de diferencia significativa entre datos en la misma línea (análisis de varianza de dos vías, $\alpha = 0.05$).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
A						
10^4 cel·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	4.05 ±0.51	6.06 ±0.00	2.93 ±0.43	6.06 ±0.00	4.83 ±0.69	6.53 ±0.50
org·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	+ 1.78 ±0.24	+ 12.00 ±2.85	+ 2.77 ±0.53	+ 20.89 ±3.79	+ 4.37 ±0.86	+ 19.70 ±3.29
μg ·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	7.66 ^a ±0.79	9.22 ^a ±1.06	9.26 ^a ±1.37	12.53 ^b ±1.41	14.79 ^c ±1.78	12.45 ^b ±1.32
J·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	0.14 ^a ±0.02	0.16 ^{ab} ±0.02	0.19 ^{bc} ±0.03	0.22 ^d ±0.03	0.30 ^e ±0.04	0.22 ^{cd} ±0.03
B						
10^4 cel· μg ⁻¹ ·h ⁻¹	0.08 ±0.01	0.13 ±0.00	0.05 ±0.01	0.10 ±0.00	0.06 ±0.01	0.08 ±0.01
org· μg ⁻¹ ·h ⁻¹	+ 0.04 ±0.01	+ 0.25 ±0.06	+ 0.04 ±0.01	+ 0.34 ±0.06	+ 0.05 ±0.01	+ 0.23 ±0.04
μg · μg ⁻¹ ·h ⁻¹	0.16 ^a ±0.02	0.19 ^b ±0.02	0.15 ^a ±0.02	0.20 ^b ±0.02	0.18 ^{ab} ±0.02	0.15 ^a ±0.02
mJ· μg ⁻¹ ·h ⁻¹	2.98 ^{ab} ±0.32	3.24 ^{abc} ±0.44	3.01 ^{ab} ±0.48	3.59 ^c ±0.46	3.52 ^{bc} ±0.50	2.60 ^a ±0.30

IV.3.2. EFICIENCIA DE ASIMILACIÓN Y ALIMENTO ASIMILADO

Las eficiencias de asimilación de las tres fases de zoea variaron entre el 54.4 y el 47.8% para zoea I y III, con coeficientes de variación del 13 y del 16%, respectivamente. El porcentaje del alimento ingerido que fue efectivamente asimilado resultó significativamente mayor para la primera de estas etapas, y no

se encontraron diferencias entre las dos siguientes (ANOVA de una vía; $P < 0.05$) (Tabla 6 A).

Para las mysis, las eficiencias aumentaron desde un mínimo de 70.8% para las mysis III alimentadas con rotíferos y microalgas hasta cerca del 83.3% que se verificó en el caso de las mysis I que ingirieron nauplios de *Artemia*. En este caso, en vista de que se utilizaron dos tipos de dieta, los valores se compararon mediante una prueba de ANOVA de dos vías, considerando como fuentes de variación la especie de microzooplancton, las fases de desarrollo y el posible efecto de interacción, la cual demostró que el efecto de estas variables no causó diferencias significativas en la eficiencia con la cual las larvas mysis digieren y asimilan estas dietas (Tabla 6 B).

Tabla 6. Eficiencia de asimilación (EA%) promedio y desviación estándar para cada subestadio de zoea (análisis de varianza de una vía, $\alpha = 0.05$) (A) y de mysis de *Litopenaeus vannamei* (análisis de varianza de dos vías, $\alpha = 0.05$) (B). Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Letras diferentes indican diferencias significativas.

A					
ZOEA I		ZOEA II		ZOEA III	
$54.41^b \pm 7.02$		$47.27^a \pm 7.77$		$47.80^a \pm 7.34$	
B					
MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
83.27^a ± 6.25	75.70^a ± 8.93	80.10^a ± 2.57	76.54^a ± 6.67	73.85^a ± 4.46	70.80^a ± 1.81

Con base en los resultados de estas pruebas, la cantidad de alimento ingerido que fue efectivamente asimilado se calculó por separado para la fase de zoea I, multiplicando los datos de ingestión por el factor 0.5441, mientras que para zoea II y III se usó el valor medio de la EA de las dos fases (0.4754). Para los tres subestadios de mysis se utilizó la media global de los valores de EA,

independientemente de la dieta y de la fase de desarrollo, la cual resultó ser 0.7671 ± 0.0445 .

De acuerdo a estos cálculos, el alimento y la energía asimilados por una larva oscilaron alrededor de los $3.1\text{--}3.2 \mu\text{g}$ y $0.04\text{--}0.05 \text{ J-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para zoea I y II, debido a que la diferencia entre las tasas de ingestión fue similar a la diferencia entre las respectivas eficiencias de asimilación. La ingestión fue un 12% mayor para zoea II y la eficiencia fue el 12% mayor para la primera de estas dos fases. Por otra parte, la cantidad de alimento y de energía asimilados por una zoea III fue un 50% superior que para las dos etapas anteriores, con aproximadamente $4.8 \mu\text{g}$ y $0.07 \text{ J-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (Tabla 7 A).

Cuando los datos de asimilación se calcularon por unidad de peso de larvas, se notó la misma tendencia mencionada en el caso de la ingestión, con una disminución significativa entre las etapas de zoea I y II, y una diferencia notablemente menos importante entre zoea II y zoea III (Tabla 7 B).

Tabla 7. Asimilación horaria promedio y desviación estándar por subestadio de zoea de *Litopenaeus vannamei*, en unidades de peso seco de *Chaetoceros muelleri* y de energía por individuo (A) y por unidad de peso seco de larvas (B). Letras diferentes indican diferencias significativas entre datos en la misma línea (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$).

	ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III
A			
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	3.20^a ± 0.51	3.14^a ± 0.34	4.75^b ± 0.39
$\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.04^a ± 0.01	0.04^a ± 0.01	0.07^b ± 0.01
B			
$^*\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.28^b ± 0.05	0.19^a ± 0.02	0.16^a ± 0.01
$^*\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	3.96^b ± 0.63	2.64^a ± 0.28	2.30^a ± 0.19

* Prueba no paramétrica

La eficiencia de asimilación de las tres etapas de mysis no difirió significativamente, como un efecto de la edad de las larvas o debido al tipo de dieta, por lo cual la cantidad de biomasa y de energía asimiladas siguió en general las mismas tendencias de las descritas para la actividad de ingestión.

En promedio, una larva asimiló en una hora entre 5.85 y 11.29 μg de alimento, entre microalgas y nauplios de *Artemia* (0.16 a 0.34 $\text{J-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) para mysis I y mysis III, respectivamente. Cuando los nauplios se sustituyeron con *B. plicatilis*, la asimilación aumentó entre mysis I y mysis II y en ambos casos fue mayor que con nauplios de *Artemia*, pero se mantuvo sin cambios importantes durante la siguiente etapa de mysis III, indicando que para esta fase larvaria la dieta tradicional es aparentemente la más conveniente, tanto cuando se consideraron la biomasa y la energía disponibles para el metabolismo y el crecimiento de una larva, como cuando estos mismos valores se normalizaron por unidad de peso seco de larvas.

Estos datos se analizaron con el mismo criterio utilizado para la ingestión de alimento, comparando en primer lugar las dos dietas para cada fase de desarrollo, y cada una de las dietas para las tres etapas de mysis, en ambos casos sin considerar el efecto significativo de la interacción entre el tipo de presa y la edad de las larvas. Finalmente se consideró también el efecto de la interacción, comparando en forma conjunta todos los casos.

De acuerdo a los resultados de estas pruebas, quedó confirmada la mayor absorción de las mysis I y II alimentadas con rotíferos, aunque para el primero de estos subestadios el mayor contenido energético de los nauplios se reflejó en una igual absorción de energía con las dos dietas. Resultó también confirmado que los nauplios de *Artemia* constituyen un mejor alimento para la etapa de mysis III y que además existen diferencias significativas en la absorción de energía y de biomasa de esta etapa, en comparación con la anterior, solamente en el caso de la dieta tradicional (Anexos 2 A y B).

Comparando todos los casos, se confirmaron todos estos resultados, con la excepción de la asimilación de los nauplios de *Artemia*, que resultó similar para

mysis I y II y sin diferencias con la energía asimilada por la fase de mysis alimentada con *B. plicatilis* (Tabla 8 A).

Cuando se comparó la asimilación normalizada por unidad de biomasa, la única diferencia importante para los fines del balance energético durante el desarrollo larvario fue la mayor absorción de energía de las mysis III alimentadas con la dieta tradicional, sin diferencias significativas entre dietas para los dos estadios anteriores.

Comparando entre estadios alimentados con la misma dieta, mysis III resultó ser más eficiente que mysis I cuando el alimento consistió en nauplios de *Artemia*, mientras que con *B. plicatilis* la etapa más eficiente fue mysis II (Anexos 2 C y D), resultado que fue confirmado cuando se compararon todos los casos, considerando el efecto de la interacción (Tabla 8 B).

Tabla 8. Asimilación media y desviación estándar por subestadio de la etapa mysis de *Litopenaeus vannamei*, expresada en unidad de peso seco y de energía por individuo (A) y por unidad de peso seco de larvas (B), y por unidad de tiempo. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma + nau) o con microalgas y rotíferos (ma + rot). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (análisis de varianza de dos vías, $\alpha=0.05$).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot
A						
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	5.85 ^a ±0.61	7.04 ^a ±0.81	7.07 ^a ±1.05	9.56 ^b ±1.08	11.29 ^c ±1.36	9.51 ^b ±1.01
$\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.11 ^a ±0.01	0.12 ^{ab} ±0.02	0.14 ^{bc} ±0.02	0.17 ^d ±0.02	0.23 ^e ±0.03	0.17 ^{cd} ±0.02
B						
$\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.12 ^a ±0.01	0.15 ^b ±0.02	0.11 ^a ±0.02	0.15 ^b ±0.02	0.13 ^{ab} ±0.02	0.11 ^a ±0.01
$\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	2.27 ^{ab} ±0.25	2.47 ^{abc} ±0.34	2.30 ^{ab} ±0.37	2.74 ^c ±0.35	2.69 ^{bc} ±0.38	1.98 ^a ±0.23

IV.3.3. RESPIRACIÓN

Como era de esperar en vista del constante incremento del peso individual de las larvas, la tasa de consumo de oxígeno de las tres etapas de zoea aumentó en forma progresiva, desde $1.47 \mu\text{g O}_2\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para zoea I hasta $2.15 \mu\text{g O}_2\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para zoea III. El equivalente gasto energético horario de las larvas varió de 20.6 a 26.8 y finalmente a $30.2 \text{ mJ}\cdot\text{larva}^{-1}$, con diferencias significativas entre zoea I y II y sin diferencia entre la segunda y la tercera etapa (Tabla 9 A). Esto quedó explicado por la relación inversa entre tasas metabólicas y peso o edad de los organismos, que se demostró examinando las tasas respiratoria y de gasto energético normalizadas por unidad de peso de las tres fases de zoea, las cuales disminuyeron progresivamente, en paralelo con el proceso de desarrollo. La disminución fue más abrupta entre zoea II y zoea III, pero se encontraron diferencias significativas entre zoea I y III, con valores intermedios para la fase de zoea II (Tabla 9 B).

Tabla 9. Consumo promedio de oxígeno y desviación estándar de las tres etapas de zoea de *Litopenaeus vannamei*. Los resultados se dan en $\mu\text{g O}_2$ y en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg O_2 y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos en la misma línea (análisis de varianza no paramétrica de una vía, $\alpha = 0.05$).

	ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III
A			
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$1.47^a \pm 0.39$	$1.91^b \pm 0.81$	$2.15^b \pm 0.51$
$\text{mJ}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$20.60^a \pm 5.42$	$26.80^b \pm 11.45$	$30.20^b \pm 7.19$
B			
$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$129.54^b \pm 34.05$	$114.39^{ab} \pm 48.05$	$74.21^a \pm 17.67$
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$1.82^b \pm 0.48$	$1.61^{ab} \pm 0.69$	$1.04^a \pm 0.25$

Una tendencia similar, aunque notablemente menos marcada, se notó para las tres etapas de mysis alimentadas con nauplios de *Artemia* y en efecto en este caso también el consumo resultó significativamente menor para mysis I que

para mysis II, y no se encontraron diferencias significativas entre éste y el subestadio siguiente. Por otra parte, en el caso de las larvas alimentadas con la dieta alternativa, no se notaron diferencias importantes entre las tres fases, para las cuales el consumo horario varió entre 2.3 y 2.4 $\mu\text{g O}_2\text{-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (desde 32.1 hasta 33.9 $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), sin diferencias significativas entre los valores medios calculados para cada etapa.

Considerando todos los datos, el menor gasto energético fue para mysis I alimentada con nauplios de *Artemia*, que pudiera estar relacionado con su menor consumo de alimento. A partir de mysis II, no se encontraron diferencias entre etapas de desarrollo y entre dietas (2.4 a 2.5 μg y 33.6 a 34.8 $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$), con un valor intermedio en el caso de las mysis I cultivadas con *B. plicatilis* (Anexos 3 A y B; Tabla 10 A).

De igual manera que para las etapas de zoea, la tendencia se invirtió en el caso de la tasa respiratoria calculada por unidad de biomasa larvaria: en este caso, el mayor consumo fue para las mysis I que consumieron la dieta alternativa, seguida en el orden por las larvas de la misma fase alimentadas con nauplios de *Artemia*, cuyo gasto metabólico no resultó diferente del calculado para la siguiente etapa, independientemente de su dieta. A su vez, la respiración de mysis II resultó significativamente mayor de la verificada para mysis III, y de nueva cuenta no se encontraron diferencias significativas entre dietas (Anexos 3 C y D; Tabla 10 B).

Tabla 10. Consumo promedio de oxígeno y desviación estándar para las tres etapas de mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma + nau) o con microalgas y rotíferos (ma + rot). Los datos se dan en $\mu\text{g O}_2$ y en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg O_2 y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de dos vías, $\alpha = 0.05$).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot
A						
$\mu\text{g-lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	1.99 ^a ±0.47	2.28 ^{ab} ±0.47	2.39 ^b ±0.60	2.41 ^b ±0.42	2.48 ^b ±0.44	2.40 ^b ±0.50
$\text{mJ-lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	27.95 ^a ±6.67	32.06 ^{ab} ±6.63	33.55 ^b ±8.42	33.86 ^b ±5.94	34.80 ^b ±6.20	33.76 ^b ±6.97
B						
$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	41.21 ^{bc} ±9.84	47.28 ^c ±9.78	38.53 ^b ±9.68	38.89 ^b ±6.83	29.40 ^a ±5.24	28.53 ^a ±5.89
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.58 ^{bc} ±0.14	0.67 ^c ±0.14	0.54 ^b ±0.14	0.55 ^b ±0.10	0.41 ^a ±0.07	0.40 ^a ±0.08

IV.3.4. EXCRECIÓN AMONIAICAL

Cuando los datos de excreción horaria de amonio que se recabaron para las tres etapas de zoea se transformaron a las respectivas unidades energéticas, los valores resultaron notablemente inferiores a los calculados para la actividad respiratoria y además no se encontró el mismo gradiente relacionado con el peso y la edad de las larvas, con valores similares de la tasa individual de excreción, que se mantuvieron cercanos a $0.06 \mu\text{g N-NH}_4^+\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, y que representaron en general entre el 7.5 y el 5% del costo metabólico medido mediante la respiración (Tabla 11 A).

Como en los casos anteriores, la tasa de producción de amonio normalizada por unidad de peso disminuyó progresivamente y las diferencias entre subestadios resultaron significativas los tres casos, representando entre el 7% del costo metabólico respiratorio para zoea I y el 5%, aproximadamente, para los dos subestadios siguientes (Tabla 11 B).

Tabla 11. Valores promedio y desviación estándar de la tasa de excreción de amonio de las tres etapas de zoea de *Litopenaeus vannamei*. Los datos se dan en μg de N-NH_4^+ y en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg de N-NH_4^+ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$).

	ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III
A			
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$0.06^a \pm 0.01$	$0.06^a \pm 0.02$	$0.06^a \pm 0.02$
$\text{mJ}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$1.43^a \pm 0.32$	$1.58^a \pm 0.41$	$1.53^a \pm 0.38$
B			
$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$5.09^c \pm 1.15$	$3.81^b \pm 0.98$	$2.12^b \pm 0.52$
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$0.13^c \pm 0.03$	$0.09^b \pm 0.02$	$0.05^a \pm 0.01$

En el caso de la tasa de excreción de las mysis, se encontró nuevamente que ésta fue similar para cada fase, sin diferencias significativas relacionadas con la dieta, con el peso individual o con la etapa de desarrollo. En promedio, los valores variaron entre 0.10 y 0.11 $\mu\text{g N-NH}_4^+\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y desde un mínimo de 2.5 hasta 2.7 $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, los cuales representan en todos los casos entre el 10 y el 8% del costo metabólico que se calculó a partir de la tasa respiratoria individual (Anexos 4 A y B; Tabla 12 A).

Como para los tres subestadios de zoea, resultó evidente la existencia de una relación inversa entre peso y excreción, que es la explicación por la falta de diferencia entre las tasas individuales. En efecto, el análisis demostró que la única fuente de variación significativa fue la etapa de desarrollo ($P < 0.001$), con valores de excreción progresivamente y significativamente menores de acuerdo al proceder del desarrollo larvario y sin diferencias significativas entre dietas (Anexos 4 C y D; Tabla 12 B).

Tabla 12. Valores promedio y desviación estándar de la excreción de amonio para las tres etapas de mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot). Los datos se dan en μg de N-NH_4^+ y en $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (A) y en mg de N-NH_4^+ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco total (B). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANOVA de dos vías, $\alpha = 0.05$).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
A						
$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.10 ^a ±0.01	0.11 ^a ±0.01	0.10 ^a ±0.02	0.11 ^a ±0.01	0.10 ^a ±0.02	0.10 ^a ±0.01
$\text{mJ}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	2.51 ^a ±0.36	2.68 ^a ±0.35	2.54 ^a ±0.39	2.69 ^a ±0.35	2.45 ^a ±0.37	2.51 ^a ±0.30
B						
$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	2.09 ^c ±0.30	2.24 ^c ±0.29	1.65 ^b ±0.25	1.75 ^b ±0.23	1.17 ^a ±0.18	1.20 ^a ±0.14
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.05 ^c ±0.01	0.06 ^c ±0.01	0.04 ^b ±0.01	0.04 ^b ±0.01	0.03 ^a ±0.004	0.03 ^a ±0.004

IV.3.5. COSTOS METABÓLICOS Y RAZÓN O:N

Los valores medios que se recabaron para las tasas de respiración y de excreción de los productos del catabolismo de proteínas se usaron para el cálculo del total de los costos metabólicos medios de cada etapa, los cuales variaron entre 22.0 y 31.7 $\text{mJ-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para las tres fases de zoea, que equivalen a un gasto energético diario de 0.53, 0.68 y 0.76 $\text{J-larva}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ para zoea I, zoea II y zoea III, respectivamente.

Los valores normalizados por unidad de peso seco total disminuyeron progresivamente, con costos energéticos diarios totales de 46.8, 40.8 y 26.4 $\text{KJ}\cdot\text{día}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso de larvas, que indican una disminución relativamente poco importante entre las fases de zoea I y II y una notablemente mayor entre ésta y la siguiente etapa de zoea III, cuyo costo metabólico diario global representó cerca del 56% de la primera fase postnaupliar.

La razón O:N aumentó progresivamente, en paralelo con el desarrollo larvario, desde 22.3 hasta 30.6 (Tabla 13). Por otra parte, la amplitud de este intervalo es limitada e indica en todos los casos que el metabolismo de estos organismos, como es el caso de todo el zooplancton, está basado principalmente en la metabolización de proteínas, las cuales son el componente más abundante de su alimento, por lo cual son también las más disponibles como sustrato (Mayzaud y Conover, 1988).

Tabla 13. Gasto energético total por respiración y excreción amoniaca en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco y razón (átomo:átomo) O:N de las fases de zoea I, II y III de *Litopenaeus vannamei*.

	ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III
$\text{mJ}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	22.03	28.37	31.73
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	1.95	1.70	1.10
O:N	22.26	26.30	30.59

Para las tres fases de mysis, el gasto metabólico individual varió en un intervalo más restringido, con valores similares o de poco superiores al calculado para zoea III. Los valores extremos fueron 30.5 y 37.2 $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (0.73 a 0.89 $\text{J}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$) para mysis I y II, en ambos casos para larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, con valores intermedios para todos los demás tratamientos.

En cambio, los gastos energéticos por unidad de peso disminuyeron considerablemente, hasta menos del 60%, entre zoea III y mysis I, declinando progresivamente, aunque en forma menos importante, entre ésta y las etapas siguientes y sin diferencias evidentes que se pudieran relacionar con el tipo de dieta. Finalmente, la razón O:N varió en un intervalo todavía más limitado que para el estadio anterior, con valores de entre 17.2 y 22, lo cual confirma que las proteínas son el sustrato metabólico prácticamente exclusivo durante todo el desarrollo larvario de esta especie (Tabla 14).

Tabla 14. Gasto energético total por respiración y excreción amoniaca en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y $\text{KJ}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ de peso seco y razón (átomo:átomo) O:N de las fases de mysis I, II y III de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma+nau) o con microalgas y rotíferos (ma+rot).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
$\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	30.45	34.74	36.09	36.56	37.24	36.27
$\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	0.63	0.72	0.58	0.59	0.44	0.43
O:N	17.22	18.50	20.41	19.44	22.01	20.81

IV.3.6. BALANCE ENERGÉTICO

Los valores medios de la cantidad de energía ingerida, asimilada y utilizada en el metabolismo de cada etapa larvaria se utilizaron para el cálculo del balance energético horario individual de cada fase y para obtener también la misma información normalizada por unidad de peso de los organismos, tanto para las tres fases de zoea (Anexo 5) como para los tres siguientes subestadios de mysis (Anexo 6).

De acuerdo a estos cálculos, a pesar de su mayor peso, una zoea II tiene un balance energético equivalente a poco menos del 70% de la fase de desarrollo anterior y al 45% de la siguiente por lo cual, a pesar de la diferencia de duración de cada etapa (1.5, 2.0 y 1.25 días para zoea I, II y III, respectivamente), la menor cantidad de energía acumulada fue para zoea II, con $0.72 \text{ J}\cdot\text{larva}^{-1}$, en comparación con los 0.79 y $1.0 \text{ J}\cdot\text{larva}^{-1}$ para zoea I y III, con un total de 2.51 J acumulados en forma de reservas y de nuevos tejidos entre la aparición de la primera zoea y el tiempo de cambio a la primera etapa del siguiente estadio de mysis (Tabla 15 A).

Cuando los valores se normalizaron por unidad de peso, se confirmó que la etapa de zoea II es la menos eficiente en términos de acumulación de energía, que en este caso fue equivalente al 45% de la que acumula en una hora el mismo peso de larvas en la fase de zoea I y al 78% de una igual biomasa de zoea III.

En las 36 horas de duración de la primera fase de zoea, un gramo de estas larvas acumula aproximadamente 70 J, que disminuyen a 43.2 y 34.5 J para toda la duración de las dos fases siguientes. En comparación con la cantidad de alimento ingerido, la eficiencia de utilización (K_1) fue baja en todos los casos, variando entre un mínimo de 16.8% para zoea II hasta 27.7% para zoea I, que no fue muy superior al 24.9% calculado para zoea III. Por otra parte, la eficiencia con la cual fue usada la energía asimilada (K_2) aumentó a valores de entre el 51 y el 52% para la primera y la última de estas tres fases, en comparación con el 35.4% que se calculó para zoea II (Tabla 15 B).

Tabla 15. Tiempo (en horas) de duración de las tres fases de zoea y campo de crecimiento horario (G) y global (GT) calculado por larva (A) y normalizado en unidades de energía por gramo de peso seco de larvas (B). K_1 y K_2 : porcentajes de eficiencias de utilización de alimento ingerido y asimilado, respectivamente.

			ZOE A I	ZOE A II	ZOE A III
HORAS			36	48	30
A	G	mJ·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	21.89	14.93	33.37
	G _T	J·lar ⁻¹	0.79	0.72	1.00
B	G	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	1.94	0.90	1.15
	G _T	KJ·g ⁻¹	69.84	43.20	34.50
	K_1	%	27.67	16.82	24.85
	K_2	%	50.86	35.40	52.28

La duración media de los tres subestadios de mysis fue la misma en todos los casos (1.25 días) y se confirmó que el campo de crecimiento fue mayor cuando se utilizaron rotíferos como alimento, para las fases de mysis I y II. Para mysis III, el campo de crecimiento individual no varió con este mismo alimento, resultando equivalente al 69% del calculado para estas mismas larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*.

En vista de la relación directa entre peso e ingestión, la cual aumenta con el incremento de peso de las diferentes fases de desarrollo, una larva cultivada

con la dieta tradicional acumuló un total de 10.77 J, que resultó un 7% mayor de los 10.03 J calculados con *B. plicatilis* (Tabla 16 A).

Cuando los datos se normalizaron por unidad de peso la tendencia fue similar, pero se incrementó la diferencia entre dietas. En el caso de mysis II, el campo de crecimiento fue aproximadamente un 25% mayor con la dieta alternativa, mientras que para la etapa siguiente fue un 44% mayor para las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*.

Los porcentajes de la energía contenida en el alimento ingerido y asimilado que resultó disponible para el crecimiento somático fueron notablemente mayores de los valores calculados para las tres etapas de zoea y variaron, sin tendencias particulares que se pudieran relacionar con el tipo de presas, entre 54.1 y 63.8% de la cantidad de energía ingerida y desde 70.9 a 83.5% de la asimilada, respectivamente (Tabla 16 B).

Tabla 16. Tiempo (en horas) de duración de las tres fases de mysis y campo de crecimiento horario (G) y global (G_T) calculado por larva (A) y normalizado en unidades de energía por gramo de peso seco de larvas (B). K₁ y K₂: porcentajes de eficiencias de utilización de alimento ingerido y asimilado respectivamente. Mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (ma + nau) o con microalgas y rotíferos (ma + rot).

		MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
		ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot	ma + nau	ma + rot
HORAS		30	30	30	30	30	30
A	G mJ·lar ⁻¹ ·h ⁻¹	75.98	81.07	101.83	127.85	181.35	125.38
	G _T J·lar ⁻¹	2.28	2.43	3.05	3.84	5.44	3.76
B	G KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	1.58	1.68	1.64	2.06	2.15	1.49
	G _T KJ·g ⁻¹	47.40	50.40	49.20	61.80	64.50	44.70
	K ₁ %	55.14	54.10	56.97	59.91	63.78	59.76
	K ₂ %	72.21	70.85	74.61	78.46	83.53	78.27

De acuerdo a los resultados de estos cálculos, se puede esperar que una larva de *L. vannamei* pueda acumular desde el cambio entre nauplio V a zoea I, que

marca al final de la fase lecitotrófica del desarrollo larvario de los peneidos, hasta la aparición de la primera etapa de postlarva, entre 13.28 J si es alimentada con las dietas y raciones tradicionales y 12.54 J si se utilizaran rotíferos en sustitución de los nauplios de *Artemia*, si se mantiene bajo las mismas condiciones de cultivo utilizadas para este tipo de experimentos, que son similares a las que se utilizan en la mayoría de los laboratorios comerciales, y asumiendo además que estas condiciones y las tasas metabólicas se mantengan constantes.

Considerados globalmente, estos datos indican que la dieta basada en nauplios de *Artemia* es más ventajosa, que se debe en parte a su mayor contenido energético pero que es causado principalmente por la mayor ingestión de estas presas cuando las larvas alcanzan la etapa de mysis III, la cual se explica por sus dimensiones mayores, que facilitarían su detección y captura. Desde el punto de vista práctico, una mejor estrategia de alimentación pudiera ser la utilización de rotíferos para las dos primeras fases de mysis, sustituyéndolos con nauplios de *Artemia* en la etapa final de este estadio, lo cual daría una ganancia global de 14.22 J-larva⁻¹.

IV.4. EXPERIMENTOS DE LARGO PLAZO

IV.4.1. SOBREVIVENCIA

Durante los cinco días de cultivo del estadio de zoea, el porcentaje más elevado de mortalidad se registró al final de las primeras 24 horas, después de las cuales se calculó una sobrevivencia media cercana al 80%. Ésta permaneció sin cambios importantes hasta el final del segundo día, cuando prácticamente la totalidad de las larvas se encontraban en la fase de zoea II. En los días siguientes la tasa de mortalidad diaria aumentó, y se mantuvo cercana al 10% hasta la fecha equivalente al cambio entre zoea III y la primera etapa de mysis, con una sobrevivencia media final cercana al 50% (Figura 1).

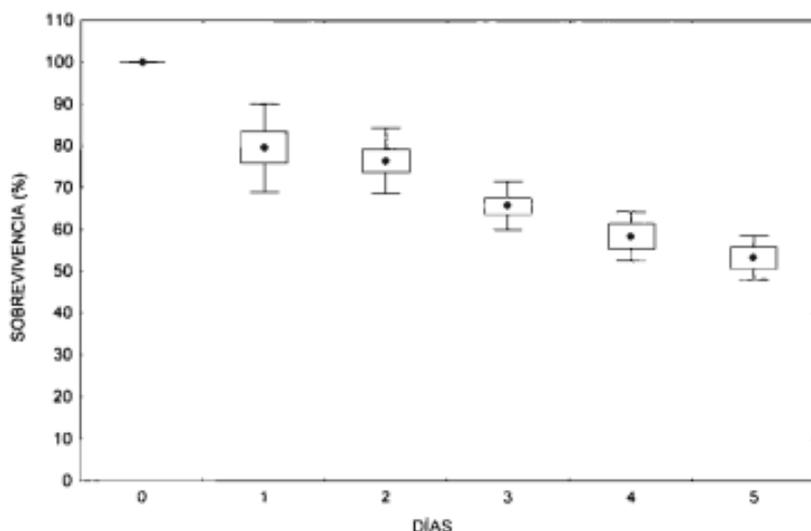


Figura 1. Supervivencia global (en porcentaje) registrada durante los experimentos de cultivo de larvas zoea de *Litopenaeus vannamei*. Media (♦); error estándar (caja); desviación estándar (bigote).

En los experimentos realizados a partir de la primera etapa de mysis, se registraron porcentajes medios de mortalidad diaria considerablemente mayores de los que se encontraron en las pruebas de cultivo del estadio de zoea. En este caso, la tasa diaria de mortalidad resultó cercana o superior al 20% para el tratamiento con nauplios de *Artemia*, y se notó además una constante tendencia a supervivencias mayores en el caso de las larvas alimentadas con *B. plicatilis*, causada principalmente por la menor mortalidad inicial.

Por otra parte, en estos experimentos se registró un alto grado de variabilidad, que fue particularmente elevado dentro de cada tratamiento y menor entre los cuatro experimentos. Considerando los datos en forma global, los porcentajes medios de supervivencia final fueron aproximadamente el 35 y el 42% para la dieta tradicional y la alternativa, respectivamente (Figura 2).

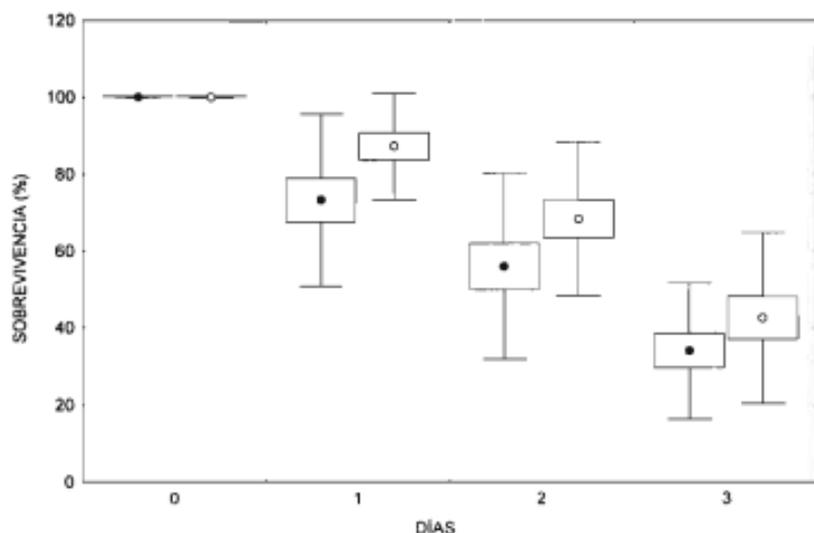


Figura 2. Sobrevivencia global promedio (en porcentaje) registrada durante los experimentos de cultivo de larvas mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* (●) o con microalgas y el rotífero *Brachionus plicatilis* (○). Error estándar (caja); desviación estándar (bigote).

Los datos de las dos figuras anteriores se resumen en la tabla 17, a partir de la cual se puede calcular que los coeficientes de variación de la sobrevivencia media de las larvas zoea variaron entre un máximo del 13% para el día 1 hasta un mínimo del 10.4% para el último día de cultivo de este primer estadio de desarrollo, aumentando notablemente en las tres etapas de mysis, desde un 30 a 50% para las larvas que recibieron nauplios de *Artemia* y desde el 15 al 52% con la dieta no tradicional.

Como consecuencia de esta alta variabilidad, las pruebas de comparación de las sobrevivencias medias registradas en estos tres días confirmaron en todos los casos la existencia de un traslape entre tratamientos, indicando que la utilización de la dieta alternativa no implica ventajas o problemas en

comparación con la sobrevivencia que se obtiene cuando se utilizan nauplios de *Artemia* (Tabla 17).

Tabla 17. Sobrevivencia promedio (en %) y respectiva desviación típica durante los experimentos de cultivo de larvas zoea y mysis de *Litopenaeus vannamei*. ma: zoea alimentadas con *Chaetoceros muelleri*; ma+nau: mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia*; ma+rot: mysis alimentadas con microalgas y el rotífero *Brachionus plicatilis*. Letras iguales indican falta de diferencias significativas (prueba para dos muestras de t Student, $p > 0.05$).

		DÍA					
		0	1	2	3	4	5
ZOEIA	ma	100.0 ±0.0	79.6 ±10.5	76.5 ±7.8	65.8 ±5.7	56.5 ±6.7	52.1 ±5.4
	ma+nau	100.0 ±0.0	73.3 ±22.5	56.1 ±24.2	34.0 ^a ±17.7		
MYSIS	ma+rot	100.0 ±0.0	87.2 ±13.8	68.4 ±19.9	42.6 ^a ±22.2		

IV.4.2. DESARROLLO LARVARIO

A partir del inicio de las pruebas de cultivo, las larvas permanecieron en la fase de zoea I durante las primeras 24 horas. Las primeras zoea II aparecieron seis horas más tarde y el valor del índice de desarrollo indica que al final de las seis horas siguientes el 100% de las larvas se encontraban en esta segunda fase. Ésta duró con una dominancia del 100% durante las sucesivas 24 horas, después de las cuales los porcentajes de zoea III aumentaron progresivamente, de tal manera que después de 84 horas de cultivo todas las larvas se encontraban en la etapa de zoea III.

Las primeras mysis I, que fue cuando se empezó a proporcionar microzooplancton para fines de comparación entre la efectividad de la dieta tradicional y de la alternativa propuesta, aparecieron a las 102 horas, seis horas después del inicio del cuarto día de cultivo. A partir de esta fecha, los sucesivos subestadios de mysis aparecieron con un sincronismo mucho menos evidente

que para los subestadios de la fase anterior, de tal manera que los valores del índice de desarrollo se incrementaron en forma aproximadamente constante y sin claras diferencias entre dietas.

En efecto, el I.D. alcanzó el valor de 6 (100% de mysis III) en forma simultánea para las dos dietas, a las 180 horas desde el inicio de las pruebas de alimentación (día 7.5 en ambos casos). Aunque en las 18 horas siguientes se pudo notar un porcentaje aparentemente diferente de postlarvas I, los valores medios de I.D. calculados como valores finales fueron 6.67 ± 0.20 para las larvas alimentadas con *B. plicatilis* y 6.30 ± 0.21 en el caso de los cultivos que recibieron nauplios de *Artemia*, sin diferencias significativas (prueba t de Student, $p > 0.1$) que pudieran indicar diferentes velocidades de desarrollo por efecto del tipo de dieta (Figura 3).

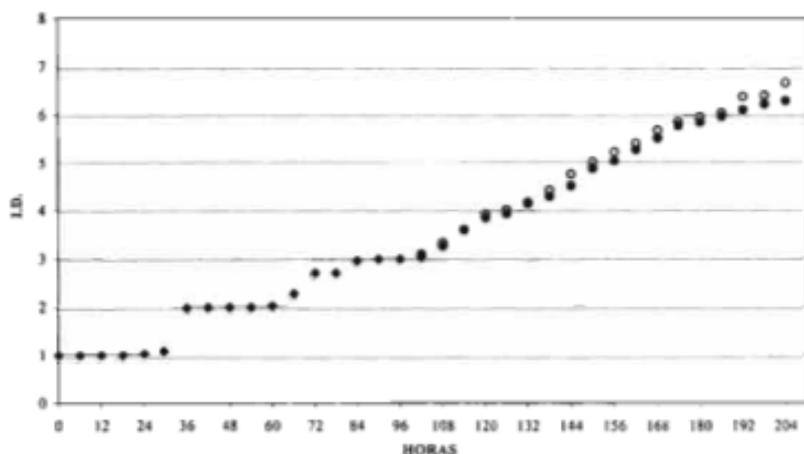


Figura 3. Índice de desarrollo larvario (I.D.) de *Litopenaeus vannamei* durante las tres fases de zoea (♦) y de mysis alimentadas con nauplios de *Artemia* (●) o con el rotífero *Brachionus plicatilis* (○).

IV.4.3. CRECIMIENTO

IV.4.3.1. TALLA

Durante las primeras 24 horas de cultivo el crecimiento de las larvas fue reducido ya que la longitud medida al final de este periodo fue de solamente 0.98 ± 0.03 mm, en comparación con los 0.92 ± 0.02 mm registrados como valor inicial. A partir del siguiente día la longitud aumentó con una tasa mayor y aproximadamente constante, que redituó larvas con una talla final de 2.29 ± 0.27 mm. Considerando los cuatro días de cultivo, la tasa de crecimiento diario se calculó en $343 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$, mientras que utilizando solamente los datos de los días 1 a 4 este valor aumentó hasta $437 \mu\text{m}\cdot\text{día}^{-1}$.

Al final de las primeras 24 horas de cultivo del siguiente estadio de mysis, las dos dietas que se utilizaron no causaron diferencias importantes en el crecimiento en longitud, con un evidente traslape entre las tallas de las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* y con rotíferos (2.57 ± 0.17 y 2.53 ± 0.20 mm, respectivamente), mientras que a partir del día 6 se notó un mayor crecimiento con la segunda de estas dietas.

Como en el caso de las larvas zoea, el incremento en longitud de las mysis fue de tipo lineal, aunque para este estadio la tasa de crecimiento disminuyó considerablemente con respecto a la que se calculó para las tres etapas de zoea. Con la excepción de las primeras 24 horas las tallas medias fueron constantemente mayores para las larvas alimentadas con *B. plicatilis* las cuales, en las fechas equivalentes a la dominancia de mysis III (día 8) y de postlarva I (día 9) alcanzaron una longitud total de entre 0.3 y 0.2 mm mayor de las que se cultivaron con la dieta tradicional (Figura 4).

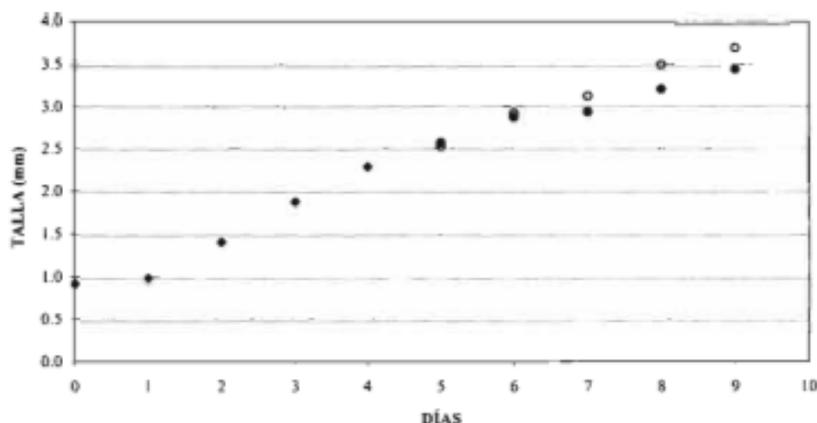


Figura 4. Longitud media (mm) de larvas de *Litopenaeus vannamei*. Zoea (♦), mysis alimentada con nauplios de *Artemia* (●) o con el rotífero *B. plicatilis* (○).

La prueba t que se utilizó para comparar las tallas medias finales confirmó que con *B. plicatilis* las larvas pueden alcanzar una longitud total superior a la que es posible obtener con nauplios de *Artemia* y que la diferencia de 0.25 mm entre las tallas finales fue significativa ($P < 0.05$). Por otra parte, la forma de crecimiento difirió con diferentes lotes de larvas, por lo cual la misma prueba que se aplicó para comparar la longitud, no encontró diferencias significativas entre las respectivas tasas medias de crecimiento individual (Tabla 18).

Tabla 18. Tallas (en mm) y tasas de crecimiento (en $\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$) medias y respectiva desviación estándar de mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con nauplios de *Artemia* y con rotíferos *Brachionus plicatilis* (prueba para dos muestras t-Student, $\alpha = 0.05$).

ALIMENTO	TALLA	TASA DE CRECIMIENTO
	mm	$\text{mm}\cdot\text{día}^{-1}$
Nauplio de <i>Artemia</i>	$3.44^a \pm 0.14$	$0.233^a \pm 0.101$
<i>Brachionus plicatilis</i>	$3.69^b \pm 0.13$	$0.277^a \pm 0.096$

IV.4.3.2. PESO Y TASAS DE CRECIMIENTO

Al momento de iniciar los experimentos de cultivo, cuando más del 90% de las larvas se encontraban todavía en la etapa de nauplio V, se evaluó un peso seco medio total de $5.56 \mu\text{g-larva}^{-1}$, con $4.55 \mu\text{g}$ de contenido orgánico. Estos valores se duplicaron durante las 30 horas siguientes, al final de las cuales (24 horas después del inicio del cultivo), las zoea I representaban cerca del 100% de las larvas. La fase sucesiva aumentó nuevamente sus pesos total y orgánico hasta 16.1 y $12.8 \mu\text{g-larva}^{-1}$, respectivamente, y el aumento fue más notorio cuando las larvas alcanzaron la etapa de zoea III, entre las 96 y 102 horas de cultivo, cuando se registró un peso medio total individual de $28.8 \mu\text{g}$, con un contenido orgánico de $22.5 \mu\text{g}$.

La composición media de las larvas no cambió en forma significativa para ninguna de las fases de desarrollo por lo cual, a partir de los respectivos equivalentes calóricos de sus componentes orgánicos, se calculó el contenido energético de todas las etapas, el cual aumentó de un 490-500% entre nauplio V y la fecha en la cual comenzaron a aparecer las primeras larvas en la fase de mysis I, desde 123 a $607 \text{ mJ-larva}^{-1}$ (Tabla 19).

Tabla 19. Valores medios y desviación estándar de los pesos secos total y orgánico (PS y PO) y del contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P, C y L), en $\mu\text{g-larva}^{-1}$ de los nauplio V y zoea I a III de *Litopenaeus vannamei*. E: contenido energético en J-larva^{-1} .

	PS	PO	P	C	L	E
	$\mu\text{g-larva}^{-1}$	$\mu\text{g-larva}^{-1}$	$\mu\text{g-larva}^{-1}$	$\mu\text{g-larva}^{-1}$	$\mu\text{g-larva}^{-1}$	J-larva^{-1}
NAUPLIO V	5.56 ± 1.31	4.55 ± 1.10	3.17 ± 0.76	0.31 ± 0.08	1.07 ± 0.26	0.123 ± 0.030
ZOEI I	11.47 ± 2.54	8.86 ± 1.74	6.17 ± 1.21	0.61 ± 0.12	2.08 ± 0.41	0.239 ± 0.047
ZOEI II	16.14 ± 3.51	12.78 ± 2.72	8.90 ± 1.89	0.88 ± 0.19	3.00 ± 0.64	0.344 ± 0.073
ZOEI III	28.75 ± 5.23	22.52 ± 3.90	15.69 ± 2.72	1.54 ± 0.27	5.29 ± 0.92	0.607 ± 0.105

El peso seco individual de las mysis I, independientemente del alimento que recibieron antes del cambio a mysis II, fue de 49.1-49.2 $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$. Éste aumentó hasta 61.6 μg al final de mysis II y en forma más importante al de mysis III, las cuales alcanzaron pesos totales de 82.5 a 85.3 $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$.

Con la dieta basada en nauplios de *Artemia* el peso medio individual de las primeras postlarvas fue de 85.1 μg , en comparación con los 95.9 μg registrados con la dieta basada en *B. plicatilis* y esta misma tendencia a valores mayores se registró tanto con el peso orgánico individual como con el contenido energético de las larvas alimentadas con la segunda de estas dos dietas, aunque las pruebas t usadas para el análisis estadístico de los resultados obtenidos con cada fase no encontraron diferencias significativas entre las postlarvas cultivadas con rotíferos o con *Artemia*.

De acuerdo a estos resultados, las respectivas tasas de crecimiento de las mysis cultivadas con *Artemia* y con rotíferos a partir de zoea III a las 102 horas y después de un igual número de horas transcurridas hasta el final de estas pruebas fueron 0.552 y 0.658 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ para el peso seco total (19% > con *B. plicatilis*), aunque la diferencia disminuyó a entre el 10 y el 15% considerando los aumentos de contenido orgánico y de energía que dieron valores de 0.496 y 0.545 $\mu\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ y 0.013 ó 0.015 $\text{J}\cdot\text{h}^{-1}$ con la dieta tradicional y con la alternativa, respectivamente (Tabla 20).

Tabla 20. Medias y desviación estándar de los pesos seco total y orgánico (PS y PO) y contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos (P, C y L), en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, E = contenido energético en J-larva⁻¹ de las mysis I a III y postlarva 1 de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con nauplios de *Artemia* y con *B. plicatilis*.

	PS	PO	P	C	L	E
	$\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$	J-larva ⁻¹
NAUPLIO DE <i>Artemia</i>						
MYSIS I	49.09 ± 7.18	38.96 ± 5.40	27.14 ± 3.76	2.67 ± 0.37	9.16 ± 1.27	1.050 ± 0.145
MYSIS II	61.65 ± 7.95	48.43 ± 6.01	33.73 ± 4.18	3.32 ± 0.41	11.38 ± 1.41	1.305 ± 0.162
MYSIS III	82.52 ± 8.76	70.03 ± 6.14	48.78 ± 4.28	4.80 ± 0.42	16.46 ± 1.44	1.887 ± 0.165
PL 1	85.09 ± 18.41	73.11 ± 12.18	50.92 ± 8.48	5.01 ± 0.83	17.18 ± 2.86	1.970 ± 0.328
<i>Brachionus plicatilis</i>						
MYSIS I	49.23 ± 6.84	38.44 ± 4.97	26.77 ± 3.46	2.63 ± 0.34	9.03 ± 1.17	1.036 ± 0.134
MYSIS II	61.62 ± 7.78	48.64 ± 6.02	33.88 ± 4.19	3.33 ± 0.41	11.43 ± 1.41	1.311 ± 0.162
MYSIS III	85.32 ± 6.28	71.27 ± 5.67	49.64 ± 3.95	4.88 ± 0.39	16.75 ± 1.33	1.920 ± 0.153
PL 1	95.91 ± 12.57	78.07 ± 11.79	54.38 ± 8.21	5.35 ± 0.81	18.35 ± 2.77	2.104 ± 0.318

Los pesos secos total y orgánico y el contenido energético de las larvas se utilizaron para verificar la forma de crecimiento de *Litopenaeus vannamei* durante su desarrollo larvario. A partir de la aparición de zoea I hasta cuando se registraron las primeras mysis (horas 0 a 102), el mejor ajuste se obtuvo con el modelo lineal, mientras que para las mysis cultivadas con las dos dietas (horas 126 a 204) el ajuste fue similar con los modelos lineal o exponencial, y finalmente, considerando en forma conjunta el crecimiento en peso y en contenido energético de zoea y de mysis, desde zoea I hasta la aparición de las primeras postlarvas (horas 0 a 204), el mejor ajuste fue con el modelo de tipo exponencial, con r^2 cercanas o superiores a 0.97 en todos los casos (Tabla 21).

Tabla 21. Modelos de crecimiento lineal y exponencial para los pesos seco total (PS) y orgánico (PO) y el contenido energético (E) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Chaetoceros muelleri* durante los tres subestadios de zoea (0 a 102 horas) y los tres de mysis alimentados con microalgas y nauplios de *Artemia* o con microalgas y el rotífero *Brachionus plicatilis* (126 a 204 horas). Total: modelos globales, desde dominancia de zoea I a postlarva I.

	ZOEA (0 ≤ t ≤ 102)		MYSIS (126 ≤ t ≤ 204)		TOTAL (0 ≤ t ≤ 204)	
	NAUPLIO DE <i>Artemia</i>		<i>B. plicatilis</i>		NAUPLIO DE <i>Artemia</i>	
PS	LINEAL	PS = 0.21861 + 5.3136 $r^2 = 0.9746$	PS = 0.49521 - 13.608 $r^2 = 0.9712$	PS = 0.60821 - 28.249 $r^2 = 0.9980$	PS = 0.41531 - 2.0127 $r^2 = 0.9557$	PS = 0.45161 - 3.8489 $r^2 = 0.9462$
	EXP	PS = 6.5138e ^{0.018t} $r^2 = 0.9508$	PS = 19.2960e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9720$	PS = 16.697e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9968$	PS = 7.2317e ^{0.018t} $r^2 = 0.9695$	PS = 7.0980e ^{0.018t} $r^2 = 0.9758$
PO	LINEAL	PO = 0.17061 + 4.2497 $r^2 = 0.9772$	PO = 0.47481 - 22.1250 $r^2 = 0.9621$	PO = 0.52931 - 29.026 $r^2 = 0.9926$	PO = 0.35221 - 2.8707 $r^2 = 0.9419$	PO = 0.37031 - 3.7966 $r^2 = 0.9370$
	EXP	PO = 5.2209e ^{0.018t} $r^2 = 0.9620$	PO = 12.983e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9698$	PO = 11.899e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9903$	PO = 5.6486e ^{0.018t} $r^2 = 0.9787$	PO = 5.5863e ^{0.018t} $r^2 = 0.9818$
E	LINEAL	CE = 0.00461 + 0.1145 $r^2 = 0.9772$	CE = 0.01281 - 0.5962 $r^2 = 0.9621$	CE = 0.01431 - 0.7821 $r^2 = 0.9926$	CE = 0.00951 - 0.0773 $r^2 = 0.9419$	CE = 0.01001 - 0.1023 $r^2 = 0.9370$
	EXP	CE = 0.1407e ^{0.018t} $r^2 = 0.9620$	CE = 0.3498e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9698$	CE = 0.3206e ^{-0.018t} $r^2 = 0.9903$	CE = 0.1522e ^{0.018t} $r^2 = 0.9787$	CE = 0.1503e ^{0.018t} $r^2 = 0.9818$

IV.4.4. CONSUMO DE ALIMENTO

Los datos de consumo diario de alimento de los tres subestadios de zoea, que se verificaron diariamente mediante conteos directos de las microalgas sobrantes en cada recipiente de cultivo antes del respectivo cambio de agua, oscilaron en general entre un 75 y cerca del 90% de la cantidad de *C. muelleri* suministrada, con valores medios de 80.6 y 83.4% para zoea I y II y 82.4% para zoea III.

De acuerdo a estos datos, se calculó que durante los experimentos de cultivo la ingestión promedio diaria real de una zoea I fue de $52.4 \mu\text{g}\cdot\text{día}^{-1}$, la cual aumentó progresivamente a 63.7 y $87.7 \mu\text{g}$ para los dos subestadios siguientes, que equivalen a entre 4.5 y 3 veces el peso total de las respectivas larvas y representan entre el 37 y el 40% del consumo diario que se calculó con base en los resultados de los experimentos de corto plazo.

Estos valores se multiplicaron por la duración media de cada uno de los subestadios, con resultados que indicaron un consumo total, desde la dominancia de zoea I hasta la aparición de las primeras mysis, de $315.6 \mu\text{g}$ y de $4.4 \text{ J}\cdot\text{larva}^{-1}$, los cuales representan respectivamente el 44.4 y el 38.8% de la ingestión potencial, calculada bajo los supuestos de un consumo constante y de una disponibilidad de alimento y tasa de filtración igualmente constantes.

Confirmando la tendencia general observada para todas las tasas en las pruebas de corto plazo, el consumo normalizado por unidad de peso de larvas disminuyó progresivamente, en paralelo con el proceder del desarrollo y del consiguiente incremento del peso individual, desde 4.57 a $3.05 \mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ (0.064 y $0.063 \text{ J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$, respectivamente), los cuales representan los mismos porcentajes de la ingestión diaria real, en comparación con la potencial calculada bajo los supuestos anteriores (Tabla 22).

Tabla 22. Valores medios y desviación estándar del consumo diario de *Chaetoceros muelleri* de los tres subestadios de zoea de *Litopenaeus vannamei*, en porcentaje (%), en unidades de peso seco y de energía por individuo ($\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$), por unidad de peso seco de larvas ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$). Σ = consumo de todo el estadio. Entre paréntesis, días de duración de cada subestadio.

	CONSUMO				
	%	$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$
ZOEA I (1.50)	80.55 ± 7.75	52.43	0.73	4.57	0.064
ZOEA II (2.00)	83.39 ± 5.62	63.67	0.89	3.94	0.055
ZOEA III (1.25)	82.37 ± 6.86	87.66	1.23	3.05	0.043
Σ		315.56	4.42	--	--

En los experimentos con los tres subestadios de mysis, se confirmó la menor ingestión de microalgas en los cultivos que recibieron nauplios de *Artemia*, en los cuales el consumo de *C. muelleri* varió entre cerca del 60 al 85% de la ración diaria suministrada, con valores medios del 71.5 al 78.5% para mysis II y mysis I, respectivamente, mientras que los nauplios restantes al final de cada periodo de 24 horas de cultivo representaron en promedio entre el 2.5 y el 7% del suministro diario total.

En términos de peso y de energía ingeridos diariamente, el consumo real de microalgas y de nauplios de *Artemia* osciló entre el 40 y el 50% de los respectivos valores calculados a partir de los experimentos de corto plazo y aumentaron en forma continua y aproximadamente regular de acuerdo al subestadio de las larvas, desde 94.7 a 136.5 $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ (1.93 a 2.86 $\text{J}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$) para mysis I y III, respectivamente.

En total, durante las 90 horas de duración del estadio de mysis, hasta la aparición de las primeras postlarvas, una larva alimentada con nauplios de *Artemia* ingirió

436.5 μg de biomasa, con un contenido energético de 9.05 J, que representan el 46 y 48% de los respectivos valores calculados como ingestión potencial.

El consumo normalizado permaneció similar y cercano a 1.9 μg y 0.04 $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ para los dos primeros subestadios, pero disminuyó notablemente para el tercero. Aunque esto no corresponde a los resultados recabados en los experimentos de ingestión a corto plazo pero coincide, por lo menos para el tercer subestadio, con la relación inversa que se espera en general entre las tasas metabólicas y la edad (o peso) de los organismos.

En el caso de los cultivos alimentados con *B. plicatilis*, se notó una tendencia general a una menor ingestión de este tipo de presas, que se hizo más evidente cuando las larvas se encontraban en la etapa de mysis III de tal manera que, a pesar de que estas larvas tienen un peso individual un 37% mayor del subestadio anterior, su ingestión diaria aumentó solamente de un 10%, en comparación con el 24% de incremento del consumo calculado para mysis II, con respecto a la fase de mysis I.

Con este segundo régimen de alimentación, se registró una ingestión media diaria que representó aproximadamente el 40% de la potencial, y el consumo total de los tres subestadios fue de 401 μg , equivalente a 7.5 $\text{J}\cdot\text{larva}^{-1}$, que representan respectivamente el 92 y el 83% de los valores que se calcularon en el caso de los cultivos alimentados con nauplios de *Artemia*.

En el caso del consumo calculado por unidad de peso, también se obtuvieron en todos los casos valores menores con esta dieta que con la tradicional, con una diferencia de cerca del 5% para mysis I y II, que aumentó hasta cerca del 14% para mysis III. Como en los cultivos con nauplios de *Artemia*, se confirmó además que el consumo horario de los primeros subestadios es similar y que disminuye notablemente para el tercero confirmando la relación inversa entre peso individual e ingestión (Tabla 23).

Tabla 23. Consumo diario medio y desviación estándar de los tres subestadios de mysis de *Litopenaeus vannamei* cultivados con *Chaetoceros muelleri* y nauplios de *Artemia* (ma+nau) o con microalgas y *Brachionus plicatilis* (ma+rot), en %, en unidades de peso seco y de energía por individuo ($\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$), por unidad de peso seco de larvas ($\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$ y $\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$) y consumo de todo el estadio (Σ). Entre paréntesis días de duración de cada subestadio.

CONSUMO					
	%	$\mu\text{g}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\text{J}\cdot\text{lar}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$	$\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{día}^{-1}$
ma + nau					
MYSIS I (1.25)	78.5 ± 11.0				
	+	94.7	1.93	1.93	0.039
	98.1 ± 3.2				
MYSIS II (1.25)	71.5 ± 6.0				
	+	118.0	2.46	1.91	0.040
	98.4 ± 1.4				
MYSIS III (1.25)	75.0 ± 9.0				
	+	136.5	2.86	1.65	0.035
	92.7 ± 9.3				
Σ		436.5	9.06	--	--
ma + rot					
MYSIS I (1.25)	91.5 ± 4.6				
	+	89.0	1.64	1.81	0.033
	97.5 ± 1.4				
MYSIS II (1.25)	97.3 ± 2.6				
	+	110.6	2.06	1.79	0.033
	95.8 ± 2.7				
MYSIS III (1.25)	94.3 ± 4.8				
	+	121.3	2.28	1.42	0.027
	87.0 ± 4.2				
Σ		401.1	7.48	--	--

IV.4.5. BALANCE ENERGÉTICO

En vista de la cantidad de alimento suministrado y de la resultante menor ingestión, el crecimiento real resultó notablemente inferior al potencial, con

porcentajes que variaron entre cerca del 15 para zoea I y II hasta un máximo del 26% para zoea III. En el caso de mysis, los subestadios más eficientes fueron mysis I alimentado con nauplios de *Artemia* (19.4% del crecimiento potencial) o con *B. plicatilis* (17.6%) y los porcentajes menores fueron para mysis II con ambas dietas mientras que, contrariamente a las indicaciones de las pruebas de largo plazo, la alimentación con rotíferos resultó más eficiente de la basada en nauplios de *Artemia*.

Considerados en forma global por estadio y por dieta, al crecimiento real de una zoea representó el 19.3% del potencial. En el caso de mysis, la dieta que consistió en nauplios de *Artemia* resultó en un 11.9% del calculado con las pruebas de corto plazo, comparado con el 13.1% que resultó para la dieta no tradicional (Tabla 24).

Tabla 24. Incremento de contenido energético para cada etapa de desarrollo larvario ($J \cdot ind^{-1}$) calculada mediante las pruebas de corto plazo (G_P), medido en los experimentos de cultivo (G_R), porcentajes de crecimiento y de ingestión reales con respecto a las potenciales. Σ = Incremento global por estadio.

	G_P	G_R	G_R/G_P	I_R/I_P
	$J \cdot ind^{-1}$	$J \cdot ind^{-1}$	%	%
ZOEA I	0.788	0.116	14.7	37
ZOEA II	0.717	0.106	14.8	40
ZOEA III	1.001	0.262	26.2	37
Σ	2.506	0.484	19.3	38
MYSIS I	2.279	0.443	19.4	56
MYSIS II ma + nau	3.055	0.255	8.3	55
MYSIS III	5.441	0.582	10.7	40
Σ	10.775	1.280	11.9	48
MYSIS I	2.432	0.429	17.6	44
MYSIS II ma + rot	3.836	0.275	7.2	39
MYSIS III	3.761	0.610	16.2	44
Σ	10.029	1.314	13.1	42

Por otra parte, aunque la cantidad de alimento suministrado causó una ingestión diaria menor de la potencial, la diferencia no es suficiente para explicar la discrepancia entre el campo de crecimiento calculado a partir de las pruebas a corto plazo y el incremento del contenido energético medido en los experimentos de cultivo, ya que el alimento ingerido realmente fue superior al 35% del consumo potencial para las tres fases de zoea y varió entre el 39% hasta el 55-56% para los subestadios de mysis (Tabla 24)

De acuerdo a esta consideración el crecimiento potencial, aunque corregido por la cantidad de alimento ingerido diariamente, sobrestima el crecimiento real en un porcentaje que varía entre el 200% y el 320-400% para los estadios de zoea y de mysis, respectivamente, que pudiera ser debido a diferencias relacionadas con la disponibilidad de alimento, las cuales pueden causar variaciones en otras tasas metabólicas, en especial en la absorción y en la respiración.

Ambas posibilidades se consideraron mediante el retrocálculo de estas tasas a partir de los datos reales de ingestión y del contenido energético de cada fase de desarrollo larvario. Utilizando la eficiencia de asimilación de las pruebas de corto plazo, se evaluó la cantidad de energía asimilada y por diferencia con ésta el gasto metabólico de cada uno de los subestadios causado por la suma de respiración y excreción.

En el caso de las tres etapas de zoea, éste resultó equivalente a entre el 50 y el 60% del verificado mediante los experimentos de corto plazo, pero aumentó hasta aproximadamente el 150 y el 190% para los subestadios de mysis cultivadas con nauplios de *Artemia* y entre el 110 y el 155% cuando éstas se alimentaron con *B. plicatilis*.

Por otra parte, cuando la eficiencia de asimilación se obtuvo por retrocálculo usando los datos reales de respiración, ésta resultó notablemente mayor de la verificada en los experimentos en los cuales la cantidad de sustancia orgánica absorbida fue medida mediante la tradicional técnica de Conover (1966), en el caso de los tres subestadios de zoea, pero disminuyó para las tres fases de mysis, particularmente en los cultivos alimentados con nauplios de *Artemia*, con las

cuales la absorción global resultó cercana al 65% de la medida, mientras que con rotíferos varió entre el 70 y el 95% de la verificada experimentalmente en las pruebas de corto plazo (Tabla 25 y Anexos 7 y 8).

Tabla 25. Valores medios de los costos metabólicos (R+U) y de la cantidad de energía asimilada (A) medidos experimentalmente o calculados a partir de las pruebas de largo plazo, durante la duración de cada subestadio de desarrollo y para la duración total de cada estadio (Σ). Todos los valores se dan en $J\text{-ind}^{-1}$. % = porcentaje del valor calculado con respecto al medido.

	R+U			A		
	medido	calculado	%	medido	calculado	%
ZOEA I	0.793	0.478	60.3	0.599	0.914	152.6
ZOEA II	1.362	0.737	54.1	0.847	1.472	173.8
ZOEA III	0.952	0.456	47.9	0.729	1.225	168.0
Σ	3.107	1.671	53.8	2.175	3.611	166.0
ma + nau						
MYSIS I	0.914	1.388	151.9	1.849	1.375	74.4
MYSIS II	1.083	2.089	192.9	2.355	1.349	57.3
MYSIS III	1.117	2.134	191.0	2.740	1.723	62.9
Σ	3.114	5.611	180.2	6.944	4.447	64.0
ma + rot						
MYSIS I	1.042	1.124	107.9	1.571	1.489	94.8
MYSIS II	1.097	1.692	154.2	1.978	1.383	69.9
MYSIS III	1.088	1.533	140.9	2.188	1.723	78.7
Σ	3.227	4.349	134.8	5.737	4.595	80.1

V. DISCUSIÓN

La respuesta de un organismo a una determinada situación ambiental, incluyendo el tipo de alimento que tiene a disposición en su entorno, puede ser valorada directamente usando pruebas de largo plazo y examinando su crecimiento, su desarrollo y su reproducción, o verificando su condición fisiológica mediante su índice de condición. En forma alternativa se usan pruebas de menor duración, a través de las cuales se puede evaluar la eficiencia funcional de los organismos en cultivo mediante el cálculo de su balance energético.

La evidente ventaja de las primeras es que se obtiene directamente la información deseada sobre el crecimiento, el estado fisiológico o la actividad reproductiva de los organismos mantenidos en una determinada situación ambiental, pero tiene la desventaja que para obtenerla es necesario cultivar los organismos en sistemas controlados durante tiempos variables, los cuales dependen de la especie que se está estudiando y de su etapa de desarrollo, pero que son en general superiores a varios días y pueden durar hasta algunas semanas.

La segunda opción es más atractiva, ya que en tiempos breves es posible cuantificar los ingresos y los egresos de energía a través del sistema biológico que se está estudiando. Éstos pueden ser usados posteriormente para una evaluación del crecimiento que es posible esperar una vez satisfechas las necesidades de gasto energético debidas al metabolismo de los organismos en cultivo, el cual se calcula como energía almacenada por un organismo en un determinado lapso de tiempo (campo de crecimiento).

Esta segunda opción ha sido ampliamente utilizada desde hace varias décadas en acuicultura y en ciencias agropecuarias en general, tanto para modelar el crecimiento de los organismos, como para estudiar el efecto de las variables ambientales que lo pueden modificar (Ivlev, 1939; Brody, 1945; Russel-Hunter, 1970; Cho y Bureau, 1999), y varios autores han sugerido que ésta es la forma más eficiente de obtener este tipo de información para varias especies de crustáceos de interés comercial, en vista de que permite cuantificar el efecto de las variables ambientales, incluyendo el tipo y la composición de las dietas, sobre

las diferentes tasas metabólicas implicadas en el crecimiento (Logan y Epifanio, 1978; Jones y Momot, 1983; Villarreal, 1989, 1999).

Por otra parte, para poder utilizar este tipo de información en la modelación del crecimiento de un organismo con el fin de evaluar su productividad, es necesario comprobar que existe una correspondencia o por lo menos una relación entre el crecimiento real y el potencial, que es un problema que ha sido objeto de un número limitado de estudios sobre bivalvos (Riisgard y Randlov, 1981; Beiras *et al.*, 1994), mientras que para crustáceos el único trabajo sobre este tema es el de Lora Vilchis (2004), en el cual se demostró que la productividad potencial de *Artemia franciscana*, aún cuando ésta se calculó con base en la cantidad de alimento ingerido realmente en pruebas de cultivo de larga duración, puede dar como resultado tanto una sobrestimación como una subestimación del crecimiento observado, el cual en ese caso resultó ser dependiente de la calidad de las dietas suministradas a los organismos experimentales.

En el caso de la escasa literatura sobre el balance energético de las larvas de penelidos, éste es el primer ejemplo de una comparación directa entre los dos tipos de acercamiento, y es en efecto el único en el cual se obtuvieron experimentalmente en las pruebas de corto plazo todas las variables necesarias para el cálculo del crecimiento potencial parcial y global, mediante el balance energético de cada fase de desarrollo larvario (Jones *et al.*, 1997).

Por ejemplo, en el trabajo de Kurmaly *et al.* (1989 a), los datos de ingestión y de crecimiento reales de las larvas de *Penaeus monodon* se usaron conjuntamente con los resultados de respirometría a corto plazo para calcular la suma de las cantidades de energía no absorbida y de la pérdida mediante la excreción nitrogenada. Con base en estos cálculos y asumiendo, como en el caso de este trabajo, un 4% de gasto energético debido a la síntesis y sucesiva pérdida de las exuvias (Johns, 1982; Dawirs, 1983; Jones *et al.*, 1997), estos autores calcularon una eficiencia de utilización del alimento (que definieron como eficiencia de asimilación), que varió entre el 15.6 y el 17.5% para los tres subestadios de zoea, disminuyó hasta menos del 11% para mysis I y se incrementó nuevamente a cerca

del 16% y 18.2% para mysis II y mysis III, respectivamente, con un promedio general del 16.3%.

Este valor parece muy bajo, y en efecto no coincide con las eficiencias medidas en forma directa en este estudio con el método de Conover (1966 a), las cuales variaron entre valores cercanos al 47-54% para zoea y 70-80% para mysis I a III. Aunque Kurmaly *et al.* (1989 a) encontraron que el valor que obtuvieron por retrocálculo subestima la eficiencia real de absorción del alimento, en ningún caso los valores que obtuvieron en forma directa con la misma metodología usada en estos experimentos alcanzaron los obtenidos en este estudio.

Esto pudiera ser debido a una diferencia en el metabolismo digestivo entre especies de camarón o pudiera ser causado por el tipo de microalga utilizado, ya que en ese caso se usó como alimento la flagelada *Tetraselmis chuii* (Kyllin) Butcher, la cual es caracterizada por una pared celular rígida (South y Whittick, 1987) que pudiera dificultar su digestión, como fue supuesto por Robles Barraza (2003) en el caso de las larvas zoea de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Tetraselmis suecica*, que demostraron un menor crecimiento del que se registró con otras microalgas y una mortalidad del 100% antes de alcanzar el subestadio de zoea III.

De acuerdo a Loya Javellana (1989), *T. chuii* es la dieta que se usa con mayor frecuencia en los cultivos larvarios comerciales de *Penaeus monodon*. Por otra parte, existe un consenso general que las diatomeas son una mejor fuente alimenticia para las larvas de peneidos que los fitoflagelados (Gleason y Zimmerman, 1984; Kuban *et al.*, 1985; Yúfera y Lubián, 1990), y en particular esto fue confirmado para esta especie por Tobias Quintilio y Villegas (1982), los cuales compararon el crecimiento de las larvas de *P. monodon* alimentadas con *Chaetoceros calcitrans* y con *Tetraselmis chuii*, encontrando mejores resultados con la primera de estas dos dietas.

Por otra parte, ha sido ampliamente demostrado que las larvas de diferentes especies de peneidos tienen diferentes comportamientos en lo que se refiere a la tasa de ingestión, que resultó ser una función aproximadamente lineal de la

disponibilidad de alimento para algunas especies, como *Penaeus marginatus* (Gopalakrishnan, 1976) y *L. vannamei* (Abundis Torres, 2003; Tovar Guillén, 2003; Ulloa Moreno, 2003; Ramos Brito, 2004), mientras que en otros casos, como *P. monodon*, *P. indicus* y *P. kerathurus* se encontró una respuesta de tipo asintótico (Emmerson, 1980; Yúfera *et al.*, 1984; Loya Javellana, 1989), que por lo menos en el primer caso pudiera implicar también diferencias en las eficiencias de asimilación, causadas por los diferentes tiempos de permanencia en el sistema digestivo.

También se describieron diferencias interespecíficas en las respuestas de diferentes especies de peneidos alimentadas con las mismas dietas (Wilkenfeld *et al.*, 1984; Kuban *et al.*, 1985), las cuales implican diferentes requerimientos dietéticos de las varias especies, o diferencias en consumo o finalmente en la digestión y asimilación del alimento, por lo cual es de esperar que los resultados obtenidos en esta investigación difieran de los reportados por Kurmaly *et al.* (1989 a) y más recientemente por Lemos y Phan (2001 a y b), para *Penaeus monodon* y *Farfantepenaeus paulensis*, respectivamente.

Aparte de las posibles diferencias causadas por las especies de camarón y por las dietas usadas para alimentarlas, existen otras dificultades para comparar los resultados de este estudio con la escasa literatura existente, causadas por las diferentes formas de reportar los resultados. Aún así, por lo menos para las pruebas de largo plazo, que son las únicas para las cuales se cuenta con información suficiente para esta finalidad, es posible comparar algunos de los datos y comentar sobre las eventuales discrepancias y coincidencias más evidentes.

Los datos de ingestión diaria por ejemplo, coinciden con los reportados para *Penaeus monodon* por Kurmaly *et al.* (1989 a), por lo menos hasta la fase de mysis II, durante y después de la cual la ingestión de energía diaria fue notablemente mayor para esta especie, coincidiendo por otra parte en indicar que la ingestión normalizada por unidad de peso disminuye durante el cambio entre zoea I y II, permanece similar durante el cambio entre zoea II y III con cerca de 0.5-0.6

$\text{J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ y se mantiene aproximadamente constante y cercana a $0.4 \text{ J}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ para los tres siguientes subestadios de mysis.

Como se comentó anteriormente, la eficiencia de asimilación calculada por estos autores resultó notablemente inferior a la observada en este estudio, aunque sus resultados no coinciden con las eficiencias reportadas en literatura para varios organismos zooplanctónicos filtradores y recopiladas por Sushchenya (1970), las cuales varían en general entre un mínimo del 24%, alcanzando hasta el 78%, con valores medios cercanos al 60%, mientras que para los crustáceos que se alimentan con zooplancton las eficiencias de absorción aumentarían hasta más del 80% (Logan y Epifanio, 1978; Jones *et al.*, 1997).

Este cambio de eficiencia debido al tipo de dieta es la explicación más probable del fuerte incremento de la asimilación individual de las larvas de *Farfantepenaeus paulensis* después del inicio del suministro de nauplios de *Artemia* que fue reportado por Lemos y Phan (2001 a), y coincide también con la mayor ganancia en peso de las larvas de las tres especies de peneidos estudiadas por Wilkenfeld *et al.* (1984), cuando éstas fueron alimentadas con una dieta mixta, animal y vegetal, en comparación con una ración igual consistente en solas microalgas, lo cual pudiera confirmar la importancia de la aportación de enzimas digestivas de las mismas presas, mencionada por Lavens y Sorgeloos (1996) y por Hoff y Snell (1999), entre otros.

También resalta la discrepancia entre los valores de gasto metabólico encontrados en este estudio y los reportados por Kurmaly *et al.* (1989 a), de acuerdo a los cuales el costo representado por el metabolismo activo de una larva representaría aproximadamente entre el 2 y el 3% de la ingestión, con correspondientes valores del coeficiente de utilización del alimento ingerido (K_1) de entre el 12 y el 14% para zoea I a III y del 6.5 al 12% para mysis I y II, respectivamente. En ese estudio, el bajo valor de la eficiencia de asimilación que los autores obtuvieron por retrocálculo, causó un notable incremento del respectivo valor de K_2 (energía almacenada en forma de nuevos tejidos en comparación con la cantidad

asimilada), que varió entre el 70 y el 88% para el estadio de zoea y del 55 al 65% para los tres subestadios de mysis.

Los resultados de este estudio (Tablas 22 a 24) indican valores de K_1 del 11% para zoea, del 14% para mysis cultivada con nauplios de *Artemia* y del 17.6% cuando éstas fueron alimentadas con *B. plicatilis* y los respectivos valores de K_2 calculados con la cantidad de energía asimilada medida en los experimentos de corto plazo o con los obtenidos por retrocálculo fueron del 22.3 y 13.4% para zoea, 18.4 y 26.7% para mysis alimentada con *Artemia* y 22.9 o 28.6% cuando los nauplios fueron sustituidos con *B. plicatilis*. Estos valores se acercan a los reportados para crustáceos filtradores (Sushchenya, 1962; 1970) y carnívoros (Corner, 1961), aunque difieren de los reportados por Lemos y Phan (2001 a), los cuales calcularon valores de K_2 de entre el 50 y el 70% entre zoea I y mysis I, que disminuyeron al 33 y 40% para mysis II y mysis III, respectivamente.

Por otra parte, confirmando los datos del presente estudio, tanto estos autores como Rosas *et al.* (1995) indican que los costos metabólicos de las larvas de peneidos representan en la mayoría de los casos más del 50% de la energía asimilada, que parece confirmar una subestimación de la respiración o de la asimilación en los experimentos de Kurmaly *et al.* (1989). Esto resulta evidente por los datos de asimilación y de disponibilidad de alimento reportados por Lemos y Phan (2001 a) ya que, aunque estos autores no cuantificaron el alimento ingerido, la asimilación aumentó progresivamente con el desarrollo larvario, resultando equivalente al 20% de la disponibilidad para zoea I, alcanzando más del 56% para zoea III, y superando valores de entre el 60 y el 77% para los tres subestadios de mysis.

De igual manera, los costos metabólicos que reportan estos autores fueron en general superiores a la cantidad de energía usada para el crecimiento, que en ese caso superó a la respiración solamente para el subestadio de zoea III. Globalmente, durante todo su desarrollo, una larva de *F. paulensis* asimiló 3.59 J, de los cuales el 42% fue invertido en nueva biomasa y el 52% fue utilizado para la

respiración, lo cual coincide en general con las necesidades metabólicas reportada por Rosas (1999) para el camarón blanco del Atlántico (*Penaeus setiferus*).

Una probable fuente adicional de diferencias en la evaluación de los costos metabólicos medidos como respiración y excreción es que en los experimentos realizados para este trabajo estas fuentes de pérdidas energéticas se midieron con organismos recién alimentados, por lo cual este gasto incluye las tres componentes de la respiración y de la de excreción (rutina, estándar y post-alimentaria). La tercera de éstas es susceptible de variar ampliamente de acuerdo al tipo y a la cantidad de alimento ingerido (Kaushik y Gomes, 1988; Cho y Bureau, 1999).

Esto fue demostrado para larvas de peneidos por Rosas *et al.* (1995), los cuales valoraron la actividad respiratoria de las larvas de *Penaeus setiferus* con tres diferentes dietas vivas suministradas en raciones diferentes, encontrando diferencias que en algunos casos superaron el orden de magnitud.

En el caso del balance calculado por Kurmaly *et al.* (1989 a), solamente se reportó la respiración de rutina, mientras que Lemos y Phan (2001 a) corrigieron este valor adicionando un porcentaje estándar (70%) causado por el efecto calorigénico del alimento, aunque Rosas *et al.* (1996) demostraron que este efecto puede causar un incremento del consumo de oxígeno y de la excreción nitrogenada que superaron el 500 y alcanzaron hasta el 1000% de la respiración o excreción de rutina, y que además este efecto puede variar de acuerdo a la especie de camarón y a la composición de la dieta, que es la fuente más probable de las diferencias entre los datos de literatura y los recabados en este trabajo.

A pesar de estas diferencias, algunas de las cuales pudieran ser debidas a los diferentes diseños, a la variedad de metodologías usadas, a las especies utilizadas en estos experimentos y a los diferentes alimentos, es necesario remarcar que el campo de crecimiento evaluado en este trabajo y en los demás en los cuales se reporta el incremento global de energía, varió entre valores similares para las tres especies, con un contenido energético al final del desarrollo larvario que varió entre 1.64 y 1.51 J-ind⁻¹ para *Penaeus monodon* y *Farfantepenaeus*

paulensis, comparados con los 1.76 a 1.80 J-ind⁻¹ que se obtuvieron en las pruebas de largo plazo para las larvas de *L. vannamei* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* y con microalgas y rotíferos, respectivamente.

Por otra parte, la mayor diferencia que se encontró se refiere a los resultados de las pruebas de corto plazo, que se llevaron a cabo con la finalidad de verificar la factibilidad de usar los datos de crecimiento potencial para calcular el crecimiento que es posible esperar en condiciones estables de cultivo.

De acuerdo a los resultados de estas pruebas, hasta el momento del cambio entre zoea III y mysis I una larva acumularía un total de 2.51 J en nuevos tejidos, que aumentarían al final del estadio de mysis a 13.28 y 12.54 J-ind⁻¹ para las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* y con rotíferos respectivamente, valores que son un orden de magnitud superiores a los 1.76 y 1.80 J-ind⁻¹ que se verificaron en las pruebas de cultivo (Tabla 24).

Aunque esto pudiera ser debido a la diferencia importante entre la cantidad de alimento que una larva puede ingerir en un día, que es mucho mayor de la suministrada diariamente en los experimentos de cultivo, algunos experimentos que se realizaron en paralelo con los del presente estudio utilizando las mismas larvas y los mismos alimentos, demostraron que la ración diaria puede ser reducida al 50% de la que se suministró en este estudio, o puede ser aumentada hasta más del 200%, sin que esto cause diferencias importantes en el crecimiento larvario. En efecto, éstas no resultaron significativas en la mayoría de los casos, a pesar de que en todas las pruebas la ingestión aumentó en forma paralela con la cantidad de alimento disponible, con porcentajes de consumo de entre el 75 y el 90% en todos los casos (Tovar Guillén, 2003; Ulloa Moreno, 2003; Ramos Brito, 2004).

Aunque en esos experimentos no se realizaron mediciones de las variables fisiológicas, la explicación más probable de esta falta de diferencias es una menor absorción de los nutrimentos cuando el alimento se suministró en exceso, y cabe recordar que en los experimentos de corto plazo la eficiencia de asimilación se midió con organismos alimentados *ad libitum* y posteriormente incubados en

ayunas, que pudiera facilitar la digestión del alimento aún presente en el tracto digestivo, ya que se ha demostrado que en ausencia de presas disponibles éste puede ser retenido y reciclado para su mejor utilización desde los segmentos abdominales hasta los lóbulos de la glándula del intestino medio y anterior, que es donde tiene lugar el proceso de absorción de los nutrimentos (Lovett y Felder, 1990 a, b y c).

De acuerdo a estas consideraciones, los factores que pudieron haber modificado el crecimiento real con respecto al esperado son, junto con una menor asimilación, un mayor gasto energético causado por respiración y excreción, que son las posibilidades que se examinaron en forma comparativa en la tabla 25, de acuerdo a la cual ambas posibilidades ofrecen solamente una respuesta parcial al problema de identificar el factor responsable de las diferencias entre los balances obtenidos por cálculo directo o por retrocálculo, a partir del crecimiento real.

Aunque el método de proporciones propuesto por Conover (1966 a y b) es todavía el más ampliamente utilizado para medir la eficiencia de absorción del alimento de organismos planctónicos y de otros filtradores como los moluscos, y a pesar del hecho que ha sido validado para algunas especies fitoplanctófagas utilizando microalgas marcadas con radioisótopos (Navarro y Thompson, 1994; Evjemo *et al.*, 2000) o con otras técnicas que la cuantifican en forma directa (Sick, 1976), en otros casos se encontró que no se cumple el supuesto básico que fundamenta este método, de acuerdo al cual los organismos que cuentan con una amplia superficie en contacto con el medio acuático en comparación con su volumen total no requieren utilizar las sustancias inorgánicas presentes en su alimento, ya que absorben directamente las que se encuentran en solución en el agua, por lo cual la absorción de energía puede ser medida usando la ingestión total y el cambio de la proporción entre las sustancias orgánicas e inorgánicas presentes en el alimento y en las heces (Cordero Esquivel, 1994).

De acuerdo a los valores obtenidos por retrocálculo, bajo el supuesto que las actividades de respiración y excreción obtenidas en las pruebas de corto plazo se mantuvieron sin cambios durante la duración de cada fase, la diferencia en la

cantidad de energía absorbida durante los tres subestadios de zoea sería de 1.44 J-ind^{-1} , equivalente al 66% de la calculada con el método de proporciones, mientras que para las mysis la energía asimilada sería el 64 y el 80% de la calculada con las pruebas de corto plazo, por lo cual estas pruebas darían una subestimación de la absorción en el caso de las microalgas, pero se estaría sobrestimando la absorción de las dietas basadas en microzooplancton.

Por otra parte, aceptando los datos de absorción recabados en los experimentos de corto plazo, se presentaría la situación inversa, con una sobrestimación de la respiración en el caso de las larvas zoea y una tasa respiratoria mayor de la medida experimentalmente durante los subestadios de mysis.

Ambas posibilidades deben ser consideradas como explicaciones posibles de estas diferencias, ya que las larvas herbívoras tienden a canalizar un mayor porcentaje de la energía absorbida al crecimiento que a la respiración (Kurmaly *et al.*, 1989 a; Lemos y Phan, 2001 a), que coincide con los resultados obtenidos con otros crustáceos filtradores por Conover y Corner (1968) y Lucas (1979). Además, si se acepta que la eficiencia de asimilación del alimento aumenta cuando ésta no está disponible en exceso, la eficiencia que se obtuvo experimentalmente pudiera mejorar sustancialmente en el transcurso del tiempo entre el suministro de una ración y la sucesiva, a causa de la progresiva disminución de la concentración de microalgas.

Por otra parte, debido a su actividad de depredación, los carnívoros tienden a tener un mayor gasto energético causado por la búsqueda activa, la captura y la ingestión de sus presas a partir de mysis I, cuando se desarrolla su comportamiento de carnívoros depredadores (Jones *et al.*, 1997), que pudiera causar un progresivo aumento del gasto metabólico causado por la disminución de la cantidad de presas disponibles (Mootz y Epifanio, 1974; Dawirs, 1983; Vernberg, 1983), y es además necesario considerar que los datos de Rosas *et al.* (1995) y Lemos y Phan (2001 a) coinciden en indicar que la digestión y absorción de las presas animales causa un incremento del efecto calorígeno (efecto

dinámico específico), causando por consecuencia una menor canalización de la energía absorbida hacia el crecimiento, en vista del incremento de la respiración. Aparte que para describir el balance energético del desarrollo larvario de *Litopenaeus vannamei* que hasta ahora no se había estudiado, estos experimentos tenían la finalidad de comparar los resultados de crecimiento que se obtienen mediante pruebas de cultivo con los que se pudieran calcular usando exclusivamente pruebas de corto plazo, que como se comentó pueden dar como resultado una sobrestimación del potencial de crecimiento, además de verificar la eficiencia con la cual los subestadios de desarrollo que se alimentan con microalgas y microzooplancton utilizan sus presas, cuando los tradicionales nauplios de *Artemia* son sustituidos con el rotífero *B. plicatilis*.

Esta sobrestimación deriva en parte de la sobrestimación de la tasa de ingestión ya que, de acuerdo a Jones y Kurmaly (1987), cuando el alimento está presente en exceso, una larva de peneido puede ingerir en una hora suficiente alimento para 5 a 7 renovaciones completas del contenido de su aparato digestivo. Aparentemente ésta es una adaptación al tipo de ambiente en el cual se desarrollan en condiciones naturales, en el cual son muy abundantes los alimentos particulados con un bajo contenido energético, por lo cual resultaría energéticamente más conveniente renovar continuamente el contenido de su tracto digestivo, con una consiguiente baja eficiencia de absorción (Chervin, 1978; Sorokin, 1981).

La técnica usada para determinar la respiración y la eficiencia de asimilación, de acuerdo a la cual un grupo de organismos alimentados "ad libitum" y por consecuencia en exceso es incubado en ayunas, por lo cual el alimento ingerido no es renovado con la misma velocidad determinada con las pruebas de ingestión, tendría como resultado una sobrestimación de una o de ambas tasas, que explica la diferencia entre los balances calculados con las pruebas de corto y de largo plazo, quedando por determinar cual de las dos tasas fue sobrestimada en cada subestadio de desarrollo larvario.

Por otra parte, además de proporcionar una información que no puede ser utilizada directamente para calcular el crecimiento usando solamente pruebas de corto plazo, que confirma los resultados de Lora Vilchis (2004), los datos recabados en este trabajo confirman la menor ingestión de rotíferos en comparación con el consumo de nauplios de *Artemia*, por lo menos durante el último subestadio de mysis, que fue descrita para *Penaeus kerathurus* por Yúfera *et al.* (1984) y para subestadios todavía más tempranos de *P. indicus* por Emmerson (1984), el cual concluyó que *B. plicatilis* carece de interés para la camaronicultura comercial, mientras que con base en sus cálculos de energía ingerida, el primero de estos autores concluyó que los rotíferos no son una dieta adecuada por lo menos para el tercer subestadio de mysis. Aunque esto coincide con los cálculos realizados a partir de los resultados obtenidos en este trabajo, cuando se consideró solamente la cantidad de energía ingerida y el porcentaje que quedó disponible como campo de crecimiento, en los experimentos de corto plazo, las pruebas de cultivo indicaron que al final del desarrollo larvario las larvas con el mayor peso y con el mayor contenido energético fueron las alimentadas durante las etapas carnívoras con *B. plicatilis*.

En coincidencia con las conclusiones de Lora Vilchis (2004), esto indica que el balance de energía es susceptible de ser modificado por la calidad dietética de los alimentos suministrados, y que este efecto no es cuantificable utilizando exclusivamente pruebas de breve duración dirigidas a investigar el flujo de energía a través de un sistema biológico, que en este caso hubieran indicado la conveniencia de un cambio de dieta para la fase final de un cultivo larvario, mientras que los experimentos de mayor duración coincidieron en indicar que la dieta que se propuso como una posible alternativa es igual o superior a la que se ha utilizado tradicionalmente desde los inicios de la camaronicultura comercial.

VI. CONCLUSIONES

Se realizaron cuatro experimentos de cultivo de larvas de *Litopenaeus vannamei* a partir de zoea I hasta la fecha de aparición de las primeras postlarvas, utilizando como alimento la diatomea *Chaetoceros muelleri* para los tres subestadios de zoea, mientras que para las tres fases de mysis se suministraron como dieta principal nauplios de *Artemia* o, en forma alternativa, un peso orgánico equivalente del rotífero *Brachionus plicatilis*, complementados en ambos casos con la misma microalga usada para el estadio anterior.

Estos experimentos tenían la finalidad de calcular el balance energético de esta especie durante su desarrollo larvario, por lo cual se realizaron también pruebas de corto plazo con cada uno de los seis subestadios de desarrollo, con el fin de verificar las respectivas tasas de ingestión, de absorción del alimento ingerido, de respiración y de excreción, con las cuales se obtuvieron el balance energético horario, diario y global de cada subestadio y se calculó el campo de crecimiento (crecimiento potencial) parcial y total de todo el desarrollo larvario, tanto con la dieta tradicional, que consiste en microalgas y nauplios de *Artemia*, como con la alternativa que se propuso, en la cual los nauplios fueron sustituidos con el rotífero *B. plicatilis*.

Los resultados indicaron que utilizando solamente la información de las pruebas de corta duración no es posible calcular el crecimiento real, ya que en todos los casos lo sobrestima hasta casi en un orden de magnitud. El incremento global de contenido energético que se calculó al final de todo el desarrollo larvario fue de 13.3 y 12.5 J-ind⁻¹, en comparación con los 1.85 y 1.96 J-ind⁻¹ que se verificaron en promedio al final de las pruebas de cultivo, para las larvas en la etapa de mysis III alimentadas con nauplios de *Artemia* y con rotíferos, respectivamente.

En parte, esta diferencia se debe a una menor ingestión de alimento que se verificó en las pruebas de cultivo, en comparación con la calculada a partir de los datos recabados en los experimentos de corta duración, de acuerdo a los cuales la ingestión horaria se sobrestima en un 210 a 240%, aunque esta sobrestimación no

es suficiente para explicar totalmente la discrepancia entre el crecimiento potencial y el real.

De acuerdo a los resultados de una nueva evaluación de las tasas de respiración y excreción, que en este caso se obtuvieron por retrocálculo a partir del crecimiento real y de la eficiencia de absorción de nutrimentos obtenida en los experimentos de corto plazo, éstos estarían sobrestimando los egresos de energía causados por el costo metabólico durante los tres subestadios de zoea, mientras que cuando la alimentación es prevalentemente carnívora (estadio de mysis), estas mismas pruebas subestimarían los egresos reales.

Cuando por otra parte el retrocálculo se efectuó utilizando los datos de respiración y excreción obtenidos experimentalmente, se obtuvo una absorción de energía superior a la medida, para los tres subestadios de zoea, mientras que ésta resultó mayor a la retrocalculada en el caso de las tres fases de mysis, concluyéndose que la explicación más probable es una interacción entre estas dos tasas, causada por variaciones en la eficiencia de absorción, en paralelo con las variaciones de disponibilidad de alimento y con el respectivo tiempo de permanencia en el tracto digestivo.

En general, los datos de las pruebas de corto plazo coinciden con las indicaciones de literatura, de acuerdo a las cuales los consumidores primarios (herbívoros) absorben un menor porcentaje de la energía contenida en su alimento, pero dedican al crecimiento una fracción superior de esta energía, a causa de un menor costo metabólico para su digestión y absorción. En cambio, aunque la eficiencia de asimilación de los carnívoros es generalmente mayor, ésta se logra con un alto costo energético, causado por la búsqueda, captura e ingestión de las presas, que es la única explicación de la diferencia que se obtuvo mediante los retrocálculos, para los estadios de zoea y de mysis.

Finalmente, aunque los cálculos del flujo de energía de las larvas mysis alimentadas con rotíferos en lugar de los tradicionales nauplios de *Artemia* coinciden con las indicaciones de literatura, las cuales indican que *B. plicatilis* no es un alimento apropiado para la fase más avanzada de mysis, debido a sus

pequeñas dimensiones que dificultarían su captura y tendrían como resultado un mayor costo energético, los resultados que se obtuvieron en los experimentos de cultivo indicaron que el crecimiento en talla y en peso fue igual o mayor con esta dieta, implicando una mejor calidad dietética de este tipo de presa, que puede sustituir ventajosamente a los nauplios de *Artemia* durante los subestadios de mysis I y mysis II y cuyo uso no causó diferencias en crecimiento y en desarrollo, por lo menos hasta alcanzar la primera etapa de postlarvas.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abundis Torres, G. 2003. Tasa de ingestión de larvas zoea de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes concentraciones de microalgas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 38 pp.
- Acosta Castañeda, C. 1997. Evaluación de la incidencia de postlarvas de camarón *Penaeus* spp. en la bahía de Ceuta, Sinaloa, México (1991-1992). Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 47 pp.
- Akamine, Y. 1985. Crecimiento de larvas de camarones *P. vannamei* y *P. stylirostris* usando nemátodos, *Panagrellus redivivus* y rotíferos, *Brachionus plicatilis* en el laboratorio comercial. Boletín ESPOL. 2: 20 pp.
- Alceste Oliviero, C. y Martínez Espinosa, M. 2000. Regional review of aquaculture status and development trends in Latin America and the Caribbean. 23-29. En: Conference on aquaculture in the third millenium. NACAP-FAO. Bangkok, Thailand. Febrero 2000.
- Alfonso, E., Martínez, L., Gelabert, R. y Leal, S. 1988. Alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti*. I. Diatomeas y Flagelados. Revista de Investigaciones Marinas. La Habana. 9: 47-57.
- Alfonso, E., Ramos, L., Díaz Iglesia, E., García, T. y Rosas, C. 1993. Manual del II curso internacional de producción de postlarvas de camarones peneidos del Atlántico de América. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 132 pp.
- Anónimo. 2000. Artículo de fondo: *Artemia* en crisis. Panorama Acuicola. 5(3): 16-18.
- Arellano Moncayo, E. 1990. Guías técnicas en el cultivo de larvas de camarones. ESPOL, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. Guayaquil, Ecuador. 41 pp.
- Beiras, R., Pérez Camacho, A. y Albentosa, M. 1994. Comparison of the scope for growth with the growth performance of *Ostrea edulis* seed reared at different food concentrations in an open-flow system. Marine Biology. 119: 227-233.

- Bligh, E.G. y Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37: 911-917.
- Boeing, P. 2004. Larval feed alternatives. Marine Aquafauna Inc. Obtenido de la red mundial: www.aquafauna.com/TP-Larval%20Feed%20Alternatives.htm. Febrero 2004.
- Boyd, C.E. y Teichert Coddington, D. 1995. Dry matter, ash, and elemental composition of pond cultured *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 26: 88-92.
- Brito, R., Rosas, C., Chimal, M.E. y Gaxiola, G. 2001. Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early postlarvae. *Aquaculture Research*. 32: 257-266.
- Brody, S. 1945. Bioenergetics and growth. Reinhold Publishing, New York. 1023 pp.
- Campabadal, C. y Celis, A. 1999. Factores que afectan la calidad de los alimentos acuícolas. 523-540. En: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D. y Mendoza, R. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola III*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León.
- Campos Rojas, S.E. 1999. Efecto de tres productos de naturaleza zeolítica en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* Muller. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 33 pp.
- Caric, M., Sanko-Njire, J. y Skaramuca, B. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). *Aquaculture*. 110: 141-150.
- Chamberlain, G.W., Hutchins, D.L. y Lawrence, A.L. 1981. Mono and polyculture of *Penaeus vannamei* and *P. stylirostris* in ponds. *Journal of the World Mariculture Society*. 12: 251-270.
- Chervin, M.B. 1978. Assimilation of particulate organic carbon by estuarine and coastal copepods. *Marine Biology*. 49: 265-275.

- Cho, C.Y. y Bureau, D.P. 1999. Bioenergética en la formulación de dietas y estándares de alimentación para la acuicultura del salmón: principios, métodos y aplicaciones. 33-64. En: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D. y Mendoza Alfaro, R. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola III. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México.
- Chu, K.H. 1989. *Chaetoceros gracilis* as the exclusive feed for the larvae and postlarvae of the shrimp *Metapenaeus ensis*. Aquaculture. 83: 281-287.
- Conover, R.J. 1966 a. Assimilation of organic matter by zooplankton. Limnology and Oceanography. 11: 338-345.
- Conover, R.J. 1966 b. Factors affecting the assimilation of organic matter in zooplankton and the question of superfluous feeding. Limnology and Oceanography. 11: 346-354.
- Conover, R.J. 1968. Zooplankton-life in a nutritionally dilute environment. American Zoologist. 8: 107-118.
- Conover, R.J. y Corner, E.D.S. 1968. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycle. Journal of the Marine Biological Association of U.K. 48: 49-75.
- Cook, H.L. y Murphy, M.A. 1969. The culture of larval penaeid shrimp. Transactions of the American Fishery Society. 4: 751-754.
- Cordero Esquivel, B. 1994. Evaluación de diferentes métodos de preservación de dietas de microalgas y su efecto sobre el crecimiento de *Mytilus galloprovincialis* Lamarck. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California, México. 104 pp.
- Cordero Esquivel, B. 1999. Evaluación de la calidad de la biomasa producida. Notas del curso: Principios sobre el cultivo de microalgas. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C., México. 11 pp.

- Correa Sandoval, F. y Bückle Ramirez, L.F. 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista de Biología Tropical*. 41(1): 103-110.
- Corner, E.D.S. 1961. On the nutrition and metabolism of zooplankton. I. Preliminary observations on the feeding of the marine copepod, *Calanus helgolandicus* (Claus). *Journal of the Marine Biological Association of U.K.* 41: 5-16.
- Coutteau, P. y Sorgeloos, P. 1992. The use of algal substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: an international survey. *Journal of Shellfish Research*. 11: 467-476.
- Crisp, D.J. 1984. Energy flow measurements. 284-365. En: Holme, N.A. y McIntyre, A.D. (Eds.). *Methods for the study of marine benthos*. Blackwell, Oxford.
- Currie, D.J. 2000. Aquaculture: an opportunity to benefit mankind. *World Aquaculture*. 31(1): 44-49.
- Dawirs, R.R. 1983. Respiration, energy balance and developmental patterns in growing and starving larvae of *Carcinus maenas* L. (Decapoda, Portunidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 69: 105-128.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. 49-78. En: Lavens, P. y Sorgeloos, P. (Eds.). *Manual of production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper. 361. FAO, Rome, Italy.
- Díaz Iglesia, E. 1988. Aspectos de la fisiología de animales acuáticos. Editorial Pueblo y Educación. La Habana, Cuba. 119 pp.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. y Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350-356.
- Duerr, E.O., Molnar, A. y Sato, V. 1998. Cultured microalgae as aquaculture feeds. *Journal of Marine Biotechnology*. 7: 65-70.

- Duncan, A. y Klekowski, R.Z. 1975. Parameters of an energy budget. 97-147. En: Grodzinski, W., Klekowski, R.Z. y Duncan, A. (Eds.). Methods for ecological bioenergetics. International Biological Programme. Blackwell Scientific Publications. London.
- Elliot, J.M. y Davison, W. 1975. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetics. *Oecologia* (Berl.). 19: 195-201.
- Emmerson, W.D. 1980. Ingestion, growth and development of *Penaeus indicus* larvae as a function of *Thalassiosira weissflogii* cell concentrations. *Marine Biology*. 58: 65-73.
- Emmerson, W.D. 1984. Predation and energetics of *Penaeus indicus* (Decapoda: Penaeidae) larvae feeding on *Brachionus plicatilis* and *Artemia* nauplii. *Aquaculture*. 38: 201-209.
- Enriquez Álvarez, J.C. 2001. Alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis* con la microalga *Isochrysis* sp. cultivada en presencia de tres productos zeolíticos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 32 pp.
- Evjemo, J.O. Vadstein, O. y Olsen, Y. 2000. Feeding and assimilation kinetics of *Artemia franciscana* fed *Isochrysis* sp. (clone T. Iso). *Marine Biology*. 136: 1099-1109.
- FAO. 1999. Aquaculture production statistics 1988-1997. FAO Fisheries Circular no. 815 (Rev. 1). 216 pp.
- FAO. 2000. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. 160 pp.
- FAO. 2002. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy. 150 pp.
- FAO. 2003. Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular no. 886 (FIRI/C886.Rev2). 95 pp.
- Ferlin, P. y La Croix, D. 2000. Current state and future development of aquaculture in the mediterranean region. *World Aquaculture*, 31(1): 20-23, 55-58.

- Fulks, W. y Main, K. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. Argent Press, Redmond, WA. 364 pp.
- Gleason, D.F. y Zimmerman, R.J. 1984. Herbivory potential of postlarval brown shrimp associated with salt marshes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 84: 235-246.
- Gnaiger, E. 1983. Calculation on energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. 337-345. En: Gnaiger, E. y Forstner, H. (Eds.). *Polarographic oxygen sensors*. Springer, Berlin.
- González González, A. 2002. Cultivo de la microalga *Tetraselmis suecica* para la alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 34 pp.
- Gopalakrishnan, K. 1976. Larval rearing of red shrimp, *Penaeus marginatus* (Crustacea). *Aquaculture*. 9: 145:154.
- Guillard, R.R.L. y Ryther, R.J. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* (Hustedt) and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*. 8: 229-239.
- Hagiwara, A., Gallardo, W.G., Assavaaree, M., Kotani, T. y De Araujo, A.B. 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture*. 200: 111-127.
- Halwart, M., Funge-Smith, S. y Moehl, J. 2003. The role of aquaculture in rural development. *FAO Fisheries Circular no. 886 (Rev. 2)*: 47-58
- Hemerick, G. 1973. Mass culture. 255-273. En: Stein, J.R. (Ed.). *Handbook of phycolgical methods*. Cambridge University Press, London.
- Hernández González, C. 1997. Determinación de la calidad de las postlarvas de *Penaeus vannamei* de diferente edad producidas en un laboratorio comercial. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 62 pp.
- Hirata, H. 1979. Rotifer culture in Japan. *Special Publication of the European Mariculture Society*. 4: 361-375.

- Hoff, F.H. y Snell, T.W. 1999. Plankton culture manual. 5ª Ed. Florida Aqua Farms, Inc. 33418 Old Saint Joe Rd., Dade City. Florida. 160 pp.
- Ito, T. 1955. Studies on the "mizukawari" in eel-culture ponds. I. The feeding activity of *Brachionus plicatilis* on phytoplankton (as a cause of "mizukawari"). Report of the Faculty of Fisheries, University of Mie. 2: 162-167.
- Ito, T. 1960. On the culture of mixohaline rotifer *Brachionus plicatilis* Müller in the seawater. Report of the Faculty of Fisheries, University of Mie. 3: 708-739.
- Ivlev, V.S. 1939. Transformation of energy by aquatic animals. Coefficient of energy consumption by *Tubifex tubifex* (Oligochaeta). Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie. 38: 449-458.
- Jobling, M. 1995. Fish bioenergetics. 2ª Ed. Chapman & Hall. London, U.K. 309 pp.
- Johns, D.M. 1982. Physiological studies on *Cancer irroratus* larvae. III. Effects of temperature and salinity on the partitioning of energy resources during development. Marine Ecology Progress Series. 8: 75-85.
- Jones, D.A., Kanazawa, A. y Rahman, S.A. 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. Aquaculture. 17: 33-43.
- Jones, D.A., Yule, A.B. y Holland, D.L. 1997. Larval nutrition. Advances in World Aquaculture. 6: 353-389.
- Jones, D.A. y Kurmaly, K. 1987. Feeding and assimilation of artificial feeds by crustacean larvae. Journal of the World Aquaculture Society. 18: 56-57.
- Jones, P.D. y Momot, W.T. 1983. The bioenergetics of *Orconectes virilis* in two pothole lakes. Freshwater Crayfish. 5: 192-209.
- Kanazawa, A. 1985. Nutrition of penaeid prawns and shrimps. 123-130. En: Taki, Y., Primavera, J.H. y Llobrera, J.A. (Eds.). Proceedings of the first international conference of the culture of penaeid prawns/shrimps. SEAFDEC. Iloilo City, Philippines.

- Kaushik, S.J. y Gomes, E.F. 1988. Effect of frequency of feeding on nitrogen and energy balance in rainbow trout under maintenance conditions. *Aquaculture*. 73: 207-216.
- Klekowski, R.Z. 1970. Bioenergetic budgets and their application for estimation of production efficiency. *Polish Archives of Hydrobiology*. 17: 55-80.
- Klekowski, R.Z. y Duncan, A. 1975. Physiological approach to ecological energetics. 15-64. En: Grodzinski, W., Klekowski, R.Z. y Duncan, A. (Eds.). *Methods for ecological bioenergetics*. International Biological Programme. Blackwell Scientific Publications. London.
- Kuban, F.D., Lawrence, A.L. y Wilkenfeld, J.S. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture*. 47: 151-162.
- Kurmaly, K., Yule, A.B. y Jones, D.A. 1989 a. An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture*. 81: 13-25.
- Kurmaly, K., Yule, A.B. y Jones, D.A. 1989 b. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa 1 to postlarva 1, on live feeds, artificial diets and on combinations of both. *Aquaculture*. 81: 27-45.
- Lango Alemán, J. 1999. Análisis de costos para la producción masiva de microalgas en un laboratorio comercial de poslarvas de camarón del sur de Sonora, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Sonora. Hermosillo, Son. 72 pp.
- Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper*. 361. 265 pp.
- Lavens, P. y Sorgeloos, P. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. *Aquaculture*. 181: 397-403.
- Léger, P., Bengston, D.A., Simpson, K.L. y Sorgeloos, P. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*. 24: 521-623.

- Léger, P. y Sorgeloos, P. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. 225- 243. En: Fast, A.E. y Lester, L.J. (Eds.). Marine shrimp culture. Principles and practices. Elsevier Science Publ. Amsterdam y New York.
- Lem, A. y Shehadeh, Z.H. 1997. International trade in aquaculture products. FAO Aquaculture Newsletter. 17: 3-7.
- Lemos, D. y Phan, V.N. 2001 a. Energy partitioning into growth, respiration, excretion and exuvia during larval development of the shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. Aquaculture. 199: 131-143.
- Lemos, D. y Phan, V.N. 2001 b. Ontogenetic variation in metabolism, biochemical composition and energy content during the early life stages of *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). Marine Biology. 138: 985-997.
- Li, Y., Jin, S. y Qin, J. 1996. Strategies for development of rotifer as larval fish food in ponds. Journal of the World Aquaculture Society. 27: 178-186.
- Liao, I.C., Su, H.M. y Liu, J.H. 1983. Larval foods for penaeid prawns. 43-70. En: McVey, J.P. (Ed.). CRC handbook of mariculture, Vol. 1. CRC Press, Boca Raton, FLA.
- Lie, O., Haaland, H., Hemre, G.I., Maage, A., Lied, E., Rosenlund, G., Sandnes, K. y Olsen, Y. 1997. Nutritional composition of rotifers following a change in diet from yeast and emulsified oil to microalgae. Aquaculture International. 5: 427-438.
- Logan, D.T. y Epifanio, C.E. 1978. A laboratory energy balance for the larvae and juveniles of the american lobster *Homarus americanus*. Marine Biology. 47: 381-389.
- López Elías, J.A. 1990. Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con medios simplificados. Evaluación de técnicas analíticas y de producción. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California, México. 105 pp.

- López Elías, J.A. 2002. Evaluación cuantitativa y cualitativa de los sistemas de producción de microalgas de seis laboratorios comerciales del Noroeste de México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Posgrado Interinstitucional de Ciencias Pecuarías. Universidad de Colima, Tecomán, México. 117 pp.
- López Elías, J.A., Báez Dueñas, M.C. y Huerta Aldaz, N. 1995. Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas. Universidad de Sonora, DICTUS. Publicaciones Académicas. Serie Ciencias Marinas. 5: 47 pp.
- López Elías, J.A., Voltolina, D., Chavira Ortega, C.O., Rodríguez Rodríguez, B.B., Sáenz Gaxiola, L.M., Cordero Esquivel, B. y Nieves, M. 2003. Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. *Aquacultural Engineering*. 29:155-164.
- Lora Vilchis, M.C. 2004. Evaluación de la calidad dietética de microalgas mediante el estudio del balance energético de *Artemia franciscana*. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, Baja California Sur, México. 135 pp.
- Lora Vilchis, M.C., Robles Mungaray, M., Doktor, N. y Voltolina, D. 2004. Food value of four microalgae for juveniles of the lion's paw scallop *Lyropecten subnodosus* (Sowerby, 1833). *Journal of the World Aquaculture Society*. 35(2): 297-303.
- Lovett, D.L. y Felder, D.L. 1990 a. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biological Bulletin*. 178: 144-159.
- Lovett, D.L. y Felder, D.L. 1990 b. Ontogenetic changes in enzyme and enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biological Bulletin*. 178: 160-174.
- Lovett, D.L. y Felder, D.L. 1990 c. Ontogeny of kinematics in the gut of white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *Journal of Crustacean Biology*. 10: 53-68.

- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193: 265-275.
- Loya Javellana, G.N. 1989. Ingestion saturation and growth responses of *Penaeus monodon* larvae to food density. *Aquaculture*. 81: 329-336.
- Lucas, A. 1996. Bioenergetics of aquatic animals. Taylor & Francis, London. 169 pp.
- Lucas, M.I. 1979. Studies on energy flow in a barnacle population. Tesis de Doctorado en Ciencias. University College of North Wales, Bangor, U.K. 257 pp.
- Lucien-Brun, H. 1997. Evolution of world shrimp production: fisheries and aquaculture. *World Aquaculture*. 28 (4): 21-33.
- Martínez Brown, J.M. 2001. Cultivo de *Nannochloropsis* sp. con tres productos de naturaleza zeolítica, para la alimentación del rotífero *Brachionus plicatilis* Müller. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 31 pp.
- Martínez Córdova, L.R. 1999. Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas. A.G.T. Editores, México, D.F. 283 pp.
- Mayzaud, P. y Conover, R.J. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology: Progress Series*. 45: 289-302.
- Méndez Payán, J.C. 1999. Efectos del producto de naturaleza zeolítica ZEBEN-56 sobre el crecimiento y desarrollo de las mysis de *Litopenaeus vannamei* (Boone). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 36 pp.
- Meragelman, E., Lubzens, E. y Minkoff, G. 1985. A modular system for small-scale mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Israel Journal of Zoology*. 33: 186-194.
- Mock, C.R., Revera, D.B. y Fontaine, C.T. 1980. The larval culture of *Penaeus stylirostris* using modifications of the Galveston laboratory technique. *Proceedings of the World Mariculture Society*. 11: 102-117.

- Mock, C.R. y Murphy, M.A. 1970. Techniques for raising penaeid shrimp from the egg to postlarvae. Proceedings of the World Mariculture Society. 1: 143-156.
- Mootz, C.A. y Epifanio, C.E. 1974. An energy budget for *Menippe mercenaria* larvae fed *Artemia* nauplii. Biological Bulletin. 146: 44-45.
- Mora, P. 1990. La optimización en el cultivo de las microalgas. Acuicultura Internacional. 1: 18-20.
- Navarro, J.M. y Thompson, R.J. 1994. Comparison and evaluation of different techniques for measuring absorption efficiency in suspension feeders. Limnology and Oceanography. 39: 159-164.
- Páez Osuna, F. 2001. The environmental impact of shrimp aquaculture: causes, effects, and mitigating alternatives. Environmental Management. 28: 131-140.
- Paffenhofer, G.A. 1971. Grazing and ingestion rates of nauplii, copepodits and adults of the marine planktonic copepod *Calanus helgolandicus*. Marine Biology. 11: 286-298.
- Pande, S.V., Khan, R.P. y Venkitasubramanian, T.A. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. Analytical Biochemistry. 6: 415-423.
- Parr Instrument Company, 1991. 1425 semimicrobomb calorimeter operating instruction manual No. 280MM.
- Parsons, J.R., Maita, Y. y Lalli, C.M. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford. 173 pp.
- Phillipson, J. 1975. Introduction to ecological energetics. 3-13. En: Grodzinski, W., Klekowski, R.Z. y Duncan, A. (Eds.). Methods for ecological bioenergetics. International Biological Programme. Blackwell Scientific Publications. London.
- Pillay, T.V.R. 1997. Acuicultura. Principios y prácticas. Grupo Noriega Editores, Editorial Limusa. México, D.F. 699 pp.
- Primavera, J.H. 1997. Socio-economic impacts of shrimp culture. Aquaculture Research. 28: 815-827.

- Puello Cruz, A.C. 1999. Requerimientos nutricionales de larvas de camarón. Seminario Internacional de Camarón. Asociación Internacional de Productores de Soya, CIAD, UANL Mazatlán, Sinaloa, México. 1-15.
- Ramos Brito, L. 2004. Conversión de alimento de larvas zoea de *Litopenaeus vannamei* cultivadas con diferentes raciones de *Chaetoceros* sp. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 36 pp.
- Riisgard, H.V. y Randlov, H. 1981. Energy budgets, growth and filtration rates in *Mytilus edulis* at different algal concentrations. *Marine Biology*. 61: 227-234.
- Rivas, M.A., Cejas, J.R. y Villamandos, J.E. 1990. Nota sobre la producción de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller en grandes volúmenes de cultivo. Informe Técnico del Instituto Español de Oceanografía. No. 82: 11 pp.
- Robles Barraza, M. 2003. Supervivencia, crecimiento y desarrollo de larvas zoea de *Litopenaeus vannamei* Boone alimentadas con dietas monoalgales y mixtas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 34 pp.
- Rodier, J. 1981. Análisis de las aguas: naturales, residuales y agua de mar. Editorial Omega, Barcelona, España. 140 pp.
- Rosas, C. 1999. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. 81-97. En: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D. y Mendoza, R. (Eds.). Avances en nutrición acuícola III. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México.
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L.A., Gaxiola, G. y Brito, R. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and post-prandial nitrogen excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae. *Journal of the World Aquaculture Society*. 27: 92-102.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gallardo, P.P., Gaxiola, G., Díaz, E. y Soto, L.A. 1995. Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. *Aquaculture Nutrition*. 1: 13-20.

- Roseberry, B. 1998. World shrimp farming. Shrimp News International, San Diego, California, 328 pp.
- Russel-Hunter, W.D. 1970. Aquatic productivity. MacMillan Publishing Co. Inc., New York. 177 pp.
- SAGARPA, 2004. Crustáceos acuáticos vivos, muertos, sus productos y subproductos en cualquier presentación y artemia (*Artemia* spp.). Norma oficial Mexicana NOM-EM-006-PESC-2004. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Pesca. 20/104. México, D.F.
- Salt Creek, Inc. 1999. Salt Creek select nitropak *Artemia* cysts. Obtenido de la red mundial. www.a-saltcrk.com. Marzo 2004.
- Samocha, T.M., Uziel, N. y Browdy, C.L. 1989. The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and rotifers, *Brachionus plicatilis* (Müller), upon survival and growth of larval marine shrimp, *Penaeus semisulcatus* (de Haan). *Aquaculture*. 77: 11-19.
- Sánchez, M.R. 1992. Efecto nutricional relativo de cuatro especies de algas como alimento de las larvas de *Penaeus vannamei*. 113-123. En: Larvicultura de camarones peneidos, Volumen I. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Sub programa II- Acuicultura.
- Sánchez Saavedra, M.P. 1994. Efecto de la luz sobre el crecimiento, la composición bioquímica y el valor alimenticio de *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae). Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, México. 90 pp.
- Sangha, R.S., Puello Cruz, A.C., Chavez Sanchez, M.C. y Jones, D.A. 2000. Survival and growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) larvae fed a single dose of live algae and artificial diets with supplements. *Aquaculture Research*. 11: 1-7.
- Schmidt-Nielsen, K. 1997. Animal physiology. Adaptation and environment. Cambridge University Press, Cambridge. 560 pp.

- Sick, L.V. 1976. Nutritional effect of five species of marine algae on the growth, development, and survival of the brine shrimp *Artemia salina*. *Marine Biology*. 35: 69-78.
- SISFFA. 1964 a. Cultivation of little food organisms in Yashima Station. I- Fertilizers for marine phytoplankton culture. *Saibai-gyogyo News*. 3,4: 1-8.
- SISFFA. 1964 b. Cultivation of little food organisms in Yashima Station. II- Collections of one-celled green alga and its culture. *Saibai-gyogyo News*. 3,4: 9-18.
- Smith, L.L., Biedenbach, J.M. y Lawrence, A.L. 1992. Penaeid larviculture: Galveston method. 171-191. En: Fast, A.E. y Lester, L.J. (Eds.). *Marine shrimp culture. Principles and practices*. Elsevier Science Publ. Amsterdam y New York.
- Smith, L.L., Lee, P.G., Lawrence, A.L. y Strawn, K. 1985. Growth and digestibility by three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source. *Aquaculture*. 46: 85-96.
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. 321-343. En: Stein, J. (Ed.). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University Press, Cambridge and New York.
- Sorokin, Y.I. 1981. Microheterotrophic organisms in marine ecosystems. 243-342. En: Longhurst, A.R. (Ed.). *Analysis of ecosystems*. Academic Press. New York, N.Y.
- South, G.R. y Whittick, A. 1987. *Introduction to phycology*. Blackwell Scientific. Oxford. 340 pp.
- Subasinghe, R.P. 2003. An outlook for aquaculture development: mayor issues, opportunities and challenges. *FAO Fisheries Circular no. 886 (Rev. 2)*: 31-45.
- Subasinghe, R.P., Curry, D., McGladdery, S.E. y Bartley, D. 2003. Recent technological innovations in aquaculture. *FAO Fisheries Circular no. 886 (Rev. 2)*: 59-74.

- Sushchenya, L.M. 1962. Quantitative data on the feeding and energy balance of *Artemia salina* (L.). Proceedings of the U.S.S.R. Academy of Sciences. 143: 329-330.
- Sushchenya, L.M. 1970. Food rations, metabolism and growth of crustaceans. 127-141. En: Steele, J.H. (Ed.). Marine food chains. Oliver & Boyd. Edimburgh.
- Tacon, A.G.J. 1990. Standard methods for the nutrition and feed of farmed fish and shrimp. Volume 2. Nutrient sources and composition. Argent Laboratories Press. Redmond, WA. 129 pp.
- Tacon, A.G.J. 2003. Aquaculture production trends analysis. FAO Fisheries Circular no. 886 (Rev. 2): 5-29.
- Tobias Quintillo, E. y Villegas, C.T. 1982. Growth, survival and macronutrient composition of *Penaeus monodon* larvae fed *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis chuii*. Aquaculture. 29: 253-260.
- Tovar Guillén, O. 2003. Crecimiento, sobrevivencia, desarrollo y tasa de ingestión de las larvas mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes raciones del rotífero *Brachionus plicatilis*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 36 pp.
- Trujillo Valle, M.L. 1993. La colección de microalgas del CICESE. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C., México. Comunicaciones Académicas CTATC-9301. 103 pp.
- Ulloa Moreno, J.A. 2003. Alimentación del estadio mysis de *Litopenaeus vannamei* con diferentes raciones del nauplio de *Artemia*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 33 pp.
- Van Stappen, G. 1996. Biology and ecology of *Artemia*. 76-106. En: Lavens, P. y Sorgeloos, P. (Eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Papers. 361.

- Vernberg, F.J. 1983. Respiratory adaptations. 1-42. En: Vernberg, W.B. (Ed.). *Biology of crustacea*. Vol. 8. Academic Press, New York.
- Villarreal, H. 1989. Feeding, growth and energetics of the freshwater crayfish *Cherax tenuimanus* (Smith) with special emphasis on its potential for commercial culture. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Queensland. Australia. 239 pp.
- Villarreal, H. 1999. Evaluación del potencial de cultivo de la langosta australiana *Cherax tenuimanus* en función de su eficiencia bioenergética. 65-80. En: Cruz Suarez, L.E., Rique Marie, D. y Mendoza Alfaro, R. (Eds.). *Avances en nutrición acuícola III*: Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- Villegas, C.T. y Kanazawa, A. 1979. Relationship between diet composition and growth of zoeal and mysis stages of *Penaeus japonicus* (Bate). *Fisheries Research Journal of the Philippines*. 4 (2): 32-40.
- Voltoлина, D., Bückle Ramirez, L.F. y Morales Guerrero, E.R. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. (2ª Ed.). CICESE. Informe Especial OC-89-01, 67 pp.
- Walne, P.R. 1966. Experiments in the large-scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* L. *Fishery Investigations Ser. 2*, London. 25(4): 53 pp.
- Watanabe, K., Sezaki, K. y Hino, A. 1992. Nutritive fortification of the rotifer *Brachionus plicatilis* with eicosapentaenoic acid-producing bacteria. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58: 271-276.
- Wheaton, F.W. 1982. *Acuicultura. Diseño y construcción de sistemas*. A.G.T. Editores, México, D.F. 704 pp.
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture*. 60: 231-241.
- Whyte, J.N.C. y Nagata, W.D. 1990. Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast or phytoplankton. *Aquaculture*. 89: 263-272.

- Wilkenfeld, J.S., Lawrence, A.L. y Kuban, F.D. 1984. Survival, metamorphosis and growth of penaeid shrimp larvae reared on a variety of algal and animal foods. *Journal of the World Mariculture Society*. 15: 31-49.
- Yúfera, M., Rodríguez, A. y Lubián, L.M. 1984. Zooplankton ingestion and feeding behavior of *Penaeus kerathurus* larvae reared in the laboratory. *Aquaculture*. 42: 217-224.
- Yúfera, M. y Lubián, L.M. 1990. Effect of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. 209-227. En: Akatsuka, E. (Ed.). *Introduction to applied phycology*. SPB Academic Publishing bv. The Hague, the Netherlands.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. (3ª Ed.). Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J. 662 pp.
- Zenil Larrondo, B.G. 2001. Efecto de tres productos de naturaleza zeolítica sobre la calidad dietética de la microalga *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, utilizada en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* Müller. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Mazatlán, Sinaloa, México. 30 pp.
- Zúñiga Romero, O. 1983. Distribución de la energía en juveniles de *Penaeus brasiliensis* alimentados con dietas diferentes. *Ciencia y Tecnología del Mar. CONA*. 7: 27-45.

VIII. ANEXOS

Abreviaturas.

ma + nau: microalgas más nauplios de *Artemia*.

ma + rot: microalgas más rotíferos.

FV: Fuente de variación de la prueba de análisis de varianza.

GL: Grados de libertad.

SC: suma de cuadrados.

CM: Cuadrados medios.

F: Estadístico F calculado.

P: Probabilidad con que se acepta o se rechaza la hipótesis nula.

DM: Diferencia de medias.

p: Número total de medias involucradas en la prueba.

q: Estadístico calculado para la prueba de Tukey.

J: Joules.

h: Hora.

μg: Microgramo.

mJ: Milijoules.

KJ: Kilojoules.

lar: Larva.

ANEXO 1. PRUEBAS DE INGESTIÓN DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *Litopenaeus vannamei*.

A: Ingestión en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	7.661	0.472
Mysis I (ma + rot)	9.224	0.472
Mysis II (ma + nau)	9.265	0.385
Mysis II (ma + rot)	12.525	0.385
Mysis III (ma + nau)	14.789	0.472
Mysis III (ma + rot)	12.450	0.472

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	214.623	107.311	60.280	<0.001
Dieta	1	9.258	9.258	5.201	0.027
Interacción	2	76.102	38.051	21.374	<0.001
Residual	50	89.011	1.780		
Total	55	399.086	7.256		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	1.563	2	3.313	0.023	Yes

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	3.261	2	8.466	<0.001	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	2.339	2	4.959	0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	7.128	3	15.110	<0.001	Yes
Mysis III vs Mysis II	5.524	3	12.828	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	1.603	3	3.723	0.030	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis I	3.301	3	7.666	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.0757	3	0.176	0.992	No
Mysis III vs Mysis I	3.225	3	6.837	<0.001	Yes

B: Ingestión en J-larva⁻¹·h⁻¹.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.144	0.0101
Mysis I (ma + rot)	0.156	0.0101
Mysis II (ma + nau)	0.186	0.00822
Mysis II (ma + rot)	0.222	0.00822
Mysis III (ma + nau)	0.296	0.0101
Mysis III (ma + rot)	0.219	0.0101

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.0923	0.0462	56.994	<0.001
Dieta	1	0.00124	0.00124	1.535	0.221
Interacción	2	0.0323	0.0161	19.905	<0.001
Residual	50	0.0405	0.000810		
Total	55	0.165	0.00300		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0125	2	1.242	0.384	No

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0361	2	4.392	0.003	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.0774	2	7.689	<0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	0.152	3	15.142	<0.001	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.110	3	11.965	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.0425	3	4.622	0.006	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs. Mysis I	0.0660	3	7.189	<0.001	Yes
Mysis II vs. Mysis III	0.00354	3	0.386	0.960	No
Mysis III vs. Mysis I	0.0625	3	6.211	<0.001	Yes

C: Ingestión en $\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.159	0.00727
Mysis I (ma + rot)	0.191	0.00727
Mysis II (ma + nau)	0.150	0.00593
Mysis II (ma + rot)	0.202	0.00593
Mysis III (ma + nau)	0.176	0.00727
Mysis III (ma + rot)	0.148	0.00727

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.00218	0.00109	2.574	0.086
Dieta	1	0.00490	0.00490	11.600	0.001
Interacción	2	0.0160	0.00802	18.972	<0.001
Residual	50	0.0211	0.000423		
Total	55	0.0473	0.000860		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0325	2	4.472	0.003	Yes

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0527	2	8.875	<0.001	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.0280	2	3.852	0.009	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis II	0.0262	3	3.950	0.020	Yes
Mysis III vs Mysis I	0.0170	3	2.339	0.233	No
Mysis I vs Mysis II	0.00921	3	1.388	0.592	No

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis III	0.0545	3	8.208	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.0110	3	1.652	0.478	No
Mysis I vs Mysis III	0.0435	3	5.985	<0.001	Yes

D: Ingestión en $J \cdot \mu g^{-1} \cdot h^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	2.976	0.153
Mysis I (ma + rot)	3.237	0.153
Mysis II (ma + nau)	3.006	0.125
Mysis II (ma + rot)	3.589	0.125
Mysis III (ma + nau)	3.519	0.153
Mysis III (ma + rot)	2.596	0.153

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.658	0.329	1.762	0.182
Dieta	1	0.00928	0.00928	0.0497	0.824
Interacción	2	5.664	2.832	15.166	<0.001
Residual	50	9.337	0.187		
Total	55	15.711	0.286		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.261	2	1.707	0.233	No

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.583	2	4.674	0.002	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.923	2	6.038	<0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	0.543	3	3.555	0.040	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.513	3	3.676	0.032	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.0305	3	0.218	0.987	No

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis III	0.993	3	7.119	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.353	3	2.530	0.184	No
Mysis I vs Mysis III	0.640	3	4.190	0.013	Yes

ANEXO 2. PRUEBAS DE ASIMILACIÓN DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *Litopenaeus vannamei*.

A: Asimilación en $\mu\text{g-larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	5.850	0.360
Mysis I (ma + rot)	7.043	0.360
Mysis II (ma + nau)	7.074	0.294
Mysis II (ma + rot)	9.564	0.294
Mysis III (ma + nau)	11.292	0.360
Mysis III (ma + rot)	9.506	0.360

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	125.130	62.565	60.273	<0.001
Dieta	1	5.398	5.398	5.200	0.027
Interacción	2	44.381	22.190	21.378	<0.001
Residual	50	51.901	1.038		
Total	55	232.694	4.231		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	1.194	2	3.314	0.023	Yes

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	2.490	2	8.466	<0.001	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	1.787	2	4.960	0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	5.443	3	15.109	<0.001	Yes
Mysis III vs Mysis II	4.218	3	12.828	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	1.224	3	3.723	0.030	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis I	2.521	3	7.666	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.0582	3	0.177	0.992	No
Mysis III vs Mysis I	2.462	3	6.836	<0.001	Yes

B: Asimilación en J-larva⁻¹·h⁻¹.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.110	0.00766
Mysis I (ma + rot)	0.119	0.00766
Mysis II (ma + nau)	0.142	0.00626
Mysis II (ma + rot)	0.170	0.00626
Mysis III (ma + nau)	0.226	0.00766
Mysis III (ma + rot)	0.167	0.00766

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.0539	0.0269	57.325	<0.001
Dieta	1	0.000723	0.000723	1.539	0.221
Interacción	2	0.0189	0.00947	20.142	<0.001
Residual	50	0.0235	0.000470		
Total	55	0.0964	0.00175		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey**Comparación entre dietas para mysis I.**

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.00963	2	1.256	0.379	No

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0277	2	4.421	0.003	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.0592	2	7.731	<0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	0.116	3	15.200	<0.001	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.0840	3	12.012	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.0325	3	4.639	0.005	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis I	0.0505	3	7.218	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.00287	3	0.411	0.955	No
Mysis III vs Mysis I	0.0476	3	6.214	<0.001	Yes

C: Asimilación en $\mu\text{g}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.121	0.00556
Mysis I (ma + rot)	0.146	0.00556
Mysis II (ma + nau)	0.114	0.00454
Mysis II (ma + rot)	0.154	0.00454
Mysis III (ma + nau)	0.134	0.00556
Mysis III (ma + rot)	0.113	0.00556

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.00126	0.000632	2.557	0.088
Dieta	1	0.00287	0.00287	11.620	0.001
Interacción	2	0.00917	0.00458	18.556	<0.001
Residual	50	0.0124	0.000247		
Total	55	0.0274	0.000499		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey:

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0247	2	4.453	0.003	Yes

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0400	2	8.815	<0.001	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.0210	2	3.779	0.010	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis II	0.0197	3	3.893	0.022	Yes
Mysis III vs Mysis I	0.0127	3	2.294	0.246	No
Mysis I vs Mysis II	0.00700	3	1.380	0.596	No

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis III	0.0412	3	8.131	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.00825	3	1.626	0.488	No
Mysis I vs Mysis III	0.0330	3	5.938	<0.001	Yes

D: Asimilación en $\text{mJ}\cdot\mu\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	2.272	0.117
Mysis I (ma + rot)	2.471	0.117
Mysis II (ma + nau)	2.296	0.0952
Mysis II (ma + rot)	2.741	0.0952
Mysis III (ma + nau)	2.687	0.117
Mysis III (ma + rot)	1.983	0.117

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.384	0.192	1.762	0.182
Dieta	1	0.00544	0.00544	0.0500	0.824
Interacción	2	3.301	1.650	15.165	<0.001
Residual	50	5.442	0.109		
Total	55	9.156	0.166		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey:

Comparación entre dietas para mysis I.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.199	2	1.705	0.234	No

Comparación entre dietas para mysis II.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.445	2	4.674	0.002	Yes

Comparación entre dietas para mysis III.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
(ma + nau) vs (ma + rot)	0.704	2	6.038	<0.001	Yes

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + nau.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis III vs Mysis I	0.414	3	3.553	0.040	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.391	3	3.675	0.032	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.0231	3	0.217	0.987	No

Comparaciones entre subestadios de mysis alimentadas con ma + rot.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.05
Mysis II vs Mysis III	0.758	3	7.120	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis I	0.269	3	2.530	0.184	No
Mysis I vs Mysis III	0.489	3	4.190	0.013	Yes

ANEXO 3. PRUEBAS DE CONSUMO DE OXÍGENO DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *L. vannamei*.

A: Consumo de oxígeno en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	1.988	0.0864
Mysis I (ma + rot)	2.280	0.0944
Mysis II (ma + nau)	2.386	0.103
Mysis II (ma + rot)	2.409	0.0851
Mysis III (ma + nau)	2.475	0.0982
Mysis III (ma + rot)	2.401	0.110

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	2.847	1.423	6.144	0.003
Dieta	1	0.241	0.241	1.040	0.310
Interacción	2	0.925	0.462	1.996	0.140
Residual	148	34.287	0.232		
Total	153	38.783	0.253		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis III vs Mysis I	0.304	3	4.400	0.005	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.0409	3	0.581	0.911	No
Mysis II vs Mysis I	0.263	3	4.030	0.012	Yes

B: Consumo de oxígeno en mJ-larva⁻¹·h⁻¹.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	27.945	1.215
Mysis I (ma + rot)	32.061	1.327
Mysis II (ma + nau)	33.546	1.443
Mysis II (ma + rot)	33.864	1.196
Mysis III (ma + nau)	34.800	1.381
Mysis III (ma + rot)	33.760	1.552

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	562.831	281.416	6.146	0.003
Dieta	1	47.656	47.656	1.041	0.309
Interacción	2	182.665	91.333	1.995	0.140
Residual	148	6777.115	45.791		
Total	153	7665.885	50.104		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis III vs Mysis I	4.277	3	4.401	0.005	Yes
Mysis III vs Mysis II	0.574	3	0.581	0.911	No
Mysis II vs Mysis I	3.703	3	4.031	0.012	Yes

C: Consumo de oxígeno en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	41.208	1.473
Mysis I (ma + rot)	47.277	1.609
Mysis II (ma + nau)	38.528	1.749
Mysis II (ma + rot)	38.893	1.450
Mysis III (ma + nau)	29.404	1.674
Mysis III (ma + rot)	28.526	1.882

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	5692.830	2846.415	42.308	<0.001
Dieta	1	127.706	127.706	1.898	0.170
Interacción	2	356.065	178.033	2.646	0.074
Residual	148	9957.167	67.278		
Total	153	16024.131	104.733		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis I vs Mysis III	15.278	3	12.969	<0.001	Yes
Mysis I vs Mysis II	5.532	3	4.969	0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	9.745	3	8.126	<0.001	Yes

D: Consumo de oxígeno en $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.579	0.0207
Mysis I (ma + rot)	0.665	0.0226
Mysis II (ma + nau)	0.542	0.0246
Mysis II (ma + rot)	0.547	0.0204
Mysis III (ma + nau)	0.413	0.0235
Mysis III (ma + rot)	0.401	0.0265

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	1.127	0.563	42.344	<0.001
Dieta	1	0.0253	0.0253	1.903	0.170
Interacción	2	0.0703	0.0352	2.643	0.074
Residual	148	1.969	0.0133		
Total	153	3.170	0.0207		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis I vs Mysis III	0.215	3	12.974	<0.001	Yes
Mysis I vs Mysis II	0.0779	3	4.972	0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.137	3	8.129	<0.001	Yes

ANEXO 4. PRUEBAS DE EXCRECIÓN DE AMONIO DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *L. vannamei*.

A: Excreción de amonio en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.101	0.00254
Mysis I (ma + rot)	0.108	0.00262
Mysis II (ma + nau)	0.102	0.00281
Mysis II (ma + rot)	0.108	0.00383
Mysis III (ma + nau)	0.0984	0.00299
Mysis III (ma + rot)	0.101	0.00383

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.000699	0.000349	1.697	0.187
Dieta	1	0.000799	0.000799	3.883	0.051
Interacción	2	0.000105	0.0000524	0.255	0.776
Residual	133	0.0274	0.000206		
Total	138	0.0291	0.000211		

B: Excreción de amonio en $\text{mJ}\cdot\text{larva}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	2.510	0.0631
Mysis I (ma + rot)	2.680	0.0651
Mysis II (ma + nau)	2.542	0.0700
Mysis II (ma + rot)	2.694	0.0953
Mysis III (ma + nau)	2.445	0.0744
Mysis III (ma + rot)	2.509	0.0953

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	0.425	0.212	1.668	0.193
Dieta	1	0.514	0.514	4.042	0.046
Interacción	2	0.0660	0.0330	0.259	0.772
Residual	133	16.926	0.127		
Total	138	18.040	0.131		

C: Excreción de amonio en $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	0.729	0.0247
Mysis I (ma + rot)	0.796	0.0255
Mysis II (ma + nau)	0.491	0.0274
Mysis II (ma + rot)	0.551	0.0373
Mysis III (ma + nau)	0.146	0.0291
Mysis III (ma + rot)	0.175	0.0373

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	8.104	4.052	208.202	<0.001
Dieta	1	0.0849	0.0849	4.361	0.039
Interacción	2	0.00824	0.00412	0.212	0.809
Residual	133	2.588	0.0195		
Total	138	11.192	0.0811		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis I vs Mysis III	0.602	3	28.829	<0.001	Yes
Mysis I vs Mysis II	0.242	3	11.743	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.360	3	15.414	<0.001	Yes

Comparaciones entre dietas de mysis

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0522	2	2.953	0.037	Yes

D: Excreción de amonio en $\text{KJ}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

Grupo	Media	Error estándar
Mysis I (ma + nau)	-2.965	0.0247
Mysis I (ma + rot)	-2.899	0.0255
Mysis II (ma + nau)	-3.204	0.0274
Mysis II (ma + rot)	-3.144	0.0373
Mysis III (ma + nau)	-3.549	0.0291
Mysis III (ma + rot)	-3.519	0.0373

FV	GL	SC	CM	F	P
Estadio	2	8.099	4.050	207.728	<0.001
Dieta	1	0.0848	0.0848	4.351	0.039
Interacción	2	0.00812	0.00406	0.208	0.812
Residual	133	2.593	0.0195		
Total	138	11.193	0.0811		

Pruebas de comparaciones múltiples de Tukey.

Comparaciones entre subestadios de mysis.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
Mysis I vs Mysis III	0.602	3	28.796	<0.001	Yes
Mysis I vs Mysis II	0.242	3	11.732	<0.001	Yes
Mysis II vs Mysis III	0.360	3	15.395	<0.001	Yes

Comparaciones entre dietas de mysis.

Comparación	DM	p	q	P	P<0.050
(ma + rot) vs (ma + nau)	0.0522	2	2.950	0.037	Yes

ANEXO 5. BALANCE ENERGÉTICO DE LOS SUBESTADIOS ZOEI DE *L. vannamei*, en mJ-larva⁻¹·h⁻¹ (A) y en KJ·g⁻¹·h⁻¹ (B). Energía ingerida (I), Energía contenida en heces (H), energía asimilada (A), energía consumida por respiración (R), energía contenida en la excreción amoniacal (U), energía de la exuvia (E_x) y energía dirigida a crecimiento (G).

		ZOEI I	ZOEI II	ZOEI III
A				
I	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	82.41	92.43	139.90
H	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	37.58	48.50	73.42
A	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	44.84	43.92	66.49
R	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	20.60	26.80	30.20
U	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	1.43	1.58	1.53
E _x	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	0.91	0.62	1.39
G	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	21.89	14.93	33.37
B				
I	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	7.29	5.55	4.83
H	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	3.32	2.91	2.54
A	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	3.96	2.64	2.30
R	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	1.82	1.61	1.04
U	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.13	0.09	0.05
E _x	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.08	0.04	0.05
G	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	1.94	0.90	1.15

ANEXO 6. BALANCE ENERGÉTICO DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *L. vannamei*, en mJ-larva⁻¹·h⁻¹ (A) y en KJ·g⁻¹·h⁻¹ (B). Energía ingerida (I), Energía contenida en heces (H), energía asimilada (A), energía consumida por respiración (R), energía contenida en la excreción amoniacal (U), energía de la exuvia (E_x) y energía dirigida a crecimiento (G).

		MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
		ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
A							
I	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	143.53	156.10	186.18	222.29	296.18	218.55
H	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	33.94	36.91	44.02	52.56	70.03	51.67
A	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	109.60	119.19	142.16	169.73	226.15	166.68
R	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	27.94	32.06	33.55	33.86	34.80	33.76
U	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	2.51	2.68	2.54	2.69	2.45	2.51
E _x	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	3.17	3.38	4.24	5.33	7.56	5.22
G	mJ-larva ⁻¹ ·h ⁻¹	75.98	81.07	101.83	127.85	181.35	125.38
B							
I	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	2.98	3.24	3.01	3.59	3.52	2.60
H	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.70	0.77	0.71	0.85	0.83	0.61
A	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	2.27	2.47	2.30	2.74	2.69	1.98
R	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.58	0.66	0.54	0.55	0.41	0.40
U	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.05	0.06	0.04	0.04	0.03	0.03
E _x	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	0.07	0.07	0.07	0.09	0.09	0.06
G	KJ·g ⁻¹ ·h ⁻¹	1.58	1.68	1.64	2.06	2.15	1.49

ANEXO 7. BALANCE ENERGÉTICO DE LOS SUBESTADIOS ZOEAL DE *L. vannamei*: Ingestión (I), alimento asimilado (A), campo de crecimiento (G), energía de la exuvia (E_x), gasto energético por respiración y metabolismo de proteínas (U+R), en $J \cdot larva^{-1}$, y eficiencia de asimilación (EA).

	ZOEAL I	ZOEAL II	ZOEAL III
I	1.101	1.783	1.534
A	0.599	0.847	0.729
G	0.116	0.106	0.262
E_x	0.005	0.004	0.011
U+R	0.478	0.737	0.456
I	1.101	1.783	1.534
U+R	0.793	1.362	0.952
G	0.116	0.106	0.262
E_x	0.005	0.004	0.011
A	0.914	1.472	1.225
EA	0.830	0.826	0.799

ANEXO 8. BALANCE ENERGÉTICO DE LOS SUBESTADIOS MYSIS DE *L. vannamei*: Ingestión (I), alimento asimilado (A), campo de crecimiento (G), energía de la exuvia (E_x), gasto energético por respiración y metabolismo de proteínas (U+R), en $J \cdot \text{larva}^{-1}$, y eficiencia de asimilación (EA) para las fases de mysis alimentadas con nauplio de *Artemia* (ma+nau) y con rotífero *Brachionus plicatilis* (ma+rot).

	MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III	
	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot
I	2.410	2.048	3.070	2.579	3.572	2.853
A	1.849	1.571	2.355	1.978	2.740	2.188
G	0.443	0.429	0.255	0.275	0.582	0.610
E_x	0.018	0.018	0.011	0.011	0.024	0.025
U+R	1.388	1.124	2.089	1.692	2.134	1.533
I	2.410	2.048	3.070	2.579	3.572	2.853
U+R	0.914	1.042	1.083	1.097	1.117	1.088
G	0.443	0.429	0.255	0.275	0.582	0.610
E_x	0.018	0.018	0.011	0.011	0.024	0.025
A	1.375	1.489	1.349	1.383	1.723	1.723
EA	0.571	0.727	0.439	0.536	0.482	0.604