



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACIÓN DE DOS ALIMENTOS MICRO ENCAPSULADOS
SOBRE EL DESEMPEÑO NUTRICIONAL DE LAS
PROTOZOEAS DE LITOPENAEUS VANNAMEL
(BOONE, 1931)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

JOSÉ BARRERA MARTÍNEZ



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS**

2015

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.

A mis padres por su gran esfuerzo, apoyo y acompañarme en todo el proceso para culminar mis estudios.

A mi hija Lily por cambiar mi vida con tu llegada y ser el motor para seguir luchando.

Los amo...

Este trabajo fue realizado en las instalaciones del Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental en Ciudad del Carmen, Campeche y en la Unidad Multidisciplinaria de Docencia e Investigación de Sisal, Yucatán, Facultad de Ciencias, UNAM bajo la dirección de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés, dentro del programa "Alimentos amigables con el ambiente y su efecto en el metabolismo, crecimiento y capacidad digestiva en diferentes poblaciones del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*" (Boone 1931). Se agradece el apoyo técnico de Adriana paredes, Gabriela Palomino y Tomás García, Ariadna Sánchez y Eduardo Pacheco.

Agradecimientos

A la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés por las enseñanzas, la paciencia y apoyo para poder culminar este trabajo.

A la Ing. Adriana Paredes y Mtra. Gabriela Palomino por el apoyo en el suministro de alimento vivo y siembra de larvas, al Ing. Tomás García por apoyarme en el traslado de las larvas de camarón, a la Mtra. Ariadna Sánchez por las enseñanzas en el laboratorio de bioquímica, todos personal técnico que apoyo durante la fase experimental de este trabajo.

A la Dra. Maite Mascaró, Dr. Nuno Simoes, Dr. Pedro Gallardo, Dra. Cristina Pascual por la enseñanza recibida, pero sobre todo por su amistad.

A Jaime, Adolfo, Manuel, Taboada, a mis compañeros de generación (Edwin, Paulina, Nash, Erika) que compartieron la experiencia de salir de la Cd. De México buscando otras oportunidades, a los que conocimos en el inter Carmen-Sisal (Laura, Elio, Yan, Yannik, Pepe Toño, Carmen, Adrian) y muy seguramente se me olvidan muchos más pero lo que no se olvida son tantos buenos momentos que compartimos en "nuestra vida en la playa".

Y de nuevo gracias a ti Adriana porque independiente del apoyo técnico, has estado siempre apoyándome cuando más desesperado he estado en situaciones personales, gracias por escucharme, aguantar mis lágrimas, mis malos ratos.

A todos muchas gracias.

INDICE.

RESUMEN.....	6
INTRODUCCION.....	7
OBJETIVO GENERAL.....	10
OBJETIVOS PARTICULARES.....	10
HIPOTESIS.....	11
ANTECEDENTES.....	11
MATERIALES Y METODOS.....	16
ORIGEN DE LAS LARVAS.....	16
DISEÑOS EXPERIMENTALES.....	¡Error! Marcador no definido.
CONDICIONES DE MANEJO.....	¡Error! Marcador no definido.
DIETAS EXPERIMENTALES.....	¡Error! Marcador no definido.
MÉTODO DE FABRICACIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS.....	¡Error! Marcador no definido.
RESPUESTAS EVALUADAS.....	22
SUPERVIVENCIA.....	22
TASA DE CRECIMIENTO.....	23
ÍNDICE DE DESARROLLO (ID).....	23
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	24
RESULTADOS.....	25
EXPERIMENTO 1.- Tasa de ingestión de microalgas como criterio de dosificación de las dietas microencapsuladas (MCV y MCA).....	25
Parámetros fisicoquímicos.....	25
Supervivencia.....	25
Crecimiento en longitud.....	26
Índice de Desarrollo (ID).....	27
EXPERIMENTO 2.- Determinación de la dosis óptima experimental del alimento microencapsulado con fuentes de proteína vegetal para los estadios de PI- MI (mg/larva/día).....	29
Parámetros fisicoquímicos.....	29
Supervivencia.....	30
Tasa de Crecimiento.....	30
Índice de Desarrollo (ID).....	32
DISCUSIÓN.....	33
CONCLUSIÓN.....	36
BIBLIOGRAFÍA.....	37

RESUMEN.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la substitución del alimento vivo (AV) compuesto por dos microalgas : *Chaetoceros ceratosporum* y *Tetrselmis chui*, por dos alimentos microencapsulados para la alimentación de las Protozoas del camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei.*, para lo cual se llevaron a cabo dos experimentos. En el primer ensayo se utilizó la conversión de la tasa de ingestión de microalgas (obtenida por Gallardo, 2005) de las Protozoas y hasta Mysis I a partir de sus valores de energía (2-24 joules/larva/día), para obtener la ración diaria en mg/larva/día para dos alimentos microencapsulados: MCA (microcápsulas con proteínas y carbohidratos de origen animal 0.13-1.24 mg/larva/día) y MCV (microcápsulas con proteínas y carbohidratos de origen vegetal 0.17-1.68 mg/larva/día). Los porcentajes de supervivencia no fueron afectados significativamente por los tratamientos ($p>0.05$). En relación con el crecimiento en longitud, se calcularon las regresiones del logaritmo natural de la longitud en el tiempo, y se compararon usando el Análisis de covarianza de la regresión (ANCOVA). Las ordenadas al origen mostraron diferencias significativas entre los tres tratamientos ($p>0.05$). Para las pendientes el AV presentó un valor significativamente mayor ($p<0.05$). Sin embargo, de las dos dietas microencapsuladas, fue la MCV la que presentó un valor de pendiente significativamente mayor ($p<0.05$) en relación al MCA. Para el índice de Desarrollo (ID), el ANOVA no mostró diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tres tratamientos hasta las 96 horas de haber iniciado el experimento (día 4). Sin embargo para el día 5 y 6 (144 y 168 horas respectivamente) se presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) lo cual evidenció un retraso de las larvas alimentadas con la dieta MCV y MCA respecto al AV. El segundo experimento se utilizaron 4 raciones experimentales de microcápsulas MCV (0.08, 0.12, 0.16, 0.20 mg/larva/día). La supervivencia no mostró diferencias significativas ($p>0.05$) a las 120 horas de haberse iniciado el experimento, y sólo el control de AV presentó larvas en estadio MI. El ANCOVA de los modelos de los logaritmos naturales de las longitudes de las larvas en el tiempo no mostró diferencias significativas ($p>0.05$) para las ordenadas al origen. En relación con las pendientes se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) siendo la concentración de 0.16 mg/larva/día la de más alta tasa de crecimiento. Para el ID, no se mostraron diferencias significativas ($p>0.05$) entre las dosis experimentales hasta las 72 horas (día 3). A las 96 horas (día 4) si se mostraron diferencias significativas en el ID ($p<0.05$) siendo mayor el AV. El ID calculado para las 120 y 144 horas (día 5 y 6 respectivamente) no mostró diferencias significativas ($p>0.05$) entre las dosis del MCV y el AV. Vistos de forma integral los resultados de este segundo ensayo se puede concluir que es 0.16 mg/día/larva la concentración de MCV adecuada para sustituir a al AV para las Protozoas de *L. vannamei.*

INTRODUCCION.

Los crustáceos, particularmente los camarones peneidos ocupan un lugar destacado en la acuicultura a nivel mundial, esto debido a los buenos precios que históricamente ha mantenido en el mercado internacional (Jaime C. 2006).

En las últimas décadas y a nivel mundial se ha tenido un gran avance en el cultivo de varias especies de crustáceos, siendo Japón el primer país en el cultivo crustáceos, sobre todo de camarones, fue el primer país en el cultivo del camarón *Penaeus japonicus* (Castro *et al.*, 2003).

Además de los países asiáticos, los países de América Latina han desarrollado considerablemente la camaronicultura (Dhert y Sorgeloos, 1995) y México no es la excepción, dicha actividad ha arrojado beneficios tanto sociales como económicos y estos a su vez se han traducido en una fuente de alimentación con un elevado valor nutricional (Álvarez, *et al.*, 2000).

En México el cultivo de camarón inicio a finales de 1960, teniendo las primeras experiencias en el estado de Sonora con el camarón café (*Farfantepenaeus californiensis*), continuando con el camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Unidad Guaymas y en el Centro de Investigación Científica y Tecnológica respectivamente; por lo que se podría considerar a estas dos instituciones como los pioneros en el cultivo en laboratorio (Arredondo 2002).

El crecimiento de esta actividad ha sido impactante, siendo los estados de Sinaloa, Sonora y Nayarit los que disponen de la mayor infraestructura de cultivo. En el estado de Sinaloa, es donde se concentra el mayor número de granjas y superficie de cultivo (47 y 61% respectivamente), ubicadas básicamente en tres polos de desarrollo; en el norte del estado en los municipios de Angostura, Guasave y Ahome; en el centro en Culiacán y Navolato, y en el Sur en Escuinapa, Rosario, Mazatlán, San Ignacio y Elota (Arredondo 2002). Para mantener un crecimiento sostenido dentro de las prácticas de cultivo de camarón, la disponibilidad de larvas de camarón para el abastecimiento adecuado y sostenido es uno de los puntos críticos de la camaronicultura, por lo que una parte del sector productivo se ha enfocado en la producción de dichas larvas (Jaime C. 2006).

Debido a que el alimento representa hasta el 50% de los costos operativos (Martínez *et al.*, 2002), tanto el costo como la dependencia al alimento vivo han motivado el estudio de la nutrición de las larvas de camarón.

Las larvas de *Litopenaeus vannamei* presentan 3 estadios larvarios, cada uno con diferentes subestadios después de la eclosión, estos estadios son: nauplio (NI-NIV), protozoa (PZ I-PZIII) y mysis (MI-MIII). Mientras las larvas atraviesan los subestadios de nauplio, las larvas mantienen una alimentación endógena, ya que hacen uso de las reservas que les proporciona su vitelo (Gallardo, 2005).

Una vez que las larvas de camarón agotan sus reservas vitelinas, e inician con la captura de alimento del medio natural (transición de N IV a PI) es cuando atraviesan la etapa más crítica ya que inician con la alimentación exógena, por lo tanto la calidad y cantidad del

mismo es fundamental para garantizar el aporte de nutrientes para la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo. Debido a esto, la estrategia de alimentación y el tipo de alimento a suministrar son dos aspectos de gran importancia ya que de ellos depende el aprovechamiento óptimo del alimento. La forma de suplementar el alimento, suministrar la ración adecuada para cada etapa de crecimiento, la calidad del alimento son algunos de los aspectos mas importantes a considerar dentro de la estrategia de alimentación (Martínez *et al.*, 2002).

De manera general, el cultivo de camarón en las fases larvarias se ha basado en alimento planctónico vivo que incluye microalgas y nauplios de *Artemia sp.*, (Rodríguez *et al.*, 1994), pero la producción de este tipo de alimentos presenta varios inconvenientes: variaciones en la calidad, cuidados y controles estrictos que lo vuelven costoso (Araos-Dzul, 2000). Se requiere además de un ritmo de producción constante el cual dependerá de las necesidades de las larvas de camarón. Debido a esto, se han buscado propuestas de otro tipo de alimentos, como complemento o sustitutos parciales (Artiles, *et al.*, 2001).

En ese sentido se han empleado alimentos microligados y microcubiertos (Jones *et al.*, 1974; Kanazawa *et al.*, 1982), microencapsulados (Le Vay *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1993; Kumlu y Jones., 1995), levaduras y polvo de espirulina (Baert *et al.* 1995), microalgas como producto conservado (congeladas) (Cotteau y Sorgeloss, 1993). Las dietas microencapsuladas surgen a partir de una tecnología desarrollada por primera vez en el Reino Unido (Pedroza-Islas *et al.* 2000). Alimentos artificiales tanto micro- particulados como microencapsulados han sido empleados como complemento a nivel comercial (Jones

D.A. *et al.* 1997) o como sustitutos parciales a nivel experimental del alimento vivo (Gaxiola G. *et al.*, 2002; Gallardo *et al.* 2002, Gallardo *et al.*, 2012).

El uso de alimentos microencapsulados presenta varias ventajas, debido a que en la elaboración de este tipo de alimentos se puede controlar la calidad y el suministro de los requerimientos nutritivos específicos para los camarones cultivados, se pueden producir más fácilmente y en mayores cantidades, se puede conocer la composición de la dieta, mantener constante la calidad de fabricación, el tamaño de partícula es predefinido, es de fácil manejo y almacenamiento, protege los nutrientes de procesos oxidantes y evita la pérdida de nutrientes esenciales (Jones *et al.*, 1979; Pedroza 2002)

OBJETIVO GENERAL.

El objetivo de este trabajo fue el de evaluar la potencialidad de dos alimentos microencapsulados: uno con proteína de origen vegetal y otro con proteína de origen animal como sustituto de alimento vivo (microalgas y *Artemia sp.*) para la alimentación de protozoas de *Litopenaeus vannamei*.

OBJETIVOS PARTICULARES.

Experimento 1 Tasa de ingestión de microalgas como criterio de dosificación de las dietas microencapsuladas (MCV y MCA).

- a) Evaluación del efecto de la sustitución total de alimento vivo por dos alimentos microencapsulados ricos en carbohidratos y en proteína de diferente origen (animal y vegetal) en la supervivencia, crecimiento y desarrollo de las protozoas de

Litopenaeus vannamei usando como criterio de sustitución el equivalente a la tasa de ingestión de microalgas convertidas a sus valores energéticos.

Experimento 2.- Determinación de la dosis óptima experimental del alimento microencapsulado con fuentes de proteína vegetal para los estadios de PI- MI (mg/larva/día).

- a) Evaluación de la ración óptima experimental (0.08, 0.12, 0.16 y 0.20 mg/larva/día) de las microcápsulas con proteína de origen vegetal para las protozoas de *Litopenaeus vannamei*.

HIPOTESIS.

Si a las larvas se les proporcionan alimentos microencapsulados nutritivamente ideales y en la concentración adecuada desde el momento en que las larvas han agotado sus reservas vitelinas, se obtendrán resultados comparables con las larvas que fueron dosificadas con alimento vivo, lo cual se verá reflejado en el crecimiento, supervivencia y aumento de peso de las larvas del camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei*.

ANTECEDENTES.

Las larvas de crustáceos son miembros temporales de la comunidad del zooplancton y dichos organismos obtienen su nutrición del ecosistema planctónico (Jones *et al.*, 2000), y pueden utilizar fitoplancton o una combinación de fitoplancton y zooplancton como principal fuente de alimento, utilizando métodos filtradores o raptorales (protozoa y mysis respectivamente) dependiendo del nivel trófico en el que se encuentren las larvas.

El desarrollo larval de los camarones peneidos es similar, ya que una vez que la hembra expulsa los huevecillos, estos eclosionan entre 12 y 24 horas después de haber sido fecundados (Martínez 2002). Una vez eclosionados los huevecillos, pasaran por tres estadios de desarrollo: nauplio, protozoa y mysis. El estadio de nauplio presenta 5 subestadios (NI-NV) el cual dura 2 a 3 días; protozoa tiene 3 subestadios (PI-PIII) y que de la misma forma puede ser de entre 3 y 4 días y mysis, que tiene 3 subestadios (MI-MIII). El desarrollo larval completo, hasta postlarva 5, normalmente se alcanza en 15 días (Jory, 1996; Martínez 2002; Gallardo, 2005)

Las larvas en el estadio de nauplio aún no han desarrollado una boca y se nutren del vitelo (Jaime, 2006). A partir de protozoa I las larvas requieren de alimento externo para satisfacer sus requerimientos nutricionales y energéticos (Kurmarly *et al*, 1989). El desarrollo de la estructura mandibular en las larvas de los crustáceos, particularmente el desarrollo de las estructuras trituradoras parece estar relacionado con los cambios de hábitos alimenticios de la herbivoría a la carnívora, también hay significativas adaptaciones en la morfología del tracto digestivo (Jones D.A. *et al*. 1997).

En los primeros subestadios larvales (Nauplio y Protozoa), los organismos presentan un tubo digestivo indiferenciado, en el cual se lleva a cabo el proceso de digestión y absorción de los nutrientes (Gallardo, 2005). En este tubo indiferenciado, se ha logrado establecer una región en la que se da el mayor proceso de digestión y absorción de los nutrientes el cual ha sido denominado intestino medio, que da lugar posteriormente a la glándula digestiva (Lovett y Felder, 1989). El principal alimento ingerido durante esta fase del ciclo de vida es de origen fitoplanctónico, el tiempo de gastroevacuación muy corto y el tránsito de alimento

es muy rápido (Lovett y Felder, 1989; Kumlu y Jones, 1995), con el objetivo de aprovechar al máximo el alimento. Sin embargo, a medida que las Protozoas se van desarrollando conformando un tubo digestivo más diferenciado, con una mayor actividad de las principales enzimas digestivas, de las cuales las proteolíticas juegan un papel fundamental cuando las larvas comienzan a ingerir elementos zooplanctónicos (normalmente entre Protozoa III y Mysis I).

En cuanto al cultivo de las larvas de los camarones peneidos, el uso de microalgas como alimento en los estadios de protozoa y el suministro de alimento de origen animal en los estadios de mysis es una práctica regular debido a los cambios en los hábitos alimenticios de herbívoro a carnívoro u omnívoro durante el desarrollo larval. (Kanazawa, 1985; Amjad & Jones, 1992; Gallardo *et al*, 1995; Jones, 1997; Gallardo, 2000; Gallardo *et al*, 2002; Gallardo *et al*, 2012).

El uso de alimentos vivos para el cultivo de larvas de camarón presenta varias ventajas, ya que en primer lugar el uso de este tipo de alimentos no afectan la calidad del agua debido a que no generan ningún tipo de descomposición, pueden tener colores que resultan atractivos para su captura y el movimiento que inducen a los organismos a consumirlos (Castro *et al.*, 2003).

Dentro de las desventajas, la producción de este alimento vivo involucra el hecho de ser cultivos paralelos que garanticen las microalgas y nauplios de *Artemia* sp. requeridos (Jones, 1998), lo cual eleva el nivel de complejidad del cultivo de las larvas de camarones. Además está el riesgo latente de contaminación por bacterias y protozoarios por un mal manejo en el

cultivo o por alguna falla en el suministro (Gallardo, 2005) y por último, se encuentran las variaciones en las condiciones de cultivo que suelen afectar el valor nutritivo de las algas y las artemias (Kanazawa et al., 1982; Jaime, 2006). Estos factores por sí solos o en su conjunto provocan un déficit de alimento en los laboratorios de crianza en las granjas de camarón.

Así mismo, suministrar especies no adecuadas con calidades nutricionales no óptimas o en concentraciones no adecuadas, puede resultar en una mala nutrición para las larvas de camarones provocando deficiencias nutrimentales en los lo que se traduce en un debilitamiento y una disminución del éxito en el posterior ciclo de cultivo del camarón (pre cría y engorda) en las granjas de cultivo (Gallardo, 2005)

Un acercamiento a la determinación de los requerimientos nutrimentales de las larvas de los crustáceos ha sido examinar la composición nutrimental de los alimentos vivos (Brown *et al.*, 1997). Se han realizado trabajos de análisis bioquímico de fitoplancton y zooplancton en términos de niveles de proteínas, lípidos y carbohidratos, y ahora son conocidos (Raymont, 1983).

El zooplancton por lo general presenta un alto contenido de proteínas y bajo contenido de carbohidratos comparado con el fitoplancton (Fyhn H.J. 1989; Le Vay L. 1994), mientras que el fitoplancton puede contener carbohidratos menos digeribles y proteínas asociadas con la pared celular, lo cual lo convierten en una dieta menos digerible y de baja energía, así como de contenido proteico y lipídico. Por lo tanto, las larvas han desarrollado adaptaciones

en los procesos fisiológicos de ingestión, digestión y asimilación de las larvas muestren relacionadas con los hábitos carnívoros o herbívoros (Le Vay L. *et al.* 2000).

Una alternativa para acercarse a la determinación de los requerimientos nutricionales es la sustitución de compuestos químicamente definidos, sin embargo, la aceptabilidad de los alimentos artificiales por las larvas también representa muchos problemas. (Jones, 1995). Esto debido a que, estos alimentos deben de cubrir varias características, incluyendo propiedades organolépticas de textura, sabor y propiedades físicas como el tamaño de la partícula que debe ser altamente asimilable (Jones *et al.*, 1997)

Para que una larva de camarón sobreviva y pase a las siguientes etapas de desarrollo, debe de disponer del alimento inerte adecuado, el cual, además de una óptima calidad nutricional, debe ser suministrado en la concentración adecuada (Jones D.A. *et al.* 1993).

Además al igual que con el alimento vivo, la estrategia de alimentación es de enorme importancia, ya que de ella depende el uso óptimo del alimento implementado. Algunos aspectos a considerar dentro de la estrategia de alimentación se refieren a la forma de suplementarlo, el ajuste de la ración, la distribución espacial y temporal del alimento en la columna de agua, entre otros (Martínez *et al.* 2002).

Trabajos realizados mostraron algunos avances significativos en la sustitución total del alimento vivo con dietas experimentales microencapsuladas, evidenciando que es posible la sustitución total del alimento vivo, ya que aunque se han logrado supervivencias mayores al 85% sin diferencias significativas respecto al alimento vivo, sin embargo, aún se ve

comprometido el crecimiento y desarrollo principalmente en la transición de PIII a MI en relación al alimento vivo. (Gallardo, 2005, Martínez, 2006, Gallardo et al, 2002 y 2012).

MATERIALES Y METODOS.

Origen y siembra de los organismos experimentales.

Para cada uno de los dos experimentos, se emplearon nauplios provenientes de reproductores de *L. vannamei* cultivados de la granja de camarones Industrias PECIS en Sisal, Yucatán. Los nauplios fueron transportados en agua de mar con oxígeno disuelto a saturación a las instalaciones del Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental en Ciudad del Carmen, Campeche.

Una vez en el laboratorio se determinó tanto el estadio de desarrollo en el que se encontraban las larvas y los parámetros de temperatura salinidad y pH a fin de registrar cuáles eran las condiciones fisicoquímicas del agua en la que habían llegado los organismos. Los organismos se mantuvieron en la misma agua en la que fueron transportados hasta ser colocados en los diferentes tanques de los dispositivos experimentales.

Para ambos experimentos, los organismos se colocaron en los tanques cuando estos se encontraban en Nauplio III-IV, es decir, a las 24 horas después de eclosionados.

Dispositivos y diseños experimentales

Para ambos experimentos, se utilizaron matraces de vidrio de fondo redondo de 1L de capacidad, los cuales fueron colocados sobre tanque de fibra de vidrio de 1 m ancho X 1.5 de largo. En este reservorio se colocó un calentador (Marca KIMAX de 300 watts) y a través de una bomba que recirculaba agua dulce por el sistema, se mantuvo la temperatura homogénea en los matraces. En cada matraz se colocaron 50 organismos para la valoración de la supervivencia exclusivamente (Fig. 1a). Para evaluar el índice de desarrollo y tasa de crecimiento (longitud), se utilizaron tanques de fibra de vidrio de fondo cónico de 10 L de capacidad (Fig. 2b), ambos tipos de dispositivos fueron mantenidos con aireación constante



Figura 1a.- Siembra de organismos en matraces para valoración de supervivencia.



Figura 2b.- Siembra de organismos en dispositivos de fondo cónico para valoración de índice de desarrollo y tasa de crecimiento.

El experimento 1 consistió de 3 tratamientos, de los cuales 2 fueron a partir de las dietas microencapsuladas (MCV) y un control (Alimento Vivo). Para calcular la ración diaria de las dos microcápsulas se emplearon los valores establecidos por Gallardo *et al*, 2002, y Gallardo, 2005. Este autor cuantificó la tasa de ingestión/larva/hora y la multiplico por el valor en peso (**picogramos**) de cada especie de microalga. Una vez convertido a peso la tasa de ingestión se multiplicó por sus equivalentes de energía (Joules/picogramos de microalgas/hora/larva). y a partir de aquí se obtiene el valor por día (al multiplicarlo por 24), es decir, Joules/larva/día. Por último estos valores se tradujeron a mg/larva/día usando los valores en kJ de las microcápsulas, obtenidas por bomba calorimétrica. Se sumaron los valores para cada día de cada una de las microalgas y así se obtuvo la ración diaria de cada alimento microencapsulado que se suministró (Tabla 1).

Tabla 1.- Conversión de la tasa de ingestión de microalgas (J/larva/día) a ración diaria (mg/larva/día). Dicha ración se repartió en 12 tomas para ser suministrada cada 2 horas.

Unidades	Joules/larva/día	MCA mg/larva/día	MCV mg/larva/día	MCA mg/larva/toma	MCV mg/larva/toma
Estadio					
PI	2.49	0.13	0.17	0.01	0.01
PI	20.11	1.03	1.40	0.09	0.12
PII	3.57	0.18	0.25	0.02	0.02
PII-PIII	4.68	0.24	0.33	0.02	0.03
PIII-MI	24.14	1.24	1.68	0.10	0.14

El experimento 2 consistió en 4 tratamientos, a partir de las raciones experimentales a evaluar (0.08, 0.12, 0.16, 0.20 mg/larva/día) de la dieta microencapsulada MCA, y un control con Alimento Vivo. En las tablas 2 y 3 se presentan, de los diseños experimentales de cada experimento, el número de réplicas por tratamiento, el número de organismos que se emplearon y los Indicadores que se evaluaron.

Tabla 2.- Experimento 1: Evaluación de la tasa de ingestión de microalgas como criterio de dosificación de dos dietas microencapsulados (MCV y MCA).

Dispositivos	Tratamientos		Replicas	Organismos por replica	Indicadores evaluados
	Microencapsulados	Control			
Matraces	MCV		7	50	Supervivencia Índice de Desarrollo
	MCA		7	50	
		AV	7	50	
Tanques de fondo cónico	MCV		7	400	Desarrollo (longitud) Índice de Desarrollo
	MCA		7	400	
		AV	7	400	

Tabla 3.- Experimento 2: Determinación de la dosis óptima experimental del alimento microencapsulado con fuentes de proteína vegetal para los estadios de PI-MI (mg/larva/día).

Dispositivos	Tratamientos		Replicas	Organismos por replica	Indicadores evaluados
	MCV (mg/larva/día)	Control			
Matraces	0.08		7	50	Supervivencia Índice de Desarrollo
	0.12		7	50	
	0.16		7	50	
	0.20		7	50	
		AV	3	50	
Tanques de fondo cónico	0.08		5	400	Desarrollo (longitud) Índice de Desarrollo
	0.12		5	400	
	0.16		5	400	
	0.20		5	400	
		AV	5	400	

Alimentación.

Todos los experimentos contaron con un inóculo inicial de microalgas, a continuación se presenta la tabla 4 con las dosis iniciales de alimento vivo.

Tabla 4.- Dosis inicial de siembra de alimento vivo.

Especie de microalgas	Dosis inicial
<i>Chaetoceros sp</i>	10,000 cel/ml
<i>Tetraselmis sp</i>	5,000 cel/ml

De los controles de alimento vivo.

En cuanto al tratamiento control de alimento (AV) las microalgas se ajustaron en las concentraciones señaladas en la tabla 5. Los ajustes se realizaron dos veces al día.

Tabla 5 - Concentraciones de alimentos vivos utilizados en los experimentos con larvas de *L. vannamei*. (Gallardo, 2005).

Estadio	Subestadio	<i>Chaetoceros gracilis</i> (Cel.ml ⁻¹)	<i>Tetraselmis chuii</i> (Cel.ml ⁻¹)	<i>Artemia sp</i> (Nauplios.ml ⁻¹)
Protozoa	I	40 000	10 000	
	II	75 000	10 000	
	III	85 000	25 000	0.2
Mysis	I	60 000	25 000	1.0

Dietas experimentales.

Las dietas experimentales se ofrecieron a las larvas en una periodicidad de cada dos horas por los días que duró cada experimento. Las dietas que se usaron en el presente proyecto de

investigación fueron formuladas de manera conjunta por la Dra. Gabriela Gaxiola de la UNAM, y Dr. Gerard Cuzón del IFREMER Tahití.

A continuación se presenta la tabla con la composición de las dos dietas experimentales empleadas. La dieta MCA contiene solamente fuentes de proteína de origen animal (Concentrado proteico de solubles de pescado y suero de leche, filete de pescado y músculo de camarón fresco). La dieta MCV contiene fuentes de proteína vegetales (concentrado proteico de papa, harina de soya y gluten de trigo). Cabe señalar que se mantuvo un nivel de inclusión de 9% de concentrado proteicos de solubles de pescado como atrayente, en la dieta MCV. (Tabla 6).

Tabla 6.- Composición de las dietas experimentales de las dietas microencapsuladas experimentales con proteína animal y vegetal respectivamente.

Ingredientes	ANIMAL (MCA)	VEGETAL (MCV)
	g/100 gramos de peso seco	
Micras	3 y 17	26 y 50
CPSP70	34.98	9
Suero de leche	9.2	
Goma de mezquite	27.6	25
Goma arábica		5
Lecitina de soya	2.19	2
Pescado sierra	5.2	
Camarón <i>L. setiferus</i>	5.75	
Levadura de Bel	3.9	4
Cc prot papa		9
Harina soya		9
Gluten trigo		9
Espirulina		10
Almidón trigo	0.97	7.8
Ac. hig. bacalao	7.34	7.33
Colesterol	0.56	0.555
Carofila roja	0.01	0.015
Vit min Roche	2.3	2.3
Gramos totales	100	100

Las dietas fueron microencapsuladas de acuerdo con el método publicado por Pedroza *et al.*, 2000. Anexo 1.

Mantenimiento de los organismos y sistemas experimentales

El agua de mar natural utilizada fue tratada con luz ultravioleta y filtrada por filtro de arena, filtros de cartucho de 20, 5 y 1 micra para la eliminación de bacterias y/o protozoarios y por último recirculada por 3 horas en un filtro biológico rápido (marca FLUVAL mod 403) para eliminar la materia orgánica en suspensión. Antes de ingresar a los dispositivos experimentales, el agua fue almacenada en un tinaco contenedor plástico con capacidad de 1000 L donde se adicionó EDTA (en una proporción de 10 mg/l) para precipitar posibles metales pesados que se encontraran en el agua.

La medición de los parámetros físico-químicos del agua marina durante los experimentos se realizó dos veces al día (08:00 y 20:00 horas.). La temperatura se registró con un termómetro de mercurio ($\pm 1.0^{\circ}\text{C}$), la salinidad con un refractómetro portátil (Sper Scientific, ± 1.0 ppm), el pH con un potenciómetro (Cole Parmer, ± 0.1) y el oxígeno con un oxímetro digital (Y SI™ modelo 55/12, ± 0.1 mg).

INDICADORES EVALUADOS.

Se utilizaron distintos indicadores en la evaluación de los tratamientos en cada experimento. Se evaluó la Supervivencia, Tasa de Crecimiento e Índice de Desarrollo (ID), como indicadores productivos.

Respuestas zootécnicas:

Supervivencia. Esta se calculó con base en número de larvas que llegaron al sub estadio de Mysis I (M I) en relación al número nauplios colocados en cada uno de los matraces al

finalizar la prueba experimental, de esta manera, los resultados se expresaron el porcentaje (%).

Tasa de crecimiento.

El crecimiento se midió como el incremento en talla para lo cual se midieron 10 larvas por cada repetición de cada tratamiento diariamente con una regla adaptada al ocular del microscopio. Las Protozoas fueron medidas desde la escotadura post orbital hasta el final de la furca.

Índice de desarrollo (ID).

El índice de desarrollo establece el grado de avance de los sub estadios de las larvas de acuerdo a la tasa de metamorfosis a través de todo el cultivo. El índice de desarrollo se estableció en los mismos organismos colectados para el crecimiento, los cuales fueron observados al microscopio a fin de determinar el sub estadio larval

Se determinó mediante observaciones directas al microscopio de 10 ejemplares colectados al azar de los conos de cada repetición y de cada tratamiento una vez al día. Para determinar este índice se utilizó el propuesto por Villegas y Kanazawa (1979), donde:

$$I.D. = \frac{\sum A}{N}$$

Donde A es igual al número de organismos de cada sub estadio por el numero asignado a cada sub estadio, y N es igual al número total de organismos colectados. El número asignado a cada sub estadio es $P_I=1$, $P_{II}=2$, $P_{III}=3$, $M_I=4$

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.

Para la supervivencia se empleó el ANDEVA de una vía de los porcentajes previamente convertidos a arcoseno, mediante el programa Statistica, cuando no hubo homogeneidad de varianzas se aplicó la prueba no parametica de Kruskal Wallis. Para la tasa de crecimiento en longitud se realizó el Análisis de Covarianza de los logaritmos naturales de la longitud, mediante el programa MATLAB. Para el Índice de Desarrollo (ID) en ambos experimentos se empleó el ANDEVA de una vía para cada 24 horas mediante el programa Statistica. El nivel de probabilidad empleado fue de 0.05.

RESULTADOS.

EXPERIMENTO 1.- Tasa de ingestión de microalgas como criterio de dosificación de las dietas microencapsuladas (MCV y MCA)

Parámetros fisicoquímicos.

En la tabla 7 se reportan los valores de los parámetros de la calidad del agua del experimento 1. No se aprecian diferencias entre las mediciones de la mañana y la tarde. Estos valores se encuentran en los reportados para el cultivo larvario por otros autores (Gallardo, 2005, Martínez, 2006).

Tabla 7.- Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del experimento1.

TEMPERATURA		SALINIDAD		PH	
°C		ppm			
AM	PM	AM	PM	AM	PM
27.53	27.9	35	35	8.20	8.19

Supervivencia.

El ANDEVA mostró que para las 144 horas (día 6) no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$, Tabla 8). Aunque los valores promedio de los organismos por cada subestadio mostraron la presencia de organismos en el subestadio ZII.

Tabla 8.- Porcentaje de Supervivencia por tratamiento y por subestadio a las 144 horas.

	Organismos	Vivos	promedio	Supervivencia
Subestadio	Z II	Z III	M I	total*
Dieta				
MCA	1.0**	15.8	28.4	68 ± 10.8 [†]
MCV	4.0	29.1	2.5	63.1 ± 9*
AV.	1.0	27.2	3	58.3 ± 6.8*

*Valores presentados en porcentaje ± E.S.

**Valores indican promedio de organismos vivos en cada subestadio registrados para cada tratamiento

Crecimiento en longitud.

El crecimiento en longitud de las larvas se vio afectado por las diferentes dietas, el Análisis de Covarianza de los logaritmos naturales (ANCOVA) mostró diferencias significativas entre los tres tratamientos, tanto en las ordenadas al origen, en el cual el Alimento Vivo (AV) indico una ordenada al origen significativamente menor ($p < 0.05$), como en las pendientes ($p < 0.05$, Tabla 9), en el cual el Alimento Vivo es el que presento una tasa de crecimiento significativamente más elevada de los tres alimentos. Fig 2, dentro de los alimentos microencapsulados, la dieta microencapsulada vegetal (MCV), fue la que presento una tasa de crecimiento significativamente mayor en relación a la dieta micro encapsulada animal (MCA) ($p < 0.05$).

Tabla 9.- Análisis de Covarianza para el crecimiento el longitud de las dietas microencapsuladas animal (MCA), vegetal (MCV) y Alimento Vivo (AV).

Tratamiento	Dieta	r^2	P	Pendient	Q tab	Ordenada	P
-------------	-------	-------	---	----------	-------	----------	---

				e	(2,1122)	(micras)	
1	MCA	0.9934	<0.000	0.12 ^c	3.69	812 ^a	<0.000
2	MCV	0.9876	<0.022	0.15 ^b	3.69	763 ^b	<0.000
3	AV	0.9621	<0.000	0.28 ^a	3.69	620 ^c	<0.000

Diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas (P<0.05). MEA, Microencapsulado Animal; MEV, Microencapsulado Vegetal, AV, Alimento vivo.

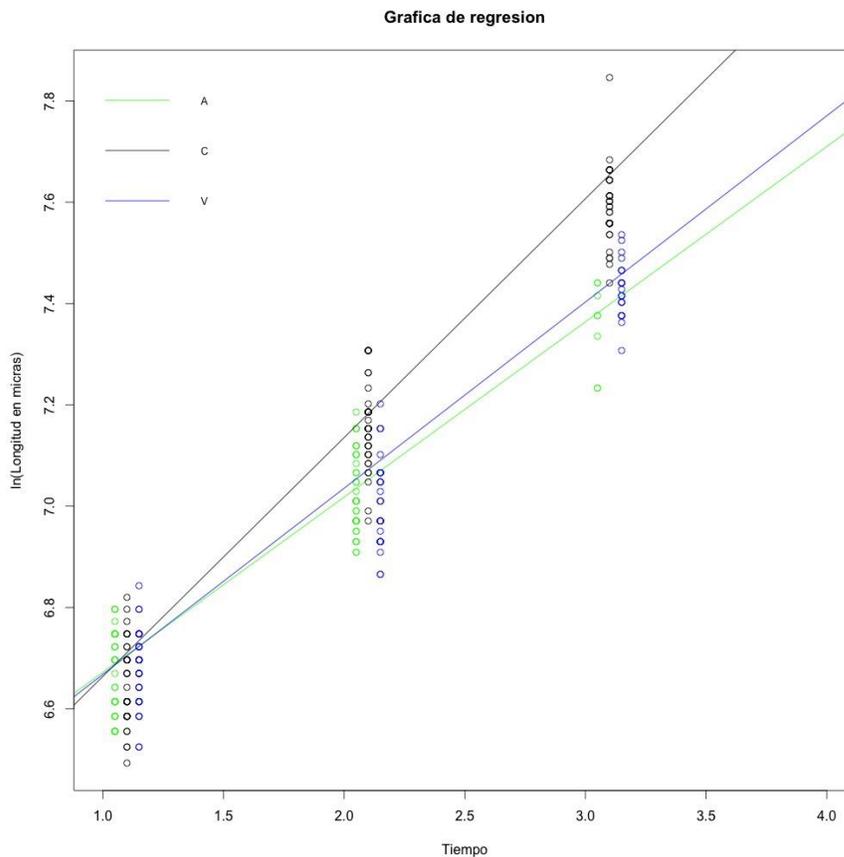


Figura 2.- Gráfica del Crecimiento en Longitud de PI- PIII de las dietas MCA, MCV, AV., basada en la tasa de ingestión de las microalgas.

Índice de Desarrollo (ID).

Para esta evaluación, el Análisis de Varianza (ANOVA) no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos a las 24, 48, 72 y 96 horas (1-4 días respectivamente) de

haberse iniciado el experimento, sin embargo, tanto para las 144 y las 168 horas(días 5 y 6), ya se indicaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$), observándose al final del experimento un atraso de las MCA y MCV con respecto al AV (Tabla 10). La figura 3 muestra gráficamente los valores del ID obtenidos para este experimento.

Tabla 10. Índice de Desarrollo de las 3 dietas empleadas en el experimento (MCA, MCV y AV). Los valores en el cuadro representan a las medias para cada tratamiento \pm E.S.

Días	1	2	3	4	5	6
Horas.	(24 hr)	(48 hr)	(72 hr)	(96 hr)	(120 hr)	(144 hr)
MCA	1 \pm 0	1 \pm 0	2 \pm 0	2 \pm 0	2.03 \pm .02	2.25 \pm .13
MCV	1 \pm 0	1 \pm 0	2 \pm 0	2 \pm 0	2.37 \pm .11	2.86 \pm .08
AV	1 \pm 0	1 \pm 0	2 \pm 0	2.49 \pm .1	3.06 \pm .07	4.1 \pm .08

P1 = 1, P2 = 2, P3 = 3, MI = 4. (Los números indican en que fase de desarrollo se encuentran las larvas de cada tratamiento por día).

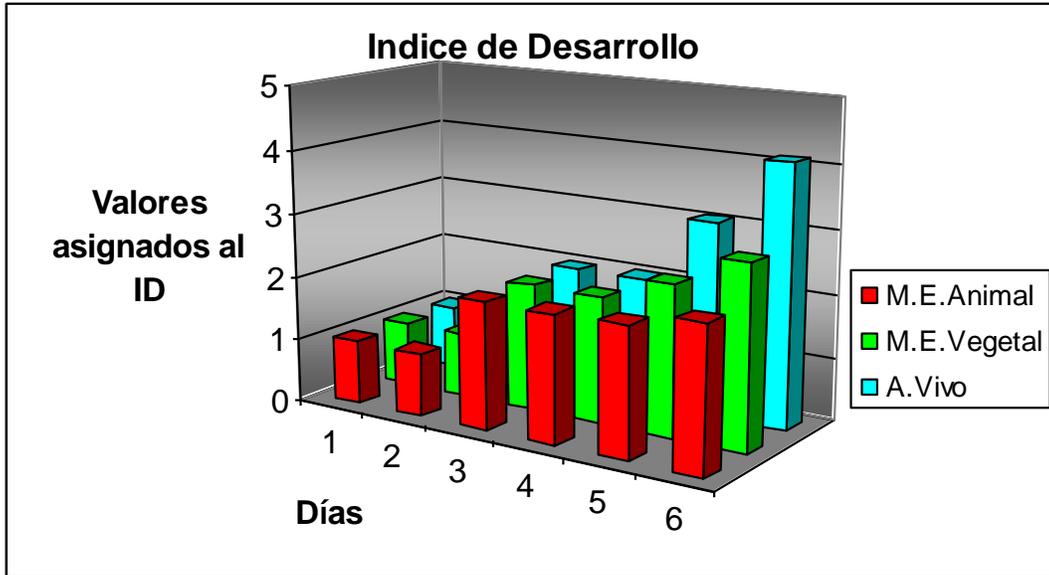


Figura 3.- Gráfica del ID de las 3 dietas empleadas en las larvas del experimento 1

EXPERIMENTO 2.- Determinación de la dosis óptima experimental del alimento microencapsulado con fuentes de proteína vegetal para los estadios de PI- MI (mg/larva/día).

Parámetros fisicoquímicos.

A continuación se presentan los parámetros fisicoquímicos de temperatura, salinidad y PH registrados durante el segundo experimento en la Tabla 11.

Tabla 11.- Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos del experimento 2.

TEMPERATURA		SALINIDAD		PH	
°C		ppm			
AM	PM	AM	PM	AM	PM
27.6	27.9	35	35	5.4	5.5

Supervivencia.

En este caso se aplicó el Análisis de Kruskal Wallis ya que no se presentó homogeneidad de varianza en los porcentajes del número final de organismos a las 120 horas. La prueba no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0.05$), aunque solo en el AV se encontraron Mysis I (Tabla 12).

Tabla 12.- Porcentaje de supervivencia por tratamiento y por subestadio a las 120 horas.

	Organismos	Vivos	promedio	
Subestadio	Z II	Z III	M I	Supervivencia
Dieta				Total
Dosis 0.08	8.3**	25**		66.7 ± 18*
Dosis 0.12	9.0**	27.6**		73.3 ± 8*
Dosis 0.16	5.0**	32.0**		73.3 ± 1.8*
Dosis 0.20	3.0**	39.6**		85.3 ± 1.3*
A. Vivo		15.0**	30.3**	90.7 ± 6.6*

Las dosis son expresadas en mg/larva/día.

**Valores presentados en porcentaje ± E.S.*

*** Valores indican promedio de organismos vivos en cada subestadio registrados para cada tratamiento.*

Tasa de Crecimiento.

El Análisis de Covarianza (ANCOVA) aplicado a los logaritmos naturales de los valores de longitud de las larvas para este experimento no arrojó diferencias significativas en las ordenadas al origen ($p>0.05$). Para el caso de pendientes, tampoco se obtuvieron diferencias significativas $p>0.05$, tabla 13. (Figura 4).

Tabla 13.- Análisis de Covarianza para la Tasa de Crecimiento del experimento de dosis óptima experimental del MCV en la cría larvaria de PI-MI.

Tratamiento	Dosis		
	(mg/larva/día)	Ordenada	Pendiente
A	0.08	605.58 ^a	0.36 ^b
B	0.12	607.51 ^a	0.34 ^b
C	0.16	620.32 ^a	0.33 ^b
D	0.20	545.60 ^a	0.38 ^a
E	AV	592.64 ^a	0.36 ^b

Diferentes letras en las columnas indican diferencias significativas (P<0.05).

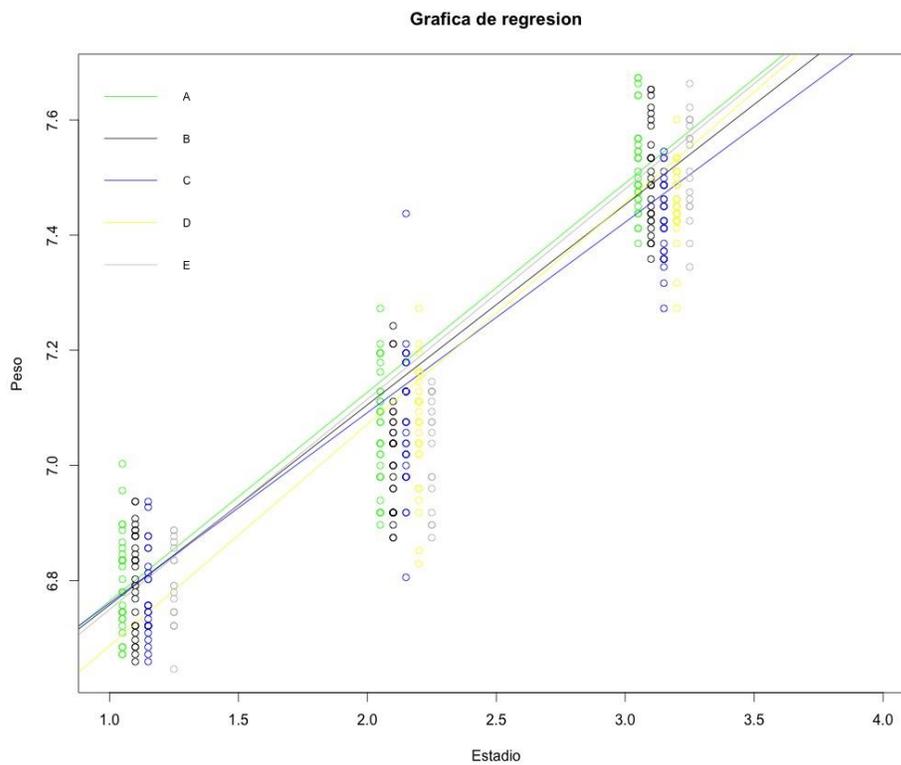


Figura 4.- Gráfica de Crecimiento en Longitud para los subestadios de PI – MI de la Dosis Optima Experimental Alimento Microencapsulado Vegetal (MCV)

Índice de Desarrollo (ID).

En este experimento, el Análisis de Varianza (ANOVA) para el ID no mostró diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las dosis utilizadas (Tabla 14) para este diseño experimental a las 24, 48, y 72 horas (día 1, 2 y 3 respectivamente) de haberse iniciado el experimento; sin embargo, a las 96 horas (día 4) si se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el control (AV), con respecto a las dosis empleadas del MCV. A partir del día 5 y del día 6 (120 y 144 hrs. respectivamente) no se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el AV y las dosis experimentales del MCV. (Figura 5).

Tabla 14. Índice de Desarrollo de las larvas de las dosis empleadas en el experimento.

Dosis mg/larva/día	Fase de desarrollo					
	1	2	3	4	5	6
0.08	1 ± 0	1 ± 0	1.98 ± .02	2.1 ± .04	2.8 ± .12	3.58 ± .17
0.12	1 ± 0	1 ± 0	1.98 ± .02	2.02 ± .02	2.82 ± .05	3.34 ± .20
0.16	1 ± 0	1 ± 0	1.95 ± .05	2.07 ± .04	2.8 ± .09	3.06 ± .04
0.20	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2.7 ± .13	3.14 ± .14
AV.	1 ± 0	1 ± 0	2 ± 0	2.99 ± .03	2.5 ± .29	3.5 ± .29
Días	1	2	3	4	5	6

P1 = 1, P2 = 2, P3 = 3, M1 = 4, M2 = 5, M3 = 6, PL 1 = 7. (Los números indican en qué fase de desarrollo se encuentran las larvas de cada tratamiento por día).

Los valores en el cuadro presentan los promedios para cada tratamiento ± E.S.

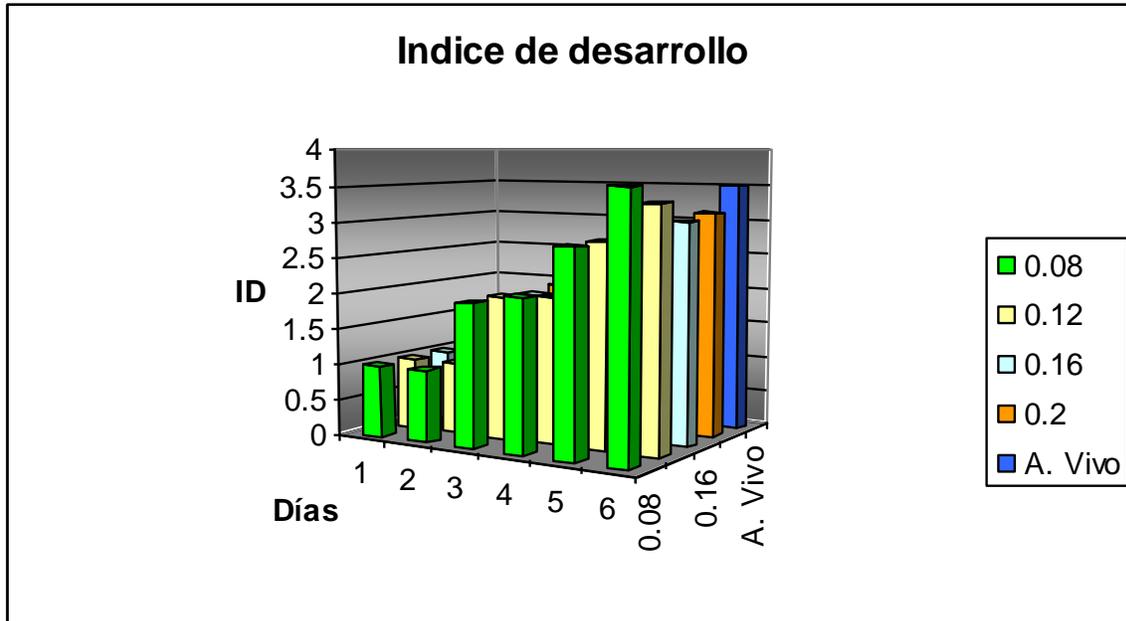


Figura 5.- Gráfica del ID para el experimento 2.

DISCUSIÓN.

Los parámetros fisicoquímicos en todos los experimentos se mantuvieron estables, sin cambios bruscos y dentro de los intervalos aceptables para el cultivo de las larvas de camarón *Litopenaeus vannamei* (Gallardo, 2005, Martínez, 2006, Gallardo et al, 2002, Gallardo et al, 2013).

La nutrición y la alimentación son dos de los aspectos más importantes a considerar dentro de la actividad camaronícola. Se conocen como alimentos amigables aquellos que resultan de una adecuada respuesta productiva de los organismos en cultivo. Estos alimentos se caracterizan por contener los niveles de proteína mínimos necesarios para la especie y la fase de cultivo en la que se encuentra el organismo cultivado, así como de las condiciones de cultivo (Tacon, 1990) En la formulación de ellos, se utilizan ingredientes más digeribles y

atrayentes adecuados que estimulan un rápido consumo, por otro lado, estos alimentos tienen una consistencia óptima para evitar la lixiviación y pérdida de nutrientes.(Jones et al, 1997)

La estrategia de alimentación es de enorme importancia en el cultivo del camarón, ya que de ella depende el uso óptimo del alimento suplementario y el aprovechamiento del alimento natural en el sistema. Algunos aspectos importantes a considerar dentro de la estrategia de alimentación se refieren a la forma de suplementar el alimento y ajustar la ración, distribución espacial y temporal del alimento, calidad del alimento a suministrar, entre otros. (Galgani y Aquacop, 1988; Tacon, 1990, Jones et al, 1997)

Los regímenes alimenticios de las larvas de peneidos han sido basados comúnmente en una combinación de alimento vivo con microalgas durante los estadios de Protozoa y Artemia durante los estadios de Mysis y los primeros estadios de postlarvas (Brito *et. al*, 2001).

Sin embargo a la fecha ha habido numerosos intentos de reemplazar completa o parcialmente el alimento vivo con varias dietas artificiales para el cultivo de larvas y Postlarvas de camarón (Jones, Kumarly y Arshad 1987; Kumarly, Jones, Yule y East 1989; Jones et. Al, 1993; Le Vay et. al. 1993; Martínez, 2006; Gallardo *et. al*, 2013;).

Para el primer experimento en el cual se usó como criterio de alimentación el equivalente de energía de trabajo (Joules/día/larva) de la tasa de ingestión, la conversión de la tasa de ingestión en sus equivalentes energéticos no presentó crecimientos comparables con el AV, lo cual a su vez se vio reflejado en el Índice de Desarrollo, el cual es un parámetro utilizado para establecer el grado de avance de las larvas de acuerdo a través del cultivo (Jones et al, 1997). A partir del quinto día se detectaron diferencias significativas con respecto a las dietas artificiales, sin embargo se lograron buenas supervivencias tanto para Alimento Vivo,

como para las dietas artificiales, teniendo los mayores porcentajes y en el MCV. Cuando se contrastaron los valores de crecimiento de las microcápsulas, la MCV fue la que presentó una tasa de crecimiento significativamente mayor ($p < 0.05$) en relación al MCA. Estos datos sirvieron de base para diseñar un segundo experimento con el fin de determinar una ración diaria experimental del alimento MCV para saber si se podían mejorar los resultados obtenidos anteriormente.

Los resultados de este experimento coinciden parcialmente con algunos autores que han reportado que la sustitución total de alimentos vivos por dietas artificiales han resultado generalmente en valores bajos tanto para el crecimiento como para la supervivencia (Chu 1991; Amjad & Jones 1992; Kumlu, Zarina & Tekelioglu 1992, Le Vay et al. 1993; Kumlu & Jones 1995), debido a que en este experimento las diferentes dietas que se utilizaron en el experimento si influyeron sobre el crecimiento, y fue en ese indicador donde encontramos los valores más bajos.

En el experimento 2, que consistió en emplear diferentes raciones alimenticias del MCV, al comparar los resultados de todos los tratamientos experimentales, los datos mostraron que la mejor dosis para la cría de larvas de *Litopenaeus vannamei* de PI – PIII fue la de 0.16 mg/larva/día con una tasa de crecimiento significativamente más alto ($p < 0.05$) que los otros tratamientos. Efectivamente se mejoró el crecimiento utilizando una dosis mucho menor a la propuesta con el método del balance bioenergético. Cabe señalar que en general en este experimento los valores de supervivencia y de índice de desarrollo no fueron significativamente diferentes del alimento vivo. A partir del análisis de los resultados

integral se puede concluir que la mejor tasa de ingestión para las Protozoas de *L. vannamei* es de 0.16 mg/larva/día.

Valores similares de tasa de ingestión fueron reportadas para larvas de *Penaeus monodon* por Bautista (1989). Este valor de 0.16 mg/larva/día fue menor al reportado para Protozoas de *Marsupenaeus japonicus* (0.44, Jones, 1979) y mayor a los para las Protozoas de *Penaeus indicus* (0.025-0.043 mg larva⁻¹ día⁻¹, Galgani and AQUACOP, 1988) y para *Marsupenaeus japonicus* (0.025, Besbes, 1987).

CONCLUSION.

El efecto de la sustitución total de Alimento Vivo por dos alimentos microencapsulados ricos en carbohidratos y proteínas de diferente origen (animal y vegetal) utilizando como criterio el equivalente de energía de trabajo (Joules/día/larva) de la tasa de ingestión de las microalgas, no afectó de manera significativa a la supervivencia de 3 tratamientos (AV, MCV y MCA), pero el crecimiento y por lo tanto el desarrollo de las Protozoas de *L. vannamei*.

La tasa de ingestión óptima de las MCV para las Protozoas de *L. vannamei* es 0.16 mg/larva/día resultó menor a la usada en el experimento 1 (0.17-1.68 mg/larva/día).

BIBLIOGRAFIA.

- Abubakr M.A. and Jones D.A. Functional morphology and ultrastructure of the anterior mid-gut diverticulate of larvae of *Penaeus monodon* Fabricius, 1978 (Decapoda, Nanantia.). *Crustaceana* 62, 142-58. 1992.
- Amjad, S., Jones D.A., 1992. An evaluation of artificial larval diets used in the culture of penaeid shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius). *Pakistan J. Zoology* 24 (2): 135-142
- Amjad, S., Jones, D.A., and Chitravadivelu, K. 1992. Advances in penaeid larval feed technology. In : Proceedings of seminar on new technologies in aquaculture, pp 29-45 (Cheah, S.H. and Thalathiah, H.J., Eds) Malaisia, Malaysan fhseriers Society.
- Alvarez-Torres P., Soto F., Aviles Q.S., Díaz Luna C., and Treviño Carrillo L.M. Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción acuícola en México. *Avances en Nutrición Acuícola* III, 3-20. 2000.
- Araos-Dzul J., López-Tellez N., Sarabia.Gómez D., and Ramírez.Ligonio H. Alimentación de larvas de camarón rosado del golfo de México *Farfantepaneus duorarum* con dos tipos de microencapsulados. *Ciencia Pesquera* 14, 33-38. 2000. INP. SAGARPA, México.
- Arredondo-Figueroa José L. El cultivo de camarón en México, actualidad y perspectivas. *ContactoS* 43, 41-54 (2002).
- Artiles Miguel A., Bárbaro Jaime, Galindo José, Fraga Iliana, and Francisco Valentin. Influencia de la inclusión de microalgas secas en la alimentación de protozoos de *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* 22[1], 45-55. 2001.
- Baert P., Quynh V.D., Than Th., and Rotsaert L. Hatchery technology in Vietnam: A overview. *Larvi'95 - Fish and selfish larviculture symposium* , 414-17. 1995.
- Barbarito Jesús Jaime Ceballos.” Evaluación de la harina de *Spirulina platensis* como alimento y aditivo para la producción de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus schmitti* (Pérez-Farfante y Kensley, 1997)” Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. La Paz B.C.S. Noviembre, 2006
- *Bautista, M. N., Millamena, M. M., Kanazawa, A., 1989. Use of kappa – carrageenan microbound diet (C-MBD) as feed for *Penaeus monodon* larvae. *Marine Biology* 103, 169-173.
- Besbes, R., 1987. Elaboration de microparticules alimentaires destinées à remplacer la nourriture veivante dans l'elevage des larves de la crevette *P. japonicus* (Crustácea Decapoda). *Memoire diplôme Institut National Recherche Agroniique, renne France.*

- Brown, M. R. S. W. Jeffrey, J. K. Volkman y G.A. Dunstan. (1997). Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Castro Barrera Thalía, R.de Lara Andrade, Castro Mejía G., Castro Mejía J., and Malpica Sánchez A. Alimento vivo en la Acuicultura. *Contactos* 48, 27-33. 2003.
- Coutteau, P y P. Sorgeloos (1993): Substitute diets for live algae in the intensive rearing of bivalve mollusc- A state of the art report. *World Aquaculture* 24 (2): 45-52.
- Dhert, P. y Sorgeloos, P. 1995 Green algae. En: *Aquaculture towards the 21st Century*. K.P.P Nambian and T. Sigh (Eds). PROC. INFOFISH-AQUATECH 94. Conference, Colombo. Sri Lanka, 287p.
- Fyhn H.J. First feeding of marine fish larvae are free amino-acids the source of energy? *Aquaculture* 80, 111-20. 1989.
- Galgani ML. and AQUACOP. 1988. Replacement of live unicellular algae by microparticulate diet during larval rearing of zoeal stages of some penaeid prawns. *Aquaculture*, 69: 115-127.
- Gallardo, P. P., Alfonso, E., Gaxiola, G., Soto, L. A. and Rosas, C. (1995). Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* 131, 3-4.
- Gallardo P., Pedroza-Islas R., García-Galano, T., Pascual C., Rosas C., Sánchez A., and Gaxiona G. Replacement of live food with a microbound diet in feeding *Litopenaeus setiferus* (Burkenroad) larvae. *Aquaculture* 33, 681-91. 2002.
- Gaxiola G., Gallardo P., Rozenn Ravallec, Durruty Claudia, Garcia T.Tsai., Cuzon G., Van Wormhoudt Alain, P., and Pedroza-Islas R. Avances en el Uso de Alimentos Artificiales en la Larvicultura de Camarón. *Avances en Nutricion Acuicola* 2002[VI]. 2002.
- Jones D.A., Kamarudin M.S., and Le Vai L. The potential for replacement of live feeds in larval culture. *Journal of the World Aquaculture Society* 24, 199-210. 1993.
- Jones D.A., Kanasawa A., and Abdel - Rahnen. Studies on the sign and acceptability of microencapsulated diets for marine particle feeders. *Aquaculture* 17[1]. 1979.
- Jones D.A., Kumlu M., L.Le Vai, and Fletcher D.J. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustaceans larvae: a review. *Aquaculture* 155, 285-95. 1997.

- Jones D.A., Le Vai L., and Kamarudin M.S. Feeding and nutritional requirements in penaeid larvae. *Memorias Primer Congreso Ecuatoriano de Acuicultura CENAIM*. Guayaquil, Ecuador. 45-52. 1993.
- Jones D.A., Yule A.B., and David H.L. Larval Nutrition. *Aquaculture*, 353-89. 2000.
- Kanazawa A. (1985). Nutrition of penaeid prawns and shrimp. En: *Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawn/Shrimp*. Iloilo City, Philippines, pp: 123-130
- Kurmaly K., Yule A.B., and Jones D.A. An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture* 81, 13-25. 1989.
- Kumlu, M. y D. A. Jones. (1995). The effect of live and artificial diets on growth, survival and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. *J. World Aquacult. Soc.* 26(4):406-415.
- Le Vay, L., A. Rodriguez, M. S. Kamarudin y D. A. Jones. (1993). Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture* 118:287-297.
- Le Vay L. "Nutritional Studies of Fish and Crustacean Larvae." Diss. University of Wales, Bangor U.K., 1994.
- Le Vay L., D.A.Jones, A.C.Puello-Cruz, R.S.Sangha, and C.Ngamphongsai. Digestion in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology* 128, 623-30. 2000.
- Lovett, D.L., & Felder, D.L. 1989. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda; Penaeidae). *J. Morphol.* 201: 253-272.
- Lovett D.L. and Felder D.L. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biological Bulletin* 178, 144-59. 1990.
- Martínez-Cordova, L. R., Ezquerro-Brauer, M., Bringas-Alvarado, L., Aguirre-Hinojosa, E., and Garza-Aguirre, M. del C. Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el Noroeste de México. *Avances en Nutrición Acuícola* VI, 559-81. 2002.
- Martínez Moreno Gemma L. 2002. "Efecto de un alimento artificial microencapsulado enriquecido con hidrolizado de krill sobre la nutrición, consumo de oxígeno y la actividad de enzimas digestivas en larvas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Tesis Licenciado en Biología, Las Agujas, Zapopan, Jalisco.

- Martínez Moreno Gemma L. 2006. Alimentación de larvas del camaron blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) con dietas artificiales microencapsuladas. Tesis Maestría en Biología Marina. CINVESTAV- Mérida.
- Pedroza-Islas R., 2002. Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimento para larvas de especies acuícolas. Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.
- Pedroza-Islas R., Vernon-Carter E.J., Durán de Bazúa M.C., and Chávez-Martínez M.P. Situación actual de los alimentos microencapsulados para larvas de crustaceos y presentación de un problema tipo utilizando polisacáridos como agentes encapsulantes. Avances en Nutricion Acuicola III, 571-94. 2000.
- Pedroza-Islas , R., 2000. Estudios de difusión de nutrimentos en alimentos microencapsulados para larvas de crustáceos. Tesis doctorado. UNAM.
- Rodríguez., A., Le Vay, L. Mourente, G., Jones D. A., 1994. Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* (Bate), during herbívorous and carnívorous feeding. Mar. Biol. 118, 45-53
- Tacon, A., 1990. Standard methods for the Nutrition and feeding of farmed fish and shrimp. Volume I: esential Nutrients. Argent Laboratories Pess, Wahisngton USA. 94 pp.