

126
2ej



Universidad Nacional
Autónoma de México

Facultad de Ciencias

**“EFECTO DEL TIPO DE ALIMENTO EN EL
SUSTRATO METABÓLICO DE LAS LARVAS DE
Panaeus setiferus”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O

P R E S E N T A:

IVETH GABRIELA PALOMINO ALBARRAN

DIRECTOR DE TESIS: DR. CARLOS ROSAS VAZQUEZ

**FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR**



MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1997



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Banale
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
P r e s e n t e

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:
Efecto del tipo de alimento en el sustrato metabólico de las larvas
de Penaeus setiferus.

realizado por Iveth Gabriela Palomino Albarrán

con número de cuenta 8614541-7 , pasante de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	Dr. Carlos Rosas Vázquez
Propietario	
Propietario	Dr. Eugenio E. Díaz Iglesias
Propietario	Dr. Luis A. Soto González
Suplente	Dra. M. Gabriela Gaxiola Cortés
Suplente	Dra. R. Cecilia Vanegas Pérez

FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DEPARTAMENTO
DE BIOLÓGIA

DEDICATORIA

**A mi mamá Beatriz Albarrán Figueroa simplemente por lo que eres.
A Mario Albarrán Figueroa por tu apoyo y cariño.
A Victor Manuel Zarco Espinosa por lo que representas en mi vida.**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Rosas Vázquez por darme la oportunidad de trabajar contigo, por tu apoyo y la orientación como director de ésta tesis.

A los miembros del jurado por las revisiones y comentarios que hicieron posible el mejoramiento del manuscrito:

Dra. Gabriela Gaxiola Cortés, pero principalmente por tu amistad.

Dra. Ruth Cecilia Vanegas Pérez.

Dr. Eugenio Díaz Iglesias.

Dr. Luis Soto González.

A mi mamá y a Mario por su apoyo incondicional y creer en mi, los quiero muchísimo.

A mis hermanos: Patricia, Daniel, Ruth, Susana y Alejandro por su apoyo y paciencia, pero principalmente a Patty porque aparte de ser mi hermana es mi amiga..... te quiero.

A Linda Cruz por subirme los ánimos cuando los necesité y tus consejos de aliento y a Daniela por darme una alegría inmensa.....te quiero.

A Victor M. Zarco por tu apoyo (aunque pienses que es técnica), confianza y amor, pero principalmente por tu paciencia ! al fin lo logré! Te amo.

A Rosa, Betty y Adriana por su amistad tan valiosa.

A Adriana Paredes por brindarme tu amistad y cariño y a tu familia por todas sus atenciones hacia conmigo Mil Gracias!

Al muegano de Campeche: Adrina, Pedro, Cris, Eva, Eduardo, César, Gabriel y Gaby.

A mis compañeros del laboratorio de Ecofisiología: Cecy, Vero, Fabián y Hugo.

Al Sr. Jesús Sáenz, al Sr. David, a Leon y Javier porque gracias a ustedes se realizó la impresión de éste trabajo, por todo esto Mil Gracias!.

A la banda de la facultad por todos esos momento que disfruté con ustedes.

Este trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del Dr. Carlos Rosas, en el marco del proyecto IN200994 financiado por la DGAPA-UNAM y dentro del convenio de colaboración que, entre la Fac. de Ciencias y el INP, tienen para el uso de las instalaciones del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras (CRIP) de Lerma-Campeche.

INDICE

Resumen	1
Introducción	2
Objetivos	7
Hipótesis	7
Material y Métodos	8
a) Origen de las larvas	8
b) Diseño experimental	9
c) Obtención del alimento experimental	9
d) Medición del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio	11
e) Ensayos preliminares	12
f) Experimentos definitivos	16
g) Análisis estadístico	17
Resultados	17
a) Consumo de oxígeno	17
b) Excreción de amonio	22
c) Razón O:N	27
Discusión	32
- Consumo de oxígeno	32
- Excreción de amonio	33
- Razón O:N	36
Conclusiones	40
Literatura citada	41

RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto del tipo de alimento en el sustrato metabólico utilizado por los diferentes subestadios larvales y postlarvales de *Panaeus setiferus*; además se determinó la metodología más adecuada para evaluar la excreción nitrogenada y el consumo de oxígeno de estos organismos. Se utilizaron 7 dietas diferentes, las cuales se dividieron en alimento vivo (Diatomeas, Flagelados y nauplios de *Artemia*), alimento artificial (Microparticulado) , alimento combinado vivo (Esquema básico) y alimento combinado vivo más alimento artificial (Esquema básico + Microparticulado como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia*).

Se realizaron ensayos previos para determinar la metodología más adecuada, en la cual se utilizaron cámaras de 50 ml selladas, colocadas en oscuridad total, con una densidad de 8 animales/cámara y con un tiempo de cerrado dependiente del tipo de alimento.

Los resultados obtenidos, señalan que el consumo de oxígeno se incrementa conforme se desarrollan los organismos. El mínimo consumo de oxígeno, se observó generalmente en el subestadio de M_{III} y los máximos en los subestadios de PL_{1, 4 y 5}. Los menores valores de consumo de oxígeno se observaron cuando los organismos se alimentaron con Flagelados, mientras que los mayores valores se observaron cuando se alimentaron con *Artemia* y Diatomeas.

La excreción de amonio tuvo un comportamiento muy variable en cuanto al desarrollo. La mínima excreción se observó cuando los organismos se alimentaron con alimento combinado vivo más alimento artificial y la máxima cuando se alimentaron con *Artemia*.

Cuando se alimentó con microalgas (D, F) y alimento artificial (M), las larvas y postlarvas mostraron una razón O:N dirigida hacia proteínas. Cuando se les alimentó con *Artemia* y alimento combinado vivo (EB) la razón O:N fue de proteínas en el estadio de mysis y de proteínas y lípidos en el estadio de postlarva. Cuando se alimentó con microparticulado como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia* utilizaron como sustrato energético fundamentalmente una mezcla de lípidos y proteínas.

Estos resultados indican, que efectivamente, las algas tienen alguna sustancia que estimulan la actividad enzimática digestiva, provocando una mayor eficiencia en la asimilación del alimento combinado, que en este caso es el alimento combinado vivo más alimento artificial, ya que se observa un sustrato catabólico de lípidos y proteínas, lo cual sugiere que las proteínas se están utilizando para crecer.

INTRODUCCIÓN

Desde 1948 y hasta 1980 se estimó que la producción pesquera mundial aumentó aproximadamente en un 60% anual aportando alrededor de un tercio de la producción de alimento (FAO, 1992).

La captura de la mayoría de las especies marinas, resulta ser más económica que su cultivo. Sin embargo, ha de resakarse el hecho de que los recursos naturales tienen un límite de producción y por lo tanto son capaces de soportar una cierta tasa de explotación. En algunos casos el hombre ha sobrepasado estos límites, lo que lleva consigo el peligro de un estancamiento en la producción y la disminución de algunas especies. Para evitar esto, una opción es la de aprovechar nuevos recursos hasta ahora poco explotados o el control de la producción de las especies sobre-explotadas por medio de la acuicultura (De la Lanza *et al.*, 1990).

La acuicultura es una de las biotécnicas con mayor dinámica en nuestro país y con gran potencialidad en el manejo de los recursos naturales. A pesar de que los primeros organismos marinos empezaron a ser cultivados hace muchos años, el auge real de esta actividad es relativamente reciente y en la actualidad está adquiriendo mayor importancia. Actualmente, la acuicultura se practica en mayor o menor medida en casi todos los países del mundo, aunque algunos por su situación geográfica, socioeconómica y política están más avanzados en esta actividad.

Debido a que la captura de camarones mediante la pesca industrial ha disminuido considerablemente, surge la camaronicultura como una alternativa para apoyar a la producción de esta especie. El camarón es cultivado por su alto valor comercial, proporcionando grandes utilidades a las empresas dedicadas a este recurso o bien, fuentes de divisas como productos de exportación.

La producción mundial actual de camarones pencidos por acuicultura, es sostenida principalmente por tres especies, que en su conjunto representan el 71% del total y que corresponden al camarón tigre gigante *Penaeus monodon* con un 33%, el camarón blanco chino

P. chinensis, también conocido como *P. orientalis* con un 28 % y el camarón blanco de occidente *P. vannamei* con el 10 % (Anónimo, 1990).

Tailandia es actualmente el primer productor mundial de camarón cultivado con una producción de 150 000 toneladas, seguido de la República Popular China y otros países orientales como Indonesia e India. En América se encuentra Ecuador que es el productor más importante (Martínez, 1993).

Existen más de 20 especies que han sido o están siendo probadas para su utilización en cultivos comerciales. Dependiendo de las condiciones del área de cultivo y de otras situaciones específicas, cada especie puede tener ventajas sobre las otras que la hagan más atractiva para el cultivo. En general las especies que se consideran potencialmente más adecuadas son, el camarón blanco *Penaeus setiferus*, el camarón azul *Penaeus stylirostris*, el camarón japonés *Penaeus japonicus*, el camarón rosa *Penaeus duorarum* y el camarón blanco del caribe *Penaeus schmitti* (Martínez, 1993).

Hasta 1992 la producción de camarón era de más de 720 000 toneladas (Rosenberry, 1992). En México, el cultivo de camarón es una actividad muy reciente, a la cual se le está dando un gran impulso por parte de las instituciones gubernamentales y sociedades cooperativas.

En el Golfo de México se distribuyen tres especies de importancia económica: *P. aztecus*, *P. duorarum* y *P. setiferus* (Martínez, 1993). *P. setiferus* ha sido considerada como una especie adecuada para la camaronicultura del Golfo de México por ser una especie tolerante al manejo en condiciones de cautiverio, al cultivo en altas densidades, la resistencia a enfermedades y un crecimiento rápido (más de 4 ton/ha/cosecha; Sandifer *et al.*, 1993). Sin embargo aún no se cuenta con la suficiente información para producir postlarvas en cantidades que garanticen un abasto constante a las granjas de engorda (Sandifer *et al.*, 1993). Por estas razones las granjas actualmente en funcionamiento en el Golfo de México han establecido el uso de especies no nativas como *P. vannamei* o *P. monodon* del Pacífico.

Debido a que *P. vannamei* es muy susceptible a enfermedades, existe gran interés por estudiar otras especies que puedan ser cultivadas exitosamente. En particular *Penaeus setiferus* especie

nativa del Golfo de México puede ser una alternativa viable para el desarrollo del cultivo de camarón en esta región. Esta especie se distribuye desde la costa Atlántica Norte de los Estados Unidos hasta el noroeste de la Península de Yucatán, siendo su principal zona de captura en nuestro país en la llamada Sonda de Campeche (Pérez-Farfante, 1969).

Dentro de los estudios de nutrición de los camarones peneidos, un aspecto que ha sido poco analizado y que resulta de primordial importancia es el impacto del alimento sobre la respuesta fisiológica (Clifford y Brick, 1983). Cabe señalar que en crustáceos la mayor parte de las investigaciones han sido dirigidas a evaluar diversas respuestas fisiológicas en condiciones de ayuno sobre la tasa respiratoria (Carefoot, 1987).

El consumo de oxígeno es un indicador del metabolismo aerobio de los organismos, y ha sido utilizado para evaluar los ajustes fisiológicos en relación a diversos factores ambientales y en relación a parámetros biológicos diversos en los que destaca el desarrollo larval en crustáceos (Conover y Corner, 1968; Emmerson, 1984; Jacobi y Anger, 1985; Rosas *et al.*, 1995a, b).

Uno de los factores que incrementan la tasa metabólica es el proceso de alimentación, el cuál incluye las transformaciones mecánicas y bioquímicas del alimento ingerido (Aldrich, 1974; Ikeda, 1977; Rosas *et al.*, 1992; Taboada *et al.*, 1996).

Se ha demostrado que existe una estrecha relación entre la tasa respiratoria y la actividad asociada con la alimentación en diferentes grupos de crustáceos (Dall *et al.*, 1986; Beamisk and Tripple, 1990; Du-Preez *et al.*, 1992; Taboada *et al.*, 1996; Rosas *et al.*, 1995 b). El incremento en el consumo de oxígeno seguido de la alimentación ha sido reportado para un gran número de invertebrados marinos (Thompson y Bayne, 1972; Newell, 1973). Este incremento generalmente ocurre dentro de horas y puede persistir por días, para posteriormente declinar a un nivel de ayuno o estándar (Ansell, 1973; Wallace, 1973; Widdows, 1973). La manipulación o la excitación en general también inciden sobre la fisiología del organismo incrementando el consumo de oxígeno (Brett, 1964).

Los crustáceos son considerados fundamentalmente amoniotéticos debido a que excretan los desechos nitrogenados como amonio (NH_3) independientemente del hábitat que ocupen (Rosas *et al.*, 1995 a). El amonio es el principal producto excretado del catabolismo de las proteínas en crustáceos y representa el 70% del nitrógeno total eliminado (Harris, 1959; Quetin, 1980; Claybrook, 1983). El metabolismo del nitrógeno que soporta la oxidación de los amino ácidos puede seguir diferentes vías, dependiendo de las condiciones experimentales de alimentación (Mayzaud y Conover, 1988). Por esta razón la excreción de nitrógeno, medida como excreción de amonio resulta ser un buen indicador de la oxidación de los aminoácidos (Rosas *et al.*, 1995a).

El incremento de la tasa metabólica después de la ingestión del alimento está correlacionada con la excreción de los productos nitrogenados (Borsook y Winnegarden, 1931), lo cual se debe a la desaminación de los aminoácidos. Krebs (1964) demostró que por medio del cálculo de la energía requerida para la formación de ATP en los procesos bioquímicos del metabolismo el incremento del calor aparente (ICA) es debido al metabolismo de proteínas (Hochachka, 1991).

Desde el punto de vista nutricional, la eficiencia de asimilación de una dieta depende de la calidad y cantidad de sus componentes, así como de la capacidad de los camarones para utilizar los distintos nutrientes ofrecidos. A este respecto Lovett y Felder (1990b, c) han señalado que la actividad enzimática asociada con la degradación del alimento en *P. setiferus* y posiblemente en la mayoría de los camarones peneidos, está regulada genéticamente, lo que implica capacidades específicas para la degradación de distintos tipos de sustratos del alimento con fines energéticos.

Una forma de conocer la naturaleza del sustrato que ha sido oxidado en crustáceos en relación con una dieta determinada, es a través de la razón atómica O:N, la cual es calculada a partir del oxígeno consumido y el amonio excretado. (Conover y Corner, 1968; Snow *et al.*, 1971; Ikeda, 1977; Dall y Smith, 1980; Mayzaud y Conover, 1988.; Rosas *et al.*, 1995a).

La estimación de la razón metabólica O:N puede proporcionar información sobre la estrategia nutricional de los camarones peneidos debido a su limitada capacidad de almacenamiento de nutrientes energéticos (Hatcher, 1991).

Existen varias razones metabólicas (O:N, O:P), las cuales se basan en la relación que existe entre la cantidad de oxígeno requerido para oxidar las moléculas orgánicas y la cantidad esperada de nitrógeno y fosfato liberados en la oxidación (Hatcher, 1991).

De acuerdo con Mayzaud y Conover (1988), los intervalos de la razón O:N entre 3 y 16 corresponden a un catabolismo de proteínas, valores entre 50 y 60 corresponden a un catabolismo de iguales proporciones de proteínas y lípidos y valores mayores a 60 corresponden al catabolismo de lípidos y proteínas.

Investigaciones realizadas con anterioridad han demostrado que el consumo de oxígeno de las larvas de *P. setiferus* es afectado por la concentración y tipo de alimento (Rosas *et al.*, 1995b). Así mismo, Gallardo *et al.* (1995) han reportado que el crecimiento, la sobrevivencia y el desarrollo larvario de esta especie es afectado por el alimento disponible. Como resultado de éstas investigaciones se ha establecido que una dieta mixta de diatomeas y flagelados (30 a 40×10^3 cel/ml y 2 a 3×10^3 cel/ml respectivamente) para el estadio de protozoa y mysis, complementada con nauplios de *Artemia sp* ($1-1.5$ nauplios /ml) en éste último estadio, dio los mejores resultados.

Una de las desventajas del uso de alimentos vivos, es que la calidad nutricional de estos depende de las formas de cultivo lo cual lo hace altamente variable (Brown 1991). Para evitar esto se han diseñado diversos tipos de alimento balanceado (microencapsulados y microparticulados) con el fin de ofrecer dietas con calidad estándar y lograr un reemplazamiento total o parcial del alimento vivo Jones (1979b).

Durante el desarrollo, las larvas de *P. setiferus* experimentan cambios morfológicos, bioquímicos y fisiológicos los cuales están acoplados con ajustes en la alimentación (Lovett y Felder, 1989; Lovett y Felder, 1990 a, b, c; Rosas *et al.*, 1995b). Como producto de estos cambios es de esperar que también haya ajustes en los mecanismos involucrados en el aprovechamiento del alimento a través de variaciones en el sustrato metabólico.

OBJETIVOS

El presente estudio se diseñó con el fin de conocer las variaciones en el uso de las fuentes de energía de origen alimentario durante el desarrollo larval y postlarval de *Penaeus setiferus*.

Para esto se diseñaron los siguientes objetivos particulares:

- a) Diseñar un sistema confiable de medición de la excreción de amonio y del consumo de oxígeno en los estadios larvales (mysis $M_1 - M_{III}$) y postlarvales ($PL_1 - PL_5$) de *P. setiferus*.

- b) Determinar la tasa respiratoria y la tasa de excreción de amonio en las fases larvales y postlarvales de *P. setiferus* mantenidas con alimento vivo (*Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chui* y *Artemia franciscana*); alimento artificial (microparticulado); alimento combinado (mezcla de alimento vivo = EB y la combinación del EB más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia*).

- c) Determinar la razón O:N. de las fases larvales y postlarvales de *P. setiferus* mantenidas con los diferentes alimentos.

HIPOTESIS

Es de esperar que el alimento microparticulado promueva el uso de las proteínas y los lípidos como sustrato energético, permitiendo el uso de las proteínas para el crecimiento. Así mismo es posible suponer que los flagelados y los nauplios de *Artemia* por su composición química-proximal de mayor contenido proteico estimularán el uso de las proteínas como sustrato energético, mientras que las diatomeas (con mayor contenido en lípidos) tenderán a producir valores de O:N que reflejen el metabolismo de lípidos y proteínas.

MATERIAL Y METODOS

a. Origen de las larvas

Las larvas utilizadas en este estudio, fueron obtenidas a partir de hembras maduras en condiciones de laboratorio e inseminadas artificialmente.

En cada experimento se utilizaron larvas y postlarvas provenientes de un solo desove y previo al experimento fueron mantenidas con el esquema de alimentación propuesto por Gallardo *et al* (1995) (Tabla 1) hasta que se obtuviera el estadio larval o postlarval requerido.

El reconocimiento de cada fase larval y postlarval fue de acuerdo a los cambios morfológicos descritos por Alfonso *et al.* (1993).

Tabla 1 Esquema de alimentación y concentraciones de los alimentos para cada subestadio de *P. setiferus*

	Concentración de alimento	Estadio*
Alimento vivo		
Distomeas (D)	30,000 cel/ml	P _I - P _{III}
(<i>Chaetoceros ceratosporum</i>)	40,000 cel/ml	M _I - PL ₃
Flagelados (F)	2,000 cel/ml	P _{II} - P _{III}
(<i>Tetraselmis chull</i>)	3,000 cel/ml	M _I - PL ₃
Artemia (A)	0.5 nauplios/ml	P _I - P _{III}
(nauplios de <i>Artemia franciscana</i>)	1 nauplio/ml	M _I - PL ₃
Alimento artificial		
Microparticulado (M)	1 mg/l	M _I - PL ₃
Alimento combinado		
Esquema básico (EB)	40,000 cel/ml (D) + 3,000 cel/ml (F) +	M _I - PL ₃
Mezcla de distomeas, flagelados y nauplios <i>Artemia</i>	1 nauplio/ml (A)	
EB+M como complemento de nauplios de <i>Artemia</i> .	*0.08 mg /org/día	M _I - PL ₃
EB+M como sustituto de nauplios de <i>Artemia</i> .	*0.13 mg /org/día	M _I - PL ₃

*Protozoos (P), mysis (M), postlarvas (PL).

b. Diseño experimental

El diseño experimental consistió en la evaluación de las diferentes dietas: Alimento vivo, diatomeas (*Chaetoceros ceratoporum*), flagelados (*Tetraselmis chuii*), nauplios de *Artemia franciscana*; alimento artificial, microparticulado (M) y alimento combinado, mezcla de alimento vivo (EB) y la combinación de la mezcla de alimento vivo (EB) más alimento artificial (M) como complemento y sustituto de nauplios de *A. franciscana*. Dependiendo del tipo de alimento este estudio se llevó a cabo desde protozoa (P_I-P_{III}), mysis (M_I-M_{III}) y postlarvas (PL₁-PL₅) de *P.setiferus* (Tabla 2).

Tabla 2. Diseño Experimental.

ALIMENTO	ESTADIO										
	Protozoa			Mysis				Postlarvas			
	P _I	P _{II}	P _{III}	M _I	M _{II}	M _{III}	PL ₁	PL ₂	PL ₃	PL ₄	PL ₅
1 Diatomeas (D)	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
2 Flagelados (F)		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
3 <i>Artemia</i> (nauplios) (A)			*	*	*	*	*	*	*	*	*
4 Microparticulado (M)				*	*	*	*	*	*	*	*
5 Esquema Básico (EB)				*	*	*	*	*	*	*	*
6 EB + M (comp.*)				*	*	*	*	*	*	*	*
7 EB + M (sus.*)				*	*	*	*	*	*	*	*

*Complemento y sustituto de nauplios de *Artemia franciscana*.

c. Obtención del alimento experimental

Las microalgas fueron cultivadas en el laboratorio de fitoplancton del Centro Regional de Investigaciones Pesqueras Campeche, utilizando el medio de cultivo de Gillard F/2 (Guillard, 1983), a una luminosidad de 3000 lux, aireación constante y en un rango de temperatura entre 22-23°C. El fitoplancton cultivado se suministró como alimento a los organismos cuando la curva de crecimiento se encontraba en la fase estacionaria o estable.

Los nauplios de *Artemia* fueron obtenidos a partir de quistes certificados de *Artemia franciscana* (Lote no. IIG750). Para el proceso de descapsulación se siguieron las instrucciones del envase.

El alimento combinado (esquema básico = EB) suministrado como alimento, fue el propuesto por Gallardo *et al.*, (1995), el cual consiste en la mezcla de alimento vivo: diatomeas (*C. ceratosporum*), flagelados (*T. chuit*) y nauplios de *A. franciscana*.

El alimento artificial suministrado (microparticulado = M), fue el propuesto por Gallardo *et al.* (1996) que presenta las siguientes características de acuerdo a su composición (% peso seco) y al análisis bromatológico.(Tabla 3).

Tabla 3. Composición del microparticulado y análisis bromatológico

INGREDIENTES	
(% Peso seco)	
Harina de pescado	27.0
Harina de calamar	17.0
Harina de camarón	17.0
Harina de levadura	15.0
Harina de soya	14.0
Almidón	1.5
Aceite de hígado de bacalao	2.0
Aceite de girasol	2.0
Colectarol	0.5
Vitaminas y minerales (pre-mezcla**)	2.5
Ácido ascórbico	0.5
Alginatos	1.0
Total proteína	52.7 %
Total lípidos	11.5 %
Total CHO	13.5 %
Energía Digestiva Kcal/g	3.67
ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	
Humedad	4.28%
Cenizas	10.13%
Extracto etéreo	11.34%
Proteína (% N*6.25)	54.05%
Fibra cruda	2.98%
Carbohidratos por diferencia	17.22%

**Donado por Purina Maltrón (México).

La concentración de cada dieta experimental para cada subestadio larval y postlarval se especifica en la Tabla 1.

d. Medición del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio

El consumo de oxígeno y la excreción de amonio se llevó a cabo en respirómetros cerrados que contenían la mezcla previamente aireada y homogeneizada de agua de mar natural filtrada y esterilizada por UV y el alimento de prueba. Las larvas fueron agregadas una a una hasta llegar a la densidad correcta.

Para evaluar el consumo de oxígeno se tomó una muestra de agua inicial de cada cámara respirométrica, posteriormente se cerraron las cámaras y después del tiempo de cerrado se tomaron las muestras finales. El consumo de oxígeno se determinó por la diferencia entre la concentración inicial y final de oxígeno disuelto en cada muestra. La excreción de amonio se determinó de la misma forma que el consumo de oxígeno.

Para el análisis del agua de las cámaras se tomaron muestras de 25 ml para el oxígeno disuelto y 10 ml para el amonio N-NH₃.

La concentración del oxígeno disuelto se evaluó con un oxímetro YSI 50B conectado a un electrodo polarográfico calibrado con agua de mar a saturación y con precisión de ± 0.5 mg/l. Los resultados obtenidos fueron corregidos por el consumo de oxígeno de una cámara control sin organismos y fueron expresados en $\mu\text{g O}_2/\text{h/animal}$.

La concentración de amonio se evaluó por medio de electrodos específicos (ORION) conectados a una interfase y a un multianalizador (ORION 720A). Las muestras fueron procesadas utilizando 0.5ml de NaOH como agente para convertir el NH_4^+ a NH_3 . Los resultados de amonio así obtenidos fueron corregidos por la cantidad de amonio producida en la cámara control sin organismos y fueron expresados en $\mu\text{g NH}_3/\text{h/animal}$.

La razón O:N fue calculada a partir de los resultados del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio, los cuales fueron transformados a sus valores atómicos, usando para el oxígeno un

factor de 62.5 $\mu\text{g At/mg O}_2$ consumido y para el nitrógeno un factor de 58.9 $\mu\text{g At/mg N-NH}_3$. Los valores de O:N obtenidos, se interpretaron de acuerdo a Mayzaud y Conover (1988), quienes señalan que intervalos entre 3 y 16 corresponden a un catabolismo de proteínas; valores entre 50 y 60 sugieren un catabolismo de iguales proporciones de proteínas y lípidos y valores mayores a 60, un catabolismo de lípidos y proteínas.

Las cámaras experimentales y todo el material de plástico y de vidrio utilizado fue lavado con agua corriente de la llave y enjuagado con agua destilada. Se utilizó agua de mar filtrada (20 μm filtro de arena y 5 μm filtro de cartucho) y pasada por luz UV.

e. Ensayos preliminares

Con el fin de establecer con precisión el método más adecuado para el registro del consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada de las larvas y postlarvas de *P.seitferus*, se realizaron varios ensayos en los que se evaluó el tiempo de cerrado, el tipo de cámara respirométrica, la densidad de organismos por cámara y el efecto de la iluminación.

Las condiciones fisicoquímicas del agua del medio para cada experimento se mantuvieron similares a las de la etapa de mantenimiento en todas las pruebas experimentales; temperatura 27 ± 1 °C; pH 6; salinidad $37 \pm 0/_{\infty}$ y O_2 disuelto 6 ± 0.5 mg.

Para cada dieta se realizó un experimento por subestadio.

Ensayo No. 1: Nauplios de *Artemia franciscana*.

Los primeros bioensayos fueron diseñados con el fin de determinar el tiempo de cerrado de las cámaras que permitiera la medición adecuada de oxígeno consumido y de la excreción nitrogenada. En primera instancia este ensayo fue realizado con nauplios de *Artemia franciscana* con 24 horas de eclosión y sin alimentar. Los nauplios se colocaron en matraces cerrados de 250 ml con una densidad de 25 nauplios por matraz. Este experimento contó con un total de 9 repeticiones y un control sin organismos. El tiempo de cerrado a probar fue de 2 horas durante las cuales los nauplios permanecieron en iluminación.

En la segunda prueba se utilizaron nauplios de *A. franciscana* con 48 horas de eclosión. El tiempo de cerrado se aumentó a 2:30 horas. Para esto se utilizaron cámaras de plástico opaco de 50 ml tapadas con una lámina de plástico y con una densidad de 8 nauplios por cámara, con un total de 9 repeticiones y un control sin organismos.

Se realizaron una tercera y cuarta pruebas bajo las mismas condiciones, excepto que en estas ocasiones se utilizaron tiempos de cerrado de 3 y 4 horas con nauplios de *A. franciscana* con 72 y 96 horas de eclosión, respectivamente.

Ensayo No. 2: Larvas de *Penaeus setiferus*.

Una vez determinado el tiempo de cerrado y la densidad de nauplios de *Artemia* se procedió a realizar ensayos con larvas de *P. Setiferus* (P₁ a M₁), los cuales se llevaron a cabo con tres tipos de alimento: diatomeas (*C. ceratosporum*), flagelados (*T. chuii*) y *A. Franciscana* respectivamente, suministrándose de acuerdo a la tabla 1. Las condiciones experimentales por subestadio fueron: cámaras de 50 ml tapadas con láminas de plástico, tiempo de cerrado de 4 horas, una densidad de 8 animales/cámara y un total de 9 repeticiones con un control sin organismos. En este ensayo las concentraciones de oxígeno disuelto y del amonio no mostraron diferencias significativas entre las lecturas iniciales y finales de las muestras de agua y por lo tanto no fue posible detectar el consumo de oxígeno y la excreción nitrogenada de las larvas. Esto posiblemente se debió a que los electrodos no son lo suficientemente sensibles a los cambios de concentraciones producidos por las larvas bajo estas condiciones.

Ensayo No. 3: Larvas de *P. setiferus*: aumentando el tiempo de cerrado de las cámaras.

Para controlar estos factores se realizó otro bioensayo, en el cual se incrementó el tiempo de cerrado a 10 horas, utilizando como alimento diatomeas y comenzando a partir del subestadio de P₁ con una densidad de 8 animales/cámara, con un total de 9 repeticiones y un control sin organismos, obteniendo resultados semejantes al anterior.

Ensayo No. 4: Larvas de *P. setiferus*: efecto de la luz.

Con los resultados del ensayo previo, se concluyó que la actividad fotosintética de las microalgas aportaba oxígeno a las cámaras respirométricas.

Se decidió hacer una prueba bajo las mismas condiciones al anterior pero con 4 cámaras selladas con tapas de plástico, dos de ellas colocadas en obscuridad total en una caja cerrada y dos en iluminación ambiente, obteniendo resultados satisfactorios con las cámaras que se colocaron en obscuridad total.

Ensayo No. 5: Larva de *P. setiferus*: controles.

Tomando en cuenta lo anterior, se realizó un ensayo en cámaras selladas con tapas de plástico colocadas en obscuridad total, con 12 horas de cerrado, con una densidad de 8 animales/cámara, considerando 9 repeticiones y un control y alimentadas con diatomeas a partir de P₁. Los resultados fueron satisfactorios. Pero en las mediciones de la concentración de amonio no se tuvieron variación entre las muestras de agua iniciales y finales.

Ensayo No. 6: Larvas de *P. setiferus*: efecto de la densidad.

Se decidió aumentar las repeticiones a 14 y un control bajo las siguientes condiciones experimentales: cámaras de 50 ml selladas colocadas en obscuridad total, con un tiempo de cerrado de 12 horas, una densidad de 12 animales/cámara, alimentadas con diatomeas e iniciando a partir del subestadio de P₁. En estas condiciones las larvas se murieron, lo cual sugería que la densidad era muy elevada. Por consiguiente la densidad se redujo a 8 animales/cámara, la cual se mantuvo para los siguientes subestadios hasta PL₅.

También se decidió eliminar el estadio de protozoa, ya que las diferencias entre las concentraciones de oxígeno disuelto y amonio iniciales y finales no fueron significativas. Por esta razón se decidió iniciar los experimentos con los subestadios de mysis M₁ hasta postlarva PL₅.

Ensayo No. 7: Larvas de *P. setiferus*: efecto de los nauplios de *A. franciscana*.

Se realizó un ensayo suministrando como dieta nauplios de *Artemia franciscana* con 14 repeticiones y 1 control: se emplearon cámaras de 50 ml selladas colocadas en oscuridad total, con una densidad de 8 animales/cámara, un tiempo de cerrado de 12 horas e iniciando a partir del subestadio de M₁.

Se observó mortalidad de las larvas debido a la reducción de oxígeno disuelto en el medio por la respiración tanto de las larvas como de los nauplios de *A. franciscana*, por tanto se redujo el tiempo de cerrado a 5 horas.

Ensayo No. 8: Larvas de *P. setiferus*: efecto del alimento artificial (microparticulado).

El ensayo con la dieta artificial (microparticulado) se realizó bajo las mismas condiciones experimentales al anterior y los resultados también mostraron mortalidad de las larvas, debido a que el elevado tiempo de cerrado de las cámaras favoreció el crecimiento de bacterias, afectando la concentración del oxígeno disuelto de las cámaras; por lo tanto se decidió reducir el tiempo de cerrado a 8 horas.

Ensayo No. 9: Larvas de *P. setiferus*: efecto del alimento combinado más el alimento artificial (EB+M_{1,2,3}).

Con las mismas condiciones experimentales al ensayo número 6 se diseñó el bioensayo del alimento combinado (EB) más microparticulado como complemento de nauplios de *Artemia*, obteniendo como resultado mortalidad casi total de las larvas. Por lo tanto se procedió a hacer otro ensayo variando el tiempo de cerrado, los tiempos a ensayar fueron 4, 5 y 6 horas. En cada ensayo se consideraron 4 repeticiones y 1 control. Los resultados de estos ensayos reflejaron que las larvas toleraban hasta 6 horas, por tanto se realizaron 2 experimentos con un tiempo de cerrado de 6 horas y los resultados mostraron muerte de algunas larvas; por consiguiente se realizaron los experimentos definitivos con un tiempo de cerrado de 4 horas.

f. Experimentos definitivos

A partir de los resultados obtenidos en los ensayos preliminares se diseñaron los experimentos definitivos para cada dieta con cada subestadio larval y postlarval. Estos experimentos se realizaron bajo las siguientes condiciones:

Se utilizaron cámaras de 50 ml selladas con tapas de plástico, colocadas en obscuridad total, con una densidad de 8 organismos/cámara, considerando un total de 14 repeticiones y 1 control. El tiempo de cerrado fue dependiente del tipo de alimento a ensayar (Tabla 4).

La cantidad de alimento de cada dieta y para cada subestadio se representa en la Tabla 2.

Tabla 4. Tiempo de cerrado y densidad de larvas de *P.seitferus* alimentadas con diferentes dietas: Experimentos definitivos.

Alimento	Densidad de organismos	Tiempo de cerrado (hrs.)
Diatomeas (<i>C.ceratoporum</i>)	8	12
Flagelados (<i>T. chuii</i>)	8	10
<i>Artemia</i> (<i>A. franciscana</i>)	8	5
Microparticulado (M)	8	8
Eaquetna Básico (EB)	8	10
EB+M (complemento de nauplios de <i>Artemia</i> .)	8	4
EB+M (sustituto de nauplios de <i>Artemia</i>)	8	4

g. Análisis Estadístico

Se utilizó un ANOVA de una vía para evaluar en cada tratamiento (dieta) las diferencias significativas entre ellos y entre los subestadios larvales y postlarvales. La detección de los grupos estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) se efectuó por la prueba de rangos múltiples de Duncan (Zar, 1984).

RESULTADOS

a. Consumo de Oxígeno

Al alimentar a las larvas y postlarvas con diatomeas, el consumo de oxígeno aumentó en relación al estadio, alcanzando su valor máximo en PL₃ (16.6 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal). Este valor resultó ser significativamente mayor al que se presentó en M_I (4.06 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal; $P < 0.05$; Fig. 1a). Cuando las larvas y postlarvas se alimentaron con flagelados, el consumo de oxígeno varió entre 2.8 y 13.8 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal, correspondiendo el valor mínimo y máximo a los subestadios de M_{III} y PL₄, (Tabla 5; Fig. 1b).

El consumo de oxígeno obtenido cuando se suministró como dieta a los nauplios de *Artemia* se incrementó en relación al estadio, obteniendo su valor máximo en PL₃ (32 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal) y el mínimo en M_I (10.7 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal; Fig. 1c). Estos valores fueron significativamente mayores a los que se obtuvieron con larvas alimentadas con algas y microparticulado, ($P < 0.05$; Fig. 1).

En el caso de las larvas alimentadas con alimento microparticulado el consumo de oxígeno varió conforme al estadio, teniendo el valor máximo en PL₃ (19.0 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal). Este valor fue significativamente mayor al observado en el subestadio de M_{III} (5.5 $\mu\text{g O}_2$ /h/ animal; $P < 0.05$; Tabla 5; Fig. 1).

Al comparar los valores del consumo de oxígeno de larvas y postlarvas mantenidas con alimento artificial (microparticulado=M) contra el de las mantenidas con alimento vivo (D, F, A), se observó una similitud entre éste y la respiración obtenida con las larvas y postlarvas alimentadas con diatomeas y flagelados (Fig. 1; Tabla 5). También se observó que existe un comportamiento similar al de las

que se mantuvieron con flagelados. El consumo de oxígeno de las larvas y postlarvas alimentadas con nauplios de *Artemia* con respecto al obtenido con alimento vivo (D y F) y alimento artificial (M) resultó ser significativamente mayor ($P < 0.05$; Fig. 1). Cabe señalar que el consumo de oxígeno de las larvas y postlarvas alimentadas con diatomeas y *Artemia* aumentó en relación al estadio.

Cuando las larvas y postlarvas se mantuvieron con alimento combinado vivo (EB), el consumo de oxígeno fue variable, obteniendo el valor mínimo en M_{II} ($3.8 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$) y el máximo en PL 4 y ($19.6 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$) (Fig. 2a).

El consumo de oxígeno máximo obtenido en larvas y postlarvas mantenidas con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento de nauplios de *Artemia* (EB+M), se observó en PL₅ ($21.1 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$). Este valor fue significativamente mayor al observado en el estadio de M_{II} ($6.8 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$; $P < 0.05$; Tabla 5; Fig. 2b).

Al mantener a las larvas y postlarvas con alimento combinado vivo más alimento artificial como sustituto de nauplios de *Artemia* (EB+M), el consumo de oxígeno mostró el valor máximo en el subestadio de PL₅ ($43.1 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$). Este valor fue significativamente mayor al obtenido en M_{II} ($4.4 \mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$; $P < 0.05$; Tabla 5; Fig. 2b). En éstas dos dietas el consumo de oxígeno incrementó en relación al estadio larval.

En general se observó un decremento del consumo de oxígeno en el subestadio de M_{II} a M_{III} , excepto cuando se proporcionaron diatomeas como alimento (Fig. 1 y 2).

También se observó que el consumo de oxígeno de las larvas y postlarvas fue similar cuando se alimentaron con alimento artificial (M) y alimento combinado vivo (EB) por separado, no siendo así cuando se utilizó el alimento artificial como complemento y sustituto en combinación con el alimento vivo (EB+M_{1,2}).

Tabla 5.- Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$ media \pm error estándar) para cada subestadio larval y postlarval de *P. setiferus* alimentadas con diferentes dietas. Los asteriscos señalan que no existe valor. Los valores remarcados indican el valor máximo y mínimo de consumo de oxígeno.

Alimento Vivo			
Estadio	Distomess $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$	Flagelados $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$	Artemia $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$
MI	4.06 \pm 1.1	3.1 \pm 0.5	14.2 \pm 1.7
MII	8.7 \pm 1.6	8.1 \pm 0.5	10.7 \pm 1.1
MIII	9.6 \pm 1.2	2.8 \pm 0.7	**** \pm ****
PL1	12.4 \pm 0.8	11.5 \pm 0.8	17.1 \pm 1.1
PL2	14.5 \pm 0.7	9.6 \pm 0.6	26.2 \pm 1.4
PL3	**** \pm ****	7.8 \pm 0.8	23.4 \pm 1.8
PL4	12.6 \pm 0.6	13.8 \pm 1.1	31.3 \pm 1.3
PL5	16.6 \pm 1.1	12.4 \pm 0.5	32.0 \pm 1.7
Alimento Artificial			
Estadio	Microparticulado (M) $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$		
MI	**** \pm ****		
MII	14.4 \pm 0.8		
MIII	5.5 \pm 0.9		
PL1	11.4 \pm 0.7		
PL2	6.2 \pm 1.6		
PL3	19.0 \pm 0.8		
PL4	16.9 \pm 1.8		
PL5	15.7 \pm 1.3		
Alimento Combinado			
Estadio	Esquema Básico (EB) $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$	EB + M (Complemento) $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$	EB + M (Sustituto) $\mu\text{gO}_2/\text{h}/\text{animal}$
MI	4.7 \pm 0.5	**** \pm ****	13.1 \pm 2.2
MII	14.9 \pm 1.3	**** \pm ****	**** \pm ****
MIII	3.9 \pm 0.6	6.8 \pm 1.2	4.4 \pm 2.1
PL1	11.2 \pm 0.8	14.9 \pm 2.4	**** \pm ****
PL2	12.5 \pm 1.4	16.0 \pm 2.0	**** \pm ****
PL3	13.2 \pm 1.3	**** \pm ****	16.9 \pm 2.6
PL4	19.6 \pm 1.5	13.2 \pm 1.7	24.0 \pm 2.3
PL5	16.7 \pm 1.3	21.1 \pm 2.3	43.1 \pm 3.3

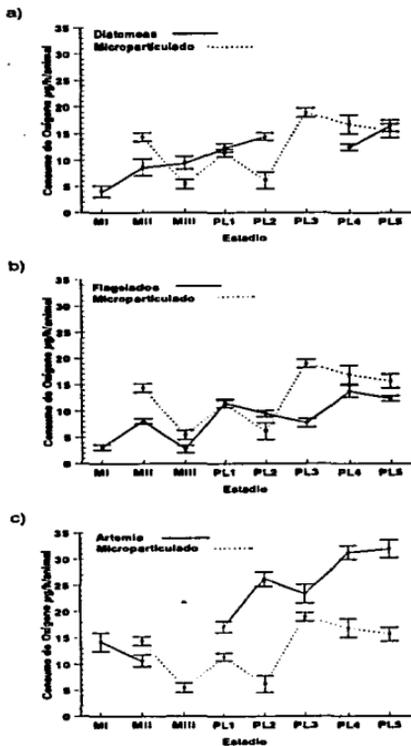


Fig. 1. Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2 / \text{h/larva}$) de larvas y postlarvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento vivo (Diatomeas, Flagelados y *Artemia*) comparado con las que fueron mantenidas con alimento artificial (M). Valores promedio \pm error estándar.

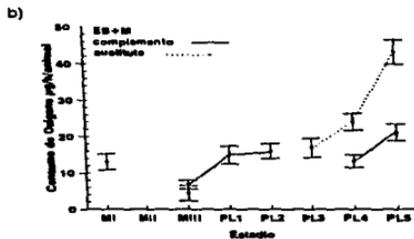
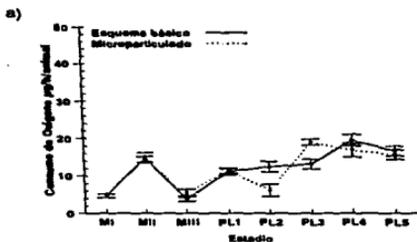


Fig. 2. Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2/\text{h}/\text{animal}$) de larvas y postlarvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento combinado vivo (EB) y alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y método de acoplamiento de Artemia (EB+M₁₋₅). Valores promedio \pm error estándar.

b. Excreción Nitrogenada (amonio)

En la excreción de las larvas y postlarvas alimentadas con diatomeas se observó el valor máximo en el subestadio de PL₅ (3.8 µg NH₃ /h/ animal). Este valor fue significativamente mayor al observado en PL₁ (0.7 µg NH₃ /h/ animal; P< 0.05; Fig. 3a); con esta dieta se observaron los valores más altos de producción de amonio en los dos últimos subestadio postlarvales.

La excreción de amonio de las larvas y postlarvas que fueron alimentadas con flagelados, mostró su valor máximo en el subestadio de PL₄ (2.6 µg NH₃ /h/ animal) siendo significativamente mayor que el observado en PL₁ (0.4 µg NH₃ /h/ animal), (P< 0.05). Se observó que con esta dieta las larvas tendieron a incrementar la producción de amonio con respecto al desarrollo larval (Fig. 3b).

Al alimentarlas con *Artemia*, la excreción de amonio fue muy variable con respecto al estadio, obteniendo el valor máximo en PL₁ (2.5 µg NH₃ /h/ animal). Este valor fue significativamente mayor al observado en PL₅ (0.7 µg NH₃ /h/ animal), (P< 0.05; Fig. 3c). La excreción de amonio obtenida cuando las larvas y postlarvas se alimentaron con dieta artificial (M) aumentó en relación al estadio, con valores entre 0.4 y 2.3 µg NH₃ /h/ animal, correspondiendo el máximo valor al subestadio de PL₄ y el mínimo a M_m (Tabla 5; Fig. 3).

Se observó que la excreción de amonio de las larvas y postlarvas mantenidas con alimento artificial y flagelados fue similar entre ellos en comparación con la excreción observada en animales alimentados con diatomeas y *Artemia* (Fig. 3).

La excreción de amonio de las larvas y postlarvas mantenidas con alimento combinado vivo (EB) tuvo una tendencia a disminuir con respecto al estadio, obteniendo su valor máximo en el subestadio de PL₂ (2.2 µg NH₃ /h/ animal). Este valor fue significativamente mayor que el observado en PL₄ (0.3 µg NH₃ /h/ animal; P< 0.05; Fig. 4a).

Al mantener a las larvas y postlarvas con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento de nauplios de *Artemia* (EB+M_a), la excreción de amonio mostró el valor máximo en PL₁ y PL₅ (0.2 µg NH₃ /h/ animal) siendo significativamente mayor que el observado en M_i

(0.07 μgNH_3 /h/ animal; $P < 0.05$; Fig. 4b). La excreción de amonio de las larvas y postlarvas mantenidas con alimento combinado vivo más alimento artificial como sustituto de nauplios de *Artemia* (EB+M_a), mostró el valor máximo en PL₅ (0.5 $\mu\text{g NH}_3$ /h/ animal) y el mínimo en M_{III} (0.08 $\mu\text{g NH}_3$ /h/ animal; $P < 0.05$; Tabla 5; Fig. 4b).

Se puede observar que al suministrar por separado el alimento vivo (D, F, A), el alimento artificial (M) y el alimento combinado vivo (EB), los valores de excreción se asemejan entre ellos, pero al compararlos con los valores de excreción de las larvas alimentadas con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia* resultan ser significativamente mayores ($P < 0.05$; Tabla 5; Fig. 3 y 4).

También se observó, que los animales excretan mayor cantidad de amonio cuando se les alimenta únicamente con alimento vivo, en particular con *Artemia* y diatomeas, que cuando se les mantiene con alimento combinado vivo más alimento artificial (EB+M_a) (Fig. 3 y 4).

Tabla 6.- Excreción de amonio ($\mu\text{g NH}_3$ /h/animal media \pm error estándar) para cada subestadio larval y postlarval de *P. setiferus* alimentadas con diferentes dietas. Los asteriscos señalan que no existe valor. Los valores remarcados indican el valor máximo y mínimo.

Alimento Vivo						
Estado	Diatomeas $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal		Flagelados $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal		Artemia $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal	
MI	****	****	****	****	2.4	\pm 0.3
MII	1.1	\pm 0.2	0.9	\pm 0.1	1.0	\pm 0.2
MIII	2.6	\pm 0.3	0.7	\pm 0.2	1.2	\pm 0.1
PL1	0.7	\pm 0.04	0.4	\pm 0.1	2.5	\pm 0.5
PL2	0.8	\pm 0.1	0.7	\pm 0.1	1.6	\pm 0.4
PL3	****	****	0.9	\pm 0.4	0.7	\pm 0.1
PL4	3.6	\pm 0.6	2.6	\pm 0.6	0.9	\pm 0.1
PL5	3.8	\pm 0.9	0.9	\pm 0.3	1.6	\pm 0.3

Alimento Artificial						
Estado	Microparticulado (M) $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal					
MI	****	****				
MII	0.7	\pm 0.08				
MIII	0.4	\pm 0.1				
PL1	1.0	\pm 0.2				
PL2	1.4	\pm 0.2				
PL3	1.3	\pm 0.1				
PL4	2.3	\pm 0.2				
PL5	1.4	\pm 0.4				

Alimento Combinado						
Estado	Esquema (EB) $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal	Básico	EB + M (Complemento) $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal	M	EB + M (Sustituto) $\mu\text{g NH}_3$ /h/animal	M
MI	1.6	\pm 0.4	0.07	\pm 0.02	0.2	\pm 0.04
MII	****	****	****	****	****	****
MIII	1.3	\pm 0.2	0.1	\pm 0.03	0.08	\pm 0.02
PL1	0.7	\pm 0.08	0.2	\pm 0.04	****	***
PL2	2.2	\pm 0.4	0.1	\pm 0.1	****	****
PL3	0.5	\pm 0.1	****	****	0.3	\pm 0.04
PL4	0.3	\pm 0.1	0.09	\pm 0.01	0.1	\pm 0.02
PL5	1.0	\pm 0.1	0.2	\pm 0.06	0.5	\pm 0.06

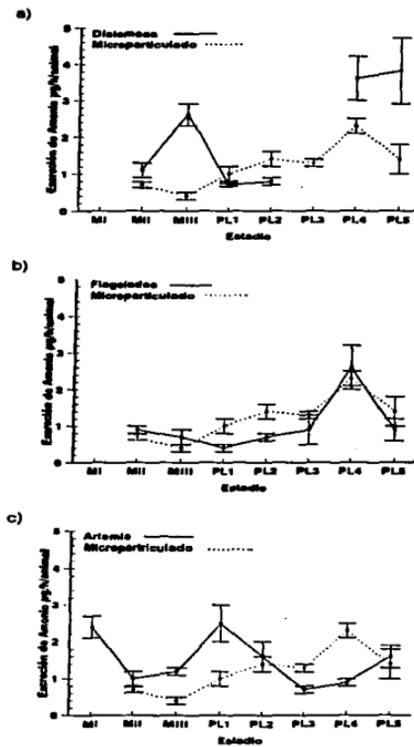


Fig. 3. Excreción de nitrógeno ($\mu\text{g NH}_4^+ / \text{h} / \text{animal}$) de larvas y post-larvas de *P. antiferus* mantenidas con alimento vivo (Diatomeas, Flagelados y Artemia), comparadas con las que fueron mantenidas con alimento artificial (M). Valores promedio \pm error estándar.

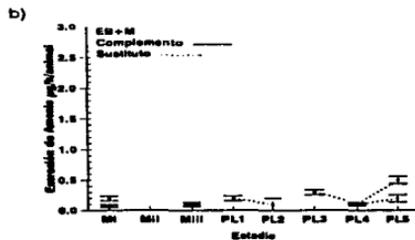
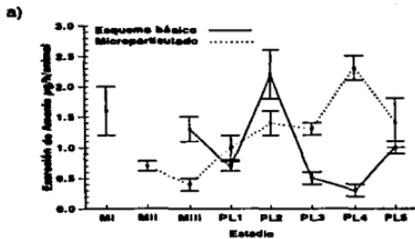


Fig. 4. Excreción de amonio ($\mu\text{g NH}_4 / \text{h} / \text{animal}$) de larvas y postlarvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento combinado vivo (EB) y alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de Artemia (EB+M_{1,2}). Valores promedio \pm error estándar.

c. Razón O:N

Las larvas y postlarvas alimentadas con diatomeas utilizaron fundamentalmente como sustrato catabólico a las proteínas en los subestadios de M_{II} , M_{III} , PL_4 y PL_5 , obteniéndose valores entre 3.17 y 9.39. En PL_1 y PL_2 se observó un incremento de la razón O:N con valores de 17.38 y 18.29 los cuales pudieran seguir siendo considerados como un catabolismo de proteínas (Tabla 6; Fig. 5a).

Al alimentar a las larvas con flagelados, el sustrato utilizado por las larvas y postlarvas fue fundamentalmente proteínas en los subestadios de M_{II} , M_{III} , PL_3 , PL_4 , PL_5 , con valores de O:N entre 3.92 y 14.64, considerando también al subestadio de PL_2 con valor de O:N de 17.01 dentro del catabolismo de proteínas. Se observó que en el subestadio de PL_1 los animales utilizaron como sustrato energético una mezcla de proteínas y lípidos con valor de O:N de 32.59 (Tabla 6; Fig. 5b).

Las larvas y postlarvas alimentadas con *Artemia*, emplearon como sustrato energético a las proteínas en los subestadios de M_{II} , M_{III} y PL_1 obteniéndose valores de O:N de 7.43 a 10.84. A partir de PL_2 el sustrato empleado cambió a proteínas y lípidos hasta PL_5 , (valores de O:N de 21.41 a 41.45; Tabla 6; Fig. 5c).

Los valores de la razón O:N de las larvas y postlarvas alimentadas con alimento artificial (M) señalan un catabolismo fundamentalmente de proteínas con valores de O:N de 5.70 a 15.15, excepto para el subestadio de M_{II} en el que se obtuvo un valor de 25.78 que corresponde a un catabolismo de proteínas y lípidos (Tabla 6; Fig. 6a).

La razón O:N de las larvas y postlarvas mantenidas con alimento combinado vivo (EB) fue muy variada, ya que para los subestadios de M_{II} , M_{III} y PL_2 los animales utilizaron principalmente como sustrato catabólico a las proteínas (O:N 2.68-7.57) y en los subestadios de PL_1 , PL_3 , PL_4 y PL_5 utilizaron como sustrato energético una mezcla de proteínas y lípidos (O:N 19.38-54.30; Tabla 6; Fig. 6b). Cabe señalar que en PL_4 utilizaron en igual proporción a la proteínas y a los lípidos.

Al mantener a las larvas y postlarvas con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia* (EB+M₁ y₂) el sustrato catabólico fue

fundamentalmente una mezcla de lípidos y proteínas con valores de O:N entre 72.1 a 198.38 y 69.5 a 299.47 respectivamente (Fig.8).

Tabla 7.- Promedio de la razón O:N (media \pm error estándar) para cada subestadio larval y postlarval de *P. setiferus* alimentadas con diferentes dietas. Los asteriscos señalan que no existe valor.

Alimento Vivo				
Estadio	Diatomeas		Flagelados	Artemia
MI	****	****	****	7.43 \pm 1.39
MI	9.39	\pm 1.33	10.01	\pm 1.44
MI	4.66	\pm 0.87	3.92	\pm 0.59
MI	17.38	\pm 2.56	32.59	\pm 4.95
PL1	18.29	\pm 2.71	17.01	\pm 2.82
PL2	****	****	10.62	\pm 2.53
PL3	3.17	\pm 1.29	7.98	\pm 1.15
PL4	7.04	\pm 1.84	14.64	\pm 2.33
PL5				23.19 \pm 3.68

Alimento Artificial				
Estadio	Microparticulado (M)			
MI	****	****		
MI	25.78	\pm 2.96		
MI	15.15	\pm 2.97		
PL1	11.98	\pm 1.75		
PL2	5.70	\pm 0.97		
PL3	14.65	\pm 1.34		
PL4	8.10	\pm 1.04		
PL5	8.16	\pm 1.42		

Alimento Combinado				
Estadio	Esquema Básico (EB)		EB + M (Complemento)	EB + M (Sustituto)
MI	2.68	\pm 0.61	****	****
MI	****	****	****	****
MI	4.26	\pm 0.76	72.1	\pm 11.18
PL1	21.28	\pm 3.27	90.05	\pm 16.94
PL2	7.57	\pm 0.99	124.44	\pm 24.75
PL3	32.62	\pm 6.09	****	****
PL4	54.30	\pm 10.14	198.38	\pm 23.99
PL5	19.38	\pm 2.26	136.16	\pm 25.59
				69.5
				5.05
				62.38
				12.94
				64.10
				14.33
				299.47
				73.88
				87.69
				11.11

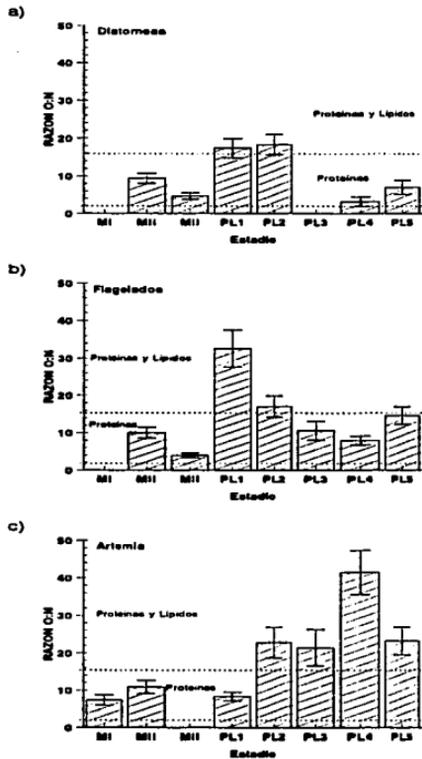


Fig. 5. Razon C:N de larvas y postlarvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento vivo (Diatomeas, Flagelados y Artemia). Valores promedio \pm error estándar.

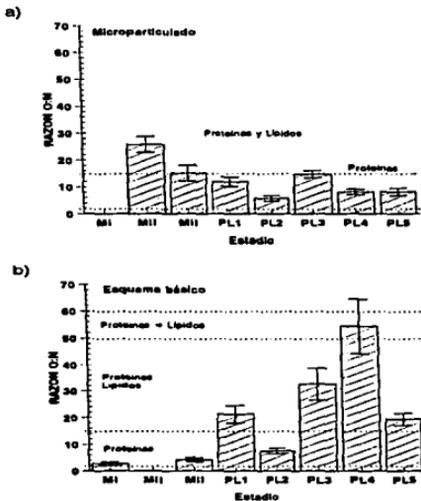


Fig. 6. Razón C:N de larvas y poslarvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento combinado vivo (EB) y alimento artificial (M). Valores promedio \pm error estándar.

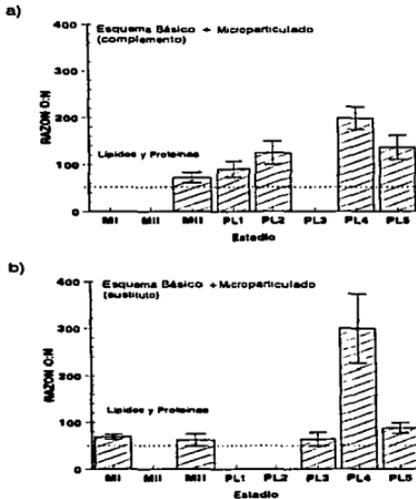


Fig. 7. Razón C:N de larvas y post-larvas de *P. setiferus* mantenidas con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de muestras de *Artemia* (EB+M + J). Valores promedio \pm error estándar.

DISCUSION

Los resultados obtenidos en la presente investigación, demuestran que es posible medir la razón O:N en larvas y primeras postlarvas de *Penaeus setiferus*. El método utilizado fue obtenido a partir de ensayos previos, el cual permitió establecer el protocolo experimental necesario para cuantificar la producción de amonio y el consumo de oxígeno en los diversos estadios larvales y de las postlarvas de *Penaeus setiferus*.

La densidad de larvas y postlarvas, la sobrevivencia, así como el tipo y la cantidad de alimento fueron controlados. En este sentido se propuso que para obtener resultados confiables de consumo de oxígeno y de excreción nitrogenada fue necesario utilizar cámaras de 50 ml selladas, colocadas en oscuridad total y con una densidad de 8 animales/cámara. El tiempo de cerrado fue dependiente del tipo de alimento a ensayar (Tabla 4). Con este método se observó que el coeficiente de variación para el consumo de oxígeno fue de 6.17 a 7.65% y para la excreción de amonio de 28.6 a 72%.

Consumo de oxígeno

En el presente estudio se observó que la tasa respiratoria se incrementó en relación con el desarrollo larval. Estudios previos han demostrado que el consumo de oxígeno aumenta conforme las larvas se desarrollan. Se ha observado que las mysis M_m de *P. setiferus* tienen una tasa metabólica 3 veces mayor que la observada en los subestadios de protozoa (Rosas *et al.*, 1995b).

Los actuales resultados, muestran que los valores mínimos de consumo de oxígeno bajo las diferentes condiciones de alimentación se presentaron en el subestadio de M_m principalmente, excepto cuando se proporcionó diatomeas. Los valores máximos fueron registrados en los subestadios de PL₃ a PL₅. Esto refleja la relación que existe entre el tamaño de los organismos y el consumo de oxígeno, ya que las postlarvas tienen un mayor tamaño que las mysis, lo cual se relaciona con las necesidades de oxígeno asociado con una biomasa mayor. Así como también, el decremento del consumo de oxígeno en el subestadio de mysis M_m , se relaciona con la última metamorfosis.

La tasa respiratoria también fue afectada por los diferentes tipos de alimento suministrado (Figura 1 y 2), observándose el máximo consumo de oxígeno cuando las larvas y postlarvas de *P. setiferus* fueron

alimentadas con nauplios de *Artemia*. Estas diferencias pueden estar asociadas con los costos energéticos involucrados en la captura del alimento. En este caso, es posible suponer que los nauplios de *Artemia* provocan un mayor consumo de oxígeno en las larvas y postlarvas, debido a que requieren de una mayor cantidad de energía para la captura y trituración de los mismos. Además los nauplios de *Artemia* pueden ser un factor de estrés para las larvas y postlarvas de camarón, si se considera que la *Artemia* compete por el espacio y por el alimento (Biedenbach *et al.*, 1989; Samocha *et al.*, 1989), lo cual podría explicar el aumento del consumo de oxígeno. En contraste, se observó que cuando los animales son mantenidos con alimento artificial (M), que tiene características nutricionales similares a la *Artemia* (Gallardo *et al.*, 1996), es posible obtener tasas respiratorias menores (Fig. 1). Esto podría significar que el alimento artificial (M) pudiera reducir los costos energéticos de alimentación y así favorecer el crecimiento de las larvas y postlarvas, debido a que reduce los costos asociados con su captura.

Excreción de amonio

Ikeda (1977) menciona que la tasa de excreción nitrogenada de diversas especies de zooplankton puede ser afectada por diferentes factores como son, el alimento, la temperatura y la calidad del agua, causando una sub-estimación de la tasa metabólica. Mullin *et al.*, (1975) mencionan que la tasa de excreción nitrogenada del zooplankton puede ser sobre-estimada debido al efecto que tienen sobre los niveles de amonio la presencia de organismos muertos. Así mismo Marshall (1973) señala que el estrés que se produce en el laboratorio y una alimentación inadecuada pueden ser factores que afectan el estado fisiológico del zooplankton y por ende modifican los valores de O:N.

En trabajos previos (Conover y Comer 1968; Mullin, 1969; Comer y Davies 1971; Marshall, 1973; Takahashi y Ikeda, 1975; Ikeda, 1977; Quetin, 1980), se menciona que la tasa de excreción nitrogenada para el zooplankton es muy difícil de medir e interpretar debido a la amplia diversidad de los métodos empleados y a las grandes fluctuaciones de los valores obtenidos. Estos autores señalan que el problema está en la variedad de estadios del ciclo de vida que se registran simultáneamente. Por tanto es un problema tratar de comparar los resultados aunado al hecho de que se han realizado bajo diferentes condiciones experimentales.

En el presente trabajo la tasa de excreción nitrogenada obtenida bajo las diferentes condiciones de alimentación mostró un comportamiento muy variable con respecto al estadio, con una tendencia a incrementar muy poco en relación al desarrollo larval cuando se les alimentó con microalgas (D, F), con alimento artificial (M) y con alimento combinado vivo más alimento artificial (EB+M_{ey}) y disminuyendo cuando se les alimentó con *Artemia* (A) y con alimento combinado vivo (EB). La máxima producción de amonio fue observada en las larvas y postlarvas alimentadas con nauplios de *Artemia* y con diatomeas y la mínima se observó con el alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia*.

Aunque en el presente estudio no se tiene una explicación satisfactoria para estos resultados, se puede suponer que este comportamiento está relacionado con la cantidad de aminoácidos presentes en cada tipo de alimento (Tabla 8); los cuales son utilizados como sustrato energético o por el contenido proteico de cada alimento. Por ejemplo: Leal *et al.* (1990) da una composición proteica para *Chaetoceros ceratosporum* de 0.0389 µg/ml extracto y para *Tetraselmis tetrahele* 0.0941 µg/ml extracto; Brown, (1991) menciona una composición proteica para *Chaetoceros gracilis* del 12 % de peso seco y para *Tetraselmis chui* del 31 % de peso seco; Rodríguez *et al.* (1994) menciona una composición proteica para *Chaetoceros gracilis* de 6.9 % de peso seco y para *Artemia sp* de 56.2 % de peso seco; Correa *et al.* (1993) registró una composición proteica para quistes de *Artemia franciscana* dentro de un intervalo de 52.76 a 68.59 % de peso seco, según el lugar de origen. La variabilidad de la composición bioquímica (proteica) de las microalgas es influenciada por la forma de cultivo y las condiciones físico-químicas de este (Leal *et al.*, 1990; Brown, 1991).

Como se puede observar, los nauplios de *Artemia* contienen una mayor proporción de aminoácidos y por lo tanto un mayor contenido proteico, los cuales posiblemente se están utilizando como sustrato energético (Correa-Sandoval *et al.*, 1993; Kuban *et al.*, 1985), lo que repercute en los niveles de excreción nitrogenada. El incremento de la excreción de amonio cuando se suministra como alimento a las diatomeas, - las cuales tienen un contenido proteico bajo y una composición aminoácídica menor a la que se presenta en las demás dietas -, posiblemente se deba a un estrés nutricional y están obteniendo su energía a partir del tejido corporal. El hecho de que la mínima excreción de amonio se presente en los alimentos combinados vivos con alimento artificial (EB+M_{ey})

posiblemente se deba a la eficiencia de asimilación que provocan las algas al combinarlas con otro alimento (microparticulado), ya que la actividad enzimática de la tripsina posiblemente acelera o mejora el proceso de la digestión provocando una asimilación del alimento con mayor eficiencia.

Tabla 8. Composición de aminoácidos (total de aminoácidos en porcentaje de peso seco) de *Chaetoceros ceratopurum*, *Tetraselmis chui* y *Artemia franciscana*.

Aminoácidos	<i>Chaetoceros gracilis</i>	<i>Tetraselmis chui</i>	<i>Artemia franciscana</i>
Esenciales			
Arginina	6.6	13.5	5.21
Histidina	2.4	1.8	3.84
Isoleucina	5.8	3.5	4.28
Leucina	7.2	7.5	7.96
Lysina	5.1	5.7	3.90
Methionina	2.4	1.9	0.98
Fenilalanina	7.1	5.4	4.06
Prolina	6.3	5.1	7.85
Threonina	5.9	4.2	4.12
Triptofan	1.6	1	-
Valina	6.2	5.8	5.71
No esenciales			
Alanina	6.9	6.8	9.06
Aspartato	8	9.4	10.43
Cystina	0.52	0.57	-
Glutamato	9.4	12.4	13.90
Glycina	5.1	5.9	5.87
Hydroxi-prolina	0.33	0.20	-
Ornitina	0.33	0.60	-
Serina	6.6	4.3	4.67
Tirosina	5.4	3.7	8.07
γ ac. aminobutírico	0.75	0.65	-

*Brown, M. R. (1991)

**Correa, S. F. (1993)

Razón O:N

La razón O:N ha sido utilizada para estimar la naturaleza del sustrato que es oxidado en crustáceos como fuente energética (Conover y Corner, 1968; Mayzaud, 1973; Ikeda, 1974; Regnault, M. 1981; Dall y Smith, 1986). La razón O:N se calcula a partir de la respiración y la excreción de amonio. Ikeda (1977) mostró marcadas diferencias en la razón O:N del zooplankton entre herbívoros alimentados (copépodos, mayor a 16) y carnívoros alimentados (amfípodos 7 a 19) proponiendo un metabolismo orientado hacia las proteínas en éstos últimos. Conover y Corner (1968) e Ikeda (1974) calcularon una razón O:N de proteínas de 8 para copépodos. Quetin (1980) calculó la razón O:N para 14 especies de crustáceos de aguas medias y obtuvo un intervalo con la mayor estimación entre 9 y 25, indicando que la razón O:N para invertebrados que viven en aguas someras es generalmente baja en comparación a las que viven en aguas profundas. Ross (1979) midió el consumo de oxígeno y la excreción de amonio por separado pero con periodos similares en peces y obtuvo una razón O:N de 8 y Jawed (1969) de 16.

En el presente estudio se observó que las larvas y postlarvas de *P.setiferus* en el estadio de mysis cuando se les mantuvo con alimento vivo (D, F, A), alimento artificial (M) y alimento combinado vivo (EB), utilizaron principalmente como sustrato energético a las proteínas excepto en el subestadio de M₄ cuando se mantuvieron con alimento artificial (M), cuando se utilizó el alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento o sustituto de nauplios de *Artemia* (EB+M₁,₂,₃) utilizaron fundamentalmente como sustrato catabólico una mezcla de lípidos y proteína.

En el caso del estadio postlarval se observó que al mantenerlas con alimento vivo (D y F) y alimento artificial (M) utilizaron como sustrato energético a las proteínas, excepto en el subestadio de PL₁ con flagelados, utilizando una mezcla de proteínas y lípidos. Al alimentarlas con *Artemia* y con el alimento combinado vivo (EB), el sustrato energético fue fundamentalmente una mezcla de proteínas y lípidos, excepto en PL₁ con *Artemia* y en PL₂ (EB) donde utilizaron a las proteínas. Cuando se mantuvieron con el alimento combinado vivo más el alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia* (EB+M₁,₂,₃) utilizaron como sustrato catabólico una mezcla fundamentalmente de lípidos y proteínas.

En términos generales los animales utilizaron principalmente como sustrato energético a las proteínas cuando se mantuvieron con diatomeas, flagelados (D, F) y microparticulado (M) en todo el desarrollo larval y postlarval; con *Artemia* (A) y alimento combinado vivo (EB) utilizaron como sustrato catabólico en el estadio de mysis a las proteínas y en el estadio postlarval una mezcla de proteínas y lípido y con el alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento o sustituto de nauplios *Artemia* (EB+M₁ y₁) utilizaron fundamentalmente una mezcla de lípidos y proteínas.

Estos cambios en el sustrato metabólico en el desarrollo, se pueden explicar con base en los trabajos realizados por Lovett y Felder (1990a, b) en larvas de *P. setiferus*. Estos autores observaron que la mayoría de los cambios ontogénicos en la morfología del intestino y la distribución de las enzimas digestivas ocurre entre P_{II}, estadio de mysis y primeros subestadios postlarvales. Un pico en la producción de enzimas digestivas se reportó entre P_{II} a M_I de larvas de varias especies de peneidos (Galgani and Benyamin, 1985; Lovett and Felder, 1990a). Este periodo del desarrollo coincide con el volumen máximo del divertículo anterior del intestino medio, el cual es el centro de liberación de enzimas durante el estadio de protozoa hasta que el hepatopáncreas se desarrolla completamente (Lovett and Felder 1990b) y coincide con el comienzo de una alimentación carnívora. La disminución de la actividad enzimática digestiva a partir de los estadios tempranos de mysis de las larvas de peneidos ha sido reportada como una adaptación a los cambios en los hábitos alimenticios (Loubier-Bonichon *et al.*, 1977) o como una consecuencia de regresión del divertículo anterior del intestino medio en el desarrollo ontogénico del aparato secretor digestivo (Lovett and Felder 1990 a, b, c).

Se podría suponer que el uso de un sustrato metabólico de proteínas en el estadio de mysis, está relacionado con la actividad proteolítica de las enzimas, las cuales tienen un pico entre P_{II} a M_I. Pudiera decirse que por los cambios ontogénicos en el aparato digestivo tienen poca capacidad de asimilar completamente a las proteínas. Esto hace suponer que la energía obtenida de los alimentos se está utilizando para todas las funciones del organismo y muy poco para crecer, tomando en cuenta que las proteínas son indispensables para crecer y aumentar la biomasa.

En el estadio postlarval cambian de hábitos alimenticios y por tanto ya es necesaria una dieta con proteína animal, además se está desarrollando el aparato digestivo y las enzimas digestivas se concentran en un solo punto, el hepatopáncreas. El hecho de que estén utilizando como sustrato

energético a las proteínas con microalgas hace suponer que las enzimas están actuando al máximo para poder obtener el máximo de energía de estos alimentos los cuales son pobres en contenido proteico y hace suponer también que no la están utilizando para crecer. Cuando se alimentan con *Artemia*, con alimento combinado vivo y con alimento combinado vivo más alimento artificial, no parece ser así, pues se observó un sustrato energético de proteínas y lípidos y de lípidos y proteínas.

Se ha estudiado la posibilidad de reemplazar parcial y/o totalmente la dieta convencional que consta de una combinación de algas y *Artemia* por dietas artificiales, como el microencapsulado o microparticulado. Kumlu y Jones (1995) mencionan que la mezcla de microalgas deshidratada y alimento microencapsulado estimula la actividad de la tripsina en todo el desarrollo larval en comparación con las que solo se alimentaron con alimento microencapsulado. Esta mezcla de algas con alimento microencapsulado dio como resultado una sobrevivencia del 85-92% similar a la que se obtiene con dietas vivas (91%). El polvo congelado de alga *Rhizomonas reticulata* incorporada a las microcapsulas inducen la actividad de tripsina en las larvas de igual forma que la que se produce con algas vivas. Diez cel/ μ l de algas vivas o congeladas como un co-factor, mejoran significativamente la actividad de la tripsina durante el estadio larval herbívoro y aceleran el crecimiento de larvas de *P. monodon* semejante a las larvas alimentadas con dietas vivas (Kumlu *et al.*, 1992; Amjad *et al.*, 1993).

En las especies de peneidos, la tripsina es la enzima digestiva dominante durante el desarrollo larval (Lovett y Felder 1990a ; Kamarudin, 1992). En general la actividad de la tripsina en larvas de peneidos alimentadas con alimento vivo presentan un pico al rededor de P_{II} - M_1 , declinando hacia PL_1 .

La actividad de la tripsina en *P. setiferus* cuando se alimentan con dieta viva es baja en protozoa P_1 aumentando en los siguientes subestadios herbívoros y alcanzando un pico en mysis M_1 . Esta actividad enzimática disminuye durante los siguientes subestadios hasta PL_1 (Laubier-Bonichon *et al.*, 1977; Lovett y Felder 1990a, b; Jones *et al.*, 1993). La actividad pico de todas las enzimas digestivas encontradas en las larvas de peneidos ocurre en la última protozoa y/o en los estadios tempranos de mysis con una lenta actividad durante los estadios postlarvales.

Kamarudin, 1992; Kumlu *et al.*, 1992; Le Vay *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1994, han visto que los niveles de la secreción de tripsina en larvas se eleva en presencia de un alga como co-factor particularmente durante los estadios de protozoa.

La alta actividad de tripsina en el estadio de mysis en larvas *P. japonicus* alimentadas solo con *C. gracilis* fue reportada por Le Vay *et al.*, (1993) como una respuesta al bajo contenido proteico de la dieta en adición a una posible estimulación directa de secreción por las algas. Similarmente la alta actividad de tripsina en respuesta al alimento artificial, puede ser debido a la poca disponibilidad de la proteína en la dieta debido a que es relativamente difícil para digerir.

Las larvas que reciben una dieta mixta, exhiben niveles en la actividad de tripsina intermedios. Esto sugiere que la ingestión de algas es necesaria para una óptima asimilación del zooplankton componente de la dieta (Rodríguez *et al.*, 1994).

Las algas contienen sustancias que aceleran la actividad enzimática y por ende una mejor digestión del alimento y de esta manera mejoran la sobrevivencia y el crecimiento de las larvas alimentadas con dietas artificiales (Amjad *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1993; Rodríguez *et al.*, 1994).

La acción de las algas proporciona una fácil digestibilidad de las proteínas o puede suministrar algún factor, no identificado el cual mejora la capacidad de las larvas para obtener sus requerimientos nutricionales para un óptimo crecimiento a partir de la dieta artificial (Le Vay *et al.*, 1993).

La respuesta de las larvas y postlarvas de un sustrato catabólico de lípidos y proteínas cuando se mantuvieron con alimento combinado vivo más alimento artificial (EB+M_{cy}), hace suponer, que en efecto, las algas funcionan como un co-factor para eficientizar la asimilación del alimento ingerido. En el caso del alimento artificial (M) que proporcionó como sustrato catabólico a las proteínas aunque tiene un contenido proteico similar a la *Artemia* hace suponer que es difícil de obtener sugiriendo que se dificulta la digestibilidad de éste alimento y que la retención de las proteínas se puede deber a la ausencia de la respuesta digestiva inducida por las algas que se considera como un co-factor.

En conclusión se puede decir que el éxito del alimento artificial puede igualarse al del alimento vivo (dieta convencional) si se utiliza con una baja densidad de algas.

CONCLUSIONES

- El método utilizado para determinar la tasa respiratoria y la de excreción nitrogenada de larvas y postlarvas de *P.seiferus* bajo diferentes condiciones de alimentación fue adecuado.
- La tasa respiratoria, en general se incrementó conforme los organismos se desarrollan. La mínima tasa respiratoria se determinó en el subestadio de M_{III} y la máxima en los últimos subestadios postlarvales; Así mismo el máximo consumo de oxígeno se obtuvo cuando se mantuvieron con *Artemia*.
- La tasa de excreción fue muy variable conforme al desarrollo de los organismos. La máxima producción de amonio se observó cuando se alimentaron con *Artemia* y diatomeas y la mínima cuando se mantuvieron con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia*.
- En términos generales las larvas utilizaron fundamentalmente como sustrato energético a las proteínas, cuando se mantuvieron con alimento vivo (D, F, A), alimento artificial (M) y alimento combinado vivo (EB); los estadios postlarvales utilizaron como sustrato energético una mezcla de proteínas y lípidos (A y EB). Cuando se mantuvieron con alimento combinado vivo más alimento artificial como complemento y sustituto de nauplios de *Artemia* utilizan una mezcla de lípidos y proteínas fundamentalmente en todo el desarrollo larval y postlarval.
- Los resultados de la razón O:N demuestran que la combinación del alimento combinado vivo (EB) en adición con el alimento artificial (M) optimiza la asimilación del alimento ingerido acelerando la digestión.

LITERATURA CITADA

- Alfonso, E. 1993. Larvicultura. In: *Manual del II curso internacional de producción de postlarvas de camarones penéidos del Atlántico de América*. México. CSE. UNAM. pp. 39-46.
- Aldrich, J. C. 1975. An improved method for the measurement of CO₂ in marine animals applied to three species of decapods. *Mar. Biol.* 29 :227-282.
- Amjad, S., Jones, D. A. and Chitravedivelu, K. 1993. Advance in penaeid larval feed technology. pp. 29-45. In: (Cheah, S.H. and Thalathiah, H.J.S. Eds) *Proceeding of seminar on new technologies in aquaculture*. Malaysia Fisheries Society, Serdan, Selangor. Malaysia.
- Anónimo. 1991. World Shrimp Farming 1989. *Aquaculture Digest*. 28 pp.
- Ansell, A. D. 1973. Changes in oxygen consumption, heart rate and ventilation accompanying starvation in the decapod crustacean *Cancer pagurus*. *Nrth. J. Sea. Rev.* 7:455-475.
- Bayne, B. L., R. J. Thompson and J. Windows. 1976. Physiology :pp. 121-206. 1-In B. L. Bayne (ed) : *Marine mussels ; their ecology and physiology*. *Int.Biol. Prog.* 10. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Beamish, F. W. H. y E. A. Tripple. 1990. Heat increment: A static or dynamic dimension in bioenergetic models. *Trans. of the Amer. Fish. Soc.* 119: 649-666
- Biedenbach, J. L., Smith, L. M. Thomson, T.K and Lawrence, A. L. 1989. Use of the nematode *Panagiellus redivivus* as an *Artemia* replacement in a larval penaeid diet. *J.World Aquacult. Soc.* 20: 61-71.
- Borsook, K. H. and H. M. Winegarden. 1931. The work of kidney in the production of urine. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 17: 13-28.
- Brett, J. R. 1964. The respiratory metabolism and swimming performance of young sockeye salmon. *Jour. Fish Res-Bd.Can.* 21: 1183-1226.
- Brown, Jr. A., Mc Vey, J., Middleditch, B. S. and A. L. Lawrence. 1979. Maturation of white shrimp (*Penaeus setiferus*) in captivity. *Proc. World Maricul. Soc.* 10(3): 435-444.
- Brown, M. R. 1991. The amino-acid and sugar composition of 16 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 145: 79-99.
- Campbell, J. W. 1991. Excretory nitrogen metabolism. In Prosser (ed). *Comparative Animal Physiology*. 4a. ed Willey- Liss. New York.

- Carefoot, T.H. 1987. The effect of diet quality on oxygen consumption in the supralittoral isopod *Ligia pallasii*. *Comp. Biochem. Physiol.* **87A**: 989-992.
- Claybrook, D.L. 1983. Nitrogen Metabolism. In: *The Biology of Crustacea*, 5: 163-213. (D.E. Biss ed.). New York Academic Press.
- Clifford III, H. C. and R. W. Brick. 1983. Nutritional physiology of the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii* (De Man)-I. Substrate metabolism in fasting juvenile shrimp. *Comp. Biochem. Physiol.* **74 A**(3): 561- 568.
- Conover, R. J. and E. D.S. Corner. 1968. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles. *Jour. Mar. Biol. Ass. U. K.* **48**: 49-75.
- Correa Sandoval, F., Buckle, R.L and Voltolina L. D. 1993. The biochemical composition of the cysts of some mexican populations of *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. *Comp. Biochem. Physiol.* **104b** (1): 163-167.
- Dall, W. and D.M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawn *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture* **55**: 23-33.
- De la Lanza-Espino G. y J. L. Arredondo. 1990. *La Acuicultura en México: de los conceptos a la producción*. Instituto de Biología, UNAM. México. 316 pp.
- Du-Freuz, H. H., H. Y. Chen y C. S. Hsieh. 1992. Apparent specific dynamic action of food in the grass shrimp *Penaeus monodon* fabricius. *Com. Biochem. Physiol.* **103A**: 173-178.
- Duncan, A. and R. Z. Klekowsky. 1975. Parameters of an energy budget. pp. 97-147. In: Grodzinski, W., R. Z. Klekowsky and A. Duncan (Eds). *Methods for Ecological Bioenergetics*. I.B.P. No. 24, Black well. Ser. Pub. Oxford.
- Emmerson, W. D. 1984. Predation and energetics of *Penaeus indicus* (Decapoda: Penaeidae) larvae feeding on *Brachionus plicatilis* and *Artemia nauplii*. *Aquaculture* **38**: 201-209.
- FAO. 1992. *Aquaculture production 1985-1991*. FAO. Fisheries circular. Roma. Italia. 213pp.
- Galgani, F. G., Y. Benyamin. 1985. Radioimmunoassay of shrimp trypsin: application to the larval development of *Penaeus japonicus* Bate. 1888. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **87**: 145-151.
- Gallardo, P., E. Alfonso., G. Gaxiola., L.A. Soto., and C. Rosas. 1995. Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia nauplii*. *Aquaculture* **131**: 239-252.

Gallardo, P., Rosas, C., Sánchez, A., Gaxiola, G., Pascual, C., Pedroza, R., García, T. and Soto, L. A. 1996. Substitution of microparticles for *Artemia nauplii* for *Penaeus setiferus* larvae. *Aquaculture Nutrition*. In press.

Guillard, R. R. L. 1983. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp. 108-132 In Berg, C. D. (ed.) *Culture of marine invertebrates*. Hutchinson Ros Publishing COUSA.

Harris, E. 1959. The nitrogen cycle in Long Island Sound. *Bull. Bingham Oceanogr. Collect.* 17: 31-65.

Hatcher, A. 1991. The use of metabolic ratios for determining the catabolic substrates of a solitary ascidian. *Mar. Biol.* 108: 433-440.

Hochachka, P. W. 1991. Design of energy metabolism. In C. L. Prosser (ed). *Comparative Animal Physiology*. 4a de. Wiley- Liss, New York.

Ikeda, T. 1974. Nutritional ecology of marine zooplankton: *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 22: 197.

Ikeda, T. 1977. The effect of laboratory conditions on the extrapolation of experimental measurements to the ecology of marine zooplankton. IV. Changes in respiration and excretion rate of boreal zooplankton species maintained under fed and starved conditions. *Mar. Biol.* 41: 241-252.

Jacobi, C. C. and Anger, R. 1985. Effect of temperature and respiration of larval stages of *Hyas arenaeus* an *Hyas coarctatus* (Decapoda, Majidae). *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 26: 181-186.

Jawed, M. 1969. Body nitrogen and nitrogenous excretion in *Neomysis rayii* and *Euphausia pacifica*. *Limno. Oceanogr.* 14: 748-754.

Jones, D.A., Kanazawa, A., Rahman, S. A. 1979b. Studies on the presentation of artificial diets for the rearing of larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture. Amsterdam.* 17: 33-43.

Jones, D. A., M. S. Kamarudin and L. Le Vay. 1993. The potential for replacement of live feeds in larval culture. *Journal of the World Aquaculture Society* 24 (2): 199-210.

Kamarudin, M. S. 1992. *Studies on the digestive physiology of crustacean larvae*. Doctoral thesis. University of Wales, Bangor, United Kingdom.

Krebs, H.A. 1964. The metabolic rate of amino acid. In H. Munro y J.B. Allison. *Mammalian Protein Metabolism*. Academic Press 1: 125-176.

- Kuban, F. D., Lawrence, A. L. and Wilkenfeld, J. S. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four *Penaeus* species fed six food combinations. *Aquaculture*. 47: 151-162.
- Kumlu, M., E. Sarihan and N. Tekelioglu. 1992. Trypsin activity in larvae of *Penaeus monodon* Fabricius, 1789 (Crustacea; Decapoda; Penaeidae) in relation to their diet. *The Israeli Journal of Aquaculture, Bemidgheh*. 44 (4): 103.110.
- Kumlu, M. and Jones, D. A. 1995. The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. *Jour. of the World Aquaculture Soc.* 26(4): 406-415.
- Laubier-Bonichon, A., Van Wourmhoudt, A., Sellos, D. 1977. Coissance larvaire contrôlée de *Penaeus japonicus* Bate enzymes digestives et changement de régimes alimentaires. *Publs Cent. nant. Exploit Océans (CNEXO) Sér. Act. Coleques* 4: 131-145.
- Leal, S., Diaz, R. y Garcia, E. 1990. Composición bioquímica de cuatro especies de microalgas marinas en cultivo. *Revista de Investigaciones Marinas*. XII (3):261-264.
- Le Vay, L., Rodríguez, A., Kamarudin, M. S. y Jones, D. A. 1993. Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus japonicus* larvae. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam. *Aquaculture* 118:287-297.
- Lovett, D. L. and D. L. Felder. 1989. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). *J. Morphol.* 201: 253-272.
- Lovett, D. L. and D. L. Felder. 1990a. Ontogeny of kinematics in the gut of the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda: Penaeidae). *J. Crust. Biol.* 10 (1): 53-68.
- Lovett, D. L. and D. L. Felder. 1990b. 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. and Felder, D. L. 1990c. Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178: 160-174.
- Martínez C. L. R. 1993. *Camaronicultura: Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones penidos*. AGT. Editores S.A. 233 pp.
- Marshall, S.M. 1973. Respiration and feeding in copepods. *Adv. Mar. Biol.* 11: 57-120.
- Mayzaud, P. 1973. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton II Studies of the metabolic characteristics of starved animals. *Mar. Biol.* 21: 19-28.

- Mayzaud, P. and R.J. Conover. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 45: 289-302.
- Mullin, M. M. 1969. Production of zooplankton in the ocean : the present status and problems . *Oceanogr. Mar Biol. A. Rev.* 7: 293-314.
- Mullin, M. M., M.J. Perry, E.H. Renger and P.M. Evans. 1975. Nutrient regeneration by oceanic zooplankton: a comparison of methods. *Mar. Sci. Comm.* 1: 1-13.
- Newell, R. C. 1973. Factors affecting the respiration of intertidal invertebrates. *Am. Zool.* 13: 513-528.
- Perez, F. I. 1969. Western Atlantic shrimp of the genus *Penaeus*. *Fish. Bull.* 67 (3): 461-591.
- Quetin, L. B., R. M. Ross, and K. Uchio. 1980. Metabolic characteristics of midwater zooplankton : ammonia excretion, O:N ratios and the effect of starvation. *Mar. Biol.* 59: 201-209.
- Regnault, M. 1981. Respiration and ammonia excretion of the shrimp *Crangon crangon* (L): metabolism response to prolonged starvation. *J. Comp. Physiol.* 141: 549-555.
- Rodriguez, 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., A. Sanchez, L.A. Soto, E. Escobar., and A. Bolongaro. 1992. Oxygen consumption and metabolic amplitude of decapod crustaceans from the northwest continental shelf of Gulf of México. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A (3): 491-496.
- Rosas, C., A. Sánchez, E. Escobar, L. A. Soto y B. Cervantes. 1992. Daily variations of oxygen consumption and glucose hemolymph level related to morphophysiological and ecological adaptations of crustacea. *Comp. Biochem. Physiol.* 101A(2): 323-328.
- Rosas, C., C. Vanegas., Y. Tabares and J. Ramirez. 1993a. Energy balance of *Callinectes rathbunae* (Contreras 1930) floating cages in a tropical Coastal Lagoon. *J. of the World Aquac. Soc.* 24 (1).
- Rosas, C., Sánchez, A., Diaz- Iglesia E., Soto L., Gaxiola, G., Brito, Baes, M and 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 level on substrate metabolism. *Aquat. Liv. Res.*, 8: 161-169.

Rosas, C., A. Sánchez, J. Quiroz, G. Gaxiola, E. D. Iglesias, L. A. Soto. 1995. Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia nauplii*. *Aquaculture Nutrition*. 1: 13-20.

Rosenberry, R. 1992. *World Shrimp Farming*. Aquaculture Digest, San Diego, Cal. 69 pp.

Samochoa, T. M., Uziel, N. and Browdy, C. L. 1989. The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and rotifers, *Brachionus plicatilis* (Muller), upon survival and growth of larval marine shrimp *Penaeus semisulcatus*. (de Haan). *Aquaculture*. 77: 11-19.

Sandifer, P. A., J. S. Hopkins, A. D. Stokes, C. L. Browdy. 1993. Preliminary comparisons of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *P. vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, U.S.A. *J. World Aquacult. Soc.* 24(3): 295-303.

Snow, N.B., P. Williams and P. J. LeB. 1971. A simple method to determine the O:N ratio of small marine animals. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 51: 105-109.

Taboada, G., Gaxiola, G., García, T., Pedroza, R., Sánchez, A., Soto, L. A. and Rosas, C. 1996. Oxygen consumption and ammonia-N excretion related to protein requirement for growth of *Penaeus setiferus* juveniles. En prensa

Takahashi, M. and Ikeda, T. 1975. Excretion of ammonia and inorganic phosphorus by *Euphausia pacifica* and *Metridia pacifica* at different concentrations of phytoplankton. *J. Fish. Res. Bd Can.* 32: 2189-2195.

Thompson, R. L. and Bayne. 1972. Active metabolics associated with feeding in the mussel *Mytilus edulis*. *L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* pp. 111-124.

Wallace, J. H. 1973. Feeding starvation and metabolic rate in the shore crab *Carcinus maenas*. *Mar. Biol.* 20: 277-281.

Widdows. 1973. Effect of temperature and food on the heat, ventilation rate and oxygen uptake of *Mytilus edulis*. *Mar. Biol.* 20: 269-276.

Zar, J. H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2a ed. Prentice Hall, Englewood, Cliff, New Jersey. 500 pp.