



# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

AREA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
AGROPECUARIAS Y PESQUERAS



**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS AGROPECUARIAS**

**EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO, ACTIVIDAD  
ENZIMÁTICA Y CONTENIDO DE PROTEÍNA EN  
LARVAS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus*  
*vannamei* ALIMENTADAS CON DIFERENTES DIETAS**

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS PESQUERAS

**PRESENTA:**

**ELIFONSO ISIORDIA PÉREZ**

**Director:**

MC. ANA CARMELA PUELLO CRUZ  
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC.  
Mazatlán, Sinaloa.

**ASESORES**

MC. EMILIO PEÑA MESINA  
MC. HUMBERTO GONZALEZ VEGA  
MC JAVIER MARCIAL DE JESUS RUIZ VELASCO ARCE

Tepic, Nayarit, Junio 2006

Tepic, Nayarit., 6 de Marzo de 2006

DR. C. ARTURO AGUIRRE HERNANDEZ  
COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO  
AGROPECUARIAS (CBAP), UAN.  
P R E S E N T E

Los suscritos C. MC. Ana C. Puello Cruz, MC Humberto González Vega, MC Javier Marcial de Jesús Ruiz Velasco Arce, integrantes de consejo tutelar para revisar, ordenar y asesorar la tesis de Maestría en Ciencias del posgrado en Ciencias Biológico-Agropecuarias, Titulada: "Evaluación del crecimiento, actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* empleando diferentes dietas".

Que presenta ante el honorable jurado calificador C. I. P.

ELIFONSO ISIRDIA PEREZ

Comparecemos para manifestar que después de revisar su presentación y contenido, no existe inconveniente para continuar con los trámites legales de este proceso de obtención de Maestría en el área de Ciencias Pesqueras, por estar de acuerdo en los aspectos de forma y contenido.

A T E N T A M E N T E  
CONSEJO TUTELAR

  
\_\_\_\_\_  
MC ANA CARMELA PUELLO CRUZ

  
\_\_\_\_\_  
MC HUMERTO GONZALEZ VEGA

  
\_\_\_\_\_  
MC JAVIER M. DE JESUS RUIZ VELASCO ARCE

C.c.p.- Interesado

## INDICE

---

<b>I.- INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	8
1.3 HIPÓTESIS.....	9
<b>1.4 OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
1.4.1 Objetivo General.....	10
1.4.1 Objetivos específicos.....	10
<b>II.- MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
<b>III.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
31.Sistema experimental.....	17
3.2 Suministro de larvas.....	18
3.3 Aclimatación y siembra.....	18

3.4 Alimentación.....	17
3.5 Conteo de microalgas.....	18
3.6 Cultivo de <i>Artemia</i> .....	19
3.7 Conteo de copépodos.....	20
3.8 Preparación de la dieta comercial.....	20
3.9 Análisis de parámetros.....	21
3.9.1 Supervivencia y desarrollo morfológico.....	21
3.9.2 Peso seco.....	22
3.9.3 Longitud total.....	23
3.9.4 Análisis de Proteína.....	23
3.9.5 Análisis de Tripsina.....	23
3.10 Análisis estadístico.....	24
<b>IV RESULTADOS .....</b>	<b>25</b>
4.1 Supervivencia.....	25
4.2 Desarrollo morfológico.....	26
4.3 Peso seco.....	27
4.4 Longitud.....	28
4.5 Tripsina.....	29
4.6 Proteína.....	30

<b>V RESULTADOS (PARTE II)</b> .....	<b>31</b>
5.1 Sobrevivencia.....	31
5.2 Desarrollo morfológico.....	32
5.3 Peso seco.....	33
5.4 Longitud.....	34
5.5 Tripsina.....	35
5.6 Proteína.....	36
<b>VI DISCUSIÓN (1<sup>er</sup> experimento)</b> .....	<b>37</b>
6.1 Sobrevivencia.....	37
6.2 Desarrollo morfológico.....	38
6.3 Peso seco.....	39
6.4 Longitud.....	40
6.5 Tripsina.....	40
6.6 Proteína.....	41
<b>VII DISCUSIÓN (2<sup>o</sup> experimento)</b> .....	<b>43</b>
7.1 Sobrevivencia.....	43
7.2 Desarrollo morfológico.....	43
7.3 Peso seco.....	45

7.4 Longitud	45
7.5 Tripsina.....	47
7.6 Proteína.....	47
<b>VIII CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>IX BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>50</b>

## **X ANEXO**

## DEDICATORIAS

Dedicatoria especial a la mujer que amo, a ti Nitzia, gracias porque has sido parte importante en la realización de este trabajo, por tu compañía, tu comprensión, por ese amor que cada día se torna mas sólido, por estar ahí siempre en las buenas y en las malas, gracias.

A mi hija María Fernanda angelito que dios me envió, a ti que desde que llegaste a mi vida iluminaste mi camino, que dios te bendiga siempre.

A mis padres Modesto y Josefina a ustedes les debo este logro ya que me han formado con rectitud y responsabilidad, Gracias.

A mis hermanos Armida, Arcelia, Eneida, Guadalupe, Evangelina y Oswaldo, que directa e indirectamente me han apoyado y que han estado atentos en mi preparación profesional.

A ti Ana C. Puello Cruz, quien en los últimos 7 años has estado apoyándome en mi formación profesional, gracias por ser como eres, una gran persona y una gran amiga.

## AGRADECIMIENTOS

Primero agradecer a la Universidad Autónoma de Nayarit, al Patronato de la misma por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios.

Al Dr. Clemente Lemus Flores Secretario de Investigación y Posgrado de la Universidad Autónoma de Nayarit por el apoyo económico para la impresión de este trabajo.

Al Lic. Raúl Pérez González que a través del Centro Universitario de Vinculación Empresarial y Desarrollo Sustentable (CUVEDES-UAN) me apoyó en la realización de mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología del estado de Nayarit (COCYTEN) por la beca otorgada para la terminación de este trabajo.

Agradezco con cariño y respeto a la MC. Ana C. Puello Cruz por su apoyo, su paciencia y disponibilidad para realizar este trabajo de investigación.

Al MC Humberto González Vega por la revisión de este trabajo.

A la MC. Gabriela Velasco por la disponibilidad en el suministro de microalgas.

A mis compañeros de maestría Silvia, Manuel, Raúl y Lupita por haber estado siempre atentos en el desarrollo de este trabajo.

## I.- INTRODUCCIÓN

---

El alimento vivo para la larvicultura de camarón requiere especial atención. Los alimentos comúnmente empleados en esta industria, se han seleccionado principalmente por la facilidad de su cultivo más que por sus propiedades nutricionales.

El éxito de un cultivo de las diferentes especies de camarón depende en la mayoría de una adecuada nutrición y un buen manejo del alimento. En la actualidad la investigación orientada hacia los microorganismos como fuente de alimentación está en pleno desarrollo. En países como Japón, donde se practica con éxito la camaronicultura, los cultivos masivos de microalgas, rotíferos, copépodos y cladóceros son la base de la producción comercial de esta industria (Torretera y Tacon 1989).

Los cultivos de las diferentes especies vegetal y animal, presentan variaciones constantes en sus contenidos nutricionales, las microalgas se considera que generan el 12% de los costos de la producción total (Wilkenfeld 1992). La mayor parte de los laboratorios de producción de postlarvas utiliza la mezcla de alimento vivo en combinación con tratamientos inertes. Los principales géneros de microalgas empleadas para peneidos son *Skeletonema*, *Chaetoceros* sp., *Tetraselmis*, *Chlorella* e *Isochrysis* sp. (Treece y Yates, 1993; Rosenberry, 1997, Hudinaga 1942, Bardach *et al.* 1972, Kuban *et al.* 1983, 1985, Cook y Murphy 1966, Emerson 1980). Muchas especies de microalgas del género *Chaetoceros* son consideradas como unas de las mejores fuentes nutritivas, por su alto

contenido de ácidos grasos insaturados (HUFA'S según sus siglas en inglés), los cuales influyen directamente en el desarrollo del sistema nervioso del camarón, también son precursores de muchos compuestos biológicos como las prostaglandinas que influyen directamente en la regulación del crecimiento y reproducción (Jory, 1997).

Se ha demostrado que los tratamientos bialgales para camarón presentan mejores resultados en crecimiento y sobrevivencia que el suministro de una sola especie debido principalmente al complemento nutricional entre ambas (Puello, 1998).

*Artemia* es la fuente de proteína que tradicionalmente es usada por los laboratorios de producción de larvas alrededor del mundo (Wilkenfeld 1992). Sin embargo, en los últimos años se ha observado fluctuaciones en la producción y calidad de este organismo, provocando variaciones considerables en su costo (Jones *et al.* 1984; Villamar y Brusca, 1987). Los precios de quistes de *Artemia* han oscilado entre 20 y 120 dólares norteamericanos por libra en los últimos años. (Puello-Cruz *et al.*, 2004). No obstante Villamar y Brusca (1987) mencionan que cuando se alimentan larvas de camarón con tratamientos deficientes de *Artemia* hay una reducción en sobrevivencia y en la tasa de crecimiento o ambos casos.

Los copépodos son, considerados los metazoarios más abundantes del planeta, incluso por encima de los insectos y de los nemátodos. Aunque la gran mayoría de estos microcrustáceos son acuáticos, los hay también de hábitos semiterrestres.

Son seres verdaderamente ubicuos y tienen una diversidad de formas sorprendente (Suárez-Morales *et al.*, 1999; Gee, 1989)

Las características que los copépodos presentan son: un ciclo de vida corto, alta fecundidad, gran producción de huevos, eclosión y sobrevivencia además de tener un tamaño variado adecuados para la boca de larvas de peces o crustáceo. también es resistente al manejo, a cambios bruscos de temperatura y salinidad. con alto contenido energético, (Puello *et al.*, 2004). Gee 1989, reporta que los copépodos han demostrado ser un alimento para pequeñas especies de peces.

Otros investigadores han considerado relevante el uso de microparticulados (Frippak) como alimento en larvas de camarón (Sangha *et al.*, 2000, Kanazawa y Teshima, 1985, Kanazawa 1986, Kanazawa y Teshima, 1988).

La falta de conocimientos sobre el área nutricional limita el uso de alimentos balanceados particularmente para las diferentes especies de peneidos. En los últimos años la elaboración de los mismos se ha dado más de una forma intuitiva a la par de la expansión de la industria camaronicola desarrollando una gran variedad de alimentos balanceados con poca o nula ciencia nutricional. El uso de alimentos balanceados en acuicultura puede incrementar considerablemente la producción y la utilidad. Para alcanzar estos objetivos, los alimentos deben ser nutricional y económicamente adecuados según el sistema de cultivo que se aplique (Abdo-de la Parra, 1998).

El alimento puede llegar a constituir hasta un 60% de los costos de producción de camarón por acuicultura. Sin embargo, de manera general, el costo relacionado con el alimento se puede reducir potencialmente por:

- a) - El uso de alimentos adecuados
- b).-La determinación de la ración más efectiva en costo
- c).- La reducción del desperdicio del alimento (Cruz-Suárez, 1998).

Y un alimento puede aumentar su calidad por:

- 1.- proporcionar los nutrimentos necesarios
- 2.- ser estable y atractivo organolépticamente
- 3.- presentar tamaño adecuado.

La ausencia de alguno de los aspectos anteriores provoca que en las diferentes etapas de desarrollo de la larva de camarón no las consuma y se retrase en su desarrollo o muera, e incluso si se proporciona mayor cantidad de alimento en etapas posteriores, ya no alcanzará a desarrollarse normalmente (Martínez, 1993).

Al igual que otras especies de peneidos, el camarón blanco *L. vannamei* sufre varios cambios importantes en su ciclo de vida, uno de ellos es el alimenticio. Durante su desarrollo larval sufre varias metamorfosis. Después de eclosionar, en estadio Nauplio ( $N_1$ - $N_5$ ) no se alimentan. Luego pasan por tres estadios zoeas ( $Z_1$ - $Z_{III}$ ) donde son principalmente herbívoros y finalmente tres estadios Mysis ( $M_1$ - $M_{III}$ )

con tendencia alimentarias omnivoros, aunque en algunas especies de camarones son completamente carnivoras (*Palaemon elegans*) (Pérez-Farfante, 1969). Sin embargo, las etapas consideradas criticas donde aumentan las mortalidades son después de las primeras dos semanas cuando cambian de PL<sub>1</sub> a PL<sub>14</sub>. (Wickins, 1976; Bages y Sloane, 1981). Esto posiblemente se debe a que el periodo critico coincide con los cambios en la actividad enzimática digestiva y los cambio de hábitos alimenticios con el fin de agilizar la digestión y asimilar la nueva dieta (Donald y Darryl, 1990).

De la misma manera que se manifiesta un cambio morfológico de la larva durante sus primeros estadios, también se presentan cambios fisiológicos, el más importante se da en la actividad enzimática (Pérez-Farfante, 1969; Fólter *et al.*, 1985).

Las enzimas juegan un papel importante en la capacidad de acelerar y facilitar las reacciones químicas que tiene lugar en los organismos, el identificar y conocer los cambios y los efectos que ejercen los factores externos son herramientas que facilitan el entendimiento de los procesos fisiológicos durante el desarrollo ontogénico. Estos parámetros ayudan a la industria alimentaria para buscar y desarrollar y formular tratamientos especializados que optimicen los recursos y resultados de su empleo en la acuicultura, particularmente en la larvicultura. (Arenal *et al.*, 2002).

Los análisis de enzimas digestivas son excelentes herramientas para los fisiólogos, porque describen los patrones alimenticios de un animal, tales como la

habilidad para hidrolizar específicamente las partículas de una dieta, la respuesta a diferentes niveles y fuentes de nutrientes, contribución a la digestión bacteriana, y la secreción y cambios cíclicos en el animal en el crecimiento y maduración (Smith y Lawrence 1984).

El hepatopáncreas es el lugar en crustáceos donde se lleva a cabo la síntesis y secreción de enzimas digestivas y es el principal órgano encargado de la absorción de nutrientes (Ocampo y Ezquerro, 2002).

## 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Continuamente se ha descrito que la mayor parte de los costos de producción en los laboratorios de larvas de camarón está en la alimentación, sin embargo esto no garantiza un éxito al finalizar el cultivo. Mucho se atribuye a las enfermedades y otros factores que disminuyen en gran medida la sobrevivencia y crecimiento de las mismas. A pesar de los avances logrados en esta industria, es evidente la falta de información respecto a los procesos fisiológicos y comportamiento de las larvas de camarón frente a los diferentes alimentos (tanto vivos como artificiales).

Es por ello que se debe dar prioridad a las investigaciones enfocadas a conocer los procesos biológicos básicos de estos organismos principalmente durante los cambios ontogénicos, con el fin de incrementar la sobrevivencia y crecimiento optimizando recursos, esto incluye la búsqueda de nuevos tratamientos artificiales y vivos que mejoren las cosechas.

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

La actividad acuícola en los últimos años ha crecido aceleradamente. La alimentación ha sido una limitante para esta industria pues representa uno de los factores determinantes en el desarrollo del cultivo de los organismos, además de los elevados costos que representa en el proceso de producción comercial. Las investigaciones en la búsqueda de nuevas alternativas deben priorizarse para optimizar los resultados.

Resulta entonces importante la búsqueda de alimentos con contenidos nutricionales adecuados de bajo costo y alta disponibilidad. Durante los últimos años se han desarrollado trabajos relevantes con copépodos como alimento vivo y comercial con el objetivo de compararlos con los alimentos convencionales, se desarrollo este estudio en larvas de camarón.

### 1.3 HIPÓTESIS

**Ho:** No existe diferencia significativa al evaluar el crecimiento, comportamiento de la enzima tripsina y niveles de proteínas en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* empleando diferentes tipos de tratamientos.

**Ha:** Si existe diferencia significativa al evaluar crecimiento, comportamiento de la enzima tripsina y niveles de proteínas en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* empleando diferentes tipos de tratamientos.

## 1.4 OBJETIVOS

### 1.4.1 Objetivo General

- Evaluar crecimiento (peso seco, longitud total y metamorfosis), sobrevivencia, tripsina y proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, empleando diferentes tipos de tratamientos.

### 1.4.2 Objetivos específicos

Comparar el comportamiento enzimático y contenido proteico en larvas de camarón empleando diferentes tipos de tratamientos (Microalgas, *Artemia*, copépodo (*Tisbe monozota*) y una dieta artificial experimental).

Comparar el porcentaje de sobrevivencia empleando diferentes tipos de tratamientos (Microalgas, *Artemia*, copépodo (*Tisbe monozota*) y una dieta artificial experimental).

Comparar el crecimiento (longitud total, peso seco final) y porcentaje de estadios presentes en la muestra empleando diferentes tipos de tratamientos (Microalgas, *Artemia*, copépodo (*Tisbe monozota*) y una dieta artificial experimental).

## II.- MARCO TEÓRICO

---

La morfología y las funciones de los sistemas alimentarios de los decápodos han sido descritos extensivamente por Felgenhauer y Abele, (1985) y Smith, (1978).

De los pocos trabajos que existen a nivel experimental sobre alimentación en camarón están los de Godoy, *et al.*, 1997, donde evaluaron la sobrevivencia y crecimiento larval de *Litopenaeus vannamei* bajo dos regímenes de alimentación el primero se basó en una dieta tradicional con alimento vivo (*Artemia*) y el segundo consistió en microcápsulas comestibles, ambos suministrados a partir de zoea II por un periodo de cultivo de 16 días, obteniendo mejores resultados en el primer tratamiento.

Estudios realizados por Le Vay *et al.*, (2000) con *L. vannamei* demostraron que la larva a partir de zoea puede aceptar zooplancton, siempre y cuando sea de tamaño adecuado y esté disponible en toda la columna de agua.

Los copépodos han demostrado que son un alimento de gran valor nutricional para pequeñas especies de peces juveniles (30-60mm) comercialmente importantes (Gee, 1989). Sin embargo, Isiordia, 2001 realizó un estudio con larvas de camarón desde zoea I (Z1) hasta Postlarva 1 (PL1) en las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Mazatlán, Sinaloa, México donde se evaluó la sobrevivencia y crecimiento probando 3 tratamientos, que consistieron de copépodos vivos como alimento natural, copépodos secos

como dieta artificial comercial y *Artemia* como dieta control, superando los dos primeros tratamientos al control con mayor sobrevivencia y crecimiento en larvas.

Otros investigadores los han propuesto como posible alimento vivo alternativo para el desarrollo de larva de camarón por sus elevados niveles de ácidos grasos, proteína, grasa y humedad (Puello-Cruz *et al* 2004).

Tabla 1.- Comparación del contenido nutricional de *Tisbe monozota* (Copépoda Harpacticoida) y *Artemia*.

	<i>Tisbe monozota</i>	<i>Artemia</i> sin enriquecer	<i>Artemia</i> enriquecida (Selco)	Dieta comercial (D'Abramo <i>et al.</i> , 2002)
Humedad	90.03±0.04	79.94±0.3	89.1±0.5	62.5
Proteína	65.73±0.25	56.56±0.7	57.8±0.4	46.1
Grasa	7.35±0.02	17.47±0.1	20.86±0.1	37.4
EPA 20:5n3 (mg/g dw)	1.3	3.4	5.5	5.6
DHA 22:6n3 (mg/g dw)	7	0	0.7	5.6
EPA+DHA+22:6n3	8.4	3.4	6.5	---

Fuente: Puello-Cruz *et al.*, 2004

FAO (1996) describen algunas especies de copépodos con niveles de proteínas y ácidos grasos insaturados (HUFA) similar a los de *Artemia*.

El consumo diario de microalgas en larvas de camarón durante los estadios zoea es alto, aproximadamente ocho veces con respecto a su peso, que se refleja en elevada evacuación del intestino y mayor actividad de enzimas, estrategia que

desarrollan las larvas a causa de la poca asimilación del alimento, que se traduce en beneficio energético neto (Jones, *et al.*, 1997; Le Vay, *et al.*, 2001). Sin embargo, esta estrategia sugiere mayor facilidad para adaptarse a dietas artificiales. En cambio los estadios de mysis (M) y postlarvas ingieren alimento durante el día de uno a cuatro veces con respecto a su peso. El zooplancton es retenido en el organismo por largos periodos. Estos cambios en la retención se deben a la composición de las dietas (fitoplancton y zooplancton) según Rodríguez, *et al.* (1994). El alto nivel enzimático (tripsina) y el periodo de retención observados en larvas peneidos también ayuda a determinar estrategias de alimentación de dietas con mejor calidad nutricional (Jones *et al.* 1997; Le Vay *et al.* 2001).

Se han diseñado diferentes formulaciones altamente eficientes de alimentos balanceados que permiten cubrir sus necesidades nutricionales. Tal es el caso de los microencapsulados (Pedroza *et al.*, 2004), dietas con base a los efectos de la proteína, (Guzmán, *et al.*, 2001; Burford *et al.*, 2001) a los ácidos grasos ecosapentanoico (EPA) y ácidos dicosahexaenoico (DHA) , Leger *et al.* (1985); Smith, (2001) y otras dietas comerciales.

La mayoría de los estudios relacionados con cambios en la actividad enzimática digestiva frente a diferentes dietas y estadios han sido realizados en especies europeas y asiáticas: *Pelaeomon serratus* (Van Wormhoudt, 1973; Ceccaldi y Trellu, 1975; Van Wormhoudt y Sellos, 1980); y *Penaeus japonicus* (Laubier-Bonichon *et al.*, 1977; Galgani, 1983 y Galgani y Benyamin, 1985).

En cambio, otras investigaciones se enfocan a estudiar los cambios en la actividad enzimática a lo largo de su ciclo de vida (Van Wormhoudt 1973; Lovett y Földes 1990). Donald, y Darryl, (1990), han demostrado que la actividad enzimática disminuye a lo largo del desarrollo larval en otras 3 especies. *P. japonicus*, *P. serratus* y *H. americanus*. Otros se encargan de compararla con digestión (Gibson y Baker, 1979; Dall y Moriarty, 1983), y finalmente su efecto a nuevas dietas (Lee *et al.*, 1984; Rodríguez, Le Vay, Mourente y Jones 1994).

Donald, *et al.* (1990) determinó la presencia de enzimas a lo largo del intestino en camarones *Penaeus setiferus* en los estadios zoea, mysis y hasta PL<sub>40</sub>. Las principales enzimas encontradas fueron amilasa y proteasa, demostrando la capacidad de *P. setiferus* en sus primeros estadios de degradar proteínas. De la misma manera, Abubakr y Jones, (1992); Lovett y Földes, (1990) han demostrado que en los primeros estadios (zoea- Mysis) de peneidos, el divertículo anterior está más desarrollado que el hepatopáncreas y la actividad de enzimas es mayor, es decir, quienes dependen del fitoplancton como recurso alimenticio tienen una mayor área secretoria digestiva que las larvas de hábitos carnívoros, conforme se van desarrollando y cambian de herbívoros a carnívoros el área secretoria declina, reflejándose en la disminución del divertículo anterior y mayor desarrollo del hepatopáncreas, este último, aumenta su función de digestión y asimilación.

### III.- MATERIAL Y MÉTODOS

---

De acuerdo a los objetivos y con el propósito de evaluar sobrevivencia, tasa de crecimiento (peso seco final y longitud total), estadio, actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *L. vannamei*, se realizaron dos experimentos: el primero se realizó con el objetivo de determinar la efectividad del uso de *Artemia* y copépodos mantenidos en refrigeración. El segundo consistió en usar los mismos organismos como alimento a temperatura ambiente, la dieta experimental se aplicó a temperatura ambiente para ambos experimentos. Se siguió la metodología usada por Puello *et al*, (2002). En ambos experimentos se aplicaron 6 tratamientos con 5 réplicas cada uno.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental en el Laboratorio de Nutrición y Larvicultura.

#### 3.1 Sistema experimental

El sistema consistió en un contenedor de fibra de vidrio con dimensiones de 1x1x 0.15m con agua dulce y un tanque (300 L) colector con termostato que con la ayuda de una bomba sumergible produce un flujo continuo tipo baño María para dar condiciones estables de temperatura ( $\pm 28$  °C) en todo el sistema. Se colocaron 30 matraces de vidrio de bola con capacidad de 2 L. En cada matraz se introdujo una manguera aireadora con una varilla de vidrio en el extremo para proporcionar

un burbujeo ligero pero constante (1 burbuja por segundo aproximadamente) y mantener el alimento suspendido en la columna de agua. Toda la cristalería se lavó con cloro y agua dulce, dejándola 24 horas previo a los experimentos para eliminar posibles residuos.

El experimento se corrió con condiciones controladas de fotoperiodo 12 h luz / 12 h oscuridad, temperatura  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y salinidad de 35‰.

### **3.2 Suministro de larvas**

Las larvas de camarón blanco *L. vannamei* se obtuvieron del laboratorio Maricultura del Pacífico S.A. localizado en Los Pozos, Sinaloa. Los organismos fueron transportados en estadio nauplio 5 (N5) a las instalaciones del CIAD en bolsas de plástico transparentes saturadas con oxígeno atadas y colocadas en hieleras.

### **3.3 Actimatación y Siembra**

Al llegar a las instalaciones del CIAD se aclimataron colocando la bolsa que contenía los nauplios en el contenedor, con burbujeo ligero hasta igualar temperatura y salinidad a los del sistema de experimentación. Previo a la siembra los matraces se llenaron con 1.5 L. de agua salada (35‰) filtrada a  $5\ \mu\text{m}$  y se colocaron 150 larvas por matraz en estadio N5 (Nauplio 5), la distribución de los tratamientos fue aleatoria.

### 3.4 Alimentación.

Después de realizar la siembra de los nauplios se aplicaron los tratamientos como se explica en la Tabla 2:

TABLA 2.- Tratamientos empleados en la alimentación de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

Estadio	Tratamientos					
	D1	D2	D3	D4	D5	D6
N5	No alimento	No alimento	No alimento	No alimento	No alimento	No alimento
PZ1	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml.	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml.	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml.	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml.
PZ2	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	2 Artemia / ml	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	2 copép. / ml	Chaet. + Isoc 50,000 cell..	8 mg / ml.
PZ3	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	2 Artemia / ml	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	2 copép. / ml	Chaet. + Isoc 50,000 cell / ml..	8 mg / ml.
M 1	5 Artemia / ml	5 Artemia / ml	5 copép. / ml	5 copép. / ml	12 mg / ml.	12 mg / ml.
M 2	7 Artemia / ml	7 Artemia / ml	7 copép. / ml	7 copép. / ml	12 mg / ml.	12 mg / ml.
M 3	10 Artemia / ml	10 Artemia / ml	10 copép. / ml	10 copép. / ml	16 mg / ml.	16 mg / ml.
PL 1	10 Artemia / ml	10 Artemia / ml	10 copép. / ml	10 copép. / ml	16 mg / ml.	16 mg / ml.

**Anotaciones:** Chaet. = (*Chaetoceros muelleri*); Isoc= *Isochrysis galbana*; Dieta D'A= Dieta experimental D'Abramo; Copép.= Copépodo (*Tisbe monozotia*); Artemia=Artemia salina.

Previo a la alimentación fue necesario realizar conteo de microalgas, cultivo y conteo de Artemia y conteo de copépodos (*Tisbe monozotia*).

### 3.5 Conteo de microalgas

El abastecimiento de las microalgas fue del laboratorio de producción continua del CIAD Mazatlán. El conteo se realizó a través de un hematocitómetro.

El procedimiento para conocer el número de microalgas/ml es:

- 1.- Tomar muestra del garrafón de donde se alimentarán
- 2.- Agitar el cultivo y tomar aproximadamente 1 ml de muestra en un tubo de ensayo y fijar con lugol (una gota).
- 3.- Mezclar y tomar una muestra con una pipeta pasteur aproximadamente 10  $\mu$ l (volumen suficiente para llenar las dos cámaras del hematocitómetro).
- 4.- Se observa al microscopio compuesto y se cuenta el número de células por cuadro, contándose 5 cuadros de cada cámara.
- 5.- Para los cálculos se obtiene el número promedio de células, se multiplica por 5 (cuadros contados), nuevamente se multiplica por la dilución usada y finalmente por 10,000 para obtener la cantidad de microalgas/ ml. Ejemplo:

$$N * D * C * 10,000 = \text{Células / ml.}$$

**N = Número promedio de células contadas en la cámara**

**D = Dilución de la muestra**

**C = Cuadros contados en la cámara**

**10,000 = Constante**

La densidad de microalga suministrada diariamente por tratamiento fue de 50,000 células  $\text{ml}^{-1}$  con sus respectivos porcentajes para cada especie (70 % *Chaetoceros gracilis* y 30% *Isochrysis galbana*). La cantidad de ml suministrados dependió de la densidad de células encontradas en cada garrafón.

### 3.6 Cultivo de *Artemia*

En un matraz con capacidad de 2 L. , se añadieron aproximadamente 2 g de quistes de *Artemia* y se agregaron 1.5 L. de agua salada filtrada a 5  $\mu\text{m}$  colocando una fuente de luz y aireación constante durante un periodo de 24 h, posteriormente se elimina la aereación, se colocó una fuente de luz y por sifoneo se cosechan los nauplios. Se homogeniza la muestra a volumen conocido. Con ayuda de una micropipeta se tomaron 4 submuestras de la original de un volumen conocido y se cuenta el número de nauplios, se saca el promedio y se suministra la cantidad establecida descrita en la tabla 2.

**Ejemplo:**

ml de la micropipeta (a)  $\rightarrow$  nauplios obtenidos en la submuestra (c)  
 $\swarrow$   
 $\sphericalangle$  ml que hay que agregar? ----- nauplios que deben suministrarse (b)

**(b) \* (a) / (c) = ml agregados.**

### **3.7 Conteo de copépodos**

Los copépodos fueron obtenidos del cultivo de producción continuo del laboratorio de Nutrición y Larvicultura del CIAD-Mazatlán. Para conocer la cantidad de nauplios existentes en el stock de la especie: *Tisbe monozota* fue necesario colocarlos una cantidad en volumen conocido de agua salada filtrada con 5  $\mu\text{m}$ , se homogeneizó la muestra para tener un mínimo de error al tomar con una micropipeta de 200  $\mu\text{l}$  4 submuestras. Los nauplios tomados se contaron, se tomó como dato el número promedio del total de las muestras y con ello se extrapola la cantidad de ml a suministrar en el matraz esto en base a la cantidad presentada en la tabla 3.

### **3.8 Preparación de la dieta comercial**

Para poder suministrar la dieta artificial se pesó una cantidad igual o mayor a la establecida en la Tabla 2 y se agregó agua salada filtrada a 5  $\mu\text{m}$  en un recipiente a un volumen conocido. Y de esa manera se agregó la cantidad correspondiente

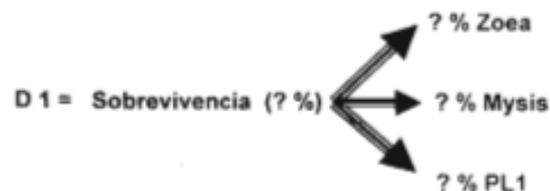
En la tabla 2 se presenta la porción diaria de alimento a suministrar que se dividió en cuatro raciones según el tratamiento a las 8:00, 12:00, 16:00 y 20:00 horas. En el momento en que en alguna repetición de cualquier tratamiento se observen más del 80 % de individuos que hayan mudado al estadio de PL1 se finaliza el experimento, cosechando todos los tratamientos y llevando a cabo el análisis de los siguientes parámetros:

### 3.9 Análisis de parámetros

#### 3.9.1 Supervivencia y estadio morfológico

Para conocer el porcentaje de supervivencia, en cada dieta y repetición se contaron las larvas vivas, este dato se dividió por el número inicial de larvas sembradas y multiplicado por 100, al mismo tiempo se determinó el estadio de desarrollo en el que se encontraban los organismos y se sacó el porcentaje correspondiente. La mejor dieta se consideró cuando el mayor número de individuos se encontraban en PL1.

Ejemplo:



### 3.9.2 Peso seco

Previamente se elaboraron contenedores (charolas de aluminio) estas fueron colocadas en el horno a una temperatura de 100°C por 24 h., con el fin de eliminar agua. Posteriormente se retiraron del horno y se colocaron en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesaron en una microbalanza Mettler MTE repitiéndose este procedimiento hasta lograr peso constante. Se tomaron 5 larvas de cada repetición y tratamiento, se enjuagaron perfectamente en agua destilada para eliminar cualquier interferencia en su peso real, se colocaron en cada charola y se repitió el procedimiento anterior hasta llevarse a peso constante pero a una temperatura de 60°C. La diferencia del peso de la charola con las larvas y el peso de la charola sin larvas divididas entre el número de organismos nos dará el peso seco por individuo.

### 3.9.3 Longitud total

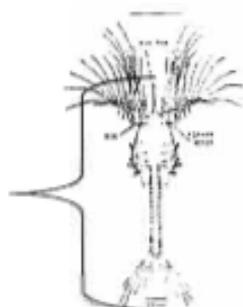
Para conocer la longitud total cinco postlarvas de cada tratamiento y repetición se fijaron en solución Davidson para posteriormente medir la longitud total con ayuda de un Vernier electrónico digital desde la punta del rostrum hasta la punta del telson.

Ejemplo:

**Longitud**

Rostrum

Telson



### 3.9.4 Análisis de Proteína

Para determinar proteína, los organismos fueron procesados de acuerdo al manual de uso interno del CIAD Mazatlán (Seguir adaptación del método Lowry)

### 3.9.5 Análisis de Tripsina

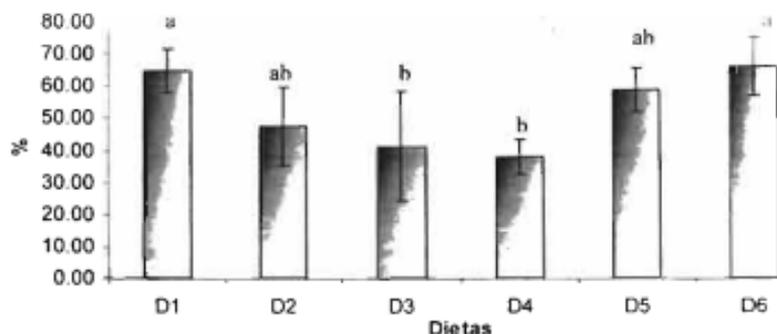
Para análisis de la tripsina se toma el mismo homogeneizado del que se usó para las proteínas (Adaptación del método TAME).

### **3.10 Análisis estadístico**

Los resultados de crecimiento, sobrevivencia, contenido de tripsina y proteína en larvas de camarón suministrando diferentes dietas fueron comparados por un análisis de varianza-una-via (ANOVA) las medias se compararon por prueba Tukey's usando el programa Basic Statistics.

## IV RESULTADOS, (1ER. EXPERIMENTO)

### 4.1 Sobrevivencia



Grafica 1.- Porcentaje de sobrevivencia de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en estadio PL1 suministrando diferentes tratamientos. Los valores en la grafica corresponden al promedio  $\pm$  desviación estándar de porcentaje sobrevivencia de los organismos.

Se observaron diferencias significativas en el porcentaje de sobrevivencia entre los mejores (1 y 6) y peores tratamientos (3 y 4) de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* al suministrar diferentes tratamientos (ANOVA,  $P=0.003$   $n=6$ ). El mayor porcentaje fue en larvas alimentadas con el tratamiento 1 y 6 ( $64.8 \pm 6.75$  y  $66 \pm 9.0\%$  respectivamente) y las menores sobrevivencias fueron en los tratamientos 3 y 4 ( $41.33 \pm 16.74$  y  $38 \pm 5.29$  respectivamente). Los tratamientos 2 y 5 ( $47.5 \pm 12.3$  y  $58.8 \pm 6.7$ ) Tukey,  $P=0.05$   $n=4$ , no mostraron diferencias significativamente ni con los mejores ni peores tratamientos (Tukey  $P<0.05$   $n=4$ ).

## 4.2 Estadio morfológico

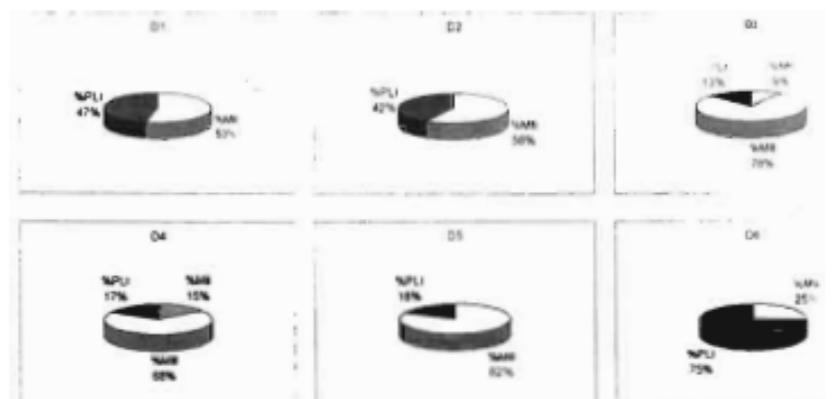
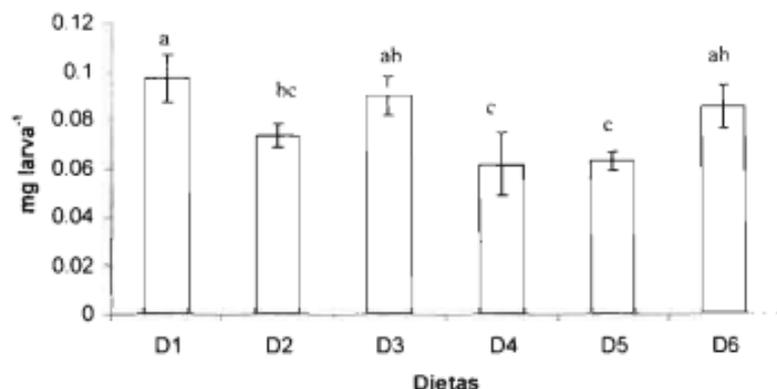


Fig. 2.- Efecto de las tratamientos sobre el estadio morfológico de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* al momento de ser cosechadas (PL1).

En la fig. 2 se observa que del total de las larvas alimentadas con el tratamiento 6 al finalizar el experimento el 75 % habían mudado a PL1 y el 25% quedaron en estadio MIII. Este tratamiento fue el que presentó mejor desarrollo. En los tratamientos 1 y 2 los resultados en desarrollo fueron similares (47, 42% PL1 y 53 y 58% MIII). El menor desarrollo se presentó en los tratamientos 4 y 5 encontrándose larvas en estadio MII (9 y 15% respectivamente) y solo el 13 y 17 % respectivamente se encontraban en PL1.

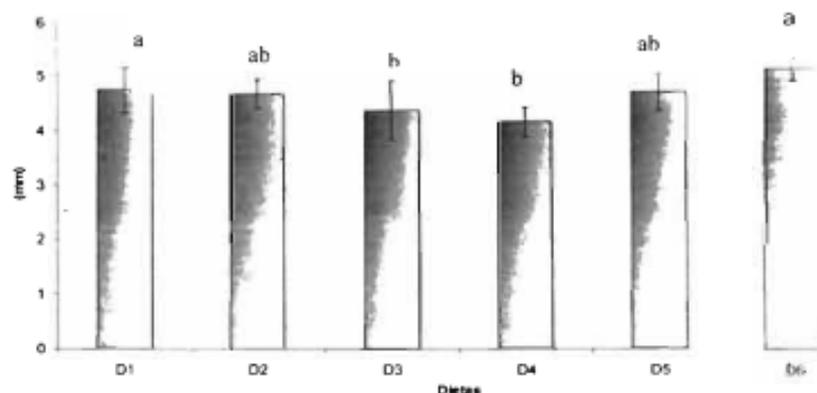
### 4.3 Peso seco



Grafica 3 - Peso seco de larvas de camarón blanco *L. vannamei* en estadio PL1 alimentada con diferentes tratamientos.

Estadísticamente las larvas alimentadas con los diferentes tratamientos si presentaron diferencias significativas respecto a peso seco (ANOVA,  $P > 0.05$ ,  $n = 6$ ), el peso seco mas alto por larva de camarón fue del tratamiento 1 ( $0.09\text{mg} \pm 0.009$ ) no hubo diferencias significativas con los tratamientos 3 y 6 ( $0.08\text{mg} \pm 0.008$  y  $0.08\text{mg} \pm 0.009$  respectivamente) Tukey,  $P = 0.305$   $n = 3$ . Las larvas que presentaron el menor peso seco fueron las alimentadas con los tratamientos 4 y 5 ( $0.06\text{mg} \pm 0.01$  y  $0.06\text{mg} \pm 0.003$ ) no existiendo estadísticamente diferencias significativas con el tratamiento 2 ( $0.07\text{mg} \pm 0.004$ ) pero si de los tratamientos 1, 3 y 6. El tratamiento 2 estadísticamente no presento diferencias significativas con la mayoría de los tratamientos, excepto con el tratamiento 1.

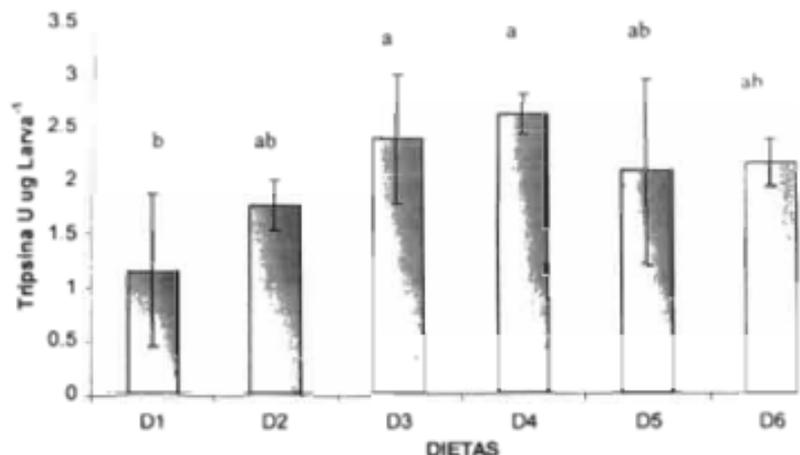
#### 4.4 Longitud



**Grafica 4.-** Efecto de los tratamientos sobre la longitud de larvas de camarón blanco *L. vannamei* en estado PL1. Los tratamientos con letras iguales no presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Hubo diferencias significativas en longitud total entre larvas alimentadas con los diferentes tratamientos (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n=6$ ). La mayor longitud obtenida fue con el tratamiento 1 y 6 ( $4.74 \pm 0.42$ ,  $5.12 \pm 0.21$  mm. respectivamente). el menor crecimiento fue en los tratamientos 3 y 4 ( $4.36 \pm 0.54$  y  $4.16 \pm 0.27$  respectivamente) siendo diferentes estadísticamente de los de los de mayor crecimiento pero estadísticamente iguales que 2 y 5 ( $4.66 \pm 0.27$  y  $4.7 \pm 0.33$  respectivamente).

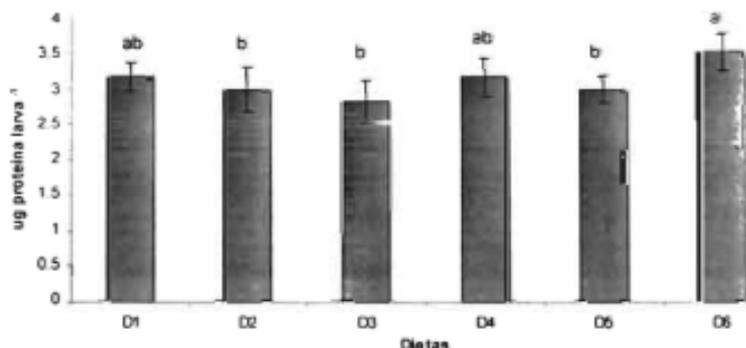
#### 4.5 Tripsina



Gráfica 5.- Actividad enzimática obtenida por larva de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes tratamientos. Los tratamientos con letras iguales no presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Hubo diferencias significativas en el contenido de enzimas en larvas alimentadas con diferentes tratamientos (ANOVA,  $P < 0.05$ ,  $n = 60$ ). la mayor actividad enzimática fue presente en larvas alimentadas con el tratamiento 3 y 4 ( $2.38 \pm 0.59$  y  $2.61 \pm 0.19$  UI  $\mu\text{g}^{-1}$  respectivamente). Las larvas alimentadas con el tratamiento 1 presentaron la mas baja actividad enzimática ( $1.15 \pm 0.71$  UI  $\mu\text{g}^{-1}$ ). existiendo diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos (Tukey  $P < 0.05$ ,  $N = 30$ ).

## 4.6 Proteína



**Grafica 6.-**  $\mu\text{g}$  de proteína obtenidas por larvas de camarón blanco *L. vannamei* alimentados con diferentes tratamientos. Los tratamientos con letras iguales no presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

La diferencia en contenido proteico entre larvas alimentadas con diferentes tratamientos fue significativa, (ANOVA,  $P < 0.05$ ). Las larvas que presentaron mayor contenido proteico fueron las alimentadas con el tratamiento 6 ( $3.52 \pm 0.26 \mu\text{g larva}^{-1}$ ) contenido que fue significativamente diferente (Tukey,  $P = 0.06$   $n = 6$ ) en larvas alimentadas con los tratamientos 2, 3 y 5 en las que se obtuvo un promedio de  $2.99 \pm 0.31$ ,  $2.81 \pm 0.30$ ,  $3.17 \pm 0.19 \mu\text{g}$  de proteína larva<sup>-1</sup> respectivamente) Las larvas de los tratamientos 2, 3, 4, 5 no presentaron diferencias significativas en contenido de proteínas entre ellas (ANOVA,  $P > 0.05$ ).

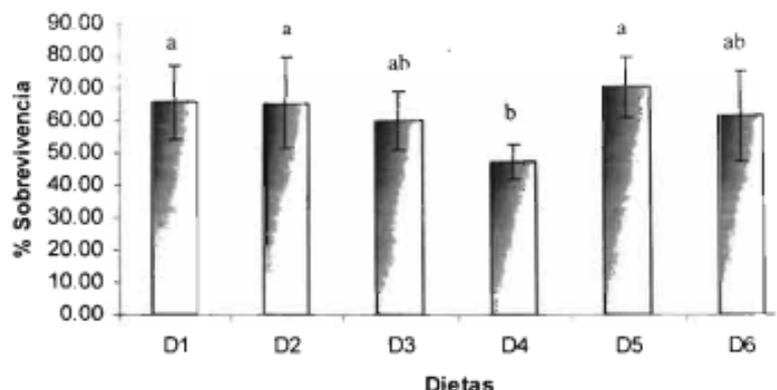
COMISIÓN NACIONAL DE ACUICULTURA



SISTEMA DE BIBLIOTECAS

## V RESULTADOS, (2º EXPERIMENTO)

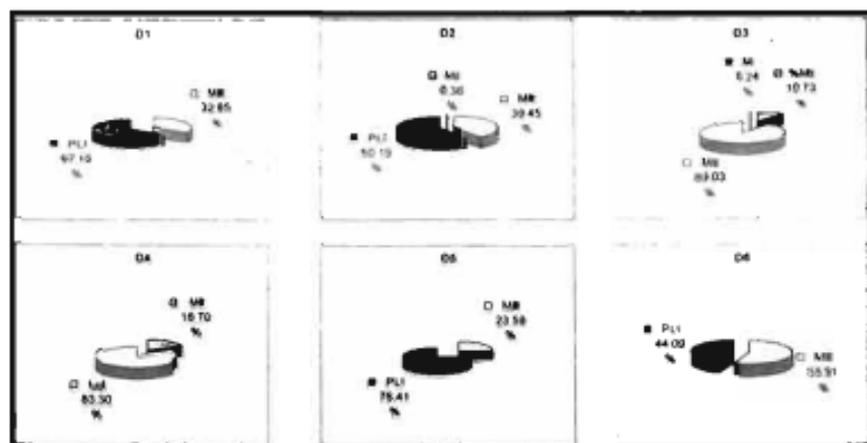
### 5.1 Supervivencia



**Grafica 7.** - Efecto del % de supervivencia de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* aplicando diferentes tratamientos. Los valores en la grafica corresponden al promedio  $\pm$  desviación estándar. (ANOVA, Tukey,  $p < 0.05$ ).

La gráfica reporta que entre los tratamientos suministrados existen diferencias significativas, (ANOVA,  $P=0.005$ ,  $n=6$ ), los tratamientos con mayor supervivencia son: D1, D2 y D5 con valores de 65.60, 65.40 y 70.28% respectivamente. El menor porcentaje de supervivencia se presentó en el tratamiento 4 (47.40%) Siendo, este último, diferente estadísticamente de los mas altos pero estadísticamente igual que los tratamientos 3 y 6 (60 y 61.53% respectivamente), (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n=50$ ).

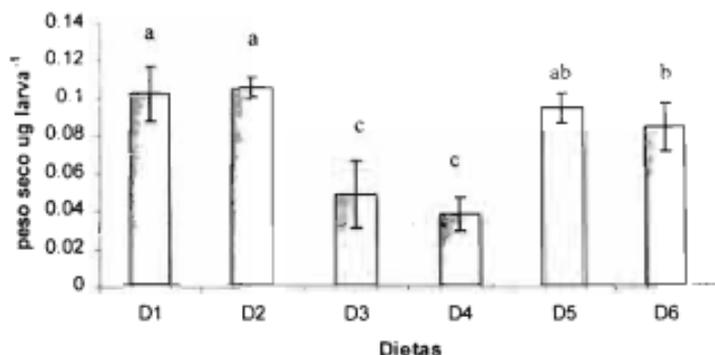
## 5.2 Desarrollo de estadio



Gráfica 8.- Efecto de la aplicación de 6 tratamientos sobre el desarrollo de estadio de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Los valores en las graficas corresponden al promedio de la suma total por cada desarrollo de estadio.

Como se observa en las gráficas, el tratamiento 5 obtuvo el mayor porcentaje de desarrollo, obteniendo un 76.41% de larvas que habían mudado a PL 1, de la misma manera las larvas alimentadas con la tratamiento 1 y 2 manifestaron una mayor cantidad de mudas a PL1 (67.15 y 60.19% respectivamente) comparada con mysis (32.85 y 39.45%), no obstante las larvas de las tratamientos 3 y 4 sufrieron un retraso de desarrollo significativo encontrándose un porcentaje elevado de larvas que no alcanzaron a mudar a PL 1 (89.03 y 83.30% respectivamente) y en menor porcentaje mysis II (10.73 y 16.70%), solo en el tratamiento 3 se encontraron mysis I (0.24%). Las larvas alimentadas con el tratamiento 6 presentaron un desarrollo similar en mudas de PL 1 y mysis III (44.09 y 55.91%).

### 5.3 Peso seco

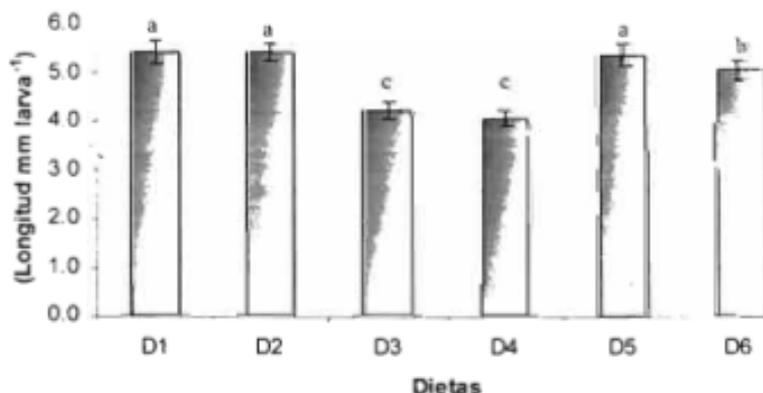


Gráfica 9.- Peso seco obtenido en larvas de camarón blanco *L. vannamei* aplicando 6 tratamientos. Los valores en la gráfica corresponden al promedio  $\pm$  Desv. Estándar larva<sup>-1</sup>. (ANOVA, Tukey,  $P < 0.05$ ).

El peso seco de larvas entre las tratamientos fue altamente significativo (ANOVA,  $P = 0.0001$ ,  $n = 60$ ).

Las larvas que presentaron mayor peso seco fueron las alimentadas con el tratamiento 1, 2 y 5 (0.101, 0.105 y 0.094  $\mu\text{g larva}^{-1}$  respectivamente), no existiendo diferencias significativas entre ellas, (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 30$ ). Si las comparamos con las larvas que presentaron el mas bajo peso seco, tratamiento 3 y 4 (0.48 y 0.037  $\mu\text{g larva}^{-1}$  respectivamente) la diferencia es significativa (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n = 50$ ). El tratamiento 6 (0.084  $\mu\text{g larva}^{-1}$ ) fue significativamente diferente con la mayoría de los tratamientos excepto con el tratamiento 5 (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 60$ ).

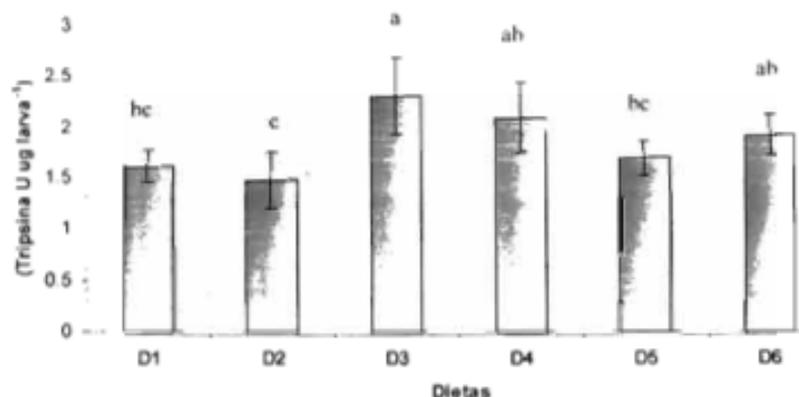
## 5.4 Longitud



**Grafica.10.-** Longitud de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes tratamientos. Los valores en la grafica corresponden a promedios  $\pm$  desviación estándar (ANOVA, Tukey,  $P < 0.05$ )

La longitud de las larvas en los tratamientos fue altamente significativa (ANOVA,  $p < 0.05$ ,  $n=6$ ). Las larvas alimentadas con los tratamientos 1, 2, 5 presentaron la mayor sobrevivencia ( $5.4\text{mm} \pm 0.24$ ,  $5.4\text{mm} \pm 0.18$  y  $5.3\text{mm} \pm 0.21$  respectivamente) no mostrando diferencia significativa entre ellas (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n=3$ ). Las larvas del tratamiento 6 presentaron una longitud promedio de  $5\text{ mm} \pm 0.196$ , lo que estadísticamente provoca diferencia significativa en larvas que obtuvieron la mayor y la menor longitud, estas ultimas alimentadas con el tratamiento 3 y 4 ( $4.2\text{ mm} \pm 0.16$  y  $4.0\text{ mm} \pm 0.16$  respectivamente) las cuales presentan una diferencia altamente significativa con respecto al resto de los tratamientos (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n=50$ ).

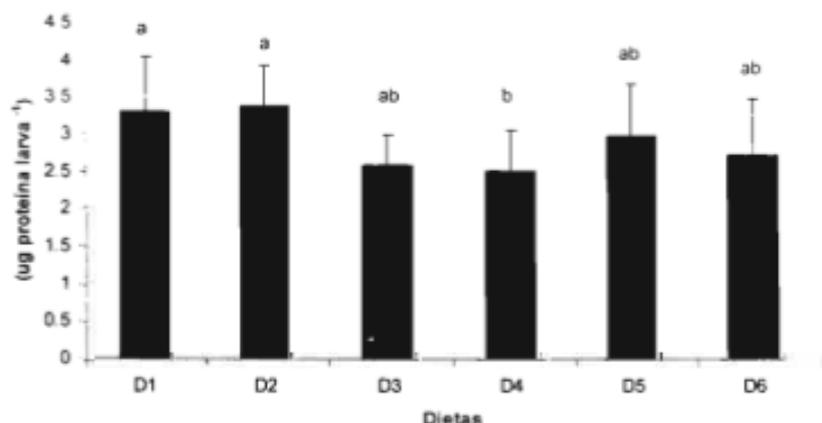
## 5.5 Tripsina



Gráfica 11 - Actividad enzimática obtenida en larva de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes tratamientos. Los tratamientos con letras iguales no presentan diferencias significativas (ANOVA, Tukey,  $P < 0.05$ ).

Hubo diferencias altamente significativas en el contenido de tripsina de larvas de camarón blanco *L. vannamei* al suministrar diferentes tratamientos (ANOVA,  $P < 0.05$ ,  $n = 60$ ), la mayor actividad de enzimas se presentó en larvas alimentadas con el tratamiento 3 ( $2.30 \text{ UI } \mu\text{g tripsina larva}^{-1}$ ), este valor no presentó diferencias significativas (ANOVA,  $P = 0.147$ ,  $n = 30$ ) entre los valores encontrados en los tratamientos 4 y 6 ( $2.09$  y  $1.92 \text{ UI } \mu\text{g tripsina larva}^{-1}$  respectivamente). La mas baja actividad se presentó en larvas alimentadas con el tratamiento 2 ( $1.48 \text{ UI } \mu\text{g tripsina larva}^{-1}$ ) lo que representó una diferencia altamente significativa con los tratamientos 3 y 4, (Tukey,  $P = 0.0006$ ,  $n = 30$ ) sin embargo este valor comparado con la actividad de enzimas encontradas en larvas alimentadas con los tratamientos 1, 5 ( $1.61$ ,  $1.69$  y  $1.92 \text{ UI } \mu\text{g tripsina larva}^{-1}$  respectivamente) la diferencia no fue significativa (ANOVA,  $P > 0.05$ ,  $n = 30$ ).

## 5.6 Proteína



Grafica 12.- Resultados obtenidos de proteína por larvas de camarón blanco *L. vannamei* alimentados con diferentes tratamientos. Los tratamientos con letras iguales no presentan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Hubo diferencias significativas en el contenido de proteínas de larvas de camarón entre los diferentes tratamientos suministrados (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n = 60$ ). Entre los tratamientos 1, 2, 3, 5 y 6 los valores de proteínas encontrados en las larvas (3.30, 3.38, 2.59, 2.98 y 2.73  $\mu\text{g}$  proteína larva<sup>-1</sup> respectivamente) no presentaron diferencia significativa (ANOVA,  $P > 0.05$ ,  $n = 50$ ) entre ellas. De la misma manera el tratamiento 4 con el valor mínimo de proteína (2.50  $\mu\text{g}$  proteína larva<sup>-1</sup>) no fue diferente significativamente de los tratamientos 3, 5, y 6. Los tratamientos que presentaron diferencia significativa entre ellos son el 1, 2 y 4 (Tukey,  $P = 0.005$ ,  $n = 30$ ).

## VI DISCUSIÓN DE RESULTADOS (1<sup>er</sup> Experimento)

---

### 6.1 Sobrevivencia

Con base a la sobrevivencia obtenida con las dietas 1 y 6 estas se recomiendan para camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Posiblemente los niveles de ácidos grasos y proteínas de las dietas influyeron en los resultados. Kanazawa *et al.*, (1982) reportan que los requerimientos de proteínas de larvas peneidas están en los rangos de 45 a 50%, porcentajes por debajo de los contenidos en las dieta de *Artemia* y dieta artificial. Otro factor que pudo haber influido es el tamaño del alimento (Puello, 1998); Obaldo L. *et al.*, (2002), mencionan que el tamaño del alimento es considerado un requisito importante para que el animal logre ingerirlo fácilmente, además menciona que el alimento al ser suministrado debe se estable en el agua para que exista una perdida mínima de nutrientes hasta la ingestión, característica de la dieta que posiblemente permitió elevar la sobrevivencia (Kovalenko *et al.* 2002).

De manera general las microalgas al ser utilizadas como complemento de las dietas influyen en la sobrevivencia, Mock *et al.*, (1980) reporta sobrevivencias del 80% al usar la microalga *Skeletonema costatum* combinada con *Artemia* en postlarva de *P. japonicus*. Teshima y Kanazawa (1982). Con *Penaeus monodon* reportan una sobrevivencia del 36%, al usar dieta artificial y Jones *et al.*, (1987) en *P. vannamei* reporta una sobrevivencia del 81% con dieta artificial.

Los copépodos a pesar de ser un alimento rico en proteína, al colocarse a temperaturas de refrigeración incrementa su mortalidad. Es bien sabido que la calidad de un alimento muerto disminuye considerablemente del vivo interviniendo posiblemente factores de descomposición que hacen al alimento menos palatable y menos atractivo para la larva. Por el contrario *Artemia* soportó las bajas temperaturas y al ser suministradas a las larvas se observaron vivas y activas en toda la columna de agua, lo que se considera que favoreció su consumo.

## 6.2 Desarrollo de estadio

El mayor desarrollo se observó en el tratamiento 6, encontrándose 75% de PL1, si lo comparamos con el tratamiento 5 (18%) posiblemente esta diferencia en los resultados se deba a dos razones, una a la aceptación temprana de la larva a dietas de mayor tamaño y segunda a la fácil digestión y asimilación de los nutrientes del tratamiento lo que provocó un rápido desarrollo.

Las dietas de menor desarrollo fueron la 3 y 4, demostrando que los copépodos muertos no presentan una buena opción para promover un adecuado desarrollo larval.

### 6.3 Peso seco

A pesar de que no existe diferencias significativas entre los tratamientos si 1, 3 y 6 el mayor peso se obtuvo con las larvas que fueron alimentadas con *Artemia*, este resultado se atribuye principalmente a que era alimento vivo era más atractivo y disponible en la columna de agua que los otros reflejándose en el incremento de peso. La estabilidad de un alimento es una característica que refleja la calidad. Martínez (1993), este aspecto puede haber favorecido los resultados que se obtuvieron en la dieta artificial, sin embargo se cree que las cantidades no fueron las adecuadas para lograr un máximo crecimiento en las larvas o es posible que el efecto de las microalgas apoyó en el crecimiento obtenido. En cambio en el tratamiento 3 se cree que el efecto de las microalgas en las larvas benefició la ganancia de peso más que el agregar copépodo.

Los nauplios de *Artemia*, en el momento de ser suministradas a las larvas presentaban movimientos constantes de desplazamiento en la columna de agua lo que posiblemente favoreció su atracción, captura y digestión por las larvas reflejando al final buen crecimiento y elevado peso.

#### 6.4 Longitud

La mayor longitud de larvas se obtuvo con el tratamiento 1 y 6, sin embargo se puede apreciar en la gráfica 4, que el efecto de usar microalgas y alimento microparticulado, *Artemia* y copépodos desde Z1 ó desde M1 no causa efecto en su longitud en los diferentes tratamientos. Los tratamientos 3 y 4 obtuvieron el menor crecimiento, en cambio, la diferencia es mínima con respecto a los de mayor crecimiento, se cree que las microalgas fue la dieta que influyo en la longitud y no así los copépodos, esto debido a que se observó un exceso de microalgas adheridas al telson lo que posiblemente les dificultó el desplazamiento y un gasto excesivo de energía la cual se cree que difícilmente fue recuperada por la dieta suministrada, energía que fue aprovechada para desplazarse y no la suficiente para realizar mudas.

#### 6.5 Tripsina

Como se observa en la gráfica 5 la menor actividad de enzimas se presento en las dietas 1, 2 y 5, sin embargo el suministrar microalgas a larvas de camarón desde Z1 a ZIII refleja una disminución importante en el contenido de tripsina. Independientemente de la cantidad, se observa como en las dietas 1, 3, y 5 la actividad fue menor que en las dietas 2, 4, y 6. Esto resultados muestran un comportamiento diferente a lo obtenido por Le Vay *et al.*, (2001) donde muestra que las larvas alimentadas con microalgas desde Z1 hasta ZIII presentan una

mayor actividad de tripsina que los alimentados con nauplios de *Artemia* a partir de ZII, por lo que este comportamiento es posible que se deba a dos causas: (1) cambios ontogénicos en el tracto digestivo ( Lovett y Felder 1990) y (2) componentes de la dieta (Le Vay, *et al.*, 1993; Le Moullac, *et al.*, 1996; Lemos y Rodríguez 1998). Las larvas que se les suministró microalgas desde ZI a ZIII (dieta 1, 3 y 5) presentaron menor actividad. Brito *et al.*, (2001), reporta que los nauplios de *Artemia* combinados con microalgas en la dieta, disminuye la actividad de tripsina, demostrando quizás que la contribución de la proteína de las algas mejora la calidad de la dieta o que la presencia de las algas contribuye en cierto grado a un aumento en la digestibilidad del alimento, en cambio para el caso de las dietas 2, 4 y 6 por ser alimentadas con nauplios de *Artemia*, copépodos y dieta comercial respectivamente desde M1 a PL1 presentaron una menor actividad, particularmente la dieta 2 la cual presentó la mayor actividad comparada con el resto de los tratamientos.

## 6.6 Proteína

Nuestros resultados indican que la diferencia de las dietas influyen directamente en el contenido de proteínas de postlarvas de camarón *L. vannamei*, tal como lo reporta Lovett y Felder (1990) y Moullac, *et al.*, (1994) en esta y otras especies de camarones.

Las proteínas constituyen el principal material orgánico e inorgánico en los tejidos animales constituyendo del 65 al 75% del peso total de la base seca (Abdo, 1998).

Un camarón de 0.5 g. requiere de 45% de proteína en la dieta (Abdo, 1998) por lo que todas las dietas suministradas reúnen tal requisito. El mas bajo nivel de proteína se encontró en larvas alimentadas con la dieta 3 con concentraciones por debajo de los  $2.9 \mu\text{g larva}^{-1}$ , si eliminamos la posibilidad que causa la concentración de proteína en la dieta, entonces se cree que esta baja concentración se deba a dos causas principales: (1) el contenido de proteínas que presenta la dieta no son digeribles y asimilados por las larvas, (2) que por ser *T. monozota* de hábitos bentónicos no hayan podido ser capturados por las larvas siendo esta última la causa mas válida por lo resultados arrojados en los anteriores parámetros analizados. Caso contrario con las larvas de la dieta 6 que presentaron las mayores concentraciones de proteína y los mejores resultados en la mayoría de los parámetros analizados y descritos anteriormente. Aquí creemos como efecto principal de este resultado la disponibilidad, la digestión y asimilación de la dieta por las larvas y por consiguiente el nivel nutricional que esta contiene.

## VII DISCUSIÓN DE RESULTADOS (2º EXPERIMENTO)

---

### 7.1 Sobrevivencia

El empleo de la dieta experimental y *Artemia* demuestran la mejor opción para la sobrevivencia en larvas de camarón blanco, en cambio el tratamiento a base de copépodos presentó el mas bajo porcentaje. Hicks y Coull, (1983) mencionan que dentro de los harpacticoides no existen larva pelágica, mientras que las larvas en estadio protozoa, mysis y PL1 son consideradas pelágicas (Treece, 1985) esto posiblemente fue causa de los baja sobrevivencia. En cambio las *Artemias* son organismos pelágicos (Ward-Booth, K. y Reiss, M., 1988) por lo que la distribución en toda la columna de agua del matraz fue observada. La dieta experimental, es un tratamiento inerte por lo que con el mismo flujo del burbujeo provocó que se distribuyera en la columna de agua y así ser consumido por la larva, además, los niveles nutricionales que presentan estos tratamientos pudieron influir en las bajas mortalidades.

### 7.2 Desarrollo morfológico

Es evidente que la dieta experimental y *Artemia* producen en larvas de camarón un desarrollo óptimo. Es posible que esta primera dieta sea menos estable que copépodo y *Artemia* vivos. Quizás el color y el tamaño de la dieta experimental influyo en la rápida ingestión y digestión del alimento que se vio reflejado en un mayor desarrollo larval con respecto al resto de los tratamientos. Se supone que un organismo entre menos energía utilice para alimentarse mayor será el beneficio

en crecimiento. Es probable que la larva pierda mayor energía en capturar los nauplios de *Artemia* que la energía que pierde en capturar la dieta experimental. Al final esta energía perdida se refleja en su desarrollo, quizás la energía se pierde en la búsqueda del alimento y no para realizar mudas.

Otro factor que pudo haber provocado este resultado es la estabilidad. Obaldo *et al.*, (2002) menciona que la estabilidad de un pellet es un parámetro importante en la elaboración de dietas especialmente para camarón, debe presentar una mínima pérdida de nutrientes hasta ser consumida por el animal.

En los matraces correspondientes a la dieta experimental se observó el agua clara y escasas partículas suspendidas en la columna de agua, creemos que prácticamente eran consumida en su mayoría por la larva. Un alimento que se degrada en partículas pequeñas y estas se lixivian podrían reducir la calidad del agua y conducir a la ineficaz conversión alimenticia retrasando el desarrollo normal de los organismos (Obaldo *et al.*, 2002). El copépodo *T. monozota* a pesar de contener elevados contenidos nutricionales (Puello *et al.*, 2004) incluso mayor que *Artemia* y dieta experimental no logró reflejar buenos resultados en desarrollo en larvas de camarón. No se observó estabilidad de este tratamiento además el burbujeo no logró que se mantuvieran disponibles en la columna de agua, se observaron adheridos a la pared del matraz lejos de la posibilidad de ser consumidos por las larvas y poder aprovechar las propiedades nutricionales para su desarrollo.

### 7.3 Peso seco

El menor peso se presentó en larvas alimentadas con los tratamientos 3 y 4 en cambio el tratamiento 6 y los tratamientos 1 y 2 a base de *Artemia* presentaron los mejores resultados. Los pesos obtenidos en los tratamientos 3 y 4 se basan principalmente en la gran cantidad de M encontradas lo que pudo haber producido que el peso sea mucho menor que las PL1 analizadas en los tratamientos 1 y 2 además, debido a la longitud en estos tratamientos aumentó la posibilidad de presentar un peso superior. Pero si se compara con las larvas alimentadas con el tratamiento 5 la diferencia no es significativa. Posiblemente la disponibilidad y la estabilidad de los tratamientos 1, 2 y 5 fueron factores importantes para la captura, digestión y absorción de nutrientes por las larvas. A pesar de que algunos autores como Volk *et al.*, (1984) y Shield *et al.*, (1999) han encontrado copépodos harpacticoides en los tractos digestivos en peces y crustáceos, este no se considera como óptimo para la alimentación de larvas de camarón con hábitos alimentación pelágica (Zoeas, mysis y PL).

### 7.4 Longitud

Como se puede observar en la gráfica 10 los tratamientos que produjeron las larvas con mayor crecimiento fueron la 1, 2 y 5 superiores de los 5.0 mm de longitud total. Sin embargo el tratamiento a base de copépodos (3 y 4) no fue suficiente para lograr en las larvas una longitud que se pudiera comparar con los mejores

tratamientos. Un factor que pudo haber afectado el resultado es que *Tisbe monozota* se ha identificado como un organismo bentónico (Puello, 2004), en cambio las larvas de camarón (Z, M y PL1) son consideradas planctónicas.

La base del crecimiento de un organismo es el alimento y las condiciones ambientales. Hemos mencionado como factor primordial la estabilidad y los niveles nutricionales que componen el tratamiento como factores principales para que el animal lleve a cabo los procesos de crecimiento y reproducción. La tasa de mortalidad y poco crecimiento podría depender entre otros factores a la falta de alimento en los estadios iniciales de desarrollo larval ó a la falta de nutrientes en el mismo (Ochoa *et al.*, 2004). Cuando un animal no se alimenta o el alimento disponible no es estable no se consume, con esto existen daños internos (auto digestión) que no le permiten restablecerse para digerir o asimilar el alimento suministrado.

Posiblemente las condiciones que guarda la dieta experimental (D5) tales como tamaño, color, olor y estabilidad, son factores que repercuten en un buen crecimiento de larvas de camarón. D'Abramo, *et al.*, (2002) reporta que la dieta experimental se degrada en pequeñas partículas de tamaño similar a un nauplio de *Artemia*, de la misma manera menciona que los niveles nutricionales que presentan son mayores que los del tratamiento control.

## 7.5 Tripsina

Autores como Shanga *et al.*, (2002) mencionan que en los primeros estadios el consumo de algas es alto y por lo tanto la evacuación de la misma se hace con rapidez, la actividad enzimática en los primeros estadios larvales de camarón aumenta, conforme cambia de hábitos herbívoros a carnívoros la actividad enzimática disminuye. Si se hace la comparación entre los tratamientos 3 y 4 y los tratamientos 2 y 5 se observa diferencias significativas, esta diferencia en la actividad entre el mayor y el menor es posiblemente por la edad de las larvas ó por las propiedades nutricionales de cada alimento. Investigadores describen que los cambios en la actividad enzimática depende del desarrollo del animal, (Lovett y Fólter 1989) a la cantidad o calidad de algunos componentes de las dietas (Le Vay, *et al.*, 1994); (Le Moullac, *et al.*, 1996); (Lemos y Rodríguez 1998).

## 7.6 Proteína

Las proteínas juegan un papel importante en las larvas de camarón y en algunos casos es el reflejo de las mejores dietas. En las dietas 3 y 4 en las cuales fue usado el copépodo *Tisbe* monozota como alimento, los niveles de proteínas encontrados en larvas fueron los más bajos, que comparados con los tratamientos 1, 2, 3 y 4 la diferencia fue significativa, aún cuando algunos autores como *et al.*, (2004) muestran que *T. monozota* presenta mejores niveles nutricionales que *Artemia* sin embargo esto no fue suficiente para elevar el contenido de proteína en las larvas de camarón. Si un alimento es rico en proteína, lípidos ó

ácidos grasos y no se consume o simplemente esa proteína es difícil de digerir no causa efecto. Se cree que este efecto provocó que los niveles de proteína en larvas alimentadas con *T. monozota* fuera el más bajo.

Caso contrario con los tratamientos 1, 2 y 5 donde se cree que la disponibilidad del alimento y los niveles nutricionales que presentan los tratamientos provocó los mejores resultados en contenido de proteína.

## VIII CONCLUSIONES

---

En conclusión, las post-larvas de camarón requieren una disponibilidad de alimento inmediata en las fases iniciales para disminuir mortalidades y optimizar su desarrollo.

En Ambos experimentos la sobrevivencia fue mayor para la dieta experimental D'Abramo y la dieta de *Artemia*.

Usar como dieta copépodos vivos ó congelados no manifiesta un aumento en el crecimiento y sobrevivencia para larvas de camarón *L. vannamei*.

A pesar que estadísticamente no hubo diferencias significativas al usar copépodos vivos o congelados como alimento en larvas de camarón desde PZ I a PL1 la sobrevivencia obtenida en ambos experimentos fue la más baja comparada con el resto de los tratamientos.

De manera general todos los análisis realizados a larvas de camarón, la dieta a base de copépodos congelados presento los resultados más bajos.

El alimento vivo que se recomienda suministrar en los primeros estadios de camarón debe ser planctónico, si se usa alimento inerte este debe ser estable y

disponible en la columna de agua para que al momento de consumirse este no pierda sus propiedades tanto físicas como químicas.

Al usar la dieta experimental en combinación con algas a partir de Z1 en larvas de camarón blanco *L. vannamei* incrementa el crecimiento, la sobrevivencia y decrece la actividad de tripsina.

La actividad de enzimas digestivas varía en función del desarrollo larvario y tipo de alimento.

Se recomienda realizar una serie de experimentos para determinar la cantidad exacta de copépodos a suministrar, así mismo usarlos a partir de estadios de postlarva.

De manera general la dieta experimental D'Ábramo genera rendimientos similar a los obtenidos con la dieta viva tradicional usada por los laboratorios (*Artemia*).

Por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula ya que existieron diferencias significativas entre las dietas suministradas al analizar los diferentes parámetros.

## IX.- BIBLIOGRAFIA

---

- Abdo, Ma. I. 1998. Curso Internacional Sobre Alimentación del Camarón  
Requerimientos nutricionales de camarones peneidos. CIAD. A.C Unidad  
Mazatlán, Sin. México. 13pp.
- Abubakr, M.A., Jones, D.A., 1992. Functional morphology and ultrastructure of  
the anterior midgut diverticulae of *Penaeus monodon* (Fabricius, 1798)  
larvae. Crustaceana. Vol. 62, 142-158.
- Arenal, F., A. Espinosa, C. garcía, A. Arenal, J. Fajardo, E. Cabrera, E.  
Pimentel. 2002. Estudio de la actividad enzimática de  $\beta$ -Galactosidasa en  
la ontogenia del camarón *Litopenaeus schmitti* (Crustacea-Decapoda). I  
Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. Pp 898-805.
- Bages M., y I. Sloane. 1981. Effects of dietary protein and starch levels on  
growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) postlarvae.  
Aquaculture 25: pp 117-128.
- Bardach, J.E., J.H. Ryther y W.O. McLarney 1972. The Farming and Husbandry  
of Freshwater and Marine Organisms. Wiley Interscience, Nueva York  
Aquaculture. 868 pp.
- Biesoit, P.M.1986. Changes in midgut gland morphology and digestive enzyme  
activities associated development in early stages of the American. Lobster  
Wood Hole Oceanogr. Inst. Publ. WHOI-86-20.1-237.

- Burford M.A.; Smith D.M.; Tabrett S.J.; Coman F.E.; Thompson P.J.; Barclay M.C.; Toscas P.J., 2004. The effect of dietary protein on the growth and survival of the shrimp, *Penaeus monodon* in outdoor tanks. *Aquaculture Nutrition*, vol. 10, no. 1, pp. 15-23(9).
- Ceccaldi H. J., 1997. Anatomy and physiology of the digestive system. In: *Crustacean Nutrition*. (eds. L.R. D' Abramo, D.E. Conklin & D.M. Akiyama), World Aquaculture Society, Baton Rouge, Vol. 6, LA, pp 261-291.
- Ceccaldi H.J., y J. Trelu. 1975. Apparation des activités enzymatiques digestive dans les oeufs de *Palaemon serratus* Pennant (Crustacé Decapodé) au cours de l' embriogenése C.R. Soc. Biol. (*Pans*)169 (5): 1249-1255.
- Cruz-Suarez L.E. 1998. Digestibilidad en camarón y su relación con formulación, fabricación de alimentos balanceados. Curso Internacional sobre alimentación de camarón. CIAD, Mazatlán Sinaloa México.
- Cruz-Suarez L.E., D. Ricque- Marie. M. Tapia-Salazar, C. Guajardo-Barbosa 2000. Uso de Harina de Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. Programa Maricultura. Universidad Autónoma de Nuevo León. Cd. Universitaria. San Nicolás de los Garza, Nuevo León. 227-266.
- Dall W. y Moriarty D.J.W. 1983. Functional aspects of nutrition and digestion. In Ocampo y Ezquerro 2002. Digestive protease activity in juvenile

*Farfantepenaeus californiensis* as a function of dissolved oxygen and temperature. *Aquaculture Research*. Vol. 33 pp. 1073-1080.

Donald L. y Darryl L. Felder. 1990. Ontogenetic Change in Digestive Enzyme Distribution and Midgut Function in Developmental Stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178:160-174.

Emerson, W.D. 1980. Ingestion, growth and development of *Penaeus indicus* larvae as a function of *Thalassiosira weissfloggi* cell concentration. *Mar. Biol.* 58:65-73.

FAO, 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper (361) : pp 265-281.

Folder D.L., Martin J.W. & Goy J.W. (1985) Patterns in early postlarval development of decapods. In : *Crustacean Issues, Vol. 2 Larval growth* (ed. by A.M. Wenner), pp. 63-225. AA Blakema, Rotterdam.

Felgenhauer, B.E., y L. G. Abele. 1985. Feeding structures of two atyid shrimps, with comments on caridean phylogeny. *Journal of Crustacean Biology* 5: 397-419.

Fogg A.E., 1975. Algal cultures and phytoplankton ecology. Second Ed. The University of Wisconsin Press. in Torrentera Blanco L., Tacon A. 1989. 175 pp.

- Galgani, F.G., 1983. Etude des Proteases Digestives de Crevettes Penneides (Crustacea, Decapoda) These (3eme cycle. Oceanology). Fac. Sciences Luminy. Universite d'Aix-Marseille, Marseille. France. 125pp.
- Galgani, F.G. y Y. Benyamin, 1985. Radioimmunoassay of shrimp trypsin application to the development of *Penaeus japonicus* Bate, 1888. J. Exp. Mar. Biol.Ecol. 87: 145-151.
- Gee, J. M., 1989. An ecological and economic review of meiofauna as food for fish. Zoological Journal of the Linnean Society. Vol. 96: 243-261.
- Gibson R. y Baker P. L., 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanography and Marine Biology*. Vol 1, 235-346.
- Glencross; Smith., 2001. Optimizing the essential fatty acids, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, in the diet of the prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 7, no. 2, pp. 101-112(12).
- Godoy A., V. Gendrop, V. Gendrop y A. Loera., 1997. Evaluación del crecimiento larval de camarón *Litopenaeus vannamei* bajo dos regimenes de alimentación. *Oceanología*. Año 5 Vol. 1. pp71-78.
- Guzman, Gaxiola; Rosa; Torre-Blanco., 2001. The effect of dietary protein and total energy content on digestive enzyme activities, growth and survival of *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus 1767) postlarvae. *Aquaculture Nutrition* vol. 7, no. 2, pp. 113-122(10).

- Hirata H., A. Mavrikos y Y. Shigehisa., 1985. Evaluation of the use of *Brachionus plicatilis* and *Artemia nauplii* for rearing prawn *Penaeus japonicus* larvae on a laboratory scale. Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ 34, No. 1, pp. 27-36.
- Hudinaga, M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. Jpn. J. Zool. Vol 10 pp. 305-393.
- Isiordia-Pérez E., 2001. Uso de alimentos no convencionales en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Facultad de Ingeniería Pesquera, Universidad Autónoma de Nayarit.
- Jones D.A., Holland D.L. y Jabborie, S., 1994. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. Applied biochemistry and biotechnology 10: pp. 275-288.
- Jones D.A., Kurmaly K., y Arshard A., 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. Aquaculture, Vol. 64 pp. 133-146.
- Jones A.D., Kamarudin S. Le Vay L., 1993. The potencial replacement of lives feeds in larval culture. World aquaculture society. Vol. 24 pp. 199-210
- Jones D.A. , Yule A. y Holland D.L., 1997. Larval Nutrition, In: Crustacean Nutrition. World Aquaculture Society. Louisiana.
- Jones D.A. Kumlu M., Le Vay L. y Fletcher D.J., 1997. The digestive

physiology of herbivorous, Omnivorous and carnivorous crustacean larvae.  
Aquaculture 155-295.

Jory, D.E., 1997. Penaeid shrimp hatcheries: Part III, Larval rearing: Article  
Aquaculture Magazine, 23 (1) pp. 67- 75.

Kanazawa, A., Thesima, S. y Sakamoto O., 1985. Effect of dietary lipids, Fatty  
acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus  
japonicus*) larvae. Aquaculture, Vol. 50, pp. 39-49.

Kanazawa A., 1986. New development in fish Nutrition. In. J.L. Maclean. L.B.  
Dizon y L.V. Hujillos (eds) its. Asian Fish Forum, Asian Fish. Soc. Manila.  
Pp. 9-14.

Kanazawa A, y Teshima S., 1998. Crustacea larval, microparticulado diet.  
Reviews in Fishery science 6 (1 y 2): pp.41-45

Kovalenko EE, D'Abbramo LR, Ohs CL, Buddington RK., 2002. : A successful  
microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium  
rosenbergii*. Elsevier Science Amsterdam Netherdam. Aquaculture. Vol.  
210 pp. 385-395.

Kuban, F.D., J.S. Wilkenfeld y A.L. Lawrence., 1983. Survival and growth of  
*Penaeus setiferus* L. and *Penaeus aztecus* Ives larvae fed *Artemia*  
beginning at the zoea two substage versus the mysis-one substage. J

World Maricult. Soc. 14: pp. 38-48.

Kuban, F.D., A.L. Lawrence y J.S. Wilkenfeld., 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture* 47: pp. 151-162.

Laubier Bonichon A, Van Wormhoudt A, Sellos D., 1997. Croissance larvaire controlée de *Penaeus japonicus* Bate. Enzymes digestives et changements des regimes alimentaires. Act. Coll. CNEXO. Vol. 4 pp 131-145.

Lawrence A.L. y He H., 1998. Requerimientos vitamonicos para camarones peneidos. *Avances en Nutrición Acuicola III, Shrim Mariculture Research. Agriculture Experiment Station, Texas.* Pp. 15-36.

Lee P.G., Smith L. y Lawrence A.L., 1984. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: Relationship between enzyme activity, size and diet. *Aquaculture*. Vol. 42 pp. 225-239.

Legar, P.H.; Bieber G.F.; Zorrueles, P., 1985. Internacional study on *Artemia*. Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* a prepared diet as algal substitute and for *Artemia* enrichment. *J. World Aquaculture, Soc.* (16): pp 354-367.

Le Moullac G., Roy P. y Van Wormhoudt A., 1993. Effects of trophic prophylactic factor son some digestive enzyme activities of *Penaeus vannamei* larvae. In: *Memorias primer congreso Ecuatoriano de Acuicultura.* (editado por J. Calderón y V. Sandoval). CENAIM. Ecuador.

Pp. 81-86.

- Le Vay L., Jones D.A., Puello-Cruz A. C., Shangha R.S. y Ngamphongsai C  
2001. Digestión in relation to feeding strategies exhibited by crustacean  
larvae. ELSEVIER, pp 624-630.
- Le Vay L., Rodriguez A., Kamarudin M.S. y Jones D.A., 1993. Influence of live  
and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus*  
*japonicus* larvae. *Aquaculture*. Vol 118. pp. 287-297.
- Lovett, D.L., Felder, D.L., 1990. Ontogenetic change in digestive enzyme  
activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustácea  
Decapoda, Penaeidae). *Bio. Bull.* 178, pp.144-159.
- Martínez- Córdoba, L., 1993. Congreso de Camaronicultura. CICYT de la U.S.  
Pp 223.
- Martínez-Córdova L.; Campaña Torres A.; Porchas-Comejo M.A., 2003. Dietary  
protein level and natural food management in the culture of blue  
(*Litopenaeus stylirostris*) and white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in  
microcosms. *Aquaculture Nutrition*. vol. 9, no. 3, pp. 155-160(6).
- Moc , C.R., Revera, D.B. y Fontaine C.T., 1980. Preliminary observations on  
the larval culture of *Penaeus stylirostris* using modifications of the  
Galveston technique. *Proc. Worls Maric. Soc.*, Vol. 11. pp. 10-117.
- Molina - Poveda C., Escobar V., Gamboa J. Cadena E., Orellana F y

Piña P., 2002. Estrategias de alimentación de acuerdo a la demanda Fisiologica de Juvenil *Litopenaeus vannamei* (Bonne) CENAIM, Guayaquil, Ecuador. Avances en Nutrición Acuicola VI.

Obaldo Leonard G., S Divakaran y Albert G. Tacon., 2002. Method determining the physical stability of shrimp feed in water. The Oceanic Institute, Waimanalo, Hawaii, USA. Aquaculture research. Vol. 33. pp 369-377.

Ocampo L. y Ezquerro J.M., 2002. Digestive proteasa activity in juvenile *Farfantepenaeus californiensis* as a function of dissolved oxygen and temperatura. Aquaculture Research. Vol. 33, pp. 1073-1080.

Pedroza-Islas R.; Gallardo P.; Vernon-Carter E.J.; Garcia-Galano T.; Rosas C.; Pascual C.; Gaxiola G., 2004. Growth, survival, quality and digestive enzyme activities of larval shrimp fed microencapsulated, mixed and live diets. Aquaculture Nutrition, vol. 10, no. 3, pp. 167-173(7).

Pérez-Farfante I., 1969. Western Atlantic Shrimps of the genus *Penaeus*. *Fish. Bull.* 461 pp 461- 591.

Pérez-Farfante I. and Kensley B., 1997, Penaeoid and Sergestoid Shrimp and Prawns of the World. Key and Diagnoses for the Families and Genera. Mémoires du Muséum National D'Historie Naturelle. Tome 175, Paris.

- Puello-Cruz A.C., 1998. Curso Internacional Sobre Alimentación del Camarón, Requerimientos nutricionales de larvas de camarón. Mazatlán Sin. México. CIAD, Mazatlán. P. 16.
- Puello-Cruz A., Sangha R.S., Jones D.A. y Le Vay L., 2002. Trypsin enzyme activity during larval development of *Litopenaeus vannamei* (Bonne) fed on live feeds). Aquaculture Research. Vol. 33. pp. 333-338.
- Puello-Cruz A.C., González B. Yen E., 2004. Cultivo de copépodos tropicales como alimento vivo alternativo para larvicultura de especies marinas. Panorama Acuicola. [www.panoramacuicola.com](http://www.panoramacuicola.com).
- Shanga R., A. C. Puello Cruz, M.C. Chavez- Sanchez y D.A. Jones., 2000. Survival and growt of *Litopenaeus vannamei* (Bonne) larvae fed a single dose of live algae and artificial diets with supplements.
- Smith, R.L., 1978. The midgut caeca and the limits of the hindgut of Brachyura : a clarification. Grustaceana 35 : pp.195-205.
- Smith, G., 2001. Optimizing the essential fatty acids, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid, in the diet of the prawn, *Penaeus monodon*. Aquaculture Nutrition. Vol. 7. no. 2. pp. 101-112.
- Sorgeloos, P., P. Lavens, P. Leger, W. Tackaert & D. Versichele. 1956.. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture.

Administración Belga para el desarrollo y la cooperación. FAO.  
Universidad Estatal de Gante, Facultad de Agricultura, Bélgica. p. 319.

Rodríguez A., Le vay L. Mourente G. y Jones D.A., 1994. Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology*. Vol. 118. pp. 45-51.

Romcu E., 2002. El camarón Biodiversidad y Recurso. [www.  
Conabio.gob.mx/instrucion/conabio-español/doctos/camaron/html](http://www.Conabio.gob.mx/instrucion/conabio-español/doctos/camaron/html).

Rosenberry, B., 1997. *World Shrimp Farming*. P. 284.

Shields, J.R., Bell, G.J., Luizi, S. F., Gara, B., Bromage, R. N. y Sarget, R. J., 1999. Natural copepods are superior to Enriched *Artemia* nauplii as feed for Halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in term of survival, pigmentation and retinal morphology : relation to dietary essential fatty acids. *Journal of Nutrition*. 129 : pp.1186-1194.

Suárez-Morales, E., J.W. Reid y R. Gasca., 1999. Free-living marine and freshwater Copepoda (Crustacea) from Mexico. *In* A.N. Garcia-Aldrete y J. Llorente-Bousquets (eds.), *Biodiversidad, taxonomía y biogeografía de artrópodos de México*. II. cona-bio/Instituto de Biología, unam, México.

Thesima S.I., Kanazawa A., y Sakamoto, M., 1982. Microparticulate diets for the larvae of aquatic animals. *Mini Review Data File Fisher. Res.*,

Kagoshima Univ., Vol. 2, pp. 67-86.

Teshima S.I., y Kanazawwa, A., 1985. Nutritional requirement of fish larvae.

Saibaigiken, Vol.14, pp.87-85.

Torrentera Blanco L., Tacon A., 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Apoyo a las actividades regionales de acuicultura para América Latina y el Caribe. FAO. Brasil.

Treece, G.D y M.E. Yates., 1993. Manual de laboratorio para el cultivo de larvas de camarón Peneido. Texas A y M University; Texas, U.S.A. p.83.

Van Wormhoudt, A., 1973. Variation des proteases, des amylase et des proteines soluble au curs du developpement larvaire chez *Palaemon serratus*. Mar. Biol.19;pp. 245-248.

Van Wormhoudt, A., and D. Sellos, 1980. Aspects biochemiques de la croissance: ácidos nucléiques et enzymes digestives chez *Palaemon serratus* (Crustácea Natantia). Oceanol. Acta 3 (1);pp. 97-105.

Villamar D.F. and Brusca, G.J., 1987. Survival and growth of crangon nigricauda larvae (Decapoda Caridea) raised on experimental diets. J. World Aquaculture Soc. (18) 1: pp.11-25.

- Voik , E.C., Wissmar, R.C., Simenstad, A.C. and Eggers, D.M., 1984. Relationship between otolith: microstructure and the growth of juveniles chum salmon (*Oncorhynchus keta*) under different prey rations. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science. 41 : pp.126-133.
- Watanabe T., C. Kitajima & S. Fujita., 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture, 34(1983):pp. 115–145.
- Wickins, J.F.,1976. Prawn biology and culture. *Ann. Rev. Oceanogr. Mar. Biol.*14: pp 435-507.
- Wilkenfeld J.S., 1992. Comercial hatchery status report: an industry panel viewpoint. In: Survival and growth of *Litopenaeus vannamei* (Bonne) larvae fed a single dose of live algae and artificial diets with supplements (editado por R.S. Sangha, Puello A.C., M.C. Chavez Sanchez & D A Jones) pp. 683-689. Aquaculture Research, 2000. Blackwell Science Ltd.
- Ward-Booth, K. y Reiss, M., 1988. Artemia Salina: an easily cultured invertebrate ideally suited for ecological studies. *J.Biol.Educ.*, 22 (4), pp. 247-251.

## X.- ANEXO

---

### TÉCNICA PARA ANÁLISIS DE PROTEÍNA.

Preparación de las soluciones

Solución prestock:

Disuelve 4 g de NaOH + 30 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Afora con agua destilada a 1 L (guardar a temperatura ambiente).

Tartrato de Sodio y Potasio 4% (wv):

Disuelve 4g de  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  y afora con agua destilada a 100ml (guardar en refrigerador).

Sulfato cúprico 2% (wv):

Disuelve 2g de  $\text{CuSO}_4$  y afora con agua destilada a 100ml (guardar a temperatura ambiente).

Solución estándar:

Albumina de suero bovino (BSA) 0.2 mg/ml.

Disuelve 20 mg y afora a 100 ml con agua destilada. Dividir alicuotas y guardar en tubos pequeños en el congelador.

Reactivo de Folin:

Producto comercial

Solución Lowry A:

Mezcla 1 ml de solución de tartrato de NaK + 1 ml de solución  $\text{CuSO}_4$  afora con solución pre-stock a 100 ml. Nota: respeta el orden de adición de las soluciones para evitar formación de precipitados. La cantidad de nuestra a preparar es de acuerdo al número de muestras a procesar.

### Solución Lowry B:

Diluir Reactivo Folin 1:1 con agua destilada. Calcular la cantidad a preparar según las muestras procesadas diarias. Esta solución dura solo un día.

### Espectrofotómetro:

Prender el espectrofotómetro 45min. con anterioridad. Coloca los datos para lectura:

Task/Quantification/Set-up

WAVELENGTHS

Use wavelength 660 nm

Background correction none

CALIBRATION

Analytic name bsa Calibration curve type Lineal Off Set

ENTER CONCENTRATION

Concentration ug Units

Weight & Volume Weight/\_ Volume Units

\_Prompt for standard information \_Prompt for standard information

DATA TYPE DISPLAY SPECTRUM

Absorbance From\_nm To\_nm

**Una vez incluido todos los datos presiona OK para que queden registrados.**

### Preparación de la muestra:

- 1.- Se cuentan 10 larvas como mínimo y se lavan con agua destilada para después ser almacenada a -20°C.
- 2.- Homogeneizar la muestra con tris buffer (500ml\*2), en baño frío.
- 3.- Centrifugar a 12000rpm, 4°C, 3 min.
- 4- Separar sobrenadante (975µl).

5.- Colocarlos en tubos eppendorf y almacenarlos en congelación (-20°C) o procesarlo. No almacenar por más de 6 meses. Esta muestra será la misma que se use para determinar Tripsina\*.

## Ejemplo:

### Determinación de la curva estándar

Número tubo	Vol (µl) BSA 0.2 mg/ml	Vol (µl) agua dest.	Vol (µl) Loweys A		Vol (µl) Loweys B	Dejar un lapso de 30 seg* entre muestras	µg proteína
1	0	250	1000		125 *		0
2	0	250	1000		125 *	Al agregarle al último	0
3	25	225	1000		125 *	tubo se dejan reposar	5
4	25	225	1000		125 *	a completar	5
5	50	200	1000		125 *	20 min*	5
6	50	200	1000		125 *	Ejeda:	10
7	75	175	1000	Agitar y dejar reposar por 10 min.	125 *	con el estándar al	15
8	75	175	1000		125 *	agregar Solo B al	15
9	100	150	1000		125 *	último tubo el	20
10	100	150	1000		125 *	primero lleva 17 min.	20
11	125	125	1000		125 *	entonces solo	25
12	125	125	1000		125 *	repositará 3 min para	25
13	150	100	1000		125 *	leer el primer tubo.	30
14	150	100	1000		125 *		30
15	175	75	1000		125 *	Leer las muestras	35
16	175	75	1000		125 *	cada 30 seg	35
17	200	50	1000		125 *		40
18	200	50	1000		125 **		40

Una vez leídas todas las muestras del estándar se escriben µg proteína en la columna de bsa (µg) y se presiona Calibrate. Si algún punto sale de la recta se puede eliminar. No se deben eliminar más de tres puntos. Show Coefficient muestra el comportamiento de la curva estándar:

#### Calibration Results Summary

Analytical Name	bsa	Coefficient k1	483.36000
Number of Standards	18	Std. Dev of k1	7.86500
Calibration Curve	$C=k0+(k1*A)$	Std. Dev of Calibrat	4.44680
Coefficient k0	-16.13300 µg	Correl. Coeff. (R'2)	0.99578

El valor de Correl. Coeff. (R'2) debe acercarse lo más posible a 1 sin rebasarlo.

Después de esto se corren las muestras

### Lectura de las muestras:

Diluir 1:0.5 (muestra: buffer) para completar a 300  $\mu$ l de muestra (sobrenadante)  
Para leer por triplicado. El proceso de preparación es igual que el de la curva estándar.

El valor del blanco (buffer [tris base pH 8] con el cual se hizo la dilución arriba mencionada) se restará de las lecturas de las muestras para corregir los resultados.

	Solución	Vol ( $\mu$ l) muestra	Vol ( $\mu$ l) agua dest.	Vol ( $\mu$ l) Lowry A	Agitar / dejar	Vol ( $\mu$ l) Lowry B	
Muestra	sobrenadante	100	150	1000	reposar	125 *	
Blanco	buffer	0	250	1000	por 10 min	125 **	

\* Dejar un lapso de 30 seg\* entre muestras.

- Al agregarle al último tubo se dejan reposar a completar 20 min\*.
- Leer las muestras cada 30 seg.
- El software da directamente la cantidad de proteína en la alicuota medida.  
Para obtener la concentración en mg/ml hay que dividir la lectura entre la alicuota y multiplicar por el factor de dilución.
- Para salvar los valores:

File/Print to file/Current View/nombre.txt

- Para imprimir:

File/Print / Current View.

## **ANALISIS DE LA ACTIVIDAD DE TRIPSINA**

(Antes Rick, 1974)

### **Preparación de las soluciones.**

#### **Buffer:**

Disuelve 2,78g Trizma base en 400ml de agua destilada. Agrega 12.8ml de 5%  $\text{CaCl}_2$  ajusta el pH a 8.1 con HCl 1N. Afora con agua destilada a 500ml  $\text{CaCl}_2$  5% (wv).

#### **$\text{CaCl}_2$ 5% (wv)**

Disuelve 5g de  $\text{CaCl}_2$  afora con agua destilada a 100ml.

#### **HCl 1N:**

Producto comercial.

#### **TAME:**

Disuelve 37.9mg de TAME afora a 10ml con agua destilada.

### **PREPARACION DE LA MUESTRA.**

#### Preparación de la muestra:

- 1.- Se cuentan 10 larvas como mínimo y se lavan con agua destilada para después ser almacenada a  $-20^\circ\text{C}$ .
- 2.- Homogeneizar la muestra con tris buffer (500ml<sup>2</sup>), en baño frío.
- 3.- Centrifugar a 12000rpm,  $4^\circ\text{C}$ , 3 min.
- 4- Separar sobrenadante (975 $\mu\text{l}$ ).

Para las muestras se mezclan:

- 1.- 800 $\mu\text{l}$  buffer+200  $\mu\text{l}$  de muestra + 100  $\mu\text{l}$  TAME
- 2.- Se lee por 180seg cada 3 seg (30 presiones a sample del espectrofotómetro).
- 3.- Se lee por triplicado

A las absorbancias obtenidas se les aplica la ecuación de la recta.  $R^2$  debe ser lo más cercano a 1 y el valor utilizado (Abs) en la fórmula será "m".

$$\text{Actividad total} = \frac{(\text{Vol. de la muestra}) * (\text{vol. mezcla en cuba})}{(\text{Vol. muestra en mezcla}) * (\epsilon) * (d)} * (\text{Abs})$$

$\epsilon$  = Coeficiente de extinción del TAME ( $0.54\text{cm}^2 / \mu\text{mole}$ )

Abs = absorbancia

t = tiempo en minutos

d = Longitud en cuba (1cm).

#### Forma de expresar la actividad

**Actividad por organismos = TA/no. de organismos en la muestra.**

**Actividad específica = TA/ contenido proteico**

**Contenido específico = TA/ peso seco**