

00381

9



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FISIOLOGIA Y BIOQUIMICA DE LA NUTRICION DE  
POSTLARVAS TEMPRANAS DE LOS CAMARONES  
BLANCOS *Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767)  
Y *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931).

292805

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS ( BIOLOGIA )**

**P R E S E N T A**

**M. en C. Roberto Brito Pérez**

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS ROSAS VAZQUEZ

2001

MÉXICO, D.F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se realizó en las instalaciones de la Facultad de Ciencias, UNAM, sede Ciudad del Carmen, Campeche, con apoyo de una beca otorgada por la fundación MUTIS y formando parte de los proyectos DGAPA 214596 bajo la dirección del Dr. Carlos Rosas Vázquez y CONACyT 3293-PN 9607, bajo la dirección de la Dra. Gabriela Gaxiola Cortés.

## INDICE

INTRODUCCION .....	2
MATERIALES Y METODOS .....	7
Origen de los animales. ....	7
Condiciones experimentales. ....	8
Crecimiento. ....	10
Análisis de las enzimas digestivas. ....	10
Determinación del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada. ....	12
Procesamiento estadístico de los datos. ....	13
RESULTADOS .....	14
Crecimiento y contenido de proteínas solubles. ....	14
Actividad enzimática. ....	16
Consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y relación O:N. ....	23
DISCUSIÓN .....	33
Crecimiento y contenido de proteínas solubles. ....	33
Actividad enzimática. ....	35
Consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y relación O:N. ....	42
CONCLUSIONES.....	48
RECOMENDACIONES.....	49
LITERATURA CITADA .....	50
AGRADECIMIENTOS .....	57

## INTRODUCCION

Los camarones peneidos constituyen el grupo de crustáceos más importantes para la acuicultura a nivel mundial, por lo que se reconoce que el conocimiento sobre la alimentación de estos organismos en sistemas de cultivo es un factor primordial para el desarrollo exitoso de esta actividad.

El camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), es considerado una de las especies de peneidos más importantes para la producción comercial en las costas del Pacífico desde México hasta el norte de Perú. En México esta especie ha sido ampliamente utilizada para el cultivo tanto en las costas del Pacífico como en el Golfo de México.

El mayor interés en la utilización de *L. vannamei* para la acuicultura ha partido de estudios en los que se ha encontrado que esta especie tiene una mayor tasa de crecimiento que otros peneidos como *L. setiferus* y *L. stylirostris* (Parker et al., 1974; Conte, 1978; Trimble, 1980; Chamberlain et al., 1981). Sin embargo en la actualidad se conoce que *L. vannamei* es una especie susceptible de contraer enfermedades las cuales se han diseminado por todo el continente americano, afectando incluso a las especies del Golfo de México (Overstreet, 1997; Hasson et al., 1999).

*Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767), es una especie nativa del Golfo de México con potencial para la acuicultura en esta región. Sandifer et al. (1993) y Hopkins et al. (1993) afirman que *L. setiferus* puede constituir una especie viable como alternativa para el cultivo intensivo en la costa atlántica de América. Esto se correspondería no sólo con un interés económico, sino también con el interés ecológico en desarrollar una acuicultura basada en especies locales. Sin embargo, la falta de un extenso conocimiento acerca de la producción de postlarvas de *L. setiferus* y sus menores tasas de crecimiento al compararla con otras especies constituyen factores que limitan su cultivo a escala comercial.

El desarrollo larval de los peneidos es uno de los procesos más complicados en los decápodos. Los cambios en el hábitat de planctónico a bentónico ocurren gradualmente durante las dos primeras semanas de vida postlarval mientras las postlarvas migran hacia la zona de cría en los estuarios y están acompañados de cambios en los hábitos alimenticios (Pérez-Farfante, 1969).

Junto con estos cambios en sus hábitos, en las postlarvas tempranas de los peneidos se producen grandes cambios morfológicos y fisiológicos que les permiten la adaptación a las variaciones ambientales propias de la transición entre los ambientes marino y estuarino. Felder et al. (1985) y Lovett y Felder (1989, 1990a, 1990b) describieron los cambios ontogenéticos asociados con el desarrollo del tracto digestivo, la cinemática del intestino y los cambios en la actividad de las enzimas digestivas de las larvas y postlarvas del camarón *L. setiferus*. Las variaciones en la actividad de las

enzimas digestivas durante este periodo permiten a los camarones digerir y asimilar eficientemente una nueva dieta (Lovett y Felder, 1990a).

Según Lovett y Felder (1990b) el incremento en el tiempo de retención del alimento, la disminución de la motilidad del tracto digestivo y el incremento del tiempo entre sucesivas ingestiones en estadios postlarvales tardíos, pudiera reflejar un incremento en la eficiencia de la digestión y asimilación, que ocurre según el tracto digestivo obtiene la morfología de adultos, o un decremento ontogenético de los requerimientos metabólicos respecto al peso.

En muchas postlarvas de peneidos se ha relacionado el consumo de oxígeno con factores ambientales tales como la temperatura, la salinidad y la concentración de oxígeno disuelto en el medio (Gaudy y Sloane, 1981; Licop, 1984; Chu y Ovsianico-Koulikovsky, 1994; Villarreal et al., 1994; Rosas et al., 1997a). Sin embargo pocos estudios han estado enfocados a analizar la relación entre el consumo de oxígeno y la dieta o el estado nutricional de los primeros estadios postlarvales de los peneidos, aun cuando esta etapa resulta crítica tanto para comprender los mecanismos involucrados en el reclutamiento a los sistemas estuarinos como para asegurar una buena sobrevivencia durante el cultivo (Kurmaly et al., 1989; Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994; Rosas et al., 1995).

La gran mayoría de los animales acuáticos son amoniotélicos, siendo el amoniaco el principal producto final del metabolismo del nitrógeno. El amoniaco representa un bajo costo metabólico ya que se forma en muchas reacciones catabólicas y no requiere de procesamientos posteriores para su excreción (Kormanik y Cameron, 1981). En los crustáceos el amoniaco comprende entre el 40 y el 90% de la excreción nitrogenada (Parry, 1960) y es excretado en su mayor parte a través del epitelio branquial (Kinne, 1976; Kormanik y Cameron, 1981).

El creciente uso de índices metabólicos como O:N y O:P (razón atómica entre el oxígeno consumido y el nitrógeno o fósforo excretado) parte de cálculos teóricos realizados por Harris (1959) al estudiar el catabolismo de los mamíferos. La hipótesis de la utilización de la razón O:N como un indicador del sustrato oxidado en el metabolismo energético de crustáceos fue desarrollada posteriormente por Conover y Corner (1968).

La razón entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado ha sido ampliamente utilizada como índice del sustrato metabólico que es oxidado por los crustáceos (Regnault, 1981, Dall y Smith, 1986; Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994; Rosas et al., 1995). Según Mayzaud y Conover (1988) en la razón O:N no sólo se refleja el tipo de sustrato metabólico que está siendo oxidado, si no que también indica la relación entre los animales y el alimento que ingieren, dependiendo de la utilización que se haga del suministro de aminoácidos para el crecimiento, la producción de energía o la síntesis de

otros compuestos. Esta información ayuda a optimizar el manejo de la alimentación en cuanto al nivel proteico más adecuado en la dieta, cuando se trata de organismos cultivados y permite comprender la forma en que los organismos están adaptados a las variaciones de los alimentos presentes en el medio silvestre.

En estudios con larvas y postlarvas tempranas de peneidos es necesario tener en cuenta que estos estadios se alimentan de forma continua (Lovett y Felder (1990a y b), por lo que en estos casos el consumo de oxígeno refleja los costos metabólicos asociados a la ingestión y asimilación de los alimentos (Rosas et al., 1995). De esta forma en el cálculo de la relación O:N para estos estadios no es posible separar la fracción del consumo de oxígeno que responde a la manipulación e ingestión del alimento.

Existe una estrecha relación entre la actividad metabólica, el nivel de proteínas de la dieta y el origen del alimento ofrecido a los animales. Rosas et al. (1995) encontraron que la razón O:N en las postlarvas de *L. setiferus*, *L. schmitti*, *Farfantepenaeus duorarum* y *F. notialis* se modificó de acuerdo al nivel de proteínas dietéticas, indicando el catabolismo de proteínas al ser alimentadas con un exceso de proteínas en la dieta y el catabolismo de sustratos mixtos (proteína y lípidos) cuando la dieta presentaba niveles óptimos de proteína. Estos resultados muestran que las postlarvas son capaces de modificar el sustrato metabólico en función de la concentración de proteínas en la dieta, las cuales pueden ser utilizadas tanto como fuente de energía o para el crecimiento. En niveles óptimos de proteínas se ha observado que los camarones utilizan todos los componentes de la dieta para la obtención de ATP, canalizando las proteínas preferentemente para el crecimiento.

La mayoría de los estudios llevados a cabo sobre la actividad de las enzimas digestivas de los camarones peneidos se han enfocado a los estadios larvales o adultos, con pocas referencias a los primeros estadios de desarrollo postlarval (Lovett y Felder, 1990a; Lee y Fang, 1992; González et al., 1994; Lemos y Rodríguez, 1998; Lemos et al., 1999; Ribeiro y Jones, 2000).

En diversos peneidos se ha encontrado una relación entre el tipo de alimento y la actividad de las enzimas digestivas en los diferentes estadios de desarrollo larval y postlarval. Estas variaciones que ocurren en la actividad de las enzimas digestivas han sido relacionadas con los cambios ontogenéticos del tracto digestivo (Lovett y Felder, 1990) así como con la cantidad o calidad de algún componente de la dieta (Le Vay et al., 1993a y 1993b; Rodríguez et al., 1994; Le Moullac et al., 1996; Lemos y Rodríguez, 1998). Se ha observado que las larvas secretan mayores niveles de enzima cuando los nutrientes de la dieta tales como las proteínas son escasos o poco digeribles (Kumlu y Jones, 1995; Le Mullac et al., 1994; Le Vay et al., 1993a y 1993b; Kumlu et al., 1992)

Aunque los nauplios de *Artemia* han sido ampliamente utilizados para el cultivo de larvas de peneidos (Sorgeloos et al., 1998), desde principios de la década del 70 se han realizado numerosos intentos para sustituirlos por alimento artificial. A pesar de que la sustitución parcial del alimento vivo por alimento artificial constituye una práctica rutinaria en el cultivo de camarones, cuando se reemplaza totalmente el alimento vivo se obtienen generalmente menores crecimientos, lo que significa que hasta el momento ningún tipo de alimento artificial cubre totalmente los requerimientos nutricionales de las fases larvares del camarón (Jones, 1998).

Kumlu y Jones (1995a) han mostrado que la actividad enzimática, el crecimiento y la sobrevivencia de las postlarvas de *Fenneropenaeus indicus* se incrementa en presencia de alimento vivo, en comparación con el uso de dietas artificiales solas. La combinación de un alimento natural, aún congelado, en pequeñas concentraciones en combinación con el alimento artificial mostró resultados similares a los obtenidos en animales alimentados únicamente con alimento vivo

En relación con esto, se ha observado que incluso la adición de pequeñas proporciones de algas a los alimentos artificiales promueve la actividad de las enzimas digestivas, la asimilación de la dieta, el crecimiento y la supervivencia, sugiriéndose la presencia en las algas de alguna sustancia estimulante de la actividad enzimática de las larvas (Kumlu et al., 1992; Le Vay et al., 1993a y 1993b; Le Moullac et al., 1994; Kumlu y Jones, 1995a).

La necesidad de lograr un adecuado manejo de las fases larvales y postlarvales de los peneidos ha estimulado la investigación de su nutrición relacionándola con aspectos que incluyen factores ambientales, el desarrollo ontogenético, así como variaciones de la fisiología y la actividad de las enzimas digestivas como respuestas ante diferentes dietas en diversas especies de camarón.

El crecimiento es considerado un indicador que integra las adaptaciones fisiológicas y bioquímicas de los organismos a las condiciones ambientales, incluido el alimento (Beamish et al., 1975), por lo que ha sido de gran utilidad en la determinación de los requerimientos nutricionales y del efecto causado por diferentes dietas en las especies en cultivo.

Se ha observado que la capacidad de obtención de la energía metabólica (O·N) en peneidos es dependiente del tipo de alimento, el cual afecta de manera particular a las diferentes especies. Así mismo se sabe que la actividad de las enzimas digestivas en larvas puede estar relacionada con el crecimiento y desarrollo, aunque esto también depende del tipo de alimento y la especie. Recientemente se ha demostrado que los juveniles de *L. setiferus* y *L. vannamei* en cultivo presentan tasas metabólicas y requerimientos nutricionales diferentes (Rosas et al., 2001). Si estas diferencias están genéticamente determinadas, entonces diferencias similares deberán observarse durante el desarrollo larval de ambas especies



Teniendo en cuenta la importancia que tiene para el éxito del cultivo el manejo adecuado de la nutrición de las postlarvas tempranas de *L. setiferus* y *L. vannamei*, se diseñaron una serie de experimentos dirigidos a comprender la relación entre el tipo de dieta y las respuestas fisiológicas y bioquímica de las fases tempranas de ambas especies

En este contexto se ha considerado que la relación O:N y la actividad de las enzimas digestivas podrían ser usados como herramientas para comprender los mecanismos de adaptación energética y bioquímica que le permiten a cada especie ser exitosa y al mismo tiempo explicar las razones asociadas a las diferencias observadas entre estas especies. Tomando en cuenta que la relación O.N refleja la actividad fisiológica y bioquímica durante los procesos de digestión, entonces esta respuesta está relacionada con la variación de la actividad de las enzimas digestivas frente a diferentes tipos de dieta.

Por lo que el presente estudio tiene como objetivo comprender algunos mecanismos fisiológicos y bioquímicos involucrados en la digestión y aprovechamiento energético del alimento. Para esto se utilizaron diferentes combinaciones de alimentos vivos y artificiales suministrados a los primeros estadios postlarvales de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*. La relación entre estas respuestas y el crecimiento fue considerada con el fin de encontrar cual de estas combinaciones de alimentos resulta más adecuada para el cultivo de las postlarvas de estas especies.

## MATERIALES Y METODOS

### Origen de los animales.

Los organismos de la especie *Litopenaeus setiferus* utilizados en los experimentos fueron criados en el Laboratorio de Biología Marina Experimental, de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en Ciudad del Carmen, Campeche y fueron obtenidos a partir de reproductores capturados en el medio natural en la Sonda de Campeche, frente a la Isla del Carmen. Las larvas fueron obtenidas de animales madurados y desovados en el laboratorio y criadas hasta el estadio de mysis I (M<sub>I</sub>) en tanques de fibra de vidrio de 400 litros de capacidad. Durante esta etapa las larvas fueron alimentadas siguiendo el esquema de alimentación descrito por Gallardo et al. (1995), basado en diatomeas (*Chaetoceros gracilis*), flagelados (*Tetraselmis chuii*) y nauplios de *Artemia* recién eclosionados (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc., Apopka, FL, USA) (Tabla 1).

Tabla 1. Esquema de alimentación utilizado en la cría de larvas de *L. setiferus*. Concentración de algas en células ml<sup>-1</sup>, concentración de nauplios de *Artemia* (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) en nauplios ml<sup>-1</sup>. Gallardo et al. (1995)

Alimento	Estadios			
	N <sub>v</sub>	PZ <sub>I-II</sub>	PZ <sub>III</sub>	M <sub>I</sub>
<i>Chaetoceros gracilis</i>	30 000	30 000	40 000	40 000
<i>Tetraselmis chuii</i>	2 000	2 000	3 000	3 000
nauplios de <i>Artemia</i>			0.5	1

N, nauplio; PZ, protozoa; M, mysis

Los organismos de la especie *Litopenaeus vannamei* fueron obtenidos en la granja camaronera de Industrias Pecis, S.A. de C.V., ubicada en Sisal, Mérida. Los animales fueron trasladados al Laboratorio de Biología Marina Experimental, de la Facultad de Ciencias de la UNAM, en Ciudad del Carmen, Campeche, en el estadio de nauplio. Se criaron hasta M<sub>I</sub> en tanques de fibra de vidrio de 400 litros de capacidad, siguiendo el esquema de alimentación propuesto por E. Alfonso (comunicación personal, 1998) y basado en diatomeas (*Chaetoceros gracilis*), flagelados (*Tetraselmis chuii*) y nauplios de *Artemia* recién eclosionados (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) (Tabla 2).

Para ambas especies los nauplios se sembraron a una densidad de 100 nauplios L<sup>-1</sup> en un volumen inicial de 200 L, durante los subestadios de protozoa se aumentó el volumen de agua en los tanques de cultivo hasta alcanzar 400 L y una densidad de 50 larvas L<sup>-1</sup> en el estadio de P<sub>III</sub>. En el estadio de mysis I se realizó un recambio del 50% del agua en los tanques. El cultivo de las larvas se llevó a cabo a una temperatura de 28±1°C y salinidad de 35±1‰, manteniéndose la concentración de oxígeno disuelto por encima de 5 mg L<sup>-1</sup>.

Tabla 2. Esquema de alimentación utilizado en la cría de larvas de *L. vannamei*. Concentración de algas en células  $\text{ml}^{-1}$ , concentración de nauplios de *Artemia* (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) en nauplios  $\text{ml}^{-1}$ . E. Alfonso (comunicación personal, 1998)

Alimento	Estadios				
	N <sub>v</sub>	PZ <sub>I</sub>	PZ <sub>II</sub>	PZ <sub>III</sub>	M <sub>I</sub>
<i>Chaetoceros gracilis</i>	10 000	40 000	75 000	75 000	85 000
<i>Tetraselmis chuii</i>	2 500	6 000	10 000	10 000	25 000
nauplios de <i>Artemia</i>				0.2	1

N, nauplio; PZ, protozoa; M, mysis

Condiciones experimentales.

Tabla 3. Esquema de alimentación utilizado en los diferentes tratamientos con *L. setiferus*. Concentración de algas en células  $\text{ml}^{-1}$ , concentración de nauplios de *Artemia* (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) en nauplios  $\text{ml}^{-1}$ , alimento microparticulado comercial (AMC, Microfeast MY-100, Burns Philp Food Inc.) en gramos ración<sup>-1</sup>

Tratamiento	Alimento	Estadios				
		M <sub>II</sub>	M <sub>III</sub>	PL <sub>1</sub>	PL <sub>2-6</sub>	PL <sub>7-10</sub>
1	nauplios de <i>Artemia</i>	1	1.5	1.5	2	2.5
2	nauplios de <i>Artemia</i>	1	1.5	1.5	2	2.5
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	30 000	30 000	30 000	35 000	40 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	3 000	3 000	3 000	3 500	4 000
3	AMC	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
4	AMC	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	30 000	30 000	30 000	35 000	40 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	3 000	3 000	3 000	3 500	4 000
5	nauplios de <i>Artemia</i>	0.5	0.75	0.75	1	1.25
	AMC	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
6	nauplios de <i>Artemia</i>	0.5	0.75	0.75	1	1.25
	AMC	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	30 000	30 000	30 000	35 000	40 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	3 000	3 000	3 000	3 500	4 000

A partir del estadio de M<sub>II</sub> las larvas de ambas especies fueron transferidas a tanques plásticos circulares de 35 litros de capacidad a razón de 60 larvas L<sup>-1</sup>. Los animales fueron mantenidos a temperatura y salinidad constantes de 28±1°C y 35±1‰ respectivamente, con fotoperiodo controlado (13 horas de luz y 11 horas de oscuridad) y aireación constante. Diariamente se realizó un recambio del 50-70% del agua de mar en los tanques de acuerdo a la edad de los organismos. Los recambios

de agua se realizaron con ayuda de un sifón creando una corriente de succión suave para no perturbar a los animales y utilizando una malla de 400  $\mu\text{m}$  la cual permitió eliminar las heces, mudas, los nauplios de *Artemia* y restos de alimento no consumidos.

Las diferentes cantidades, tipos y mezclas de alimentos utilizados en cada tratamiento se muestran en las Tablas 3 y 4. En cada caso el alimento se ofreció a los organismos hasta alcanzar el estadio de postlarva 10 (PL<sub>10</sub>, diez días a partir de la metamorfosis). Con el fin de mantener las concentraciones de alimento lo más constante posible, éstas se ajustaron cuatro veces al día (01:00, 07:00, 13:00 y 19:00 horas).

Tabla 4. Esquema de alimentación utilizado en los diferentes tratamientos con *L. vannamei*. Concentración de algas en células  $\text{ml}^{-1}$ , concentración de nauplios de *Artemia* (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) en nauplios  $\text{ml}^{-1}$ , alimento microparticulado comercial (AMC, Microfeast MY-100, Burns Philp Food Inc.) en gramos ración<sup>-1</sup>

Tratamiento	Alimento	Estadios								
		M <sub>II</sub>	M <sub>III</sub>	PL <sub>1</sub>	PL <sub>2</sub>	PL <sub>3</sub>	PL <sub>4</sub>	PL <sub>5</sub>	PL <sub>6</sub>	PL <sub>7-10</sub>
1	nauplios de <i>Artemia</i>	1.5	2	3	3.5	3.5	4	4	4	4.5
2	nauplios de <i>Artemia</i>	1.5	2	3	3.5	3.5	4	4	4	4.5
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	60 000	50 000	50 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	20 000	20 000	15 000	10 000	10 000	10 000	5 000	5 000	5 000
3	AMC	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
4	AMC	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	60 000	50 000	50 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	20 000	20 000	15 000	10 000	10 000	10 000	5 000	5 000	5 000
5	nauplios de <i>Artemia</i>	0.75	1	1.5	1.75	1.75	2	2	2	2.25
	AMC	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
6	nauplios de <i>Artemia</i>	0.75	1	1.5	1.75	1.75	2	2	2	2.25
	AMC	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
	<i>Chaetoceros gracilis</i>	60 000	50 000	50 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000
	<i>Tetraselmis chuii</i>	20 000	20 000	15 000	10 000	10 000	10 000	5 000	5 000	5 000

El alimento microparticulado comercial (AMC) utilizado (Microfeast MY-100, Burns Philp Food Inc., Bartlesville, OK, USA) contiene los siguiente ingredientes: calamar, proteína de pescado y proteína vegetal, aceite de pescado procesado, levadura, lecitina, colesterol, vitamina C, vitaminas, minerales y etoxiquina como antioxidante.

Para la obtención de los nauplios de *Artemia*, los quistes (*Artemia franciscana*, Aquatic Eco-Systems Inc.) se desinfectaron en hipoclorito de sodio, se lavaron con abundante agua dulce y se colocaron en eclosionadores de 2 L con agua de mar a 35 ‰ con iluminación constante

Los eclosionadores se mantuvieron con aireación constante desde el fondo con el fin de mantener los quistes en suspensión. Los nauplios se cosecharon entre 18 y 20 horas después de haber sido sembrados, se lavaron con agua de mar (35 ‰), eliminándose los quistes no eclosionados y nauplios muertos. Este proceso se repitió dos veces al día para disponer de nauplios recién eclosionados en cada alimentación.

Las algas utilizadas fueron cultivadas mediante sistema estático en volúmenes de 18 L con medio Guillard (1975) y fueron suministradas a las larvas en la fase exponencial de la curva de crecimiento.

En la Tabla 5 aparecen la composición de proteínas, lípidos, carbohidratos y ceniza expresadas como porcentaje del peso seco y el tamaño en micrómetros de los diferentes alimentos utilizados.

Tabla 5. Composición (% del peso seco) y tamaño de los diferentes alimentos utilizados

Alimentos	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Ceniza	Tamaño (µm)	Referencia
AMC	50	12		12	50-100	Producto comercial
nauplios de <i>Artemia</i>	56.2	17.5	16.5	9.8	480-510*	Rodríguez et al (1994)
nauplios de <i>Artemia</i>	56.5	14.6	17.4	6.7		Lemos y Rodríguez (1998)
nauplios de <i>Artemia</i>	52.2	18.9	14.8	9.7		Tacon (1990)
nauplios de <i>Artemia</i>	55	18.9	14.8			Leger y Sorgeloos (1992)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	6.9	4.1	15.2	73.8		Rodríguez et al. (1994)
<i>Chaetoceros sp</i>	36.7	17	6.2	21.2	8.3 x 5.5	Renaud et al. (1999)
<i>Tetraselmis chunii</i>	49	4.3	24.7			Kurmaly et al. (1990)
<i>Tetraselmis sp</i>	29.9	12.6	8	17.2	9.2 x 6.9 12.6 x 8.1	Renaud et al. (1999)

AMC, alimento microparticulado comercial; \**Artemia franciscana* (Aquatic Eco-Systems Inc.) Gelabert, comunicación personal

#### Crecimiento.

Para determinar el crecimiento en peso de los camarones se determinó el peso seco individual de las postlarvas. Para esto se colectaron aleatoriamente 10 individuos desde PL<sub>1</sub> a PL<sub>10</sub> de cada tratamiento, se lavaron con agua destilada, se secaron en una estufa a 60°C durante 24 horas y posteriormente fueron pesados individualmente en una microbalanza CAHN modelo C-33 con precisión de 0.001 mg.

#### Análisis de las enzimas digestivas

Para el análisis de la actividad enzimática se recolectaron de cada tratamiento experimental entre 30 y 50 organismos, dependiendo del estadio de desarrollo. De *L. setiferus* se tomaron muestras en M<sub>III</sub>, PL<sub>1-3</sub>, PL<sub>5</sub> y PL<sub>10</sub>. De *L. vannamei* se tomaron muestras en todos los estadios desde M<sub>III</sub> hasta PL<sub>10</sub>. En todos los casos los animales se recolectaron entre las 10:00 y las 12:00 h, horario que comprendió un lapso entre dos y cuatro horas después de haber sido ajustada la concentración del alimento. Los

organismos se lavaron con agua destilada, se congelaron inmediatamente y se mantuvieron en nitrógeno líquido en tubos Ependorff hasta su procesamiento.

Para preparar los extractos de las larvas y postlarvas se añadió a cada tubo 500  $\mu\text{L}$  de agua deionizada fría y se homogeneizaron las muestras sobre hielo molido en un homogeneizador de tejidos durante medio minuto aproximadamente. Los homogenados se centrifugaron durante seis minutos a 16 000 g a 4°C. Se separó el sobrenadante (extracto crudo) del cual se tomaron 100  $\mu\text{L}$  y se diluyeron en 900  $\mu\text{L}$  de agua deionizada fría (extracto diluido 1:10). Todo el procesamiento se llevó a cabo manteniendo las muestras sobre hielo molido. Los extractos crudos o diluidos fueron utilizados inmediatamente para el análisis de la actividad enzimática y la determinación de la concentración de proteínas solubles.

Las proteínas solubles se determinaron utilizando el kit Micro Protein Determination (Procedure No. 610) de Sigma, basado en el método de Bradford (1976). Las muestras se leyeron en un lector de microplacas BIORAD modelo 550 con un filtro de 495 nm. De cada muestra se realizaron determinaciones por duplicado.

Para la determinación de las proteasas generales en los extractos crudos se utilizó el método de Todd (1949), utilizando azocolil como sustrato (Sigma A4341, Sigma Chemical, St Louis, MO, USA) en buffer fosfato pH 7.5. Las muestras se incubaron durante 30 minutos a 37°C y se leyeron en un espectrofotómetro SPECTRONIC modelo 21D a 520 nm. En este método una unidad está definida como la cantidad de enzima que cataliza la liberación de moléculas de péptidos coloreadas con un  $\Delta A/\Delta t=0.001 \text{ min}^{-1}$  (Walter, 1988). La actividad de la tripsina se determinó en los extractos crudos utilizando como sustrato N $\alpha$ -benzoyl-DL-arginina p-nitroanilide, (BAPNA, Sigma B4875) 100 mM en buffer TRIS 0.1 M, pH 8. La tasa de hidrólisis del sustrato se midió como el incremento en la absorbancia en un espectrofotómetro a 405 nm durante dos minutos. Se utilizó un coeficiente de extinción  $\epsilon_{405} = 1,02 \text{ L mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$ . (Geiger y Fritz, 1988). Una unidad fue definida como la actividad correspondiente a 1  $\mu\text{M}$  de p-nitroaniline liberado en un minuto. La actividad de la quimotripsina se midió en los extractos crudos utilizando como sustrato SAPPNA (N-succinyl-ala-ala-pro-phe p-nitroanilide, Sigma S7388) 100 mM en buffer TRIS 0.1 M, pH 8. La tasa de hidrólisis del sustrato se determinó igual que para la tripsina. Se utilizó un coeficiente de extinción  $\epsilon_{405} = 1,02 \text{ L mmol}^{-1} \text{ mm}^{-1}$  (Geiger, 1988). Las unidades de actividad fueron definidas igual que para la tripsina.

Para la determinación de la actividad de la amilasa en los extractos diluidos se utilizó como sustrato el glucógeno de ostión (Sigma G8751) al 1%, preparado con buffer fosfato 10 mM, pH 7. Se incubaron las muestras a 37°C por 45 minutos y se leyó la absorbancia a 540 nm (Bernfeld, 1955). La unidad de actividad se definió como miligramos de maltosa liberados en un minuto a 37°C. Para determinar la

actividad de la glucosidasa en los extractos diluidos se utilizó como sustrato el PNPG (P-nitrofenil  $\alpha$ -D-gluco-pyranoside, Sigma N1377). Las muestras se incubaron durante una hora a 37°C y se leyeron en un espectrofotómetro a 410 nm. Se utilizó un coeficiente de extinción  $\epsilon_{410} = 18\ 000\ \text{L mol}^{-1}\ \text{cm}^{-1}$ . La unidad de actividad se definió como la cantidad de enzima que hidroliza 1  $\mu\text{M}$  de sustrato en un minuto.

Las determinaciones de concentración de proteínas solubles y de actividad enzimática se realizaron por duplicado para cada muestra. La actividad de todas las enzimas se refiere en unidades por miligramo de proteína soluble.

Determinación del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada.

En todos los tratamientos se realizaron mediciones en 10 a 15 animales por estadio desde  $M_{III}$  hasta  $PL_{10}$  para ambas especies. Las determinaciones del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada se realizaron en un laboratorio climatizado con temperatura de  $28 \pm 1\ ^\circ\text{C}$ .

Para las determinaciones de consumo de oxígeno y excreción nitrogenada los organismos provenientes de cada tratamiento fueron colocados individualmente en un microrespirómetro de sistema cerrado (celdas respirométricas de vidrio RC-300, Strathkelvin Instruments, Glasgow, UK) con 1 mL de agua de los tanques de cultivo conteniendo alimento. A través de doce cámaras respirométricas conectadas en serie se hizo circular una corriente de agua a  $28 \pm 0.1\ ^\circ\text{C}$  proveniente de un termocirculador (Fisher Scientific Isotemp Refrigerated Circulator, modelo 900) con el fin de mantener la temperatura constante.

Los animales permanecieron 30 minutos en las cámaras para su aclimatación y a partir de ese momento se comenzaron a realizar las determinaciones del consumo de oxígeno en un lapso de 10 minutos utilizando un microelectrodo de oxígeno (Strathkelvin Instrument, modelo 781).

Para la determinación de la excreción nitrogenada los mismos organismos utilizados para la determinación del consumo de oxígeno permanecieron en las celdas respirométricas durante dos horas, determinándose la excreción de amoníaco como la diferencia de su concentración en el agua de las celdas entre el inicio y final de este período. Las muestras para la determinación de amoníaco se tomaron en tubos Ependorff con yodo sublimado y fueron conservadas en congelación hasta su procesamiento. El procesamiento de las muestras siempre se llevó a cabo antes de transcurridas doce horas.

Para el procesamiento de las muestras de amonio se utilizó la técnica de inyección de flujo-difusión de gases (Hunter y Uglow, 1993), determinándose el amonio disuelto total (AT). Esta técnica permite trabajar con muestras pequeñas que contienen bajas concentraciones de amonio (a partir de 0.04 mg de AT por litro). El equipo se acopló a una computadora personal mediante una interfase, utilizándose un programa confeccionado por Dispositivos NaFri S.A. de C.V. Las concentraciones de las muestras fueron medidas con referencia a una curva de calibración preparada con diluciones precisas de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

Para eliminar el efecto debido a la presencia de alimento en las cámaras respirométricas durante las determinaciones de consumo de oxígeno y excreción de amoniaco se utilizó una cámara control sin camarón por cada cinco cámaras con animales. Al finalizar las mediciones de consumo de oxígeno y excreción de amoniaco se determinó el peso seco de los organismos siguiendo el procedimiento explicado en el acápite de crecimiento. Los resultados del consumo de oxígeno se expresaron en  $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$  y los de excreción de amoniaco como  $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ .

Procesamiento estadístico de los datos.

Para comparar las relaciones entre el peso seco por estadio, así como del contenido de proteína soluble por estadio con la edad en días de las postlarvas de los diferentes tratamientos entre ambas especies, se utilizó análisis de regresión y correlación lineal simple con los datos transformados en logaritmo. Los coeficientes de regresión fueron comparados mediante análisis de covarianza. En los casos en que se encontraron diferencias significativas entre las pendientes o los interceptos estos se contrastaron mediante el método de Tukey-Kramer (Sokal y Rolf, 1981). Los valores de peso seco de las  $\text{PL}_1$  de cada tratamiento se compararon con un análisis de varianza de un factor y prueba de rangos múltiples de Duncan en las dos especies.

La relación entre la actividad de la amilasa y la glucosidasa se determinó mediante una correlación lineal simple.

Los valores de consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y relación O.N se contrastaron entre tratamientos y estadios utilizando análisis de varianza bifactorial (Zar, 1984). En todas las pruebas estadísticas se trabajó con una probabilidad de 0.05.



## RESULTADOS

Crecimiento y contenido de proteínas solubles.

El crecimiento de las postlarvas de ambas especies se vio afectado significativamente por las diferentes dietas utilizadas. En la Tabla 6 se observa que en las dos especies los animales alcanzaron pesos significativamente diferentes en PL<sub>1</sub> en los distintos tratamientos. Con el objeto de eliminar estas diferencias y poder comparar el crecimiento desde PL<sub>1</sub> a PL<sub>10</sub> entre las dos especies en los diferentes tratamientos se utilizó análisis de covarianza (Tabla 7).

Tabla 6. Valores medios  $\pm$  error típico y resultados del análisis de varianza y prueba de rangos múltiples de Duncan para la comparación entre el peso seco de las PL<sub>1</sub> de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas

dietas	<i>L. setiferus</i>			<i>L. vannamei</i>		
	Peso seco (mg)	F <sub>(5,72)</sub>	P	Peso seco (mg)	F <sub>(5,50)</sub>	P
Art	0.086 $\pm$ 0.005 <sup>(a)</sup>			0.078 $\pm$ 0.003 <sup>(b)</sup>		
Art+algas	0.092 $\pm$ 0.003 <sup>(a)</sup>			0.080 $\pm$ 0.007 <sup>(b)</sup>		
AMC	0.051 $\pm$ 0.003 <sup>(c)</sup>	13.079	< 0.001	0.080 $\pm$ 0.002 <sup>(b)</sup>	22.326	< 0.001
AMC+algas	0.073 $\pm$ 0.002 <sup>(b)</sup>			0.057 $\pm$ 0.004 <sup>(c)</sup>		
Art+AMC	0.072 $\pm$ 0.004 <sup>(b)</sup>			0.080 $\pm$ 0.005 <sup>(b)</sup>		
Art+AMC+algas	0.073 $\pm$ 0.004 <sup>(b)</sup>			0.116 $\pm$ 0.003 <sup>(a)</sup>		

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial. Diferentes letras en una columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

Tabla 7. Coeficientes de correlación y regresión y análisis de covarianza de la relación entre el peso seco (mg) y la edad en días de las postlarvas (PL<sub>1-10</sub>) de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas

tratamiento	dieta	r	P	pendiente	F <sub>(11,1299)</sub>	intercepto
<i>L. setiferus</i>						
1	Art	0.93	< 0.001	0.08 <sup>(b)</sup>		Pendiente
2	Art+algas		< 0.001	0.09 <sup>(b)</sup>		(a)
3	AMC	0.91	< 0.001	0.09 <sup>(b)</sup>	59.02	F <sub>(4,379)</sub>
4	AMC+algas		< 0.001	0.03 <sup>(d)</sup>	P < 0.05	19.04
5	Art+AMC	0.95	< 0.001	0.11 <sup>(a)</sup>		P < 0.05
6	Art+AMC+algas	0.95	< 0.001	0.12 <sup>(a)</sup>		0.05 <sup>(b)</sup>
<i>L. vannamei</i>						
1	Art	0.96	< 0.001	0.08 <sup>(b)</sup>		Pendiente
2	Art+algas	0.95	< 0.001	0.11 <sup>(a)</sup>		(b)
3	AMC	0.77	< 0.001	0.03 <sup>(d)</sup>		F <sub>(3,294)</sub>
4	AMC+algas	0.75	< 0.001	0.05 <sup>(c)</sup>		265.87
5	Art+AMC	0.96	< 0.001	0.11 <sup>(a)</sup>		P < 0.05
6	Art+AMC+algas	0.98	< 0.001	0.11 <sup>(a)</sup>		0.09 <sup>(a)</sup>

Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial

Para las dos especies la tasa de crecimiento (Fig. 1, Tabla 7) fue significativamente mayor en las postlarvas alimentadas con la dieta que incluyó nauplios de *Artemia*, alimento artificial y algas (tratamiento 6). Las dietas 2 y 5 presentan valores de la tasa de crecimiento intermedios, mientras que la tasa de crecimiento fue significativamente más baja en *L. vannamei* en los casos en que el alimento

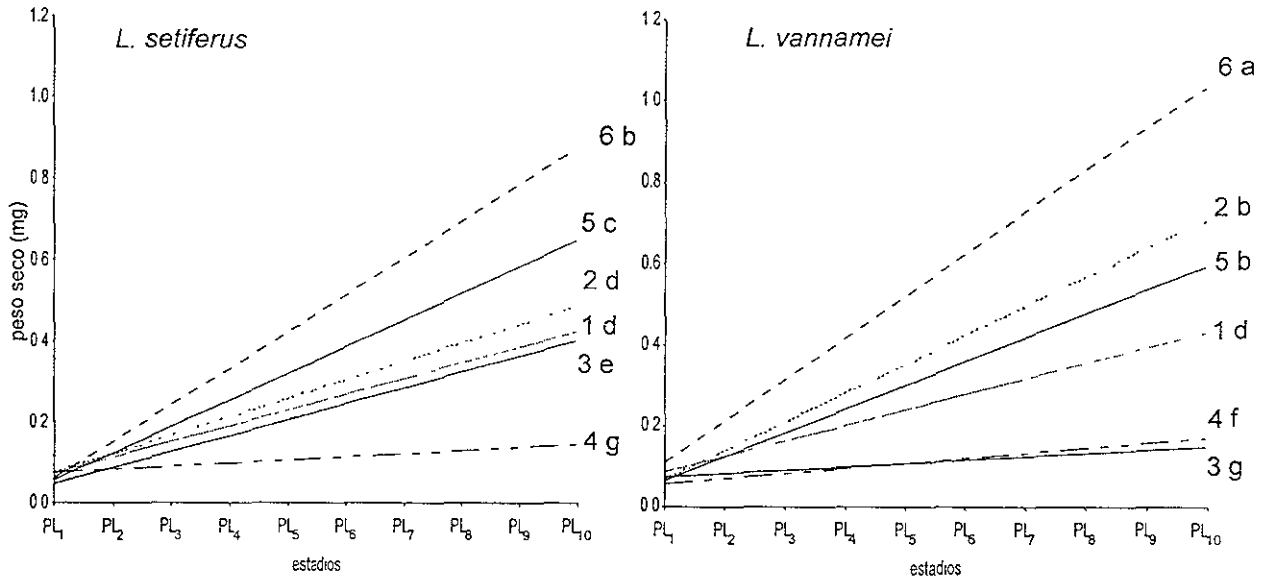


Fig. 1. Crecimiento en peso de PL<sub>1</sub> a PL<sub>10</sub> de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentados con diferentes dietas. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos y especies ( $P < 0.05$ ). Dietas: (1) nauplios de *Artemia*, (2) nauplios de *Artemia* más algas, (3) AMC, (4) AMC más algas, (5) nauplios de *Artemia* más AMC, (6) nauplios de *Artemia* más AMC más algas.

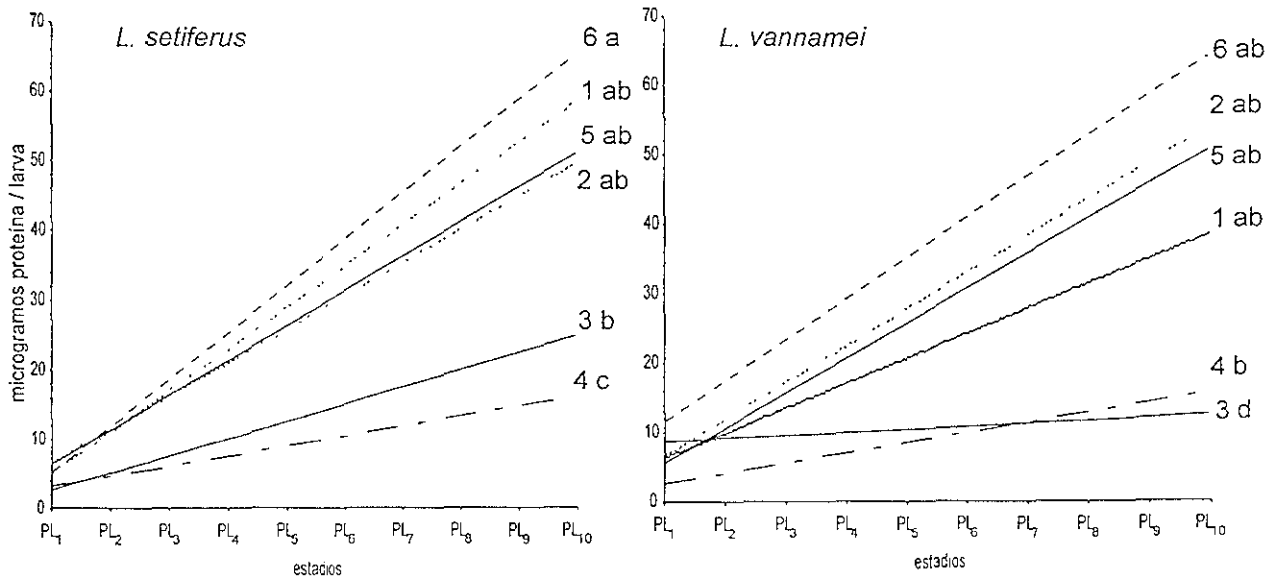


Fig 2. Contenido de proteína soluble de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentados con diferentes dietas. Diferentes letras indican diferencias significativas entre tratamientos y especies ( $P < 0.05$ ). Dietas igual que en la Fig 1.

artificial constituyó el componente principal de la dieta (tratamientos 3 y 4) y en *L. setiferus* alimentado con alimento artificial y algas (tratamiento 4).

El contenido de proteínas solubles, como un indicador del estado fisiológico de los animales, también se vio afectado por las diferentes dietas en ambas especies. Según los resultados del análisis de covarianza que se presentan en la Tabla 8 se observó que el contenido de proteínas solubles fue significativamente menor (con menores pendientes o interceptos) para las postlarvas de las dos especies en los tratamientos que incluyeron alimento artificial como componente principal de la dieta (tratamientos 3 y 4), mientras que en el resto de los tratamientos no se encontraron diferencias significativas entre dietas para las dos especies ( $P > 0.05$ ).

Tabla 8. Coeficientes de correlación y regresión y análisis de covarianza de la relación entre el contenido de proteínas solubles ( $\mu\text{g}$  proteína larva<sup>-1</sup>) y la edad en días de las postlarvas (PL<sub>1-10</sub>) de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas

tratamiento	dieta	<i>r</i>	<i>P</i>	pendiente	<i>F</i> <sub>(11,139)</sub>	intercepto	<i>F</i> <sub>(9,121)</sub>
<i>L. setiferus</i>							
1	Art	0.85	< 0.001	0.119 <sup>(ab)</sup>		3.822 <sup>(a)</sup>	
2	Art+algas	1.00	< 0.001	0.098 <sup>(ab)</sup>		5.214 <sup>(a)</sup>	
3	AMC	0.95	< 0.001	0.109 <sup>(ab)</sup>	4.18	2.004 <sup>(b)</sup>	23.26
4	AMC+algas	0.86	< 0.001	0.079 <sup>(b)</sup>	$P < 0.05$	2.644	$P < 0.05$
5	Art+AMC	0.98	< 0.001	0.101 <sup>(ab)</sup>		5.031 <sup>(a)</sup>	
6	Art+AMC+algas	0.99	< 0.001	0.123 <sup>(a)</sup>		3.883	
<i>L. vannamei</i>							
1	Art	0.90	< 0.001	0.086 <sup>(ab)</sup>		5.406 <sup>(a)</sup>	
2	Art+algas	0.94	< 0.001	0.101 <sup>(ab)</sup>		5.259 <sup>(a)</sup>	
3	AMC	0.71	< 0.001	0.018 <sup>(c)</sup>		8.330	
4	AMC+algas	0.61	< 0.001	0.087 <sup>(ab)</sup>		2.164 <sup>(b)</sup>	
5	Art+AMC	0.97	< 0.001	0.106 <sup>(ab)</sup>		4.404 <sup>(a)</sup>	
6	Art+AMC+algas	0.90	< 0.001	0.083 <sup>(ab)</sup>		9.611 <sup>(a)</sup>	

Letras diferentes en una columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial

Estas diferencias se observaron más claramente en la Figura 2 en la que se representan gráficamente las líneas de regresión calculadas entre el contenido de proteínas solubles y la edad de las postlarvas de cada tratamiento.

#### Actividad enzimática.

La actividad proteolítica de las larvas y postlarvas de *L. setiferus* fue afectada por las diferentes dietas utilizadas, siendo generalmente más elevada en la mayoría de los estadios en los organismos alimentados con alimento artificial sólo o con adición de algas (Fig 3).

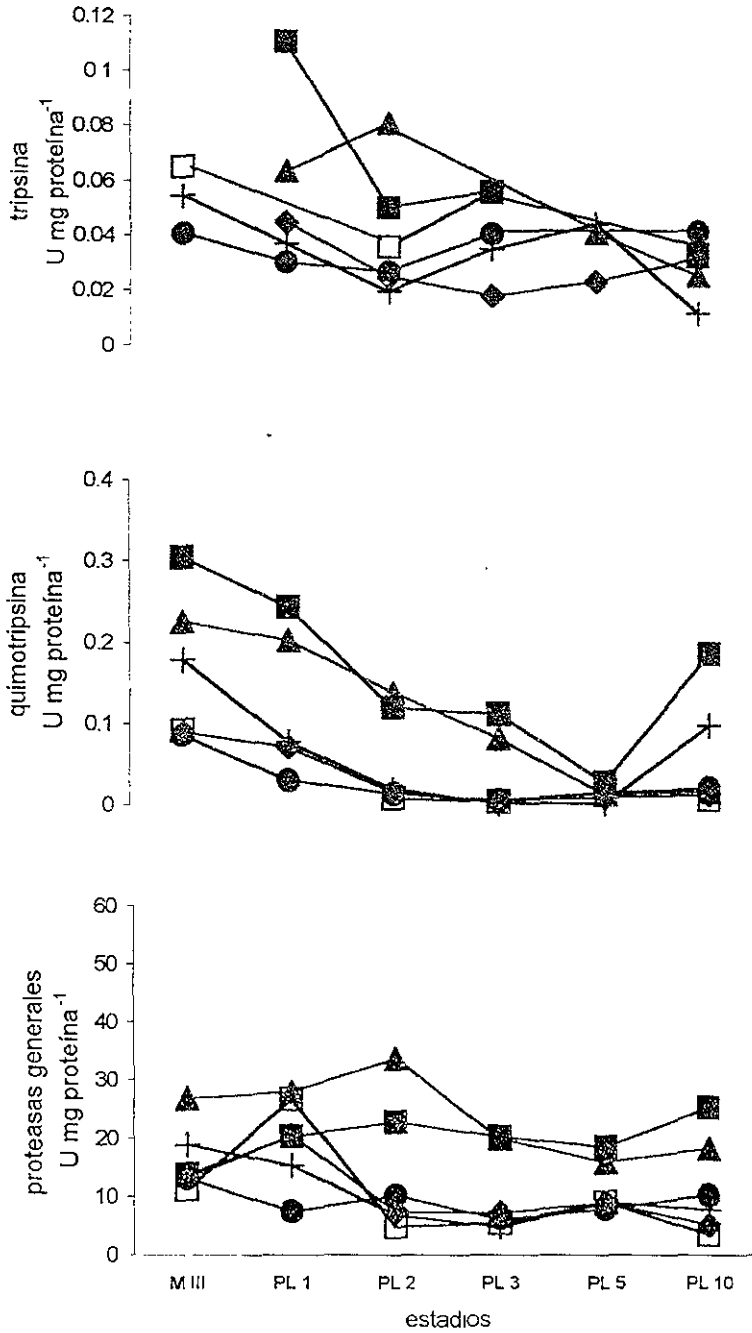


Fig. 3. Actividad proteolítica (U mg proteína<sup>-1</sup>) de *L. setiferus* con diferentes dietas. Cada punto representa la media de dos observaciones. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva -□- nauplios de *Artemia*, -●- nauplios de *Artemia* más algas, -▲- AMC, -■- AMC más algas, -+- nauplios de *Artemia* más AMC, -◆- nauplios de *Artemia* más AMC más algas.

La carencia de datos de la actividad de la tripsina en algunos estadios impide ver con claridad como fue afectada la actividad de esta enzima por las diferentes dietas (Fig. 3), sin embargo los mayores valores de actividad encontrados corresponden a los organismos en los que el alimento artificial fue el componente principal de la dieta. La actividad específica de la quimotripsina (Fig. 3) disminuyó de M<sub>III</sub> a PL<sub>2-5</sub> en todos los tratamientos, siendo más elevada en los organismos alimentados con alimento artificial sólo o con adición de algas. En PL<sub>10</sub> la actividad de la quimotripsina se incrementó en los animales alimentados con alimento artificial y algas y en los alimentados con nauplios de *Artemia* parcialmente sustituidos por AMC. Las proteasas generales presentaron valores de actividad más elevados en los organismos alimentados con alimento artificial solo o con algas, en el caso de PL<sub>1</sub> alimentadas con nauplios de *Artemia* la actividad de las proteasas generales fue semejante a cuando este estadio recibió alimento artificial (Fig. 3).

En *L. vannamei* la actividad de la tripsina se mantuvo baja durante todos los estadios en los tratamientos 2, 5 y 6 (Fig. 4). La tripsina presentó mayor actividad durante todos los estadios en los tratamientos alimentados con nauplios de *Artemia* y con AMC solo o con algas (tratamientos 1, 3 y 4). En general la actividad de la tripsina en esta especie fue menor que en *L. setiferus*.

La actividad de la quimotripsina de *L. vannamei* (Fig. 4) disminuyó de M<sub>III</sub> a PL<sub>3</sub>, manteniéndose baja hasta PL<sub>10</sub> en los organismos de todos los tratamientos excepto los alimentados con AMC y algas (tratamiento 4). En el tratamiento con AMC (3), las postlarvas mostraron un incremento en la actividad de la quimotripsina a partir de PL<sub>5</sub>, mientras que en los organismos alimentados con AMC y algas la actividad de la quimotripsina aumentó de M<sub>III</sub> a PL<sub>1</sub>, para luego disminuir paulatinamente hasta PL<sub>4</sub> y continuó baja hasta PL<sub>10</sub> al igual que la mayoría de los otros tratamientos. En ambas especies la actividad específica de esta enzima presentó los mayores niveles en los tratamientos que incluyeron alimento artificial como componente principal de la dieta (tratamientos 3 y 4).

En *L. vannamei* la actividad de las proteasas generales disminuyó según avanzó el desarrollo de los animales en todos los tratamientos (Fig. 4) La mayor actividad la presentaron los organismos de los tratamientos alimentados con nauplios de *Artemia* y algas y nauplios de *Artemia* y AMC (tratamientos 2 y 5). En los organismos alimentados con estas dietas la actividad de las proteasas generales presentó niveles superiores en esta especie que en *L. setiferus*. La menor actividad de las proteasas en *L. vannamei* correspondió a los organismos alimentados con nauplios de *Artemia* (tratamiento 1).

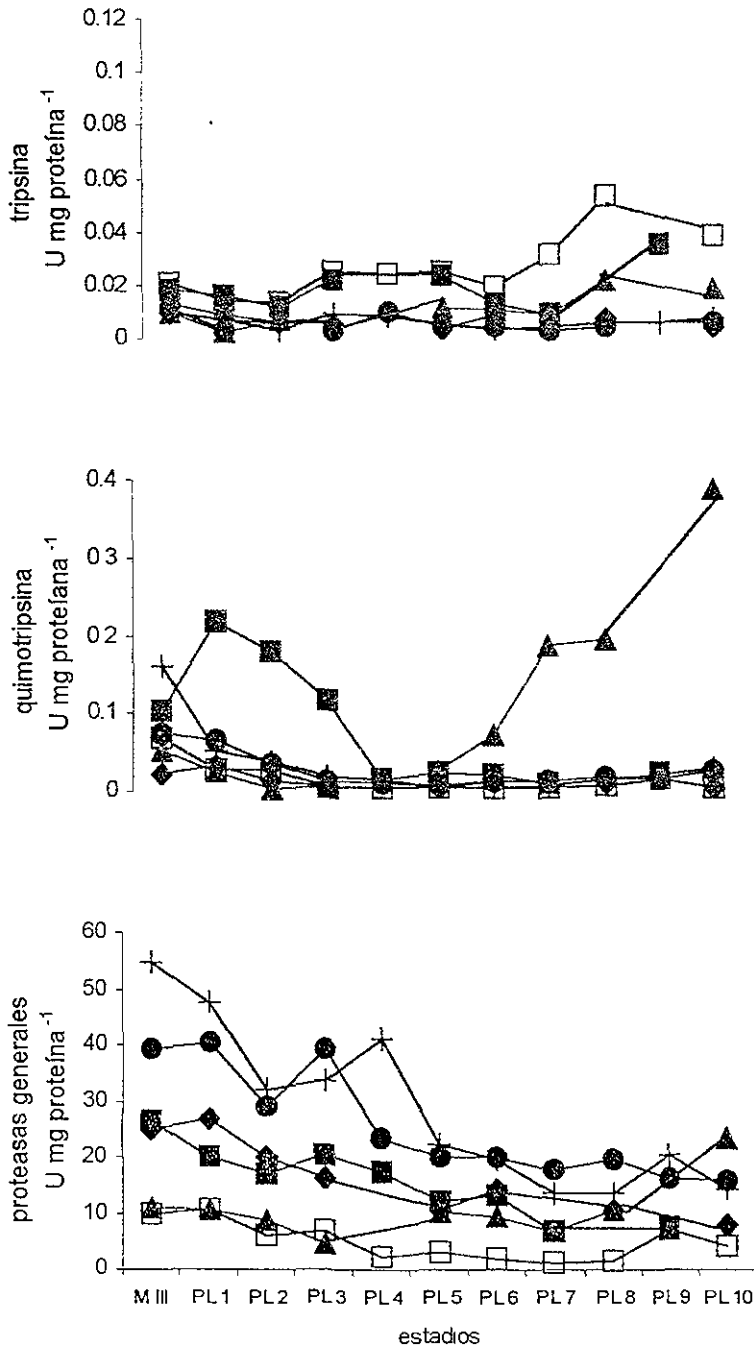


Fig. 4. Actividad proteolítica (U mg proteína<sup>-1</sup>) de *L. vannamei* con diferentes dietas. Cada punto representa la media de dos observaciones. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva [-] - nauplios de *Artemia*, -●- nauplios de *Artemia* más algas, -▲- AMC, -■- AMC más algas, -+- nauplios de *Artemia* más AMC, -◆- nauplios de *Artemia* más AMC más algas.

En general, independientemente de la dieta, en *L. setiferus* la actividad específica de la amilasa presentó valores más altos en M<sub>III</sub> y PL<sub>1</sub>, valores más bajos durante PL<sub>2-5</sub>, para elevarse la actividad en PL<sub>10</sub>. Este patrón de actividad no fue tan marcado en los camarones alimentados con nauplios de *Artemia* y algas y los alimentados con la dieta mixta (tratamientos 2 y 6), en los cuales la actividad de la amilasa se mantuvo más baja en todos los estadios (Fig. 5). Cuando los animales se alimentaron con dieta artificial sola o con algas, la actividad de la amilasa fue más alta que en los otros tratamientos, excepto en M<sub>III</sub> y PL<sub>1</sub> alimentados con nauplios de *Artemia*, donde se encontró la mayor actividad de amilasa.

En el caso de la glucosidasa también se encontró una disminución de la actividad en los estadios intermedios de *L. setiferus* (Fig. 5), aunque en este caso la falta de datos en algunos estadios hace que sea más difícil observar este patrón. Los organismos alimentados con alimento artificial (tratamiento 3) presentaron en los estadios de M<sub>III</sub>, PL<sub>1-2</sub> y PL<sub>10</sub> la mayor actividad de glucosidasa en comparación con los animales de los otros tratamientos.

En *L. vannamei* la amilasa presentó en la mayoría de los tratamientos un patrón donde la actividad disminuye de M<sub>III</sub> a PL<sub>3</sub>, para luego incrementar a partir de PL<sub>6</sub> (tratamientos 1, 2, 3, 5 y 6), este patrón no lo siguió el tratamiento alimentado con AMC y algas (4) el cual presentó en los primeros estadios valores de actividad más o menos constantes y superiores al resto de los tratamientos.

En el tratamiento al que se suministró alimento artificial solo (3), la actividad de la amilasa se incrementó a partir de PL<sub>6</sub> hasta PL<sub>10</sub> con valores superiores a las postlarvas del resto de los tratamientos (Fig. 6). La actividad de la amilasa más elevada se encontró en general en ambas especies cuando se suministró alimento artificial como componente principal de la dieta (dietas 3 y 4). *L. setiferus* presentó mayores niveles de actividad de esta enzima que *L. vannamei*.

La actividad de la glucosidasa (Fig. 6) de *L. vannamei* presentó un patrón semejante a la amilasa, con una disminución de la actividad en los estadios intermedios en la mayoría de las dietas (tratamientos 1, 2, 3, 5 y 6) Fuera de este patrón está el tratamiento alimentado con AMC y algas (4), en el cual la actividad de la glucosidasa se mantiene alta hasta PL<sub>6</sub>, correspondiéndose con una mayor actividad que la amilasa en estos estadios. Al igual que en la amilasa, la actividad específica de la glucosidasa en *L. vannamei* presentó niveles de actividad más bajos que *L. setiferus*.

En la Tabla 9 se muestra el análisis de varianza de la relación entre la actividad total de la amilasa y la glucosidasa. Se encontró una relación altamente significativa en todos los tratamientos para ambas especies.

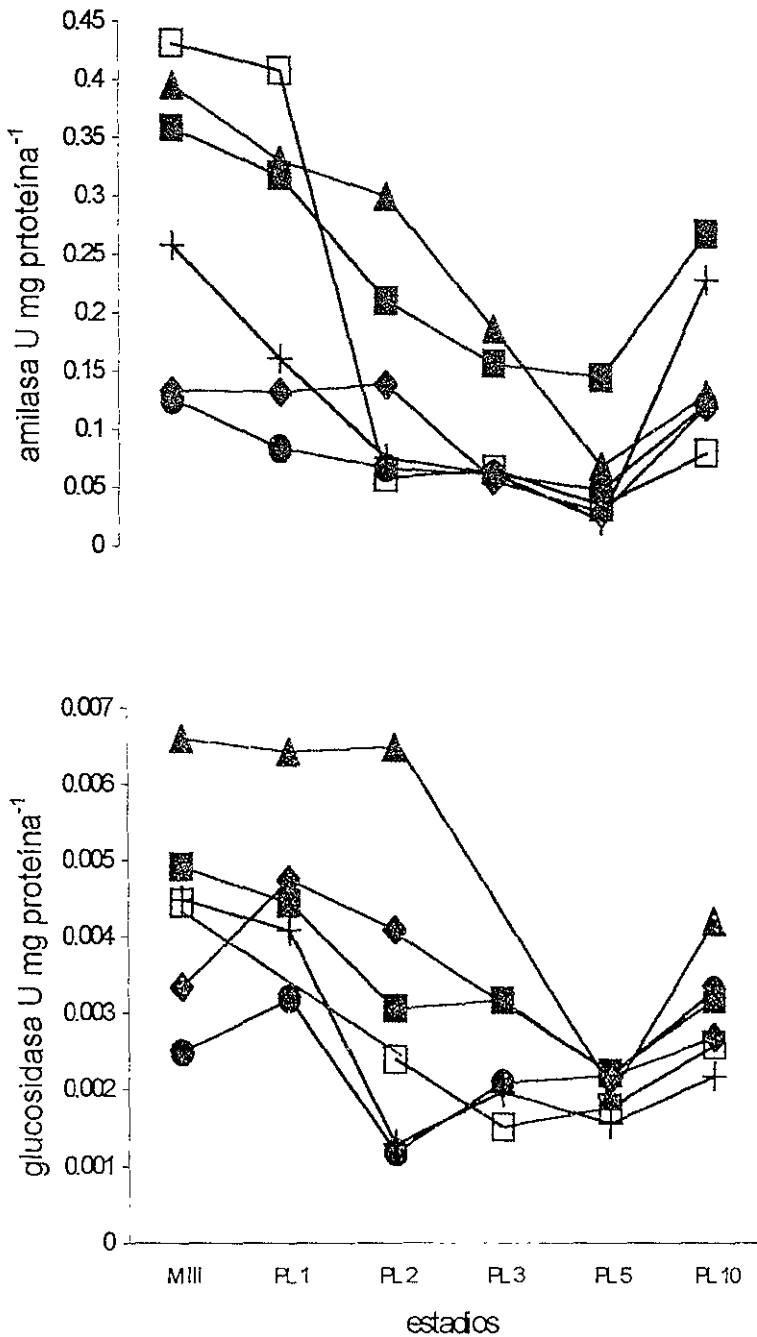


Fig. 5. Actividad de la amilasa y la glucosidasa ( $\text{U mg proteína}^{-1}$ ) de *L. setiferus* con diferentes dietas. Cada punto representa la media de dos observaciones. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva -|I- nauplios de *Artemia*, -●- nauplios de *Artemia* más algas, -▲- AMC, -■- AMC más algas, -+- nauplios de *Artemia* más AMC, -◆- nauplios de *Artemia* más AMC más algas.



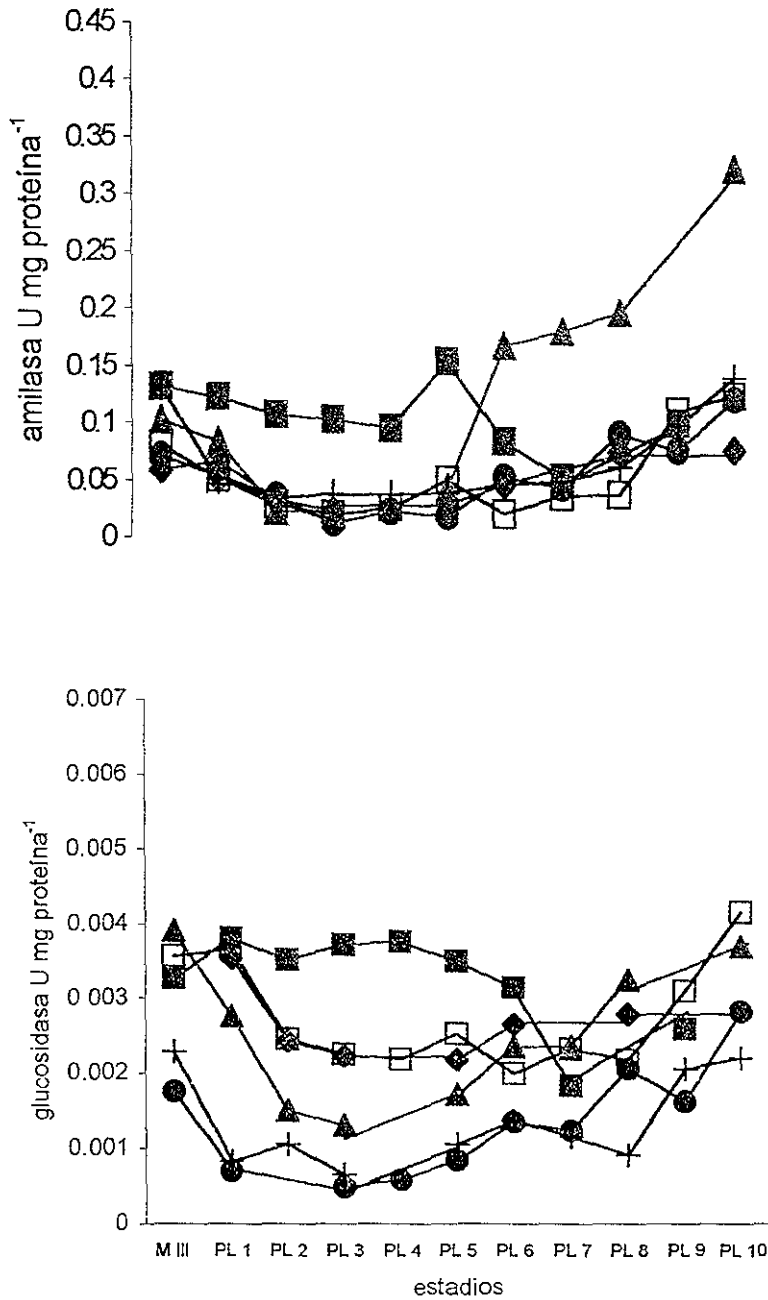


Fig. 6. Actividad de la amilasa y la glucosidasa (U mg proteína<sup>-1</sup>) de *L. vannamei* con diferentes dietas. Cada punto representa la media de dos observaciones. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva. -□- nauplios de *Artemia*, -●- nauplios de *Artemia* más algas, -▲- AMC, -■- AMC más algas, -+- nauplios de *Artemia* más AMC, -◆- nauplios de *Artemia* más AMC más algas.

Tabla 9 Coeficientes de correlación múltiple y análisis de varianza de la relación entre actividad total de la amilasa y la glucosidasa en *L. setiferus* y *L. vannamei*

<i>L. setiferus</i>						
tratamiento	dieta	$r^2$	$n$	error típico ( $10^{-5}$ )	$F$	$P$
1	Art	0.89	6	4.67	32.52	0.004
2	Art+algas	0.99	6	2.58	264.93	< 0.001
3	AMC	0.91	6	3.85	38.40	0.003
4	AMC+algas	0.83	6	4.47	20.61	0.010
5	Art+AMC	0.97	6	2.89	129.73	< 0.001
6	Art+AMC+algas	0.97	5	3.87	116.31	0.001
<i>L. vannamei</i>						
tratamiento	dieta	$r^2$	$n$	error típico ( $10^{-5}$ )	$F$	$P$
1	Art	0.70	11	1.40	20.83	0.001
2	Art+algas	0.90	10	0.91	69.21	< 0.001
3	AMC	0.48	9	2.45	6.66	0.036
4	AMC+algas	0.42	9	1.77	5.07	0.058
5	Art+AMC	0.83	10	0.87	40.31	< 0.001
6	Art+AMC+algas	0.58	7	1.46	7.02	0.045

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial

#### Consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y relación O:N.

La Tabla 10 nos muestra los valores de consumo de oxígeno de *L. setiferus*, así como los resultados del análisis de varianza que indica que las diferentes dietas provocaron una variación significativa del consumo de oxígeno, mientras que el efecto de los estadios no fue significativo, aunque sí la interacción entre dietas y estadios. Los valores del consumo de oxígeno variaron entre 4.8 y 17.9  $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ , siendo en general más elevado en los tratamientos 3 y 4, en los que el alimento artificial constituyó el componente principal de la dieta.

Tabla 10. Valores medios  $\pm$  error estándar y análisis de varianza bifactorial para el consumo de oxígeno ( $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ ) de *L. setiferus* alimentados con diferentes dietas. Número de observaciones entre paréntesis

estadios	art	art+algas	AMC	AMC+algas	art+AMC	art+AMC+algas
M <sub>III</sub>	(13) 7.0 $\pm$ 0.85	(18) 8.11 $\pm$ 0.71	(10) 8.8 $\pm$ 1.01	(14) 15.22 $\pm$ 1.59	(9) 5.1 $\pm$ 1.34	(13) 11.8 $\pm$ 1.39
PL <sub>1</sub>	(11) 6.8 $\pm$ 0.84	(14) 5.72 $\pm$ 0.67	(13) 17.9 $\pm$ 1.87	(13) 11.38 $\pm$ 0.86	(8) 7.6 $\pm$ 1.02	(11) 7.9 $\pm$ 0.60
PL <sub>2</sub>	(10) 8.9 $\pm$ 0.68	(11) 6.02 $\pm$ 0.87	(11) 9.5 $\pm$ 1.50	(12) 5.94 $\pm$ 0.64	(15) 12.4 $\pm$ 1.04	(11) 11.8 $\pm$ 2.17
PL <sub>3</sub>	(7) 6.9 $\pm$ 1.26	(10) 8.41 $\pm$ 1.02	(10) 9.5 $\pm$ 1.61	(7) 11.28 $\pm$ 2.47	(12) 7.2 $\pm$ 0.88	(11) 11.3 $\pm$ 1.06
PL <sub>4</sub>	(10) 8.0 $\pm$ 1.09	(13) 8.86 $\pm$ 1.02	(13) 12.3 $\pm$ 1.42	(9) 7.31 $\pm$ 0.86	(13) 8.9 $\pm$ 0.93	(10) 9.3 $\pm$ 0.86
PL <sub>5</sub>	(8) 9.3 $\pm$ 1.31	(14) 9.38 $\pm$ 0.86	(12) 8.9 $\pm$ 0.84	(9) 11.24 $\pm$ 1.39	(13) 11.1 $\pm$ 1.40	(12) 7.6 $\pm$ 1.59
PL <sub>6</sub>	(10) 5.5 $\pm$ 0.41	(13) 8.84 $\pm$ 0.29	(12) 13.2 $\pm$ 0.81	(10) 8.94 $\pm$ 1.48	(11) 4.8 $\pm$ 0.79	(15) 8.7 $\pm$ 0.49
PL <sub>7</sub>	(11) 7.2 $\pm$ 0.60	(13) 8.91 $\pm$ 0.60	(13) 10.7 $\pm$ 0.45	(9) 15.77 $\pm$ 1.37	(13) 6.7 $\pm$ 0.52	(13) 7.9 $\pm$ 0.57
PL <sub>8</sub>	(11) 8.2 $\pm$ 0.81	(13) 8.45 $\pm$ 0.42	(15) 10.2 $\pm$ 0.79	(9) 8.63 $\pm$ 0.82	(15) 10.6 $\pm$ 1.01	(15) 9.1 $\pm$ 1.99
PL <sub>9</sub>	(13) 6.4 $\pm$ 0.50	(14) 8.65 $\pm$ 0.49	(10) 11.5 $\pm$ 0.71	(8) 7.21 $\pm$ 0.92	(14) 10.1 $\pm$ 0.36	(15) 9.7 $\pm$ 0.66
PL <sub>10</sub>	(11) 9.6 $\pm$ 0.48	(12) 8.03 $\pm$ 0.42	(8) 9.9 $\pm$ 0.48	(8) 9.96 $\pm$ 0.71	(15) 7.5 $\pm$ 0.33	(15) 7.6 $\pm$ 0.73

Fuente de variación	gl	F	P
dieta	5	19.42	< 0.001
estadios	10	0.84	0.582
dieta X estadios	50	5.67	< 0.001

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial M<sub>III</sub>, mysis 3; PL, postlarva

La tasa de consumo de oxígeno de las larvas y postlarvas de *L. vannamei* y los resultados del análisis de varianza bifactorial aparecen en la Tabla 11. En este caso tanto las dietas como los estadios tuvieron un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno, con una interacción significativa de estos parámetros. Para *L. vannamei* tampoco se observa un patrón que indique una disminución del consumo de oxígeno al aumentar el peso de los organismos. La tasa de consumo de oxígeno para esta especie fluctuó entre 3.9 y 13.1  $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ .

Tabla 11. Valores medios  $\pm$  error estándar y análisis de varianza bifactorial para el consumo de oxígeno ( $\mu\text{gO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ ) de *L. vannamei* alimentados con diferentes dietas. Número de observaciones entre paréntesis

estadios	art	art+algas	AMC	AMC+algas	art+AMC	art+AMC+algas
M <sub>III</sub>	(9) 8.8 $\pm$ 1.43	(8) 7.0 $\pm$ 1.03	(7) 7.3 $\pm$ 1.07	(8) 11.0 $\pm$ 0.99	(9) 13.1 $\pm$ 1.76	(10) 8.7 $\pm$ 1.21
PL <sub>1</sub>	(9) 10.7 $\pm$ 1.23	(8) 7.5 $\pm$ 1.20	(8) 10.7 $\pm$ 0.67	(9) 10.6 $\pm$ 1.21	(9) 8.4 $\pm$ 1.06	(8) 7.7 $\pm$ 0.86
PL <sub>2</sub>	(9) 6.3 $\pm$ 0.52	(8) 6.6 $\pm$ 1.07	(9) 4.8 $\pm$ 0.60	(8) 6.4 $\pm$ 1.19	(8) 6.4 $\pm$ 0.86	(9) 6.8 $\pm$ 0.65
PL <sub>3</sub>	(10) 4.7 $\pm$ 0.65	(9) 8.9 $\pm$ 0.56	(8) 7.6 $\pm$ 1.05	(9) 6.9 $\pm$ 1.34	(9) 11.4 $\pm$ 1.17	(8) 9.1 $\pm$ 0.76
PL <sub>4</sub>	(8) 7.3 $\pm$ 0.70	(7) 12.3 $\pm$ 1.53	NE	(8) 5.9 $\pm$ 1.12	(9) 6.4 $\pm$ 0.89	NE
PL <sub>5</sub>	(8) 6.8 $\pm$ 1.47	(8) 8.3 $\pm$ 0.62	(7) 10.5 $\pm$ 1.87	(6) 3.9 $\pm$ 0.90	(9) 8.9 $\pm$ 0.33	(7) 6.3 $\pm$ 0.72
PL <sub>6</sub>	(10) 9.6 $\pm$ 0.76	(9) 9.1 $\pm$ 0.54	NE	(8) 9.9 $\pm$ 1.48	(9) 6.2 $\pm$ 0.99	NE
PL <sub>7</sub>	(10) 8.9 $\pm$ 1.06	(8) 7.1 $\pm$ 0.74	(7) 6.7 $\pm$ 0.88	(9) 11.3 $\pm$ 1.50	(10) 8.3 $\pm$ 1.16	(6) 8.5 $\pm$ 0.41
PL <sub>8</sub>	(8) 7.2 $\pm$ 0.51	(8) 10.0 $\pm$ 0.46	(7) 10.6 $\pm$ 1.24	(8) 7.9 $\pm$ 0.94	(9) 9.3 $\pm$ 0.77	(10) 8.9 $\pm$ 0.58
PL <sub>9</sub>	(10) 9.7 $\pm$ 0.79	(9) 8.2 $\pm$ 0.69	NE	(10) 8.2 $\pm$ 1.28	(9) 9.7 $\pm$ 0.62	NE
PL <sub>10</sub>	(9) 8.0 $\pm$ 0.47	(10) 9.7 $\pm$ 0.25	(10) 7.8 $\pm$ 1.03	(8) 8.1 $\pm$ 1.20	(10) 10.3 $\pm$ 0.50	(10) 8.9 $\pm$ 0.58

Fuente de variación	gl	F	P
díeta	5	3.35	0.005
estadios	7	6.62	< 0.001
díeta X estadios	35	2.97	< 0.001

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados, AMC, alimento microparticulado comercial M<sub>III</sub>, mysis 3; PL, postlarva, NE, no evaluado

La tasa de excreción de amonio de *L. setiferus* se vio afectada significativamente por las diferentes dietas y estadios (Tabla 12, Fig. 7) y decreció de M<sub>III</sub> a PL<sub>9-10</sub> en todas las dietas utilizadas excepto en el tratamiento 4 (alimento artificial y algas), con los mayores valores en general en todos los estadios en los organismos alimentados con AMC y AMC más algas (tratamientos 3 y 4). Al alimentarse con estas dietas en las que el alimento artificial fue el componente principal, la excreción varió entre 1.37 y 0.41  $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ , mientras que con el resto de las dietas la excreción fluctuó entre 0.73 y 0.04  $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{ mg ps}^{-1}$ .

Tabla 12. Valores medios  $\pm$  error estándar y análisis de varianza bifactorial para la excreción de amonio total ( $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$ ) de *L. setiferus* alimentados con diferentes dietas. Número de observaciones entre paréntesis

estadios	art	art+algas	AMC	AMC+algas	art+AMC	art+AMC+algas
M <sub>III</sub>	(13) 0.73 $\pm$ 0.06	(16) 0.43 $\pm$ 0.04	(13) 1.24 $\pm$ 0.08	(12) 0.76 $\pm$ 0.09	(6) 0.41 $\pm$ 0.07	(14) 0.73 $\pm$ 0.08
PL <sub>1</sub>	(6) 0.39 $\pm$ 0.06	(10) 0.44 $\pm$ 0.06	(12) 1.26 $\pm$ 0.15	(12) 0.51 $\pm$ 0.07	(7) 0.47 $\pm$ 0.09	(6) 0.18 $\pm$ 0.05
PL <sub>2</sub>	(14) 0.44 $\pm$ 0.03	(7) 0.41 $\pm$ 0.10	(13) 1.15 $\pm$ 0.10	(13) 0.83 $\pm$ 0.09	(10) 0.29 $\pm$ 0.06	(9) 0.30 $\pm$ 0.03
PL <sub>3</sub>	(8) 0.30 $\pm$ 0.03	(13) 0.20 $\pm$ 0.02	(14) 0.58 $\pm$ 0.04	(9) 0.46 $\pm$ 0.07	(8) 0.56 $\pm$ 0.14	(8) 0.48 $\pm$ 0.08
PL <sub>4</sub>	(7) 0.19 $\pm$ 0.04	(4) 0.24 $\pm$ 0.08	(13) 0.59 $\pm$ 0.06	(9) 0.79 $\pm$ 0.07	(8) 0.20 $\pm$ 0.02	(9) 0.32 $\pm$ 0.10
PL <sub>5</sub>	(6) 0.20 $\pm$ 0.03	(5) 0.20 $\pm$ 0.03	(13) 0.48 $\pm$ 0.05	(9) 1.37 $\pm$ 0.08	(12) 0.38 $\pm$ 0.04	(5) 0.06 $\pm$ 0.02
PL <sub>6</sub>	(9) 0.14 $\pm$ 0.01	(12) 0.18 $\pm$ 0.02	(13) 0.62 $\pm$ 0.02	(9) 1.17 $\pm$ 0.16	(6) 0.08 $\pm$ 0.01	(10) 0.06 $\pm$ 0.01
PL <sub>7</sub>	(12) 0.19 $\pm$ 0.02	(6) 0.08 $\pm$ 0.02	(14) 0.41 $\pm$ 0.04	(9) 0.89 $\pm$ 0.06	(11) 0.25 $\pm$ 0.03	(11) 0.13 $\pm$ 0.01
PL <sub>8</sub>	(8) 0.17 $\pm$ 0.03	(13) 0.05 $\pm$ 0.01	(15) 0.48 $\pm$ 0.03	(9) 0.69 $\pm$ 0.06	(9) 0.14 $\pm$ 0.02	(11) 0.13 $\pm$ 0.06
PL <sub>9</sub>	(9) 0.08 $\pm$ 0.01	(9) 0.07 $\pm$ 0.01	(10) 0.41 $\pm$ 0.06	(10) 0.90 $\pm$ 0.07	(7) 0.05 $\pm$ 0.01	(9) 0.07 $\pm$ 0.01
PL <sub>10</sub>	(10) 0.14 $\pm$ 0.02	(8) 0.04 $\pm$ 0.01	(9) 0.22 $\pm$ 0.02	(9) 0.61 $\pm$ 0.05	(9) 0.05 $\pm$ 0.01	(6) 0.04 $\pm$ 0.01

Fuente de variación	gl	F	P
dieta	5	175.93	< 0.001
estadios	10	33.34	< 0.001
dieta X estadios	50	9.56	< 0.001

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial. M<sub>III</sub>, mysis 3; PL, postlarva

La tasa de excreción de amonio de *L. vannamei* también fue afectada significativamente por los diferentes tratamientos y estadios (Tabla 13, Fig. 8) y mostró una tendencia general a decrecer con el incremento en peso de las postlarvas en todos los tratamientos. Al igual que en *L. setiferus*, los valores más altos de la excreción se encontraron en las dietas 3 y 4, en las que los camarones fueron alimentados con alimento artificial sólo o con adición de algas (0.30-1.35  $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$ ), mientras que los valores de excreción fueron más bajos en la mayoría de los estadios cuando los animales se alimentaron con el resto de las dietas, con valores entre 0.05 y 1.66  $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$

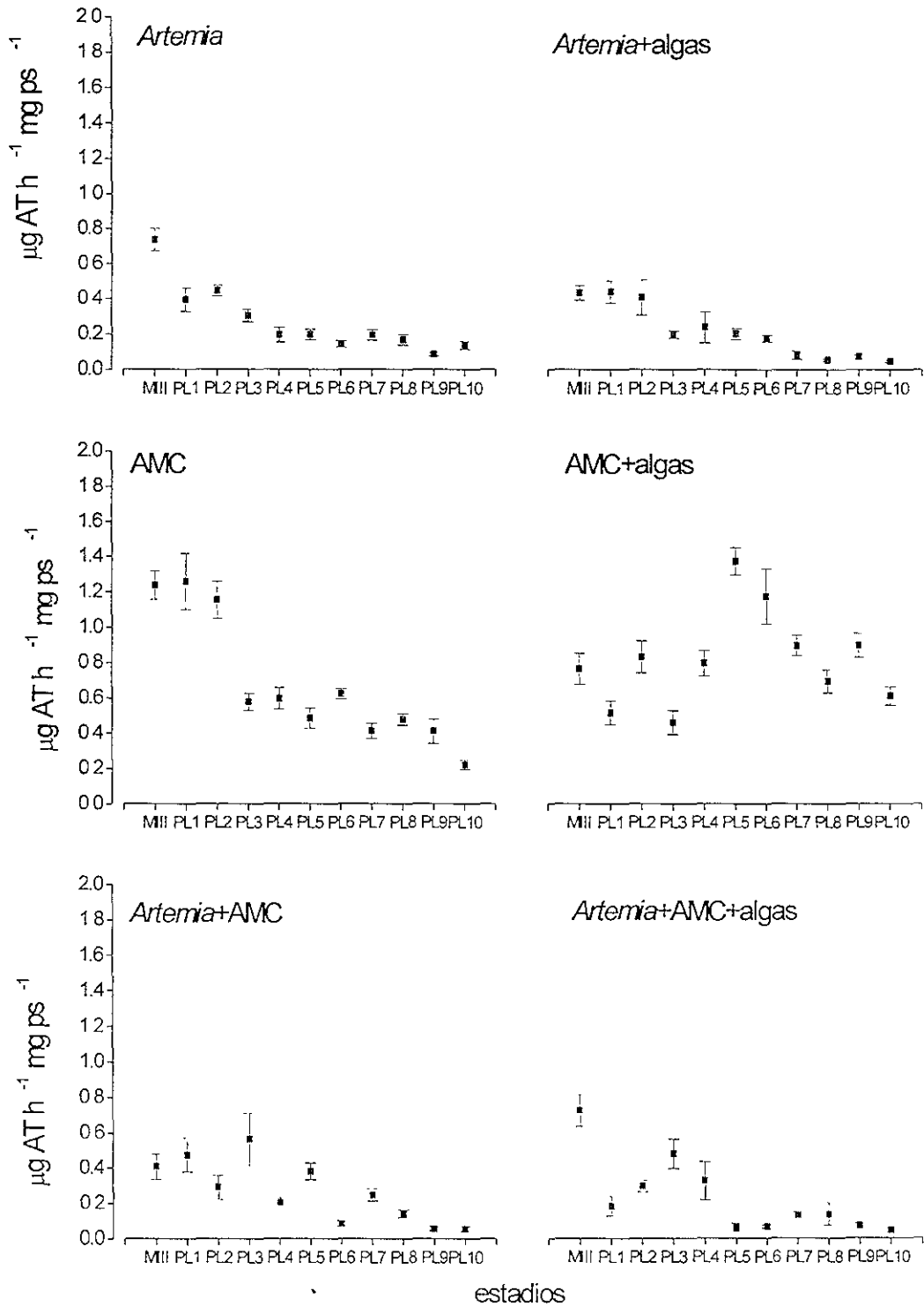


Fig. 7. Excreción de amonio total ( $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$ ) de *L. setiferus* con diferentes dietas. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva AMC alimento microparticulado comercial.

Tabla 13. Valores medios  $\pm$  error estándar y análisis de varianza bifactorial para la excreción de amonio total ( $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$ ) de *L. vannamei* alimentados con diferentes dietas. Número de observaciones entre paréntesis

estadios	art	art+algas	AMC	AMC+algas	art+AMC	art+AMC+algas
M <sub>III</sub>	(9) 0.54 $\pm$ 0.05	(9) 0.62 $\pm$ 0.09	(7) 1.15 $\pm$ 0.13	(7) 1.08 $\pm$ 0.06	(7) 1.66 $\pm$ 0.18	(10) 0.55 $\pm$ 0.09
PL <sub>1</sub>	(9) 0.51 $\pm$ 0.05	(6) 0.26 $\pm$ 0.10	(10) 0.30 $\pm$ 0.04	(7) 1.02 $\pm$ 0.10	(7) 0.33 $\pm$ 0.09	(9) 0.35 $\pm$ 0.04
PL <sub>2</sub>	(8) 0.24 $\pm$ 0.03	(9) 0.79 $\pm$ 0.18	(9) 0.64 $\pm$ 0.03	(9) 0.57 $\pm$ 0.09	(7) 0.39 $\pm$ 0.11	(7) 0.28 $\pm$ 0.06
PL <sub>3</sub>	(10) 0.25 $\pm$ 0.04	(9) 0.44 $\pm$ 0.07	(10) 1.35 $\pm$ 0.08	(9) 1.13 $\pm$ 0.14	(9) 0.39 $\pm$ 0.09	(8) 0.39 $\pm$ 0.09
PL <sub>4</sub>	(10) 0.28 $\pm$ 0.05	(8) 0.30 $\pm$ 0.03	NE	(8) 0.83 $\pm$ 0.14	(7) 0.23 $\pm$ 0.04	NE
PL <sub>5</sub>	(10) 0.24 $\pm$ 0.04	(3) 0.31 $\pm$ 0.08	(9) 0.82 $\pm$ 0.14	(10) 0.86 $\pm$ 0.12	(7) 0.11 $\pm$ 0.02	(6) 0.18 $\pm$ 0.04
PL <sub>6</sub>	(8) 0.18 $\pm$ 0.02	(8) 0.12 $\pm$ 0.02	NE	(10) 0.93 $\pm$ 0.11	(6) 0.19 $\pm$ 0.06	NE
PL <sub>7</sub>	(10) 0.27 $\pm$ 0.05	(10) 0.14 $\pm$ 0.02	(10) 0.88 $\pm$ 0.08	(9) 0.89 $\pm$ 0.17	(8) 0.09 $\pm$ 0.01	(9) 0.23 $\pm$ 0.06
PL <sub>8</sub>	(9) 0.08 $\pm$ 0.01	(8) 0.05 $\pm$ 0.01	(9) 0.93 $\pm$ 0.08	(10) 0.71 $\pm$ 0.09	(10) 0.13 $\pm$ 0.01	(10) 0.06 $\pm$ 0.01
PL <sub>9</sub>	(9) 0.07 $\pm$ 0.01	(9) 0.06 $\pm$ 0.01	NE	(9) 0.66 $\pm$ 0.07	(8) 0.13 $\pm$ 0.02	NE
PL <sub>10</sub>	(6) 0.07 $\pm$ 0.01	(9) 0.09 $\pm$ 0.01	(10) 0.73 $\pm$ 0.05	(10) 0.72 $\pm$ 0.09	(5) 0.09 $\pm$ 0.02	(10) 0.06 $\pm$ 0.01

Fuente de variación	gl	F	P
dieta	5	96.00	< 0.001
estadios	7	37.13	< 0.001
dieta X estadios	35	8.57	< 0.001

Art, nauplios de *Artemia* recién eclosionados; AMC, alimento microparticulado comercial. M<sub>III</sub>, mysis 3; PL, postlarva; NE, no evaluado

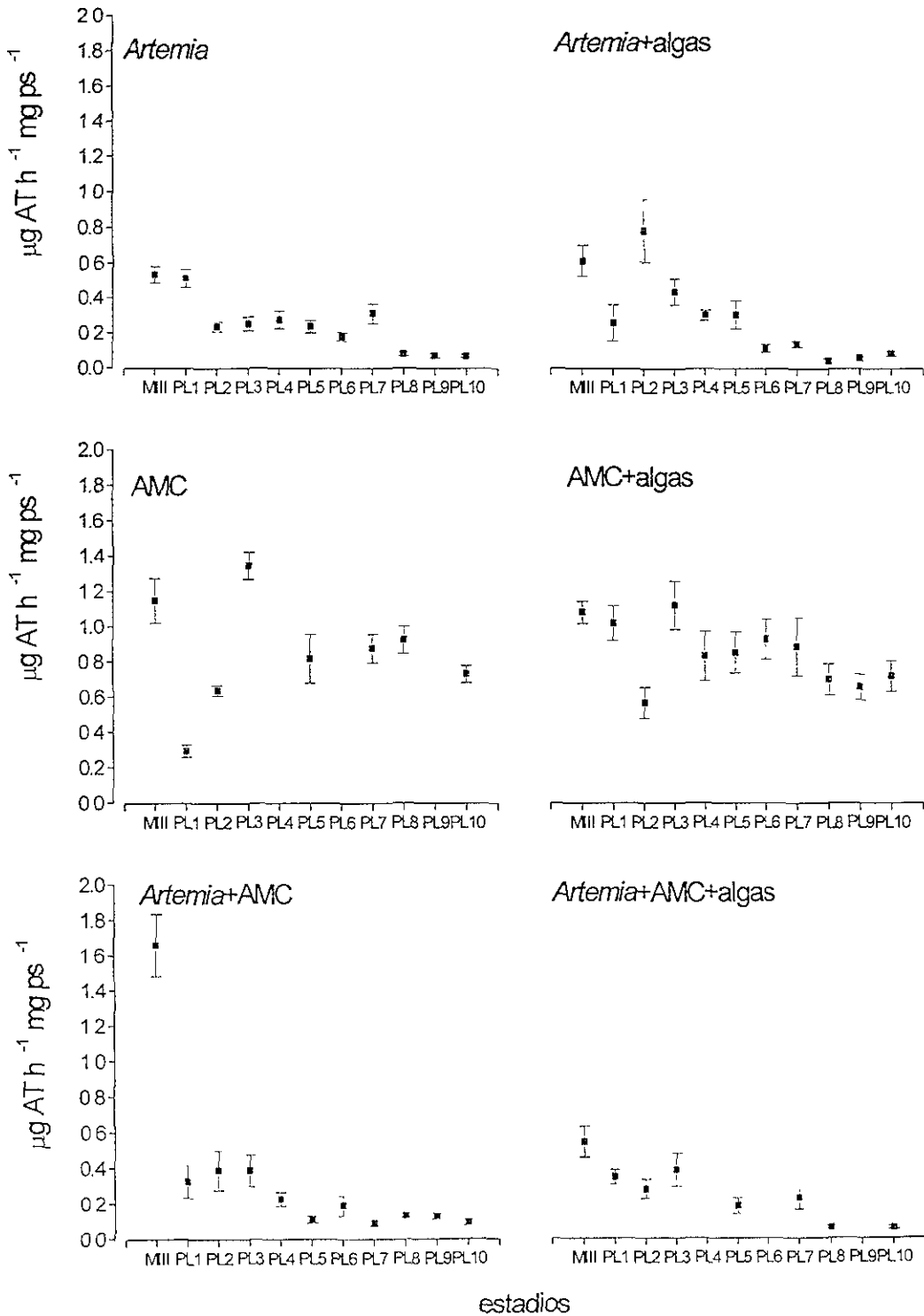


Fig 8. Excreción de amonio total ( $\mu\text{g AT h}^{-1} \text{mg ps}^{-1}$ ) de *L. vannamei* con diferentes dietas. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva. AMC alimento microparticulado comercial



En la Tabla 14 aparecen los resultados del análisis de varianza bifactorial para la razón atómica entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado (O:N) de la especie *L. setiferus*, donde se puede observar que tanto las diferentes dietas utilizadas como los estadios analizados tuvieron un efecto significativo sobre la O:N, existiendo interacción significativa de estos factores.

Tabla 14. Resultados del análisis de varianza bifactorial para la razón O:N en *L. setiferus* alimentados con diferentes dietas desde mysis III a postlarva 10

Fuente de variación	gl	F	P
dieta	5	41.57	< 0.001
estadios	10	31.43	< 0.001
dieta X estadios	50	5.74	< 0.001

En la Figura 9 se representan los valores de la razón O:N de *L. setiferus* para los diferentes tratamientos. En las dietas en las que el alimento artificial no fue el componente principal (tratamientos 1, 2, 5 y 6), se observan valores de O:N bajos durante los primeros estadios, indicando que estos estadios utilizaron a las proteínas como sustrato metabólico. Los estadios más avanzados utilizan un sustrato mixto de proteínas y lípidos, evidenciado por valores más altos de la relación O:N.

Cuando las postlarvas de *L. setiferus* fueron alimentadas con AMC, solo o con algas (tratamientos 3 y 4), los bajos valores de la razón O:N muestran el uso preferente de las proteínas como sustrato metabólico en todos los estadios.

La Tabla 15 nos muestra el análisis de varianza bifactorial para razón O:N de *L. vannamei*, al igual que en *L. setiferus* se observa un efecto significativo de las dietas, de los estadios e interacción de estos factores sobre este índice.

Tabla 15. Resultados del análisis de varianza bifactorial para la razón O:N en *L. vannamei* alimentados con diferentes dietas desde mysis III a postlarva 10

Fuente de variación	gl	F	P
Dieta	5	49.13	< 0.001
estadios	7	59.31	< 0.001
dieta X estadios	35	9.73	< 0.001

Como sucedió en *L. setiferus*, las postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con alimento artificial como componente principal de la dieta (tratamientos 3 y 4), muestran en todos los estadios valores bajos de la relación O:N, indicando el uso preferente de las proteínas como sustrato metabólico (Fig 10)

En todos los tratamientos en los que el alimento artificial no constituyó el componente principal de la dieta (tratamientos 1, 2, 5 y 6), se observó una tendencia de *L. vannamei* a aumentar la proporción de lípidos en el sustrato metabólico a medida que se fueron desarrollando las postlarvas, con un incremento significativo de la relación O N.

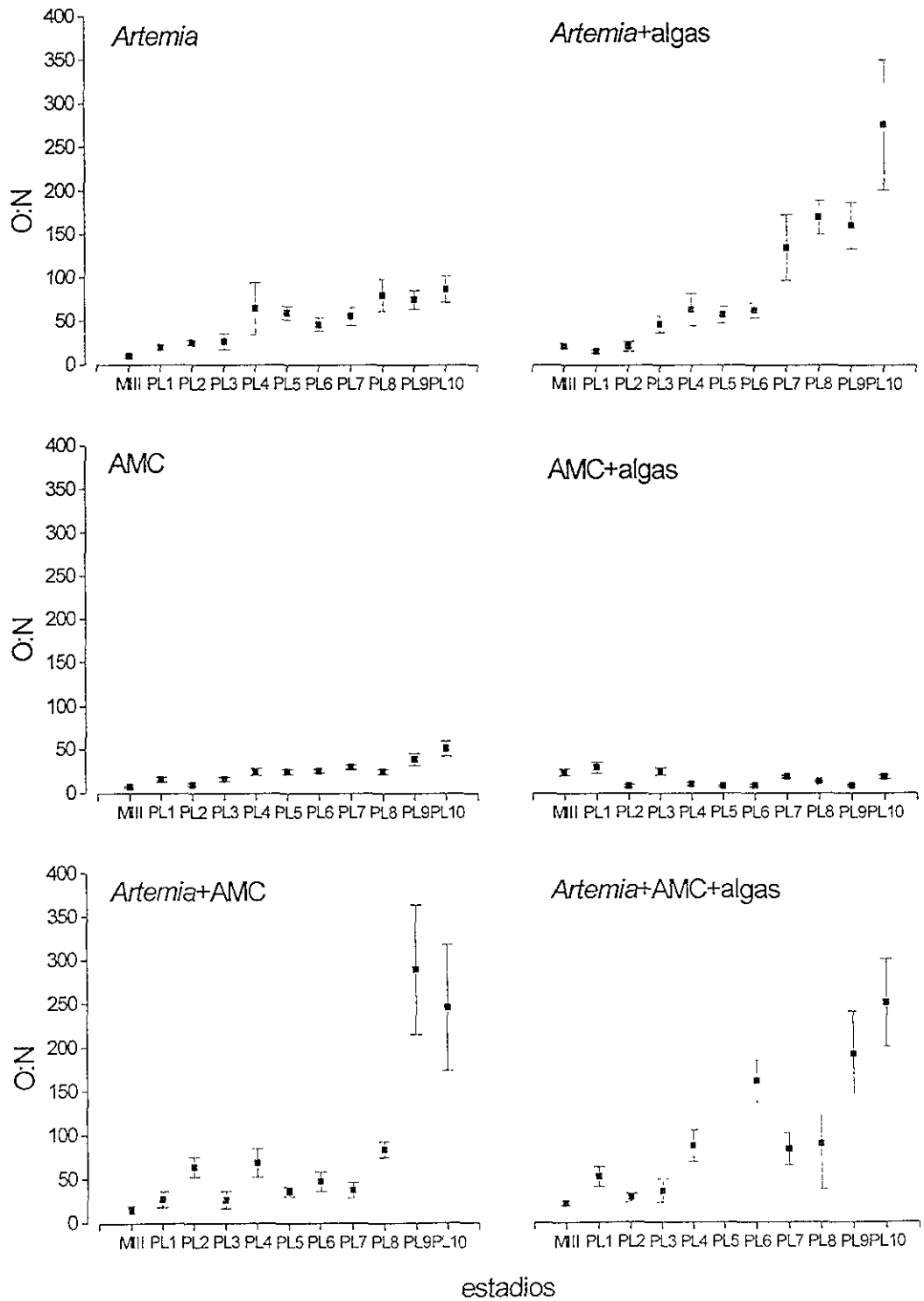


Fig. 9. Relación O:N de *L. setiferus* con diferentes dietas. M<sub>III</sub>: mysis 3; PL: postlarva AMC. alimento microparticulado comercial.

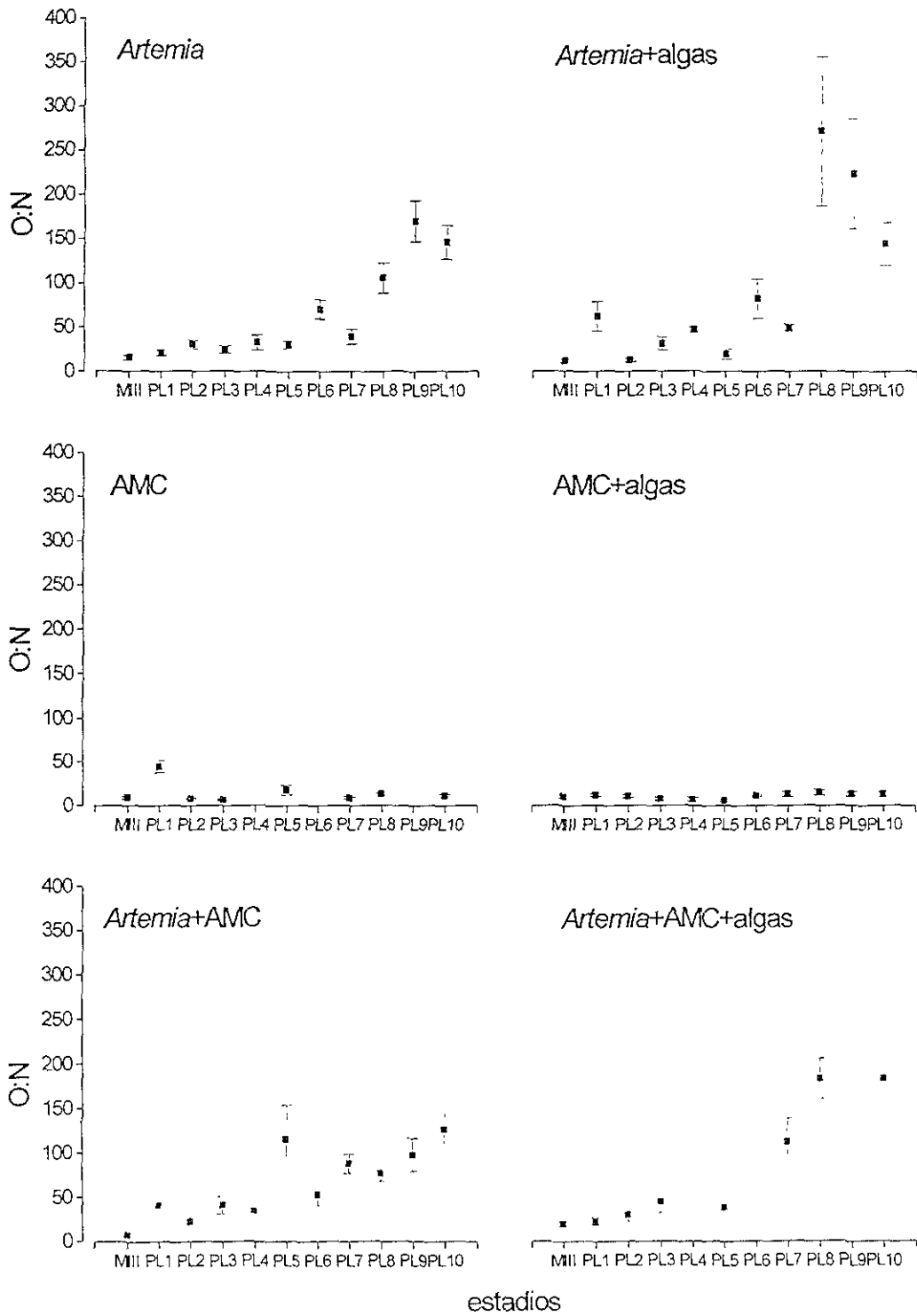


Fig. 10. Relación O:N de *L.vannamei* con diferentes dietas M<sub>III</sub>, mysis 3, PL, postlarva. AMC, alimento microparticulado comercial.

## DISCUSIÓN

Crecimiento y contenido de proteínas solubles.

Como se observó en los resultados de los diferentes tratamientos, tanto el contenido de proteínas solubles como el crecimiento de las postlarvas tempranas de *L. setiferus* y *L. vannamei* se vieron influenciados por el tipo de alimento. Estos resultados son similares a los encontrados por Lovett y Felder (1990) para *L. setiferus* y Le Moullac et al. (1994) para *L. vannamei*.

Kuban et al. (1985), al estudiar el efecto de seis combinaciones de alimento en larvas de cuatro especies de peneidos, concluyeron que el crecimiento de las larvas en términos de biomasa, es una mejor medida del valor nutricional de las dietas para larvas que la supervivencia y el desarrollo. Considerando este criterio y tomando en cuenta el contenido de proteínas solubles, es posible diferenciar el efecto del tipo de alimento sobre el estado fisiológico de las postlarvas de estas dos especies.

En ambas especies la tasa de crecimiento fue significativamente mayor cuando se utilizó una dieta compuesta por nauplios de *Artemia*, alimento artificial y algas, mostrando que estos alimentos combinados se ajustaron mejor a los requerimientos nutricionales de las postlarvas que el resto de las dietas utilizadas. El menor crecimiento fue observado cuando las postlarvas fueron alimentadas sólo con nauplios de *Artemia*, alimento artificial o alimento artificial en combinación con algas, mostrando que estos alimentos no cubrieron completamente los requerimientos nutricionales de estos estadios. Este resultado se refuerza al encontrarse un menor contenido de proteínas solubles en los camarones que se alimentaron con estas dietas.

Al comparar las tasas de crecimiento obtenidas en este trabajo (Tabla 7) para la dieta con que se encontró mayor crecimiento en ambas especies (dieta 6) con las tasas de crecimiento obtenidas en las dietas basadas en alimento artificial solo (dieta 3) o con algas (dieta 4) observamos que en *L. setiferus* el crecimiento fue del 75% en la dieta 3 y del 25% en la dieta 4, mientras que para *L. vannamei* el crecimiento en la dieta 3 fue del 27% y en la dieta 4 del 45%. Ribeiro y Jones (2000) observaron que la tasa de crecimiento de *Fenneropenaeus indicus* alimentados con dieta artificial durante los primeros 14 días de desarrollo postlarval fue solo del 47% al compararla con la de camarones alimentados con alimento natural. Esta diferencia en el crecimiento es debida a que las postlarvas tempranas son incapaces de digerir eficientemente el alimento artificial, posiblemente debido a su baja capacidad digestiva, lo que provocó menor crecimiento y mayor variabilidad en las tallas de las postlarvas alimentadas con este tipo de alimento

Rodríguez et al. (1994) no encontraron una relación ni entre el crecimiento ni con la supervivencia o la composición corporal de larvas de *Marsupenaeus japonicus* con el contenido de proteínas y energía del alimento. Estos autores explicaron esos resultados tomando en cuenta la existencia de un mecanismo de compensación que consiste en un alto nivel de actividad de la tripsina en las larvas alimentadas con alimentos de bajo contenido de proteínas, la cual maximiza la asimilación de estos cuando están escasos en la dieta. En contraste Lemos y Rodríguez (1998) demostraron que el contenido de proteínas y lípidos en postlarvas de *M. japonicus* coincidió con la composición de la dieta suministrada durante el cultivo. La diferencia en los resultados de ambos trabajos referidos a una misma especie parece deberse a los diferentes estadios de desarrollo estudiados, los cuales pueden modificar de manera importante la relación entre el crecimiento y la composición corporal.

En el presente estudio, las postlarvas utilizadas se encuentran dentro del intervalo de edades investigado por Lemos y Rodríguez (1998) lo cual pudiera explicar que, al igual que lo encontrado por estos autores, en este caso también se presenta una relación entre el crecimiento y la composición corporal con las diferentes dietas suministradas.

Si comparamos el crecimiento de *L. setiferus* y *L. vannamei* se puede observar que las diferentes dietas utilizadas no tuvieron el mismo efecto en ambas especies. *L. vannamei* creció significativamente más que *L. setiferus* cuando fueron alimentados con nauplios de *Artemia* y algas y con alimento artificial combinado con nauplios de *Artemia* y algas. En contraste el alimento artificial utilizado solo produjo mayor crecimiento en *L. setiferus* mientras que con el resto de las dietas no hubo diferencias en el crecimiento entre ambas especies.

Varios autores han encontrado una mayor tasa de crecimiento de *L. vannamei* al compararla con la de *L. setiferus* (Parker et al., 1974; Conte, 1978; Chen et al., 1985; Rosas et al., 2001).

Chen et al. (1985) encontraron mayor crecimiento y mejor tasa de conversión del alimento en juveniles y adultos de *L. vannamei* que en *L. setiferus*, sin embargo, estos autores no compararon el crecimiento en postlarvas tempranas. En este trabajo se utilizaron diferentes esquemas de alimentación para cada especie, siendo mayor la cantidad de nauplios de *Artemia* y algas suministradas a las postlarvas de *L. vannamei*, por lo que en el caso de las postlarvas tempranas sería interesante conocer si el mayor crecimiento de esta especie se debió a una utilización más eficiente del alimento suministrado o a una mayor tasa de ingestión por mayor disponibilidad de alimento.

Otro aspecto que merece atención para estudios posteriores es el efecto que produjeron las diferentes dietas en los estadios larvales de las dos especies. En PL<sub>1</sub> de *L. setiferus* se observó un peso

significativamente mayor cuando las mysis fueron alimentadas sólo con nauplios de *Artemia* o con nauplios de *Artemia* y algas, mientras que las PL<sub>1</sub> mayores de *L. vannamei* se obtuvieron cuando las larvas se alimentaron con nauplios de *Artemia* sustituidos parcialmente con alimento artificial más algas. Estos resultados ponen en evidencia que, al igual que en los juveniles, existen diferencias entre los requerimientos nutricionales de las larvas de ambas especies.

En un estudio reciente (Rosas et al., 2001) se mostró que las diferencias en el crecimiento de juveniles tempranos de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentados con dietas de alta asimilación, son consecuencia tanto de las diferencias en la eficiencia de asimilación como del nivel del metabolismo de rutina. En ese estudio se encontró que mientras *L. vannamei* tiene una tasa de crecimiento dos veces mayor que *L. setiferus* esta última especie presenta una tasa metabólica de rutina dos veces mayor. Es decir, la cantidad de energía requerida para la realización de las funciones básicas para mantener la homeostásis es dos veces mayor en *L. setiferus*, reduciendo la energía que podría ser canalizada para el crecimiento. En el caso de las postlarvas tempranas no se determinó el metabolismo de rutina, debido a que por presentar una conducta alimentaria en la que el intervalo entre alimentaciones sucesivas es muy pequeño, mantener a los animales en ayuno por varias horas provoca un estrés que interfiere en las mediciones. Por esta razón no es posible determinar si la diferencia en el crecimiento entre las especies se debió solamente a diferencias en el uso de la energía, o a los efectos combinados que producen el tipo de alimento, la tasa de ingestión y el metabolismo.

En este trabajo el efecto de las diferentes dietas se reflejó no solamente en el crecimiento, que es un índice utilizado generalmente en los estudios de nutrición, sino también en la actividad de varias enzimas digestivas y en la utilización diferencial del sustrato metabólico (indicado por la variación de la relación O:N).

#### Actividad enzimática

Es conocido que la actividad de las enzimas digestivas se incrementa durante el desarrollo larvario de los peneidos, presentado un máximo en PZ<sub>III</sub>, para luego disminuir hasta PL<sub>3-5</sub> (Lovett y Felder, 1990, Kumlu y Jones, 1995; Lemos et al., 2000). Esta variación de la actividad enzimática está relacionada con los cambios morfológicos y de la conducta que ocurren durante el desarrollo ontogenético. La actividad enzimática más elevada en PZ<sub>III</sub> y M<sub>I</sub> puede reflejar el incremento en el intercambio de energía debido a una mayor intensidad de la conducta natatoria y en la ingestión de alimentos. Aquí la alta actividad enzimática puede ser una adaptación cuando las larvas se alimentan de algas con un bajo contenido energético y el tiempo de vaciado del tracto digestivo es muy corto. En los estadios finales de mysis y en las postlarvas se incrementa el tiempo de retención del alimento en el tracto

digestivo, disminuye la actividad natatoria y el desarrollo del molino gástrico contribuye al procesamiento de los alimentos, por lo que estos cambios compensan la baja actividad enzimática en la transición al modo de vida bentónico (Dall et al., 1990; Lovett y Felder, 1990a y 1990b; Lemos et al., 1999)

Se ha discutido si la presencia de enzimas en el alimento pudiera contribuir a la actividad enzimática de las larvas (Chen y Lin, 1992). Estudios realizados en larvas de *L. setiferus* y *Penaeus monodon* alimentadas con alimento vivo (nauplios de *Artemia* o *Artemia* y algas, Lovett y Felder, 1990, Jones et al., 1997), han demostrado que la presencia de enzimas provenientes de los organismos utilizados como alimento no afectó significativamente la actividad de las enzimas digestivas de los camarones. De estos trabajos es posible inferir que la actividad enzimática observada en el presente estudio no fue afectada por las enzimas digestivas provenientes del alimento suministrado, si no que fue el resultado de la capacidad adaptativa de las postlarvas de responder a diferentes tipos de alimentos

Varios autores sugieren que la actividad de la tripsina en los peneidos puede verse incrementada como consecuencia de un mecanismo de adaptación ante dietas pobres en proteínas, como por la inducción directa por algún componente activo presente en las algas (Le Vay et al., 1993a; Rodríguez et al., 1994; Lemos y Rodríguez, 1998). En este trabajo la actividad específica de la tripsina fue más alta en las postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con nauplios de *Artemia* y AMC más algas, y algo más baja en larvas alimentadas sólo con AMC, mientras que en *L. setiferus* la mayor actividad de tripsina se encontró cuando las postlarvas fueron alimentadas con alimento artificial solo o con algas, todos alimentos con alto contenido de proteínas (Tabla 5) En las larvas del resto de los tratamientos que incluían combinaciones de nauplios de *Artemia*, AMC y algas (dietas 2, 5 y 6), la actividad de la tripsina se mantuvo en niveles bajos en todos los estadios, por lo que no hay en este caso un efecto claro de la presencia de algas ni del contenido de proteínas en el alimento relacionado con la actividad específica de la tripsina. Le Vay et al. (1993a) encontraron en M<sub>II-III</sub> y PL<sub>1</sub> de *M. japonicus* un incremento en la actividad de la tripsina cuando utilizaron alimento artificial, independientemente de la adición de algas, en comparación con animales alimentados con alimento vivo. Estos autores interpretaron sus resultados relacionando este comportamiento con la poca digestibilidad del alimento ofrecido

La utilización de nauplios de *Artemia* recién eclosionados también incrementó la actividad de la tripsina en PL<sub>1-5</sub> de *M. japonicus* (Lemos y Rodríguez, 1998), mientras que en esta especie Rodríguez et al. (1994) no encontraron diferencias en la actividad de la tripsina en PL<sub>1</sub> alimentadas con nauplios de *Artemia* o con nauplios de *Artemia* más algas, pero sí incrementó la actividad en PL<sub>1</sub> alimentadas solamente con algas. Por otro lado Le Moullac et al. (1994) señalaron que la calidad y no la cantidad de proteínas parece ser uno de los factores que regulan la actividad enzimática de las larvas, lo que

explicaría la alta actividad de la tripsina encontrada en este trabajo en animales alimentados con dietas con alto contenido de proteínas.

Desde hace varios años se conoce que la harina de calamar contiene un factor que promueve el crecimiento de los camarones. En juveniles de *L. setiferus* y *L. stylirostris*, Fenucci et al. (1980) encontraron un mejor crecimiento cuando se incorpora harina de calamar a la dieta. Cruz et al. (1985) demostraron que el factor de crecimiento es una fracción proteica de calamar y que incorporado en un 6% en la dieta incrementa significativamente el crecimiento en juveniles de *M. japonicus*. Resultados obtenidos en juveniles de esta especie muestran que este efecto en el crecimiento está acompañado de un incremento de la actividad específica de la amilasa, la tripsina y las proteasas cuando se incorpora un 10% de harina de calamar como fuente de proteínas en el alimento (Van Wormhoudt et al., 1986).

La harina de calamar como componente del AMC podría explicar el incremento de la actividad de la tripsina encontrado en ambas especies cuando se alimentaron con este alimento. Sin embargo en el presente estudio se observó que el AMC sustituyendo totalmente a la *Artemia*, sólo o acompañado de algas, produjo los menores crecimientos independientemente del factor estimulador del crecimiento observado en la harina de calamar en otros estudios. Muchas larvas carnívoras de decápodos aunque aceptan inicialmente dietas artificiales, pierden gradualmente el interés en éstas al menos que sean regularmente alternadas con otro alimento (Jones et al., 1997). Este comportamiento pudiera ayudar a explicar el pobre crecimiento encontrado en el presente estudio al utilizar alimento artificial sustituyendo totalmente a los nauplios de *Artemia*.

Según Lemos y Rodríguez (1998), el incremento en la actividad de la tripsina entre PL<sub>1</sub> a PL<sub>5</sub> puede asociarse con una aclimatación positiva a la disponibilidad de alimento, como una respuesta a una posible condición limitante a que hayan sido sometidas las postlarvas anteriormente. Cuando se comienza a suministrar *Artemia* en PZ<sub>II</sub> a las larvas de *L. setiferus* y *L. vannamei* se incrementó significativamente el peso en PL<sub>1</sub> en comparación con las larvas que son alimentadas solamente con algas (Kuban et al., 1985). Las larvas utilizadas en estos experimentos recibieron en todos los casos nauplios de *Artemia* entre PZ<sub>II</sub> y M<sub>I</sub>, independientemente del esquema de alimentación que se haya seguido a partir de M<sub>II</sub> además de recibir igualmente en todos los casos una combinación de diatomeas y flagelados a partir de N<sub>V</sub>. Por esta razón es posible afirmar que el incremento en la actividad de tripsina no se debió en ningún caso a condiciones que limitaran la alimentación de las larvas antes de comenzar los experimentos.

El incremento en la actividad de la tripsina en las postlarvas alimentadas solamente con nauplios de *Artemia*, con respecto a la actividad encontrada en el resto de los tratamientos (principalmente en *L.*



*vannamei*), no está relacionado con un bajo contenido de proteínas en el alimento, aunque sí pudiera estar relacionada con una menor digestibilidad de este debido a la presencia de quitina en el exoesqueleto de las artemias. La quitinasa hidroliza la quitina haciendo accesible el hidrolizado al resto de las enzimas digestivas (Mayzaud, 1986). Se ha descrito actividad quitinolítica en diferentes peneidos. Clark et al. (1993) encontró actividad quitinolítica en adultos de *L. vannamei* y *L. setiferus* sin aclarar si la enzima tiene una fuente endógena o proviene de la actividad bacteriana en el tracto digestivo. Wigglesworth y Griffith (1994) demostraron la presencia de quitinasa en juveniles de *Penaeus monodon*. En esta misma especie Fang y Lee (1992) encontraron un pico en la actividad de la quitinasa en mysis, relacionándolo con el incremento de la importancia del zooplancton en la dieta de estos estadios. Sin embargo no conocemos hasta que punto puede ser activa la quitinasa en las postlarvas tempranas de *L. setiferus* y *L. vannamei*.

Al combinar *Artemia* con algas, la actividad de la tripsina disminuyó, mostrando que la presencia de las algas contribuye de alguna forma a aumentar la digestibilidad del alimento. Esta misma respuesta se encontró al combinar las algas en el tratamiento en que se sustituyó parcialmente la *Artemia* por alimento artificial. Sin embargo cuando el alimento artificial sustituyó totalmente a la *Artemia* no se encontró ningún efecto sobre la actividad de la tripsina al incluir algas en la dieta. En mysis y PL<sub>1</sub> de *M. japonicus* el crecimiento es mayor al suministrarse como alimento algas junto con nauplios de *Artemia*, sugiriéndose que el alga es necesaria para una asimilación óptima del componente zooplanctónico de la dieta (Rodríguez et al., 1994). En este trabajo la mayor actividad de tripsina no estuvo relacionada con un mayor crecimiento en ningún caso.

La disminución en la actividad específica de la quimotripsina entre M<sub>III</sub> y PL<sub>3</sub> encontrada para la generalidad de los tratamientos en este trabajo coincide con los resultados de González et al. (1994) en larvas de *L. schmitti*. En las dos especies utilizadas la actividad de la quimotripsina fue mayor en las larvas alimentadas con AMC y AMC y algas.

En larvas de *L. vannamei* la actividad de la quimotripsina se estimuló significativamente al utilizar harina de calamar como fuente de proteína en la dieta, aunque estos resultados no se correlacionan con el crecimiento (Le Moullac et al. 1994). Al parecer tanto en las postlarvas de *L. setiferus* como de *L. vannamei*, la presencia de harina de calamar en el AMC también indujo una estimulación de la quimotripsina, la cual tampoco está relacionada en este trabajo con un mayor crecimiento.

La actividad de las proteasas generales en *L. setiferus* fue más elevada al utilizarse alimento artificial como componente principal de la dieta, correspondiéndose con los valores más altos de tripsina y quimotripsina encontrados para estos tratamientos.

En *L. vannamei* la actividad de las proteasas generales presenta un patrón diferente de la tripsina y de la quimotripsina. En general la tendencia es a disminuir la actividad de las proteasas generales desde M<sub>III</sub> a PL<sub>10</sub>. Estos resultados coinciden con lo encontrado por González et al. (1994) en *L. schmitti* y Lemos et al. (1999) en *Farfantepenaeus paulensis*. Sin embargo, el tratamiento alimentado solamente con nauplios de *Artemia* presentó los niveles de actividad más bajos y las postlarvas alimentadas con nauplios de *Artemia* y algas y nauplios de *Artemia* y AMC mostraron los valores de actividad más altos en todos los estadios.

Con el sustrato utilizado en este trabajo para determinar las proteasas generales se pueden detectar entre otras enzimas proteolíticas la actividad de tripsina, quimotripsina, carboxipeptidasa B, colagenasa y elastasa (Walter, 1988). A pesar de que la actividad de las proteasas generales y la de la tripsina y quimotripsina se determinaron en diferentes pH, según los resultados obtenidos en *L. vannamei*, en el tratamiento que recibió solamente nauplios de *Artemia*, así como en los tratamientos en los que el alimento artificial sustituyó totalmente a la *Artemia*, ya sea AMC sólo o con adición de algas, la quimotripsina y la tripsina pudieron ser las enzimas responsables en mayor medida de la actividad proteolítica, mientras que en los tratamientos en los que los nauplios de *Artemia* se combinaron con algas o fueron parcialmente sustituidos con AMC, la mayor actividad proteolítica se debió posiblemente a una enzima diferente de la tripsina o quimotripsina, probablemente carboxipeptidasa B.

La actividad de esta enzima ha sido descrita en varios peneidos. Galgani et al. (1984) encuentran actividad de carboxipeptidasa B en adultos de *Melicertus kerathurus* y *Marsopenaeus japonicus*, González et al. (1994) encontraron actividad de esta enzima en larvas y postlarvas de *L. schmitti*, mientras que Vega Villasante et al (1995) describen su actividad en juveniles de *Farfantepenaeus californiensis*. En *L. setiferus*, Lovett y Felder (1990a) mostraron que la actividad de la carboxipeptidasa B disminuye de M<sub>III</sub> a PL<sub>10</sub>, correspondiéndose con el patrón encontrado para las proteasas generales en *L. vannamei* en estos experimentos.

En el tratamiento en el que se utilizaron los tres alimentos combinados, la actividad de las proteasas generales de *L. vannamei* tampoco parece deberse a la contribución de la actividad de la tripsina o de la quimotripsina. En *L. vannamei*, los tres tratamientos en los que la actividad proteolítica fue aparentemente debida a alguna enzima diferente de la tripsina y la quimotripsina fueron los que presentaron mejor respuesta a las dietas suministradas determinada por el crecimiento en peso y contenido de proteínas solubles.

En la actividad específica de la amilasa y la glucosidasa se presentó un patrón general en el cual se produce una disminución de la actividad de M<sub>III</sub> hasta PL<sub>3-5</sub>, y posteriormente la actividad incrementa

hasta PL<sub>10</sub>. Este patrón se corresponde con lo descrito por Lovett y Felder (1990) en *L. setiferus*. Estos autores sugieren que el incremento observado en la actividad de la amilasa durante el desarrollo postlarval puede ser en respuesta a niveles bajos de carbohidratos en la dieta. Por otra parte Fang y Lee (1992) también encontraron un incremento de la actividad de la amilasa en PL<sub>10</sub> de *Penaeus monodon*. Sin embargo González et al. (1994) observaron en *L. schmitti* que la actividad de la amilasa se incrementa después de la metamorfosis, alcanzando un máximo en PL<sub>5</sub>.

Le Moullac et al. (1994) hacen ver la importancia de los diferentes orígenes del almidón como factor en la variación de la actividad de la amilasa en las larvas, así como que diferentes tratamientos pueden incrementar la digestibilidad del almidón. En este sentido, Cousin et al. (1996) también señalan la importancia del origen del almidón y del tratamiento al que es sometido en la digestibilidad de este en *L. vannamei*. Esto indica que debe existir una diferencia en la digestibilidad del almidón proveniente de los alimentos naturales y artificiales utilizados en el presente trabajo.

Rodríguez et al. (1994) explican los altos niveles de actividad de la amilasa en las primeras mysis de *M. japonicus* en función de la baja disponibilidad de sustrato, aunque la habilidad para variar la secreción de amilasa se reduce notablemente durante M<sub>III</sub> y PL<sub>1</sub>. Por esto, las diferencias en la actividad de la amilasa encontrada en estos experimentos pudieran ser causadas mayormente por diferentes orígenes del almidón en las diferentes dietas y no por diferencias en la cantidad de carbohidratos en las dietas utilizadas.

En todos los tratamientos en los que se utilizó *Artemia* en este trabajo, ya sea como alimento principal o parcialmente sustituido por AMC, independientemente de la presencia de algas en la dieta, la actividad de la amilasa fue baja (excepto en M<sub>III</sub> y PL<sub>1</sub> de *L. setiferus* alimentados con nauplios de *Artemia*). Se ha discutido que el glucógeno no constituye una fuente importante de carbohidratos en la dieta ya que cuando las presas son capturadas por el depredador, el glucógeno presente en el cuerpo se degrada rápidamente y prácticamente desaparece antes de que las presas sean consumidas (Pike y Brown, 1984). Por esto, a pesar de que el contenido de carbohidratos en la *Artemia* no es bajo (Tabla 5), podemos pensar que la *Artemia* no aporta muchos carbohidratos a la dieta. Por otro lado muy pocos grupos del fitoplancton marino utilizan almidón como reserva y la mayoría de los productos de reserva utilizados por el fitoplancton marino no son hidrolizados por la amilasa (Lovett y Felder, 1990), por lo que podemos pensar que las algas no constituyeron una fuente importante de carbohidratos para las postlarvas.

La mayor actividad de la amilasa y la glucosidasa en estos experimentos no se relacionó en ningún caso con un mejor crecimiento. Chevalier y Van Wormhoudt (1998) señalan que la imposibilidad de la glucosidasa de digerir los enlaces  $\alpha$  1-6 puede estar relacionada con la diferente digestibilidad de

almidones de diferentes orígenes y que probablemente la principal función de la glucosidasa en los camarones sea completar la ruptura de la maltosa y los oligosacáridos liberados por la acción de la amilasa. Esto coincide con la alta correlación encontrada entre la actividad total de la amilasa y la glucosidasa en este trabajo.

La tendencia a la disminución de la actividad específica de las enzimas analizadas entre el último estadio larval y los primeros estadios postlarvales, se corresponde con lo encontrado en otros peneidos (Lovett y Felder, 1990a; Fang y Lee, 1992; Lemos et al., 1999), en los que la disminución de la actividad de las enzimas digestivas coincide con la degeneración del tracto digestivo que ocurre entre  $M_I$  y  $PL_4$ . Lemos et al. (1999) concluyen que la variación de la actividad enzimática está asociada con los cambios morfológicos y en la conducta que ocurren durante el desarrollo ontogénico de los peneidos, la actividad enzimática más alta en  $PZ_{II-III}$  y  $M_I$  puede reflejar también el incremento en el intercambio de energía debido a mayor intensidad en la conducta natatoria y en la ingestión de alimentos.

Jones et al. (1997) señalan que una actividad enzimática alta puede ser reflejo de una adaptación cuando las larvas se alimentan de algas, el tiempo de vaciado del tracto digestivo es muy rápido y el alimento tiene un bajo contenido energético. En este sentido Kumlu y Jones (1995b) encontraron que los cambios de la actividad enzimática de las larvas de *Macrobrachium rosenbergii* y *Palaemon elegans* se relacionan bien con cambios morfológicos en la estructura del tracto digestivo y con el tiempo de gastroevacuación de estas especies.

El incremento en la actividad de las enzimas digestivas que ocurre en la cuarta y quinta semana de desarrollo postlarval en *L. setiferus* coincide con la diferenciación del hepatopáncreas y con el incremento en el tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo y no está relacionado con cambios en la dieta (Lovett y Felder, 1990). Sin embargo Lemos y Rodríguez (1998) sugieren que el incremento en la actividad de la tripsina que encontraron en *M. japonicus* entre  $PL_{15}$  a  $PL_{20}$  puede reflejar una adaptación al bajo contenido de proteína en la dieta y no parece ser debido exclusivamente a eventos ontogénicos.

Según Taboada et al. (1998), los juveniles tempranos de *L. setiferus* tienen un requerimiento de proteínas de 30%. Por otro lado, Gaxiola (1994) encontró que los requerimientos de proteínas de *L. setiferus* son de 40% para  $PL_{10-40}$  y de 50% para  $PL_{10-30}$ , mientras que en estudios realizados recientemente por Durruty (2001) se encontró requerimientos de 60% de proteínas para las mysis de esta especie. Esto muestra que existe una disminución en los requerimientos de proteínas de acuerdo con la edad. Los requerimientos de proteínas de  $PL_{1-10}$  de *L. setiferus* se desconocen hasta el momento, pero estos resultados indican que 50% de proteínas en la composición del alimento

artificial utilizado podría no ser suficiente para satisfacer los requerimientos de estos estadios y pudo influir en el incremento en la actividad de la tripsina al igual que en la baja tasa de crecimiento encontrada con esta dieta. Otro aspecto que se debe analizar es la calidad de la proteína del alimento, cuando el alimento artificial se combinó con nauplios de *Artemia* sólo o con algas, el crecimiento fue mayor y disminuyó la actividad de la tripsina, mostrando que la combinación de alimentos mejoró la composición de la dieta.

En juveniles de *L. vannamei* de 1 a 2 g Cousin et al (1991) encontraron el nivel de proteínas óptimo cerca de 30%, mientras Colvin y Brand (1977) encontraron el óptimo entre 30 y 35% para postlarvas de esta especie. Sin embargo, Cousin et al (1991) discuten que este resultado en postlarvas debería ser mayor y que esto es debido al método utilizado por Colvin y Brand (1977) para calcular el óptimo. De esta forma, queda la duda de si el 50% de proteína en el alimento artificial fue suficiente para los requerimientos de las postlarvas tempranas de *L. vannamei*. Durruty (2001) encontró un nivel óptimo de 50% de proteínas en dietas suministradas a mysis de *L. vannamei*.

Para *L. setiferus*, en ninguna de las combinaciones de alimento utilizadas se encontró una relación entre una mayor actividad enzimática y mejores respuestas al alimento con relación al crecimiento o el contenido de proteínas solubles. En *L. vannamei* la mayor actividad de las proteasas generales coincide con los tratamientos en que se encontró mayor crecimiento y contenido de proteínas solubles, sin embargo en este caso la mayor actividad proteolítica pareció deberse a alguna enzima diferente de la tripsina o quimotripsina. Al parecer el incremento de la actividad proteolítica en estos tratamientos aumentó la digestibilidad de las dietas mixtas posibilitando una mayor canalización de las proteínas para el crecimiento.

Las variaciones interespecíficas en los patrones de digestión de las proteínas se hacen evidentes no sólo en los diferentes niveles de actividad de las proteasas, si no también en la presencia de enzimas con diferentes pesos moleculares, por lo que debe esperarse diferencias en la digestión de la fracción proteica del alimento en las diversas especies de peneidos (Lemos et al., 2000)

La mayor actividad de las carbohidrasas encontrada en *L. setiferus* independientemente de la dieta, pudiera indicar una adaptación genética de la especie que refleja un hábito más omnívoro como ha sido descrito para juveniles de la especie (Minello y Zimmerman, 1991). En correspondencia con esto, la mayor actividad de las proteasas generales en *L. vannamei* pudiera estar relacionado con hábitos más carnívoros de esta especie.

Consumo de oxígeno, excreción nitrogenada y relación O/N

El consumo de oxígeno ha sido estudiado en muchas postlarvas de peneidos con relación a la variación de factores ambientales como temperatura, salinidad y concentración de oxígeno disuelto (Gaudy y Sloane, 1981; Licop, 1984; Chu y Ovsianico-Koulikovsky, 1994; Rosas et al., 1997a). Sin embargo se ha prestado poca atención al análisis de los cambios en el consumo de oxígeno relacionados con la dieta o con el estado nutricional de los estadios tempranos de desarrollo de los peneidos (Kurmalı et al., 1989, Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994; Rosas et al., 1995).

Según Rosas et al. (1995), el consumo de oxígeno de las larvas de camarón es la suma del incremento de calor aparente y de la actividad de las larvas, por lo que puede verse como el reflejo de los costos metabólicos asociados con la ingestión y asimilación de cada tipo de alimento. De acuerdo con Kurmalı et al. (1989), la magnitud del consumo de oxígeno dependerá del tipo y la cantidad de alimento ingerido, de la calidad nutricional del alimento y de la condición fisiológica de las larvas

En las postlarvas, sin embargo, la tasa metabólica puede también estar influenciada por las diferencias en la actividad natatoria de los diferentes estadios (Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994) Estos autores asociaron el menor consumo de oxígeno en PL<sub>9</sub> que en PL<sub>3</sub> de *Metapenaeus ensi* con la transición del modo de vida de planctónico a bentónico, el cual pudiera estar asociado tanto con los cambios de actividad como con la alimentación. Durante el desarrollo de *L. setiferus* también ocurren cambios en la actividad alimentaria de las larvas las cuales tienen un tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo menor de 15 minutos. Durante los estadios postlarvales, tanto el tiempo de retención del alimento, como el intervalo entre alimentaciones sucesivas, se incrementa gradualmente hasta que se alcanza el patrón de los adultos (Lovett y Felder, 1990b)

En este estudio, aunque las diferentes dietas utilizadas tuvieron un efecto significativo sobre el consumo de oxígeno en las dos especies, no se encontró un patrón claro de este efecto. En *L. setiferus* se observaron valores más altos de consumo de oxígeno en los tratamientos en los que el alimento artificial fue el componente principal de la dieta, sin embargo en *L. vannamei* no se encontró un incremento marcado del consumo de oxígeno en una dieta en particular. La alta variabilidad que presentó el consumo de oxígeno en las dos especies pudo deberse tanto a la conducta de las postlarvas como a diferencias en la demanda energética de los diferentes estadios postlarvales. Durante el desarrollo postlarval los cambios del modo de vida pueden tener un efecto más marcado que la talla en la tasa respiratoria debido a las variaciones en la demanda de oxígeno (Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994) Esto podría también explicar la ausencia de una disminución en la tasa de consumo de oxígeno relativa al peso con el incremento de peso de los animales, como es bien conocido en la generalidad de los crustáceos

La excreción de amonio varió con las diferentes dietas en ambas especies. Se observó una mayor tasa de excreción de amonio cuando las postlarvas se alimentaron con el alimento artificial que cuando fueron alimentadas con las otras dietas. Estas diferencias podrían explicarse como el resultado de la deaminación de los aminoácidos de la dieta, lo cual está relacionado tanto con la calidad como con la cantidad de proteínas dietéticas.

De acuerdo con Claybrook (1983), la deaminación se produce cuando la proteína dietética es deficiente en uno o más aminoácidos esenciales o hay un pobre balance aminoacídico, cuando se ingieren cantidades excesivas de proteínas, o cuando la cantidad de energía derivada de los lípidos y carbohidratos es insuficiente para mantener los procesos corporales. En este sentido, una mayor excreción nitrogenada en las postlarvas alimentadas con AMC podría relacionarse con alguna deficiencia en el balance proteico de esta dieta, ya que al combinarse con *Artemia*, se produce una disminución en la tasa de excreción de amonio.

La razón O:N como índice del sustrato metabólico cambió en los camarones de la mayoría de los tratamientos según aumentó la edad de las postlarvas, mostrando una transición en el uso de las proteínas como fuente de energía en los primeros estadios al uso de un sustrato mixto de proteínas y lípidos en los estadios más avanzados de ambas especies. Similares resultados señalan Chu y Ovsianico-Koulikowsky (1994) durante el desarrollo de *M. ensi*.

Minello y Zimmerman (1991) mostraron que *L. setiferus* es la especie de camarón más herbívora del Golfo de México, lo que podría explicar su habilidad para utilizar una mezcla de lípidos y proteínas como fuente de energía dietética. Según Taboada et al. (1998), esto podría representar una ventaja para *L. setiferus*, ya que estos animales serían capaces de utilizar fuentes de bajo costo energético para sus procesos metabólicos y explotar las proteínas como componente estructural para el crecimiento. La capacidad para el uso de sustratos mixtos como fuente energética se encontró en las postlarvas mayores, tanto de *L. setiferus* como de *L. vannamei*, cuando fueron alimentadas con dietas mixtas en las que el alimento artificial no constituyó el componente principal.

Sin embargo, al comparar el crecimiento de diferentes tallas de *L. setiferus* y *L. vannamei* Chen et al (1985) encontraron que el crecimiento diario es significativamente mayor cuando se incrementa la razón proteína animal:proteína vegetal de la dieta, lo cual es más evidente en los animales más pequeños. Las tallas mayores de *L. vannamei* utilizaron más eficientemente la dieta con menor proporción de proteína animal:vegetal, lo que demuestra un cambio en los hábitos de carnívoro a omnívoro o detritófago. Los juveniles mayores de *L. setiferus* necesitaron mayor proporción de proteína animal para un mejor crecimiento que *L. vannamei*, incrementándose la eficiencia de la conversión en *L. setiferus* cuando aumenta la proteína animal.

En un estudio previo, Rosas et al. (1995) mostraron que la razón O:N en PL<sub>30</sub> de *L. setiferus* cambia de acuerdo al nivel de proteína de la dieta, con valores de O:N bajos en los camarones alimentados con dietas con niveles bajos de proteína o con proteínas en exceso y altos valores de la O:N en camarones alimentados con un nivel óptimo de proteínas. Estos resultados muestran la gran capacidad de esta especie para utilizar diferentes sustratos metabólicos como fuentes de energía de acuerdo a su disponibilidad.

Aunque los valores de la razón O:N obtenidos en este estudio indican que las postlarvas mayores de la mayoría de los tratamientos utilizaron una mezcla de proteínas y lípidos como sustrato energético, la proporción en que fueron utilizados los diferentes sustratos metabólicos como fuente de energía varió con las diferentes dietas. En las postlarvas alimentadas con alimento artificial los valores de O:N se pueden relacionar con el catabolismo de proteínas o de iguales proporciones de proteínas y lípidos (Mayzaud y Conover, 1988), mientras que con las otras dietas, los mayores valores de la razón O:N indican una mayor influencia del catabolismo de lípidos.

El efecto del alimento artificial sobre el sustrato metabólico utilizado se hizo más marcado en las postlarvas de *L. vannamei*. En esta especie los valores de O:N muestran una mayor utilización de las proteínas como sustrato energético que *L. setiferus* al suministrárseles alimento artificial solo, resultando el único caso en que las postlarvas de *L. vannamei* alcanzaron un menor crecimiento que *L. setiferus*. Mayzaud y Conover (1988) señalan que la relación O:N puede depender no tanto de la composición química del alimento, como del uso que se haga de cada componente asimilado, lo que está determinado por la estrategia metabólica que adopte el animal.

En general, todos los estadios postlarvales alimentados solamente con AMC, mostraron bajos valores de la relación O:N. Si el contenido de proteínas de la dieta está desbalanceado, los aminoácidos suministrados por la dieta no pueden ser utilizados en su totalidad para la síntesis, por lo que parte de ellos serán desanimados y el nitrógeno excretado sin haber sido utilizados para el crecimiento de los tejidos (Mayzaud y Conover, 1988). El incremento de la excreción de amonio en las postlarvas alimentadas con la dieta artificial, puede ser el resultado del incremento en la deaminación de los aminoácidos provocado por una dieta mal balanceada. Esto se refleja en la menor tasa de crecimiento encontrada en los tratamientos que presentaron mayor excreción nitrogenada (*L. setiferus* con dieta 4 y *L. vannamei* con dietas 3 y 4).

Como se muestra en los resultados obtenidos en el presente estudio, en las postlarvas tempranas es conveniente la evaluación de la excreción de amonio junto con el consumo de oxígeno, lo que posibilita obtener una mejor información sobre los diferentes sustratos energéticos utilizados en los



diferentes estadios (mediante el cálculo de la relación O:N). En contraste, los resultados que se obtienen al analizar sólo el consumo de oxígeno parecen deberse en mayor medida a los cambios de hábitat que se producen en los primeros estadios postlarvales que a las alteraciones metabólicas producidas por la dieta.

La inclusión de algas en las dietas incrementó el crecimiento cuando las postlarvas se alimentaron con nauplios de *Artemia* o nauplios de *Artemia* y AMC. Sin embargo el efecto de las algas en estos tratamientos no se manifiesta en un cambio en el contenido de proteínas solubles, en la actividad de las enzimas digestivas, en la excreción de amoníaco ni en el sustrato metabólico. Aparentemente las algas jugaron un papel como fuente de vitaminas u otros nutrientes para las postlarvas.

En las postlarvas alimentadas con la dieta artificial como alimento principal, se obtuvieron las menores tasas de crecimiento, el menor contenido de proteínas solubles, alta actividad de proteasas y amilasa, mayor excreción de amonio y menores valores de la relación O:N. Estos resultados indican que esta dieta no se ajustó a los requerimientos nutricionales de las postlarvas de ambas especies. Sin embargo, cuando se combinó el alimento artificial con nauplios de *Artemia* o con nauplios de *Artemia* y algas, las postlarvas crecieron mejor que cuando fueron alimentadas solamente con nauplios de *Artemia* o se adicionaron algas a esta dieta, lo que muestra que el AMC contiene algunos nutrientes necesarios para las postlarvas y que no están presentes en los nauplios de *Artemia* ni en las algas.

Merchie et al. (1998) señalan que la vitamina C juega un importante papel en la salud animal al actuar como antioxidante que inactiva los radicales libres producidos por la actividad normal de las células o por diversos estrés. En postlarvas de *L. vannamei*, Lavens et al (1999) encontraron un crecimiento significativamente mayor de acuerdo al nivel de ácido ascórbico en las dietas. Se ha comprobado en peneidos que la incorporación de vitamina C en las dietas mejora la condición fisiológica general de las postlarvas e incrementa su resistencia a enfermedades, mientras que el uso de dietas que contienen lecitina de soya y preparados de levadura mejoran la calidad de las postlarvas y tienen efectos positivos en la resistencia a enfermedades (Lavens y Sorgeloos, 2000). La presencia de vitamina C, lecitina y levaduras en la composición del alimento microparticulado utilizado en este trabajo pudiera explicar el efecto positivo que tuvo sobre el crecimiento de ambas especies al ser suministrado como suplemento del alimento vivo.

Al combinar el alimento vivo con el alimento artificial la actividad de la tripsina y la amilasa fueron menores, mientras que la relación O:N mostró la utilización de un sustrato mixto. Estas combinaciones de alimentos posibilitan el acceso de las postlarvas a una más amplia variedad de nutrientes, respondiendo mejor a los requerimientos de estos estadios de desarrollo. Respecto a esto Jones et al (1997) señalaron que las deficiencias nutricionales (ácidos grasos, amino ácidos, vitaminas, etc.) son

más comunes en sistemas de cultivo artificial debidos a que las larvas de crustáceos en su medio natural se alimentan de una amplia variedad de organismos, teniendo mayor oportunidad de obtener los nutrientes esenciales.

## CONCLUSIONES

- 1- En las postlarvas de *L. setiferus* las dietas que indujeron un aumento de la actividad enzimática y los valores más bajos de la relación O:N (alimento artificial sólo o con algas) provocaron los crecimientos menores, mostrando que dichas dietas no se adaptaron a los requerimientos nutricionales de la especie.
- 2- La actividad proteolítica mayor en las postlarvas de *L. vannamei* se encontró con las dietas que produjeron los mejores crecimientos (*Artemia* y algas, *Artemia* y alimento artificial y *Artemia*, alimento artificial y algas), sin embargo esta actividad enzimática no se atribuyó a la tripsina y la quimotripsina.
- 3- El sustrato metabólico varió con la edad de las postlarvas, encontrándose un incremento en la utilización de sustratos mixtos según avanza el desarrollo de las postlarvas independientemente de la dieta suministrada.
- 4- La excreción de amonio vinculada al consumo de oxígeno de las postlarvas tempranas de peneidos, brinda una mejor información sobre el uso de los diferentes sustratos energéticos de las dietas suministradas a las postlarvas.
- 5- El efecto de la inclusión de algas en el alimento no se vio reflejado en la actividad enzimática ni en el sustrato metabólico utilizado, sin embargo la adición de algas a la dieta de las postlarvas aparentemente mejora la digestibilidad de las dietas y aporta algunos nutrientes que favorecen el crecimiento.
- 6- La utilización de nauplios de *Artemia* combinados con alimento artificial y algas produjo el mayor crecimiento en las postlarvas de ambas especies.

**RECOMENDACIONES**

- 1- Es necesario profundizar en el estudio de diferentes enzimas digestivas en las postlarvas tempranas de los peneidos, lo que nos podría dar una mejor información sobre el efecto de diferentes dietas en la fisiología de la digestión de estos estadios en los que se producen grandes cambios morfológicos y en el hábitat.
- 2- La sustitución parcial de los nauplios de *Artemia* por alimento microparticulado comercial y la utilización de algas en la cría de postlarvas tempranas de *L. setiferus* y *L. vannamei*, además de incrementar el crecimiento, evita la sobrepoblación de *Artemia* en los tanques de cultivo y reduce el costo de la operación con una mejor asimilación de la dieta suministrada.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES ZOOTÉCNICAS

## LITERATURA CITADA

- Bernfeld, P. (1955). Sur un méthode de microdosage des amylases. *In: Methods of Enzymology* (ed. N.O.K.S.P. Colowick), pp. 149-157. New York: Academic Press.
- Bradford, M. M. (1976). A refined and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann. Biochem.* 72:248.
- Chamberlain, G.W., Hutchins, D.L., Lawrence, A.L. (1981). Mono and polyculture of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* in ponds. *J. World Maricult. Soc* : 209-224.
- Chen, H.Y., Zein Eldin, Z.P., Aldrich, D.V. (1985). Combined effects of shrimp size and dietary protein source on the growth of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei*. *J. World Maricul Soc.*, 16: 288-296.
- Chen, H.Y., Lin, H.F. (1992) Effects of different Artemia diets on the growth and digestive enzyme activities of early postlarvae *Penaeus monodon*. *Asian Fish. Science*, 5: 73-81.
- Chu, K., Ovsianico-Koulikowsky, N.N. (1994). Ontogenetic changes in metabolic activity and biochemical composition in the shrimp, *Metapenaeus ensis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 183, 11-26.
- Clark, D.J., Lawrence, A.L., Swakon, D.H.D. (1993). Apparente chitin digestibility in penaeid shrimp. *Aquaculture*, 109: 51-57.
- Claybrook, D.L. (1983). Nitrogen Metabolism *In: Mantel L.H. (Ed.). The Biology of Crustacea. Vol 5, Internal Anatomy and Physiological Regulation. Academic Press, New York: 163-213.*
- Colvin, L.B., Brand, C.W. (1977). The protein requirement of penaeid shrimp at various life-cycle stages in controlled environment system. *Proc. World Maricul Soc.*, 8: 821-840
- Conover, R.J., Corner, E.D.S. (1968). Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 48: 49-75
- Conte, F.S. (1978). Penaeid shrimp culture - current status and direction of research. *In. P.N Kaul and C.J. Sinderman (Editors), Drugs and Food from the Sea. University of Oklahoma, Norman, OK. 333- 343.*
- Cousin, M., Cuzon, G., Blanchet, E., Ruelle, F , AQUACOP (1991). Protein requirements following an optimum dietary energy to protein ratio for *Penaeus vannamei* juveniles. *Fish Nutrition in Practice, Biarritz INRA (ed), Paris (Les Colloques, No 61) 599-606.*
- Cousin, M., Cuzon, G., Guillaume, J., AQUACOP (1996). Digestibility of starch in *Penaeus vannamei* in vivo and in vitro study on eight samples of various origin. *Aquaculture*, 140 361-372
- Cruz, L E , Guillaume, J., Van Wormhoudt, A. (1985) Effect of various levels of squid protein on growth and some biochemical parameters of *Penaeus japonicus* juveniles *Proceedings of the First International Conference on the Culture of penaeid prawns shrimps, Iloilo City, Philippines p 172*

- Dall, W., Smith, D.M. (1986). Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* 55, 23-33.
- Dall, W., Hill, B.J., Rothlisberg, P.C., Staples, D.J. (1990). The Biology of Penaeidae. *Adv. Mar Biol.*, 27: 1-489.
- Durruty, C. (2001). Requerimientos nutricionales de proteínas en larvas de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM: 37 pp.
- Fang, L.S., Lee, B.N. (1992). Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon* *Comp Biochem. Physiol.*, 103B (4): 1033-1037
- Felder, D. L., Martin, J.W., Goy, J.W. (1985). Patterns in early postlarval development of decapods. In *Crustacean Issues*, vol. 2 Larval Growth (ed. Wenner), pp. 163-225. Rotterdam: AA Balkema.
- Fenucci, J.L., Zein-Eldin, Z.P., Lawrence, A.L. (1980). The nutritional response of two penaeid species to various levels of squid meal in a prepared feed. *Proc. World Maricul. Soc.*, 11:403-409.
- Galgani, F.G., Benyamin, Y., Ceccaldi, H.J. (1984). Identification of digestive proteinases of *Penaeus kerathurus* (Forskål): a comparison with *Penaeus japonicus* Bate. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78B (2): 355-361.
- Gallardo, P.P., Alfonso, E., Gaxiola, G., Soto, L. A., Rosas, C. (1995). Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 131, 3-4.
- Gaudy, R., Sloane, L. (1981). Effect of salinity on oxygen consumption in postlarvae of the penaeid shrimps *Penaeus monodon* and *P. stylirostris* without and with acclimation. *Mar Biol.*, 65, 297-301.
- Geiger, R (1988). Chymotrypsin. In: *Methods of enzymatic analysis*. Vol V. Enzymes: Third Edition Bergmeyer, J. and Grab, M (eds ). Chemie Verlag Weinheim 99-104.
- Geiger, R., Fritz, H. (1988). Trypsin. In: *Methods of Enzymatic Analysis*, vol. Vol. V Enzymes: Third Edition. Bergmeyer, J. and Grab, M. (eds.) Chemie Verlag. Weinheim: 119-129
- González, R., Fraga, V., Carrillo, O. (1994). Cambios ontogénicos en la actividad de las principales enzimas digestivas de *Penaeus schmitti* *Rev Invest. Mar.*, 15(3): 262-268.
- Gullard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: *Culture of Marine Invertebrates Animals* (W L. Smith and M.H. Chanley eds.). 29-60.
- Harris, E. (1959) Oceanography of Long Island Sound II The nitrogen cycle in Long Island Sound *Bull. Bingham Oceangr. Coll.*, 17. 31-65.
- Hasson, K W., Lightner, D.V., Mari, J., Bonami, J R , Poulos, B.T , Mohnhey, L.L., Redman, R.M , Brock, J.A. (1999). The geographic distribution of Taura Syndrome Virus (TSV) in the Americas: determination by histopathology and in situ hybridization using TSV-specific cDNA probes *Aquaculture* 171, 13-26
- Hochachka, P W (1991) Design of energy metabolism. In C L. Prosser, editor *Comparative Animal Physiology*, fourth edition Wiley-Liss, New York. New York, USA pp 325-351

- Hopkins, J.S., Hamilton, R.D., II, Sandifer, P.A., Browdy, C.L., Stokes, A.D. (1993). Effect of water exchange rate on production, water quality, effluent characteristics and nitrogen budgets of intensive shrimp ponds. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 304-320.
- Hunter, D.A., Uglow, R.F. (1993). A technique for the measurement of total ammonia in small volumes of sea water and hemolymph. *Ophelia* 37, 31-40.
- Jones, D.A. (1998). Crustaceans larval microparticulate diets. *Rev. Fish. Science*, 6 (1-2): 41-54.
- Jones, D.A., Yule, A.B., Holland, D.L. (1997). Larval Nutrition. *In: Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture*, vol. 6 (L.R. D'Abraham, D.E. Conklin and D.M. Akiyama eds.) World Aquaculture Society Baton Rouge, LA, USA: 353-389.
- Kinne, O. (1976). Cultivation of marine organisms. Water quality management and technology. *In: Kinne O. (ed). Marine Ecology Vol I (2). Wiley-Interscience, New York:79-300*
- Kormanik, G.A., Cameron, J.N. (1981). Ammonia excretion in animals that breathe water: A review. *Marine Biology Letters*, 2: 11-23.
- Kuban, F.D., Lawrence, A.L., Wilkenfeld, J.S. (1985). Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture* 47, 151-162.
- Kumlu, M., Jones, D.A. (1995a). The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. *J. World Aquacult. Soc.* 26, 406-415.
- Kumlu, M., Jones, D.A. (1995b). Feeding and digestion in the caridean shrimp larva of *Palaemon elegans* Rathke and *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) (Crustacea: Palaemonidae) on live and artificial diets. *Aquacult. Nutr.*, 1: 3-12
- Kumlu, M., Sarihan, E., Tekelioglu, N. (1992). Trypsin activity in larvae of *Penaeus monodon* Fabricius, 1789 (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) in relation to their diet. *Isr. J. Aquacult. Bamidgeh*, 44: 103-110.
- Kurmaly, K., Jones, D.A., Yule, A.B., East, J. (1989). 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.
- Lavens, P., Merchie, G., Ramos, X., Leon-Hing, A., Van Hauwaert, A., Pedrazzoli, A., Nelis, H., de Leenheer, A. (1999). Supplementation of ascorbic acid 2-monophosphate during the early postlarval stages of the shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 5 205-209.
- Lavens, P., Sorgeloos, P. (2000). Experiences on importance of diet for shrimp postlarval quality. *Aquaculture* 191: 169-176.
- Leger, P., Sorgeloos, P. (1992). Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. *In Marine shrimp culture principles and practices* (A. W. Fast and L. J. Lester eds.), pp 245-287 Elsevier Science Publisher, Amsterdam, The Netherlands.
- Lemos, D., Ezquerro, J.M., García-Carreño, F.L. (2000) Protein digestion in penaeid shrimp digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture*, 186: 89-105

- Lemos, D., Hernández-Cortés, M.P., Navarrete, A., García-Carreño, F.L., Phan, V.N. (1999) Ontogenetic variation in digestive proteinase activity of larvae and postlarvae of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda: Penaeidae) *Mar. Biol.*, 135 (4): 653-662.
- Lemos, D., Rodriguez, A (1998). *Nutritional effects on body composition, energy content and trypsin activity of *Penaeus japonicus* during early postlarval development.* *Aquaculture* 160: 103-116
- Le Moullac, G., Klein, B., Sellos, D., Van Wormhoudt, A. (1996). Adaptation of trypsin, chymotrypsin and  $\alpha$ -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 208: 107-125.
- Le Moullac, G , Van Wormhoudt, A., AQUACOP (1994). Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fibre levels, and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea, Decapoda). *Aquat. Living Resour.*, 7 (3): 203-210
- Le-Vay, L., Rodriguez, A , Kamarudin, M.S., Jones, D.A. (1993a). Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture* 118 (3-4), 287-297.
- Le-Vay, L., Rodriguez, A , Mourente, G., Jones, D.A. (1993b). Influence of diet on digestive activity and growth of *Penaeus japonicus* larvae. Implications for nutritional studies. *World Aquaculture'93 Int. Conf , Torremolinos (España)*.
- Licop, M.S. (1984). The influence of temperature and salinity on oxygen consumption of *Penaeus monodon* postlarvae. *Proceedings Of The First International Conference On The Culture Of Penaeid Prawns Shrimps, Iloilo City, Philippines 1985*, 178.
- Lovett, D.L , Felder , D.L. (1989). Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *J. Morphology* 201. 253-272.
- Lovett, D.L., Felder, D.L (1990a). Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) *Biol. Bull.* 178: 144-159.
- Lovett, D L , Felder, D.L (1990b). Ontogeny of kinematics in the gut of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea Penaeidae). *J Crust. Biol* 10: 53-68.
- Mayzaud, P., Conover, R.J. (1988). O.N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism *Mar. Ecol Prog. Ser* 45: 289-302.
- Merchie, G , Kontara, E , Lavens, P , Robles, R., Kurmaly, K., Sorgeloos, P (1998) Effect of vitamin C and astaxanthin on stress and disease resistance of postlarval tiger shrimp, *Penaeus monodon* (Fabricius) *Aquaculture Research* 29 579-585
- Minello, T.J , Zimmerman, R.J. (1991) The role of estuarine habitats in regulating growth and survival of juvenile penaeid shrimp *In* *Frontiers in Shrimp Research* (P DeLoach, W J Dougherty and M.A Davison, eds ), Elsevier, Amsterdam 1-16



- Overstreet, R.M., Lightner, D.V., Hasson, K.W., McIlwain, S., Lotz, J.M. (1997). Susceptibility to Taura syndrome virus of some penaeid shrimp species native to the Gulf of Mexico and the southeastern United States. *J. Invertebr. Pathol.* 69: 165-176.
- Parker, J.C., Conte, F.S., Mac Grath, W.S., Miller, B.W. (1974) An intensive culture system for penaeid shrimp. *Proc of World Maricult. Soc.*, 5:65-79.
- Parry, G. (1960). Excretion. In: Waterman, A.T. (ed). *The Physiology of Crustacea I*. Academic Press, New York: 341-366.
- Pérez – Farfante, I. (1969). Western Atlantic shrimps of the genus *Penaeus*. *Fish. Bull.*, 67: 461-591
- Pike, R.L., Brown, M.L (1984) *Nutrition, An Integral Approach* Macmillan Publishing Company, New York. 1068 pp.
- Regnault, M. (1981) Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* L : metabolic response to prolonged starvation. *J. Comp. Physiol.* 141: 549-555.
- Renaud, S.M., Thingh, L.V., Parry, D.L. (1999). The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture* 170: 147-159.
- Ribeiro, F.A.L.T., Jones, D.A. (2000) Growth and ontogenetic change in activities of digestive enzymes in *Fenneropenaeus indicus* postlarvae. *Aquaculture Nutrition*, 6(1): 53
- Rodríguez, A., Le-Vay, L., Mourente, G., Jones, D.A. (1994). Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Mar. Biol.* 118: 45-51.
- Rosas, C., Cuzon, G , Taboada, G., Pascual, C., Gaxiola, G , Van Wormhoudt, A. (2001) Effect of dietary protein and level energy (P/E) on growth, oxygen consumption, hemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus* (Crustacea Decapoda: Penaeidae). *Aquaculture Research*
- Rosas, C , Sánchez, A , Díaz, E., Soto, L A , Gaxiola, G., 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. *J. World Aquacult. Soc* 27: 92-102
- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz-Iglesia, E , Brito, R , Martínez, E , Soto, L.A. (1997a) Critical dissolved oxygen level to *Penaeus setiferus* and *Penaeus schmitti* postlarvae (PL<sub>10-18</sub>) exposed to salinity changes *Aquaculture* 152: 1-4.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gallardo, P., Quiroz, J , Gaxiola, G , Díaz-Iglesia, E , Soto, L.A. (1995) Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii *Aquacult Nutr.* 1:13-20.
- Rosas, C , Sánchez, A , Gaxiola, G , Díaz, E , Brito, R., Soto, L A. (1997b). Tasa respiratoria de larvas de *Penaeus setiferus* y *P schmitti* Burkenroad (Decapoda Penaeidae). *Rev Invest Mar* 18 51-57

- Rosas, C., Sánchez, A., Díaz, E., Soto, L.A., Gaxiola, G., Brito, R., Baez, M., Pedroza, R (1995). Oxygen consumption and ammonia excretion of *Penaeus setiferus*, *P. schmitti*, *P. duorarum* and *P. notialis* postlarvae fed purified test diets: effect of protein levels on substrate metabolism. *Aquatic Living Resources* 8: 161-169.
- Rosas, C., Ocampo, L., Gaxiola, G., Sánchez, A., Soto, L.A. (1999) Effect of salinity on survival, growth, and oxygen consumption of postlarvae (PL<sub>10</sub>-PL<sub>21</sub>) of *Penaeus setiferus*. *J. Crust. Biol.*, 19 (2): 65-75.
- Samocha, T.M., Burkott, B.J., Lawrence, A.L., Juan, Y.S., Jones, E.R., McKee, D.A. (1998). Management strategies for production of the Atlantic white shrimp *Penaeus setiferus* as bait shrimp in outdoor ponds. *J. World Aquacult. Soc.*, 29 (2): 211-220.
- Sandifer, P.A., Hopkins, J.S., Stokes, A.D., Browdy, C.L. (1993). Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *Penaeus vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. *J. World Aquacult. Soc.* 24: 295-303.
- Sokal, R.R., Rohlf, F.J. (1981). *Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research.* (W H Freeman and Company eds.), pp. 859. New York
- Sorgeloos, P., Coutteau, P., Dhert, P., Merchie, G., Lavens, P. (1998). Use of Brine Shrimp, *Artemia* spp., in Larval Crustacean Nutrition: A Review. *Reviews in Fisheries Science*, 6: 1-2.
- Taboada, G., Gaxiola, G., García, T., Pedroza, R., Sánchez, A., Soto, L.A., Rosas, C. (1998). Oxygen consumption and ammonia-N excretion related to protein requirements for growth of white shrimp, *Penaeus setiferus* (L), juveniles. *Aquaculture Research* 29: 823-833.
- Tacon, A.G. (1990) *The nutrition and feeding of farmed fish and shrimps. A Training Manual.* Argent Press. 100 pp.
- Trimble, W.C. (1980). Production trials for monoculture and polyculture of white shrimp (*Penaeus vannamei*) or blue shrimp (*Penaeus stylirostris*) with Florida pompano (*Trachinotus coralinus*) in Alabama, 1978-1979. *Proc. World Maricult. Soc.*, 11: 44-59.
- Todd, E.W. (1949). Quantitative studies on the total plasmin and the trypsin inhibitor of human blood serum. *J. Exptl. Med.*, 89: 295-308.
- Van Wormhoudt, A., Ceccaldi, H.J., Martin, B.J. (1980). Adaptation de la teneur en enzymes digestives de l'hepatopancreas de *Palaemon serratus* (Crustacea, Decapoda), a la composition d'aliments experimentaux. *Aquaculture*. 63-78.
- Van Wormhoudt, A., Cruz, E., Guillaume, J., Favrel, P. (1986). Action de l'inhibiteur trypsique de soja sur la croissance et l'activité des enzymes digestives chez *Penaeus japonicus* (Crustacea, Decapoda). rôle éventuel des hormones gastro-intestinales. *Océanis*, 12: 305-319.
- Vega Villasante, F., Nolasco, H., Civera, R. (1995). The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis*. II Properties of protease activity in the whole digestive tract *Comp Biochem Physiol.*, 112B (1). 123-129

- Villarreal, H., Hinojosa, P., Naranjo, J. (1994) Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. *Comp. Biochem. Physiol.*, 108A (2-3): 331-336.
- Walter, H.E. (1988). Proteinases (Proteins as Substrates) Method with Haemoglobin, Casein and Azocoll as Substrate. In: *Methods of Enzymatic Analysis.*, vol. V Enzymes: Third Edition Bergmeyer, J. and Grab, M. (eds.). Chemie Verlag, Weinheim: 270-277
- Wigglesworth, J.M., Griffith, D.R. (1994). Carbohydrate digestion in *Penaeus monodon*. *Mar. Biol.*, 120: 571-578.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New York: 718 pp.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer al director de esta tesis, a mi amigo el Dr. Carlos Rosas Vázquez por todo el apoyo que me ha brindado durante muchos años, tanto en el aspecto científico como personal, así como por haberme impulsado a continuar mi superación

A la Dra. Gabriela Gaxiola por su amistad y ayuda en la determinación de la actividad enzimática.

A María Eugenia Chimal por haber colaborado con tanta dedicación durante la realización de los experimentos y brindarme su amistad, por la que pude conocer a esa tan bonita familia Chimal-Hernández, que me ha hecho sentir parte de ella.

A todos los miembros del Grupo de Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias de la UNAM con sede en Cd. del Carmen, quienes me brindaron su apoyo incondicional en los buenos y malos momentos.

A Adrina Paredes y Claudia Durruty por facilitarme las algas utilizadas en este trabajo y a la granja camaronera de Industrias Pecis por facilitar las larvas de *L. vannamei*.

A los miembros de mi comité tutorial, Dr. Luis Soto y Dr. Eugenio Díaz por sus valiosas recomendaciones durante el desarrollo de este trabajo.

A los profesores y alumnos del Laboratorio de Ecofisiología de la Facultad de Ciencias por la ayuda brindada.

A la Dra. Margarita Collazo por su amistad y apoyo desde que comencé esta tesis.

A la fundación MUTIS por haberme facilitado soporte económico para la realización de los estudios de doctorado.

A mi familia, que ha tenido la paciencia de acompañarme e impulsarme a seguir adelante

A todos cuyos nombres he mencionado aquí o no, mis más sinceros agradecimientos