



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**“SUSTITUCIÓN PARCIAL Y TOTAL DEL ALIMENTO
VIVO POR UN ALIMENTO MICROENCAPSULADO
CON 65% DE PROTEÍNA EN LAS MYSIS DEL
CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO
Litopenaeus vannamei (Bonne, 1931)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A :

NEREIDA NÚÑEZ ALVAREZ



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. MARTHA GABRIELA GAXIOLA CORTÉS

2005



m343028



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Sustitución parcial y total del alimento vivo por un alimento microencapsulado con 65% de proteína en las mysis del camarón blanco del pacífico Litopenaeus vannamei (Bonne, 1931)."

realizado por Núñez Alvarez Nereida

con número de cuenta 09216944-7 , quien cubrió los créditos de la carrera de: Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés

Propietario Mvz. Marcela Fragoso Cervon

Propietario Dr. Rene de Jesus Cárdenas Vázquez

Suplente Dr. Carlos Rosas Vázquez

Suplente M. en C. Pedro Pablo Gallardo Espinoza

[Handwritten signatures: M. Aguilár González, Nereida Alvarez, Rene de Jesus Cárdenas Vázquez, Carlos Rosas Vázquez, Pedro Pablo Gallardo Espinoza]

Consejo Departamental de Biología

[Handwritten signature of Juan Manuel Rodríguez Chávez]
M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA
DE BIOLOGÍA

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental, Facultad de Ciencias, U.N.A.M. con Sede en Ciudad del Carmen, Campeche con el apoyo financiero del proyecto CONACYT 38193-B y el proyecto DGAPAIN-231599 bajo la dirección de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés (UNAM). Se agradece su participación en el proyecto a la Bióloga Gabriela Palomino (Técnico Académico Asociado "C" TC), por proporcionar el alimento vivo y I. A. Adriana Paredes (Técnico Académico Asociado "C" TC), por su conocimiento en cría larvaria.

A LA MEMORIA DE JUAN CARLOS
NÚÑEZ ALVAREZ

AGRADECIMIENTOS

A Jehová que es mi fortaleza y mi escudo.

A mis padres María del Carmen Alvarez Castilleja por tu amor y apoyo incondicional y Jorge Ignacio Núñez Martínez por ser quien eres.

A mis hermanos Penélope, Juan Carlos, Jorge Ignacio y Ángel Geovanny por su entusiasmo en toda una vida compartida.

A mi sobrino Oscar por su cariño y mi cuñado Eduardo por su apoyo.

A José Luis Mendoza por apapachar mi vida al brindarme su amor, comprensión y apoyo incondicional

A mi jurado: Mvz. Marcela Fragoso Cervon, Dr. Rene de Jesús Cárdenas Vázquez, Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés, Dr. Carlos Rosas Vázquez y al M. en C. Pedro Gallardo Espinosa por la revisión de este documento y sus comentarios.

A Gaby Gaxiola por su amistad y apoyo para la realización de esta tesis, así como el permitirme ser integrante del equipo de trabajo en el Laboratorio de Ciudad del Carmen.

A Carlos Rosas por su apoyo incondicional y por ser uno de los fundadores del Laboratorio.

A Gemma, Angélica, Josefina, Paloma, Adriana, Miguel, Kike, Vianey, Vicky, Nelda, Ariadna, y Gabriel por su amistad y apoyo incondicional durante mi estancia en Ciudad del Carmen.

A todos los integrantes del Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental.

Al Matemático Á. Antonio Romero, al Dr. Fernando y al CP. Humberto por su apoyo.

A mis amistades de antaño Gaby, Rosa, Lorena, a la Pandilla del CCHOTE (las Lidias, Judith, Nancy, Dora, Elena, Marisol, Marisela, Yazmín y Gaby), a los integrantes de la Banda: Ame, Carlitos, Carlos, Chucho, Daniel, Gaston, Giovas, Justi, Mayra, Michelle, Paco, Pancho, Pas, Sebas, Vero. A las peques Jaquelin, Citlalli, Judith y Etel, a los CICEANOS Paty, Cinthia, Ángel, Sebe, Aida, Carlos, Paty Herdez, Normita, Ady, Norma, Gabriel y José Luis.....a todos ustedes por las aventuras que vivimosGracias

RESUMEN

En el cultivo de camarones peneidos se utiliza el alimento vivo el cual se encuentra constituido de microalgas que se manejan siempre en combinación, un flagelado con una diatomea, el cual se empieza a suministrar desde la primera Protozoa, y al comenzar el subestadio de Mysis se incluye alguna proteína animal en donde se emplean principalmente los nauplios de *Artemia*. En la utilización de las microalgas y *Artemia* se incluye toda una serie de dificultades que bien se pueden evitar con el uso de alimentos artificiales como los microencapsulados que generan toda una gama de ventajas que más adelante se darán a conocer. Por ello el presente trabajo tuvo como finalidad la utilización de la microcápsula con 65 % de proteína en sustitución de los nauplios de *Artemia* y de microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*), en el esquema de alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. La evaluación de la microcápsula con 65 % de proteína se hizo a través del crecimiento, índice de desarrollo, supervivencia, consumo de oxígeno, tasa de ingestión, índice de calidad así como la actividad enzimática de Proteasas (Proteasa Totales, Quimotripsina y Tripsina), Carbohidrasas (α -Amilasa y α -Glucosidasa) y concentración de Metabolitos (Proteínas, Colesterol y Acilglicéridos). A través de un diseño experimental totalmente al azar con 3 tratamientos y 5 repeticiones por tratamiento en donde A fue el alimento vivo: microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) con *Artemia*, B es la microcápsula CPSP 65 % de proteína acompañada de microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*), y C es la microcápsula con 65 % de proteína. Los resultados obtenidos en el presente trabajo señalan incrementos de crecimiento en peso similares, A:12.15 $\mu\text{g}/\text{día}$, B:10.18 $\mu\text{g}/\text{día}$ y C:9.64 $\mu\text{g}/\text{día}$, al igual que el índice de desarrollo, A:7 \pm 0, B:7 \pm 0 y C:7 \pm 0, el índice de calidad A:97.6 %, B:98.8 % C:99.8 %, con diferencias significativas en el crecimiento en longitud en los tres tratamientos A:10.3 $\mu/\text{día}$, B:9.5 $\mu/\text{día}$ y C:7.7 $\mu/\text{día}$, y la supervivencia de las Mysis del tratamiento C fue muy baja 29 %. Se visualizó un efecto secretagogo en las larvas de *L. vannamei* que es influenciado por el CPSP que incluyó microalgas en la actividad de la tripsina y la α -amilasa. Además de proporcionar nutrientes que aportaron una buena concentración tanto lipídica como proteínica.

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	5
2.1. Objetivo General	5
2.2. Objetivos Particulares	5
3. HIPÓTESIS	5
4. ANTECEDENTES	6
4.1. Biología de <i>Litopenaeus vannamei</i>	12
4.2. Distribución Geográfica	13
4.3. Ciclo de Vida de <i>Litopenaeus vannamei</i>	13
4.4. Ontogenia del Aparato Digestivo	16
5. MATERIALES Y MÉTODOS	17
5.1. Origen de las larvas y condiciones de siembra	17
5.2. Diseño Experimental	17
5.3. Dispositivo Experimental	18
5.4. Respuestas Evaluadas	19
5.5. Dieta Experimental	19
5.6. Frecuencia de Alimentación	21
5.7. Ajuste de Alimento	21
5.8. Parámetros Físicoquímicos	22
6. ANÁLISIS DE RESULTADOS	22
6.1. Respuestas Zootécnicas	22
6.1.1. Crecimiento en Longitud	22
6.1.2. Crecimiento en Peso	23
6.1.3. Índice de Desarrollo	23
6.1.4. Supervivencia	24

6.2. RESPUESTAS FISIOLÓGICAS	24
6.2.1. Índice de Calidad	24
6.2.2. Tasa Respiratoria	24
6.2.3. Tasa de Ingestión	25
6.3. RESPUESTAS BIQUÍMICAS	26
6.3.1. Preparación de los Homogenados	26
6.3.2. Proteína Soluble	26
7. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	27
7.1. Proteasas	27
7.2. Carbohidrasas	27
7.3. Metabolitos	28
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	28
9. RESULTADOS	29
9.1. Respuestas Zootécnicas	29
9.2. Respuestas Fisiológicas	34
9.3. Respuestas Bioquímicas	38
10. DISCUSIÓN	58
11. CONCLUSIONES	75
12. ANEXOS	77
13. LISTA DE REFERENCIAS	79

1. INTRODUCCIÓN

En nuestros días, uno de los recursos pesqueros más importantes es el camarón por su gran valor económico, motivo por el cual tiene gran demanda en el mercado nacional e internacional (Sáenz, 1987). Por lo tanto, la camaronicultura se ha constituido como una industria relevante en respuesta al incremento de la demanda de camarón en el mundo (Martínez, 1993).

Uno de los puntos críticos de la camaronicultura es el suministro adecuado de postlarvas, las cuales se producen en laboratorios especializados. Dentro de los factores biotecnológicos que intervienen en esta operación, la alimentación y las enfermedades son las más importantes, ya que ello afecta la supervivencia de las postlarvas. Una alternativa para evitar enfermedades es la de utilizar alimentos de alta calidad que mantengan un ambiente saludable en el tanque de cultivo larvario, reduzcan el riesgo de enfermedades y que permitan disminuir los costos del alimento vivo. (Pedroza-Islas, 2000).

Se ha observado que las larvas de camarones peneidos obtienen su alimento filtrando las microalgas presentes en la columna de agua en los estadios de Protozoa y posteriormente capturan zooplancton en los estadios de Mysis y postlarva (Kumlu & Jones, 1995). Para la producción de postlarvas se utiliza de manera general la combinación de una diatomea y un flagelado (*Chaetoceros sp*, *Tetraselmis sp*, *Isochrysis sp.*) durante las primeras fases larvales, complementando su alimentación con el uso de una fuente nutricional de origen animal a partir del subestadio de PZ_{III}. Esta combinación de alimento favorece la obtención de postlarvas de alta calidad al final de la cría larvaria (Alfonso et al., 1993; Gallardo, 1994, 2000).

El cultivo de alimento vivo requiere de mano de obra excesiva y equipos costosos e involucra fluctuaciones en su calidad. Por esta razón es necesario producir alimentos artificiales que ayuden a reducir los costos y a mantener más estable la calidad del alimento. (Teshima et al., 1982). Asimismo se ha señalado que las dietas para larvas deben ser partículas pequeñas (5 – 300 μm de diámetro) adecuadas para cada subestadio del desarrollo y estables en la columna de agua durante un tiempo necesario

hasta ser consumidas por las larvas, con ingredientes bien balanceados que además puedan ser digeridos en el tracto digestivo de los organismos.

Bautista et al., (1989) mencionan que el reemplazo del alimento vivo en el cultivo de larvas de camarón por dietas artificiales puede ayudar en gran medida a resolver los problemas que limitan la producción de postlarvas de alta calidad. En este sentido, el uso de dietas artificiales simplifica el nivel técnico requerido en la operación y manejo del cultivo, asegura que los requerimientos nutricionales de las larvas sean satisfechos al poder utilizar dietas que contengan los niveles de los nutrientes según los requerimientos de cada especie, así como también, se reducen los niveles de contaminación provocados por organismos muertos (microalgas y nauplios de *Artemia*) y además de la excreción amoniacal de los nauplios de *Artemia* cuando empiezan a ingerir alimento en los tanques de cría, y enfermedades de los organismos. Estos elementos en su conjunto disminuyen los costos de producción.

En los últimos años, numerosas investigaciones se han realizado en la búsqueda de dietas que satisfagan los requerimientos nutricionales de un gran número de especies de camarones peneidos durante el desarrollo larval (Bautista et al., 1989). La investigación tecnológica para la elaboración de alimentos balanceados de alta calidad para la larvicultura, ha dado como resultado la aparición de dietas artificiales, microparticuladas, microligadas y microencapsuladas, todas con un gran potencial de uso, siempre y cuando cumplan con las características de aceptabilidad, digestibilidad, tamaño adecuado de partícula y con buena estabilidad en el sistema acuoso (Pedroza-Islas, 2000).

Actualmente, los estudios sobre requerimientos nutritivos de crustáceos como el camarón se han desarrollado por el incremento del cultivo de este organismo en el ámbito comercial. La calidad y cantidad de los nutrientes involucrados en las dietas para organismos acuáticos repercuten en el crecimiento, reproducción y salud de los organismos y como consecuencia en la supervivencia. (Espinoza & Labarta, 1987).

En este sentido, el requerimiento óptimo de un nutriente está definido como la cantidad mínima del mismo que produce el máximo crecimiento (Tacon, 1990). El requerimiento de cualquier nutriente se obtiene con experimentos de alimentación usando dietas artificiales, aun que los resultados obtenidos no siempre pueden aplicarse a todas las especies

cultivadas, pues existen diferencias notables en cuanto a las necesidades nutritivas entre especies (De la Higuera, 1990) e inclusive entre los diferentes estadios de una misma especie (Jones et al., 1997). La información disponible sobre requerimientos nutritivos en larvas de camarón es escasa y ha sido generada solamente para *Marsupenaeus japonicus* y *Penaeus monodon* (Kanazawa, 1987) y *Litopenaeus vannamei* (Durruty, 2001).

Se ha observado que el requerimiento de proteína en los organismos depende de la proporción de aminoácidos esenciales (Deshimaru & Kuroki, 1974; Deshimaru & Yone, 1978), y de la edad o estado fisiológico del organismo (Kanazawa & Teshima, 1981; Kanazawa, 1984). A diferencia de los animales terrestres criados en cautiverio, tanto los peces, como los camarones presentan un requerimiento de proteína más elevado, debido a sus hábitos alimenticios y al uso de esta con fines energéticos. Para estos organismos es más metabolizable la energía desde el catabolismo de las proteínas que desde los carbohidratos (Tacon, 1990; Rosas et al., 1997).

Por lo general, con la ingestión del alimento, las larvas adquieren energía que es almacenada y transformada de acuerdo a su uso. En el caso de los camarones, parte de esa energía se emplea en el desarrollo, el crecimiento, en la muda y en la tasa metabólica (estimada por el consumo de oxígeno) (Kurmaly et al., 1989). Así el consumo de oxígeno, es un reflejo del gasto metabólico del animal (Kurmaly et al., 1989; Rosas et al., 1995).

Los alimentos artificiales representan una alternativa para la nutrición acuícola en peces, bivalvos y crustáceos. La calidad de los mismos dependerá de las características nutrimentales que presente. Además de ser prácticas en el suministro, son sencillas de producir, y a la hora de realizar la formulación se pueden ajustar los requerimientos específicos de las diferentes especies de camarones. Con base en lo anterior se pueden crear una infinidad de dietas artificiales, en laboratorios y a escalas comerciales, mediante la utilización de diferentes procesos y técnicas. Estos alimentos artificiales microparticulados y microencapsulados pueden actuar como sustituto parcial y total del alimento vivo para las especies marinas con importancia económica, como el camarón (Shaid & Jones, 1992). Como ya se mencionó los estudios en nutrición y la actividad

enzimática del camarón permiten la formulación de alimentos artificiales para los diferentes estadios larvales de Peneidos con importancia comercial como *L. vannamei*.

El propósito del presente trabajo fue evaluar el efecto sobre el crecimiento, desarrollo, sobrevivencia y estado fisiológico de las larvas Mysis de *L. vannamei* sometidas a una dieta microencapsulada conteniendo un hidrolizado proteico (CPSP 90 % = Concentrado Proteico con 90 % Proteína), con un tamaño de partícula de 26 µm, como sustituta parcial y total del alimento vivo (*Artemia* y microalgas).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto del uso de una dieta microencapsulada con 65% de proteína como sustituto de nauplios de *Artemia* en el metabolismo, la tasa de ingestión, y el estado fisiológico general de larvas en etapa de Mysis de *Litopenaeus vannamei*.

2.2. Objetivos Particulares

Evaluar el efecto de la dieta microencapsulada en el crecimiento (longitud y peso), índice de desarrollo y supervivencia de Mysis del camarón *Litopenaeus vannamei*.

Conocer el efecto de la dieta microencapsulada sobre el consumo de oxígeno, índice de calidad y la tasa de ingestión de Mysis del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

Determinar la capacidad digestiva a través de la medición de la actividad de las enzimas digestivas (**Proteasas:** Proteasas Totales, Quimotripsina y Tripsina; y **Carbohidrasas:** α -Glucosidasa y α -Amilasa), en las Mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microcápsulas y alimento vivo.

Determinar la concentración de **Metabolitos** (Proteína Soluble, Colesterol y Acilglicéridos), en las Mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con microcápsulas y alimento vivo.

3. HIPÓTESIS

Si la microcápsula con 65% de proteína, y con un tamaño de partícula de 26 μm cumple con los requerimientos nutricionales para satisfacer las necesidades de crecimiento, desarrollo y supervivencia para las Mysis del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, entonces se podrá hacer una sustitución parcial (microalgas) y/o total (*Artemia* y microalgas), manteniendo una actividad digestiva y fisiológica similar a las larvas alimentadas con el alimento vivo.

4. ANTECEDENTES

Las microalgas se utilizan en acuicultura como alimento de animales filtradores y especialmente larvas de moluscos, crustáceos y peces. La presencia de microalgas durante las fases larvarias tiene la ventaja de ayudar a mantener la calidad del agua, debido al consumo de amonio y la producción de oxígeno. Por otra parte una gran cantidad de microalgas, puede llegar a ocasionar efectos negativos, ya que las microalgas no digeridas, tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis en el intestino de las larvas, provocando burbujas de oxígeno que son mortales en este caso (Orozco & Salaces, 1992).

Numerosas investigaciones han demostrado que las especies de microalgas con mayor éxito en la acuicultura son de origen marino que presentan dentro de su perfil nutrimental además de proteínas ácidos grasos de cadena larga. Dentro de los géneros más utilizados se mencionan los siguientes: *Chaetoceros*, *Thalassiosira*, *Shletonema*, *Tetraselmis* y *Chlorella* (Tobías et al., 1982, Leal et al., 1985, Alfonso et al., 1985, Kuban et al., 1985, Alfonso et al., 1986, Gelabert et al., 1987, Biendebach et al., 1989, Lovett & Felder, 1990, Gallardo, 1994, Rosas et al., 1995).

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

El uso de *Artemia* tiene las desventajas de un alto costo y variaciones ocasionales en la calidad (Jones et al., 1984; Villamar & Brusca, 1987; Mourente & Rodríguez, 1997). No obstante, debe de mencionarse que hay varios informes que señalan que cuando se alimentan las larvas con dietas deficientes de *Artemia* hay una reducción en la supervivencia y / o en la tasa de crecimiento (Villamar & Brusca, 1987). Como alternativa económica, se han ensayado en la producción comercial los rotíferos (Villegas &

Kanazawa, 1980) y actualmente, la tendencia es hacia la búsqueda de sustitutos de alimentos vivos por alimentos inertes tales como dietas artificiales microparticuladas o microencapsuladas (Flores, 1988; Kanazawa & Teshima, 1988; Sorgeloos & Léger, 1992; Muir & Sutton, 1994; Jones, 1995; Gallardo et al., 2002; Pedroza et al., 2004).

Las partículas artificiales son aceptables por una amplia variedad de organismos marinos. Sin embargo, las dietas suministradas como partículas divididas finamente, por ejemplo de huevo cocido o pescado, invariablemente se dispersan en el medio acuoso pudiendo provocar la contaminación bacteriana. Entonces, surgen como una opción los alimentos microencapsulados a partir de una tecnología desarrollada por primera vez en el Reino Unido (Gardner, 1966). Sin embargo, la situación no ha sido sencilla, sobre todo si se considera que la pared que conforma la microcápsula, debe de ser lo suficientemente delgada para asegurar que en el trayecto del alimento por el tubo digestivo de la Protozoa, el cual dura de 7 a 12 minutos, éste sea aprovechado (Pedroza-Islas, 2000).

Entre Protozoas y Mysis, no sólo hay diferencias en sus hábitos alimenticios, sino también en la morfología y funcionamiento del aparato digestivo, aun que éste sea muy simple (Lovett & Felder, 1989). Las Protozoas presentan una baja eficiencia de asimilación y un corto tiempo de gastroevacuación (alrededor de 15 minutos) por lo que necesitan una suficiente producción de enzimas (Jones et al., 1997). Las Mysis, en cambio, desarrollan fuertemente los dientes de la porción gástrica, lo que les permite ser más carnívoras; en comparación con las Protozoas, retienen más el alimento y asimilan un alto porcentaje de energía de sus presas (Kumlu et al., 1996).

Jones et al., (1979) produjeron dietas microencapsuladas y microparticuladas utilizando, para la microencapsulación la polimerización interfacial, teniendo mucho cuidado de eliminar todos los materiales tóxicos de las microcápsulas, enjuagándolas perfectamente con agua. Estos autores experimentaron con larvas de *Marsupenaeus japonicus* y encontraron que podría lograrse una supervivencia de hasta 68 %. Evaluaron diferentes tamaños de microcápsulas informando que para el estado de Protozoa, 10 micrómetros era el adecuado, mientras que para Mysis podría tenerse un tamaño mayor (28 μ m).

La microencapsulación puede considerarse como una forma de envolver el material microscópico de una manera individual para así generar una barrera protectora contra el

deterioro por el efecto del oxígeno y otros gases, control de la absorción de humedad, manejo de materiales sólidos y líquidos, control sobre la liberación del material microencapsulado y protección contra la contaminación microbiana, para su posterior liberación bajo condiciones controladas (Pedroza-Islas, 2000).

El secado por aspersión o atomización es uno de los métodos más utilizados actualmente para microencapsular. Su principio es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente en una cámara de secado donde el agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión quede atrapado dentro de una película de material encapsulante, frecuentemente se utilizan biopolímeros de varias fuentes de gomas naturales (gomas arábica, goma de mezquite, carrágenos) (Pedroza-Islas, 2000), proteínas (proteínas de suero de leche), almidones modificados (maltodextrinas) y sus mezclas (Sheu & Rosenberg, 1995, 1998).

Lagdon et al., (1985) mencionan los criterios que las dietas deben de cubrir, las cuales son: 1) aceptabilidad, es decir, las partículas deben de tener el tamaño adecuado, disponibilidad en el agua a una densidad similar a la de los alimentos vivos e ingeridas a una tasa similar; 2) estabilidad, las dietas formuladas deben permanecer estables con la mínima pérdida por lavado y ser rotas hasta que se ingieran; 3) digestibilidad, las dietas deben ser digeribles y asimilables; 4) contenido nutrimental similar al del alimento natural de los organismos vivos 5) almacenamiento con cualidades adecuadas (12 meses).

Actualmente la mayoría de las dietas para larvas de organismos acuáticos están formuladas a partir de carne de pescado, crustáceos, moluscos y otros productos naturales teniendo estas dietas generalmente una composición similar que las del fitoplancton y zooplancton, aun cuando existen diferencias en aceptabilidad, crecimiento y supervivencia haciendo que varíen enormemente entre ellas. (Dassow, 1982).

Kumlu & Jones (1995) reportan para el estadio de Mysis de *Fanneropenaeus indicus* utilizando dietas artificiales microencapsuladas, supervivencia del 91.5% y crecimientos en longitud de 4.37 mm siendo no significativamente distintos ($p > 0.05$) al compararlos con los obtenidos por alimento vivo. En contraste, la duración de los subestadios larvarios alimentados con microencapsulados se desfasan retrasándose entre 1 y 2 días con

respecto al control. Sin embargo, Jones (1998) encontró que el reemplazo completo de alimento natural ha resultado de pobres tasas de crecimiento, baja calidad de las larvas y poca supervivencia. Recientemente Shanga et al., (2000) evaluaron la efectividad del reemplazo parcial y total en las larvas de *L. vannamei* con diferentes dietas artificiales con suplementos, observando una mayor tasa de supervivencia y mayores pesos de los organismos que con alimento vivo. Brito (2000), reporta como es que afectan las dietas comerciales microparticuladas con 50% de proteína, alimento natural y combinaciones de ambas al crecimiento y la actividad enzimática para las larvas y primeras postlarvas de *L. setiferus* y de *L. vannamei* (2001) encontrando una mayor tasa de crecimiento al combinar alimento vivo (microalgas y nauplios de *Artemia*) y dieta artificial, y una diferencia significativamente menor al utilizar únicamente el alimento artificial con o sin microalgas.

Sólo cuando la formulación artificial es aceptada, ingerida, degradada y asimilada, puede ser comparable con los alimentos vivos, ya que el resultado de éstas en la alimentación de las larvas de los camarones peneidos pueden ser debidos a elevados niveles de enzimas producidas, sobre todo si se incorporan extractos algales en las dietas, ya que los estadios larvales de estas especies requieren de altas cantidades de microalgas en su alimentación, lo cual coincide con Kumlu & Jones (1995): que el fitoplancton estimula la secreción de enzimas digestivas que permiten asimilar mejor los alimentos artificiales, y favorecer el crecimiento, desarrollo, y supervivencia.

Para perfeccionar las dietas artificiales, recientes estudios se han enfocado a la morfología digestiva, fisiología y a la actividad de las enzimas digestivas de las larvas de especies de peneidos que tienen importancia comercial (Kumlu & Jones, 1995). Grossman et al., (1943) demostraron el aumento de la tripsina con una dieta alta en proteínas. Johnson et al., (1977) observaron que la caseína era el mejor inductor de la tripsina en rata y se demostró los diferentes efectos de la calidad de la proteína en la inducción. Así mismo, la adaptación a proteínas de las dietas ha sido también descrita para la amilasa y la quimotripsina (Reboud et al., 1993; Le Moullac et al., 1996).

La proteína es el nutriente que mayor costo tiene en la formulación de dietas (Akiyama et al., 1992) siendo un nutriente crítico para las respuestas de crecimiento, desarrollo y

supervivencia, por lo que las investigaciones se concentran en la búsqueda de proteínas económicas y con un alto valor y calidad nutrimental (Sudaryno et al., 1995).

La actividad enzimática en los crustáceos depende tanto de los factores internos como del estadio de crecimiento (Lovett & Felder, 1990), estadio del ciclo de muda (Van Wormhoudt & Favrel, 1988), así como los factores externos como la temperatura (Galgani & Benyamin, 1985). Así mismo, la actividad enzimática del tracto digestivo ha sido usada como un índice del estado trófico para estimar la dieta óptima de los diferentes estadios en el desarrollo ontogénico del camarón cultivado. Igualmente para *Litopenaeus vannamei* la adaptación de las enzimas digestivas va de acuerdo a la talla del camarón, la fuente de proteína y el nivel de inclusión en la dieta (Lee et al., 1984). Sin embargo, no está claro si el cambio ontogénico en la actividad enzimática está estrictamente reflejando una regulación temporal genética de la síntesis enzimática (Lovett & Felder, 1989) o está modulado por la cantidad (Roche-Mayzaud et al., 1991; Lemos & Rodríguez, 1998) y la calidad de la dieta (Le Moullac et al., 1996; Lemos & Rodríguez, 1998).

Felder & Martin (1985) y Lovett & Felder (1989, 1990) describieron los cambios ontogénicos asociados con el desarrollo del tracto digestivo, la cinemática del intestino y los cambios de la actividad de las enzimas digestivas de las larvas y postlarvas del camarón *L. setiferus*. Las variaciones en la actividad de las enzimas digestivas durante este periodo permiten a los camarones digerir y asimilar eficientemente una nueva dieta (Lovett & Felder, 1990).

Las enzimas digestivas de los procesos digestivos tienen como función hidrolizar las proteínas, péptidos, carbohidratos y lípidos del alimento, por lo tanto su análisis es una herramienta útil en los estudios de nutrición. La acción de las actividades hidrolíticas en el aparato digestivo de un animal depende de la composición y forma del alimento y el grado de trituración de éste, además la descomposición química del alimento determina el tipo de nutriente disponible para la absorción (Lee et al., 1984). Por lo tanto la identificación de las enzimas digestivas y el conocimiento de sus cambios y su modo de acción, son útiles para la formulación de dietas adaptadas a la fisiología de las especies estudiadas, así como el conocimiento de sus características bioquímicas constituye un aspecto básico. (González et al., 1995).

La digestión de los alimentos es un proceso de hidrólisis de los biopolímeros complejos, los cuales son degradados a sus monómeros más simples por las enzimas hidrolíticas. A estas enzimas se les ha dado el nombre de enzimas proteolíticas o proteasas, carbohidrasas y lipasas (Strayer, 1995).

Durruty (2001) menciona que los requerimientos de proteína son específicos para cada especie, en el caso de las Protozoas de *L. vannamei* y *L. setiferus*, requieren alrededor de 30 % de proteína, mientras que las Mysis de estas especies requieren alrededor de 50 y 60 % de proteína respectivamente; como se observa aumenta su requerimiento de proteína con el desarrollo, como consecuencia de los cambios de alimentación que sufren los organismos resultado de modificaciones en el tubo digestivo (Lovett y Felder, 1990; González et al., 1994).

Ravallec-Plé (2000) describió los hidrolizados de proteína de pescado que son elaborados a partir de restos de pescado, principalmente músculo y vísceras con un proceso de cocción y titulación permitiendo que la materia prima mantenga sus condiciones iniciales constantes, inactivación térmica de enzimas y centrifugación para la obtención del hidrolizado. Con la hidrólisis de la proteína animal se generan péptidos que son de gran interés económico para el desarrollo de nuevos suplementos en la acuicultura, debido a que los péptidos presentan factores de crecimiento o secretagogos (Ravallec-Plé, 2000).

En su estudio Ravallec-Ple (2000) determinó que el hidrolizado de músculo de bacalao presenta algunas proteínas denominadas factor de crecimiento secretagogo tipo gastrina y colecistoquinina (CCK), que exhiben una acción hormonal dentro del tubo digestivo. Los resultados presentados en las Protozoas de *L. vannamei*, con el hidrolizado de bacalao por quimotripsina, incluido en una dieta con caseína, se observó un efecto secretagogo, visto a través de la actividad enzimática y de un mejor crecimiento de los organismos, siempre con respecto a las larvas alimentadas con alimento vivo. En cambio las Mysis no presentaron ningún cambio en el crecimiento. Y las larvas alimentadas con hidrolizado de quimotripsina presentaron crecimientos y supervivencias pobres. Ravallec-Ple (2000) concluyó que las dietas purificadas no cumplen con los requerimientos de proteína mínimos que permitan sustituir el alimento vivo, en las Protozoas y en las Mysis de *Litopenaeus vannamei*.

Dentro de la línea de investigación de la sustitución de alimento vivo por artificial Gallardo (2000) propuso un esquema de alimentación basado en el uso de microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) en combinación con el alimento microparticulado como una alternativa viable de nutrición larvaria para *L. setiferus*. Pedroza-Islas (2000) encapsuló el alimento artificial con el objetivo de asegurar los elementos nutritivos de la dieta probada por Gallardo (2000). La ración óptima de alimento microparticulado establecida por estos autores fue de 8 mg L⁻¹día⁻¹ a partir del subestadio de P_{III} y de 16 mg L⁻¹día⁻¹ en el subestadio de M_I - PL₁ en la alimentación de larvas del camarón blanco del Golfo *Litopenaeus setiferus*.

Pedroza (2000), probó una microcápsula como sustituto de la *Artemia*, al igual que la sustitución total del alimento vivo, y los resultados que se obtuvieron demostraron que la microcápsula fue exitosa para el desarrollo y la supervivencia, sin mostrar diferencias significativas con el control, demostrando que la microcápsula por sí sola es efectiva en la alimentación de las Mysis de *L. vannamei*.

Martínez (2002), señala la sustitución de nauplios de *Artemia* por dos microcápsulas, una con harina de Calamar y otra con hidrolizado de krill, en las Mysis de *L. vannamei*, siendo superados los resultados obtenidos en crecimiento, desarrollo, índice de calidad y supervivencia, por las Mysis alimentadas con Krill a las alimentadas con Calamar. Pero en general ambas dietas cubren de manera óptima los requerimientos energéticos de las Mysis al presentar una concentración lipídica mayor, que las Mysis con alimento vivo.

Brito (2002) reportó que las microcápsulas con CPSP y Calamar con un contenido proteico de 15-16 % fueron capaces de aportar los nutrientes necesarios para mantener un buen crecimiento, desarrollo y supervivencia. Al igual menciona que se mantuvieron estables las reservas lipídicas durante el estadio de Mysis en *L. vannamei*.

4.1. Biología de *Litopenaeus vannamei*

Como miembros de los crustáceos, los camarones son artrópodos mandíbulados con apéndices birrameados articulados, con dos pares de antenas, caparazón, branquias y larva Nauplio.

La taxonomía de este género, según Pérez & Kensley (1997) es la siguiente:

Phylum	Arthropoda
Subphylum	Crustácea
Clase	Malacostraca
Subclase	Eumalacostraca
Cohorte	Eucarida
Orden	Decapoda
Suborden	Dendrobranquiata
Superfamilia	Penaeidae
Familia	Penaeidae
Subfamilia	Penaeinae
Género	<i>Litopenaeus</i>
Especie	<i>L. vannamei</i>

Los miembros del género *Litopenaeus*, Pérez & Kensley (1997), mencionan que son de tético abierto sin receptáculo espermático. A este grupo pertenecen algunas especies americanas de gran importancia comercial, tales como: *L. vannamei*, *L. stylirostris* y *L. setiferus*.

4.2. Distribución Geográfica

El camarón blanco *Litopenaeus vannamei* es una especie nativa de la costa oeste del Océano Pacífico, con una distribución geográfica desde Sonora, en el Golfo de California, México, y hasta las costas de Perú en Sudamérica.

4.3. Ciclo de Vida de *Litopenaeus vannamei* (Anderson, 1956).

Muchos de los camarones peneidos ocupan una gran diversidad de hábitats durante su existencia, debido a su complejo ciclo de vida. Y se divide de acuerdo a su desarrollo y crecimiento en 3 etapas diferentes:

La primera corresponde a su desarrollo embrionario larvas y estadio juvenil temprano; la segunda a los estadios juvenil tardío y preadultos; y la tercera a los adultos inmaduros y maduros

Los adultos copulan y desovan en aguas oceánicas costeras a profundidades entre 18 y 27 m. Los desoves ocurren de Marzo hasta Septiembre. Por lo general la copula ocurre durante la muda, cuando los machos se pegan a las hembras y les adhieren el saco espermático.

Las hembras rompen este espermatóforo para así fertilizar los huevos que pueden llegar a ser de 500 000 a 1000 000, los cuales son arrojados al agua. Los huevos fueron un diámetro de 300 μ aproximadamente. Los huevos fertilizados se van al fondo y alrededor de 24 horas eclosionan.

Las larvas planctónicas permanecen en aguas oceánicas durante 3 semanas, desarrollándose y pasando por 5 fases de Nauplio, 3 fases de Protozoa y 3 fases del subestadio de Mysis.

En seguida de esta fase larvaria, se inicia la etapa de postlarva, y para continuar su desarrollo se traslada a los ecosistemas estuarinos. Aquí los camarones juveniles de aproximadamente 0.6 cm adquieren hábitos bentónicos. Los camarones permanecen en los ecosistemas estuarinos hasta alcanzar una talla entre 4 y 10 cm (de 4 a 10 semanas). Posteriormente salen al océano en donde completan su madurez para comenzar de nuevo su ciclo de vida.

La fase naupliar se alimenta de las reservas del vitelo del huevo. Las Protozoas son planctónicas y filtradoras y se alimenta de diversas especies de fitoplancton en función del tamaño de su boca y la forma o dureza de éstas células. Las Mysis también planctónicas, filtradoras y depredadoras se alimentan tanto de fitoplancton como de zooplancton (Jones et al., 1997). Las Protozoas al ser filtradoras requieren de altas concentraciones de microalgas, mientras que las Mysis necesitan menos cantidad de éstas y más proteína animal, pues al avanzar en su desarrollo cambian de ser filtradoras a raptorales (Espinoza & Labarta, 1987; Kurmaly et al., 1996).

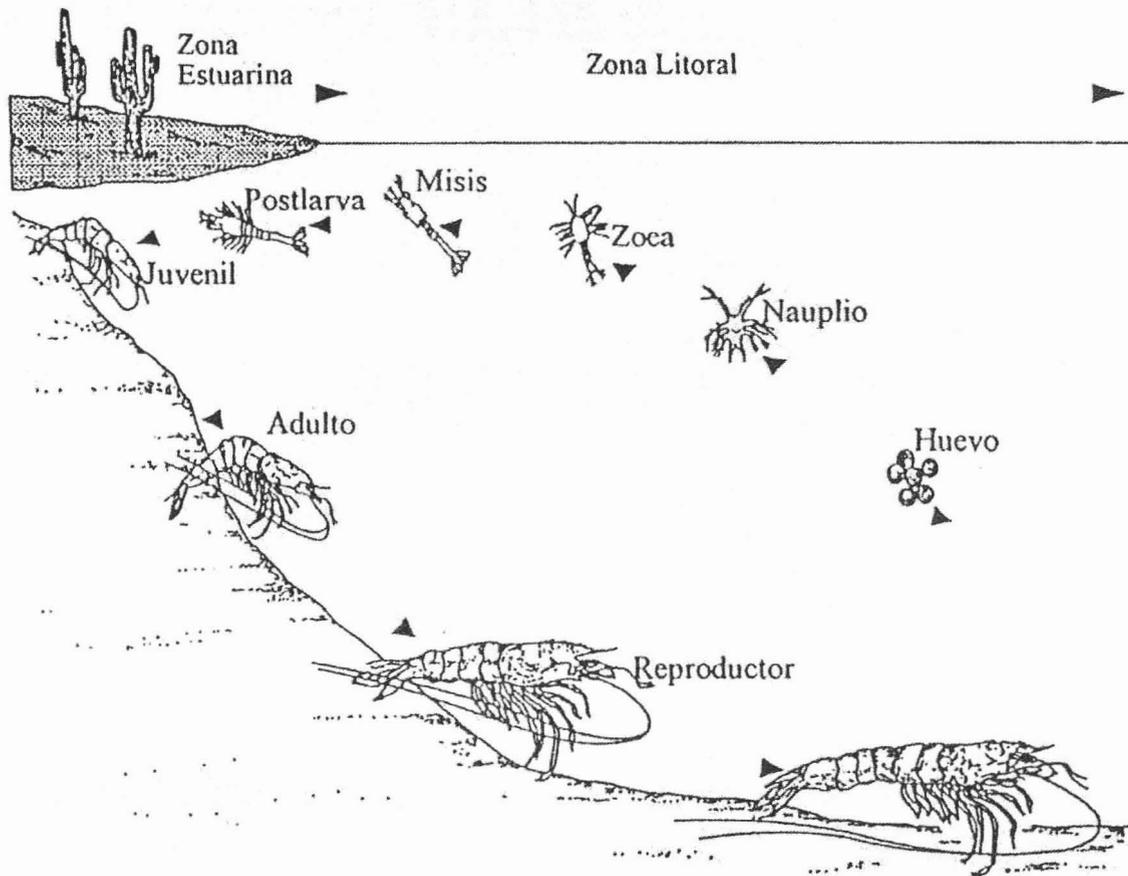


Fig.1. Ciclo de vida de un camarón del género *Litopenaeus*. (Tomado de Cortés, 1998).

4.4. Ontogenia del Aparato Digestivo.

Las larvas al eclosionar no presentan una boca funcional ya que carecen de ano, el cual aparece después de 2 o 3 mudas. Solo poseen una mandíbula para triturar el alimento, y presentan un tracto digestivo dividido en 3 regiones: el estomoideo, el mesenterón y el proctoideo. El mesenterón o intestino medio es un sitio de producción y excreción enzimática, absorción y almacenamiento, que abarca un tronco medio y varios plegamientos (ciegos y ventrículos) que forman esta glándula digestiva en los adultos de los crustáceos. Todo este proceso se lleva a cabo durante la ontogenia en donde las larvas experimentan varias transformaciones como un par de ciegos anteriores que se ubican en la unión del estomoideo con el tubo del intestino medio y un par de ciegos laterales. (Lovett & Felder, 1990; D' Abramo, et al., 1997).

En las últimas fases del estadio de Mysis los dos ciegos anteriores decrecen su tamaño, se fusionan y dan origen al divertículo anterior del intestino medio y a la par se deriva el hepatopáncreas adulto por una ramificación de los ciegos medios, y al final el divertículo posterior hace su aparición en el transcurso de la 3^{ra} semana del desarrollo postlarval (Lovett & Felder, 1990).

Ahora citaremos las funciones del intestino medio que han sido estudiadas y entre las que se encuentran la absorción de nutrientes de los alimentos ya digeridos, la absorción de iones y el control de flujo de agua entre el lumen del intestino medio y la hemolinfa, la excreción de iones, la formación y secreción de la membrana peritrófica, de servir para la acumulación y el metabolismo tanto del calcio como del cobre y para la inactivación y detoxificación de metales tóxicos (Dall & Moriarty, 1983).

Durante el estadio Mysis se forma un molino gástrico con unos dientes bien desarrollados, mientras que las larvas ya presentan hábitos carnívoros, que les facilitan el retener a su presa por más tiempo y realizar la obtención de mayor energía de su presa (Kumlu & Jones, 1995).

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental de la Facultad de Ciencias, UNAM con sede en Ciudad del Carmen, Campeche.

5.1. Origen de las Larvas y Condiciones de Siembra.

Las larvas empleadas en el presente estudio fueron donadas por la granja Sisal de Industrias Pecis S. A de C. V. localizada en Sisal, Yucatán. Los organismos fueron colocados en tanques de fondo cónico con un volumen inicial de 200 litros en el subestadio Nauplio _(IV-V) N _(IV-V); al arribar al subestadio de Protozoa _I (PZ_I) fueron alimentados con el esquema propuesto para esta especie a partir de microalgas marinas *Cheateoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*. Una vez que se encontraron en el subestadio de Protozoa _{III} (PZ_{III}), las larvas fueron colocadas en los dispositivos experimentales.

5.2. Diseño Experimental.

El diseño experimental fue completamente al azar con 5 repeticiones por tratamiento.

Los tratamientos se nombraron de la siguiente manera.

Tratamiento A: Control (alimento vivo).

Tratamiento B: GGAXCPSP / con microalgas.

Tratamiento C: GGAXCPSP / sin microalgas.

GGAXCPSP dieta de Gabriela Gaxiola con hidrolizado CPSP 90% (Concentrado de Proteína Soluble de Pescado) de 26 µm.

Un grupo de organismos fue mantenido en condiciones similares y fue alimentado con el esquema propuesto para *Litopenaeus vannamei* por Treece & Yates (1990), a base de las microalgas marinas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y nauplios de *Artemia* (Tabla 1).

Tabla 1. Esquema de alimentación utilizado en la cría de larvas de *Litopenaeus vannamei*, a base de las microalgas *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*, y del crustáceo *Artemia franciscana*.

Alimentos	Estadios							
	N _v	P _I	P _{II}	P _{III}	M _I	M _{II}	M _{III}	PL ₁
<i>Chaetoceros gracilis</i> (1000 cel ml ⁻¹)	10	40	75	85	60	50	50	50
<i>Tetraselmis chuii</i> (1000 cel ml ⁻¹)	5	10		25		20		15
nauplios de <i>Artemia</i> (n ml ⁻¹)				0.2	1.0	1.5	2.0	3.0

N, nauplio; **P**, protozoa; **M**, mysis; **PL**, postlarva.

5.3. Dispositivo Experimental

La supervivencia e índice de calidad fueron evaluadas utilizándose matraces de 1 L de capacidad, donde se sembraron 50 organismos en cada uno. Las larvas que se usaron estuvieron en el subestadio de Protozoa_{III} avanzado.

Estos matraces se mantuvieron aireados con un flujo de aire ligero y continuo, y fueron colocados en una tina con un sistema de recirculación con el fin de mantener homogeneizada la temperatura.

Para evaluar el crecimiento (longitud y peso) y el índice de desarrollo los organismos se colocaron en tanques cónicos de 10 litros de capacidad en un volumen de 8 litros, con una densidad de 50 organismos L⁻¹. Para mantener una buena calidad de agua se realizaron recambios parciales del 50 % diariamente.

Las larvas empleadas para las pruebas del consumo de oxígeno, y la evaluación de las enzimas digestivas y metabolitos, se mantuvieron en tres tinajas de 100 litros de capacidad, una por tratamiento. En este caso el volumen inicial se mantuvo constante en 60 litros y con una densidad de 50 larvas por litro. También se realizaron recambios parciales del 50 % diariamente.

El agua de mar que se utilizó fue filtrada por un filtro de arena y un cartucho a 5 μ y luego fue pasada por un filtro biológico rápido (FLUVAL 403 HAGEN 1200 L/h) y luz ultravioleta.

5.4. Respuestas Evaluadas

El efecto de la dieta microencapsulada fue evaluado a través de las respuestas que se presentan en la Tabla 2.

Tabla. 2. Respuestas evaluadas en el desarrollo de Mysis de *L. vannamei* alimentadas con las dietas A (alimento vivo), B (GGAXCPSP con microalgas) y C (GGAXCPSP la microcápsula sola).

	DIETAS		
	A	B	C
Respuesta	AV (Alimento Vivo)	GGAXCPSP C/Algas	GGAXCPSP S/Algas
Zootécnica	Crecimiento, Índice de Desarrollo Supervivencia		
Fisiológica	Consumo de Oxígeno Tasa de Ingestión e Índice de Calidad		
Bioquímica	Actividad enzimática de Proteasas: Proteasas Totales, Quimotripsina y Tripsina. Carbohidrasas: α -Glucosidasa, α - Amilasa Concentración de Metabolitos: Proteína Soluble, Colesterol y Acilglicéridos		

S, sin; **C**, con

Las respuestas bioquímicas aparecen incompletas en las gráficas del alimento vivo debido a que las larvas de *L. vannamei* murieron a la mitad del experimento.

5.5. Dieta Experimental.

La dieta microencapsulada fue diseñada y formulada por Gaxiola y Pedroza (1991), la cual incluye un 65.08 % de proteína en su composición (Tabla 3).

La pared presenta Goma de Mezquite (16.75 g) + CPSP (50.25 g) y se mezcló con 33 g de la dieta en una proporción de 2:1 (Anexo 1).

Tabla 3. Formulación de la dieta microencapsulada con pared de CPSP + Goma de Mezquite (GGAXCPSP) (Gaxiola y Pedroza, 2001).

INGREDIENTES	g / 100 g dieta
Harina de pescado	17.4
CPSP-90 %	17.0
Levadura de cerveza	15.0
Harina de camarón (músculo)	17.0
Harina de soya	17.0
Aceite de hígado de bacalao	4.0
Almidón	3.0
Colesterol	1.5
Premezclas de vitaminas	5.1
Premezclas de minerales	0.6
Robimix STAY C-35	2.4

CPSP, Hidrolizado de Concentrado de Proteína Soluble de Pescado

Un aminograma de la dieta artificial es presentado en la Tabla 4. El nivel de proteína resultó de 65.08%.

Tabla. 4. Composición aminoacídica de la dieta artificial GGAXCPSP.

Aminoácidos (g.a.a./100 g de proteína)	
Ácido aspártico (ASP)	10.038
Treonina (THR)	4.842
Serina (SER)	5.244
Ácido glutámico (GLU)	15.895
Glicina (GLY)	8.475
Alanina (ALA)	6.873
Cisteína (CYS)	0.432
Valina (VAL)	4.521
Metionina (MET)	1.988
Isoleucina (ILE)	3.867
Leucina (LEU)	7.760
Tirosina (TRY)	2.577
Fenilalanina (PHE)	3.812
Histidina (HIS)	1.797
Lisina (LYS)	7.563
Amonio (NH ₃)	0.758
Arginina (ARG)	6.047
Prolina (PRO)	5.422
Triptofano (TRP)	0.726
Aminoácidos Totales	98.639

5.6. Frecuencia de Alimentación.

La dieta microencapsulada (Tratamiento B y C) se suministrara a partir del estadio de PZ_{III}, con una ración de 16 mg L⁻¹ cada 4 horas durante 24 h (08:00, 12:00, 16:00, 20:00, 12:00, 04:00 horas).

En el caso del tratamiento A ó control, el suministro de microalgas y nauplios de *Artemia* se realizó 2 veces al día (8:00 y 20:00 horas).

5.7. Ajuste de Alimento

- *Artemia*

Para realizar el ajuste de alimento vivo se determinó primeramente la concentración residual de los nauplios de *Artemia*. Para hacer esto se tomaron 10 muestras con una pipeta de 10 ml cada 12 horas, solo en conos y tinas del tratamiento A.

- Microalgas

En el caso de las microalgas marinas el conteo residual se realizó con la ayuda de una cámara de Neubauer. Esto se llevó a cabo 2 veces al día (8:00 y 20:00 horas). Para la obtención de la cantidad de alimento que se debía ajustar se empleó la siguiente fórmula propuesta por Aquaculture Department (1994).

$$VA = \frac{VT(CD - CR)}{CA - CR}$$

Donde:

VA= Valor del alimento a añadir.

VT= Volumen de agua en el tanque de las larvas.

CD= Concentración deseada de alimento.

CA= Concentración de alimento.

CR= Concentración residual de alimento vivo.

5.8. Parámetros Fisicoquímicos

En el transcurso del experimento se realizó la toma de los siguientes parámetros fisicoquímicos: la temperatura en grados centígrados, (termómetro de mercurio); oxígeno disuelto en $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$, con un oxímetro digital de campo (YSI 55); salinidad en gramos por litro (g L^{-1}), con un refractómetro (American optical). Las lecturas de todos los parámetros se realizaron 2 veces al día a las 8:00 y 16:00 horas.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1. Respuestas Zootécnicas

6.1.1. Crecimiento en Longitud

El crecimiento en **longitud** fue determinado a través de mediciones directas en el microscopio óptico de un total de 15 larvas por tratamiento y subestadio desde PZ_{III} hasta PL₁. La medición se realizó con la ayuda de un microscopio óptico y con una regleta 1: 100. La observación se realizó con el ocular 4X y se midió a las larvas desde la escotadura postorbital hasta el extremo posterior del telson sin incluir las espinas. La tasa específica de crecimiento ($\% \text{ día}^{-1}$) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$TEC = (((LnLF - LnLi) / T) * 24) * 100$$

Donde:

TEC = Tasa específica de crecimiento

Ln = Logaritmo natural

Lf = Longitud final

Li = Longitud inicial

T = Tiempo

CA= Concentración de alimento.

CR= Concentración residual de alimento vivo.

5.8. Parámetros Fisicoquímicos

En el transcurso del experimento se realizó la toma de los siguientes parámetros fisicoquímicos: la temperatura en grados centígrados, (termómetro de mercurio); oxígeno disuelto en mg O₂ L⁻¹, con un oxímetro digital de campo (YSI 55); salinidad en gramos por litro (g L⁻¹), con un refractómetro (American optical). Las lecturas de todos los parámetros se realizaron 2 veces al día a las 8:00 y 16:00 horas.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1. Respuestas Zootécnicas

6.1.1. Crecimiento en Longitud

El crecimiento en **longitud** fue determinado a través de mediciones directas en el microscopio óptico de un total de 15 larvas por tratamiento y subestadio desde PZ_{III} hasta PL₁. La medición se realizó con la ayuda de un microscopio óptico y con una regleta 1:100. La observación se realizó con el ocular 4X y se midió a las larvas desde la escotadura postorbital hasta el extremo posterior del telson sin incluir las espinas. La tasa específica de crecimiento (% día⁻¹) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$TEC = (((LnLF - LnLi) / T) * 24) * 100$$

Donde:

TEC = Tasa específica de crecimiento

Ln = Logaritmo natural

Lf = Longitud final

Li = Longitud inicial

T = Tiempo

6.1.2. Crecimiento en Peso

La evaluación del crecimiento en **peso**, se realizó en las mismas larvas que fueron medidas en su longitud. Para ello fueron colocadas para su secado en una estufa a 60°C por más de 24 horas. Los registros de peso seco fueron obtenidos utilizando una microbalanza (CAHN modelo C 33 con 0.0001 mg de precisión) para cada uno de los 15 organismos de cada replica por subestadio y tratamiento de acuerdo a Martínez (2002). La tasa específica de crecimiento (% día⁻¹) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$TEC = (((LnPF - LnPi) / T) * 24) * 100$$

Donde:

TEC = Tasa específica de crecimiento

Ln = Logaritmo natural

Pf = Peso final

Pi = Peso inicial

T = Tiempo

6.1.3. Índice de Desarrollo (ID)

El ID se determinó a partir de las observaciones directas en el microscopio óptico de 15 ejemplares muestreados diariamente al azar de los recipientes cónicos de cada tratamiento.

El ID se calculó utilizando la fórmula propuesta por Villegas & Kanazawa (1979).

$$ID = \frac{\sum A}{N}$$

Donde:

A = Valor absoluto asignado por el número de larvas encontradas por cada subestadio: $P_{III} = 3$,

$M_I = 4$, $M_{II} = 5$, $M_{III} = 6$, $PL_1 = 7$.

N = Número total de larvas a examinar en cada muestreo.

6.1.4. Supervivencia

La supervivencia se calculó tomando en cuenta el número de larvas que llegaron al subestadio de PL_1 , con relación al número de PZ_{III} colocadas al inicio del experimento en el dispositivo señalado anteriormente. Los resultados son presentados en porcentaje (%).

6.2. Respuestas Fisiológicas

6.2.1. Índice de Calidad (IC)

El IC se realizó al finalizar el experimento justo cuando las larvas habían alcanzado el estadio de PL_2 . Este índice se obtuvo a partir de la supervivencia de las PL_2 a un cambio brusco de salinidad (De la Cruz, 1992). Las PL_2 fueron colocadas en un recipiente con agua de mar a una salinidad 10 ppm menor a la que se mantuvieron en el experimento. Las PL_2 se sometieron a este reto durante una hora. Al transcurrir el tiempo, se contó el número de larvas vivas y muertas, y se calculó el índice de calidad basándose en el total de larvas que sobrevivieron a la condición de estrés salino.

6.2.2. Tasa Respiratoria

El **consumo de oxígeno** ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$) de las larvas fue registrado utilizando un electrodo polarográfico conectado a un microrespirometro (Stratkelvin Instruments, Glasgow, U.K. modelo 781, $\pm 0.01 \text{ mg} \cdot \text{O}_2$), el cual es sensible a la disminución en la tensión de oxígeno, producto de la respiración de las larvas. Los animales fueron colocados en cámaras respirometricas cerradas con 500 μl de agua de mar del medio de cultivo. La temperatura (27°C) de la cámara se mantuvo igual a la de los estanques experimentales con un baño termorregulado (Fisher Scientific Isotemp, modelo 900, Alemania), y las lecturas se registraron con un rango de saturación de aire de 80 a 100 %, durante 5 minutos. El consumo de oxígeno para cada subestadio se determinó con 20 larvas de cada tratamiento, se realizó una corrección al utilizar una cámara control sin

organismos. El consumo de oxígeno se expresó como $\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$ (Rosas et al., 1995).

$$\text{Consumo de oxígeno} = \frac{O_2i - O_2f}{T}$$

Donde:

O_2i = Oxígeno inicial

O_2f = Oxígeno final

T = Tiempo (horas)

6.2.3. Tasa de Ingestión

La tasa de ingestión de microalgas ($\text{cél} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{larva}^{-1}$), se evaluó diariamente a las 8:00 y las 18:00 horas. La tasa de ingestión se midió al obtener la concentración residual de los tratamientos A y B con una cámara de Neubauer (USA) (0.0025 mm^2) y fue obtenida de la diferencia de la concentración de cada unidad experimental (matraz, cono y tina). Las concentraciones de alimento vivo fueron establecidas de acuerdo al esquema de alimentación propuesto por Trece & Yates (1990) La tasa de ingestión fue calculada con la siguiente fórmula propuesta por Paffenhoffer (1971):

$$TI = [(Ce - Cc)]x[V / nt]$$

Donde:

TI = Tasa de Ingestión

Ce = Concentración del esquema

Cc = Concentración residual

V = Volumen de agua en el tanque (ml)

n = Número de organismos

t = Tiempo (horas)

6.3. Respuestas Bioquímicas

6.3.1. Preparación de los Homogenados

Para la evaluación de la actividad enzimática digestiva y la concentración de metabolitos, se obtuvieron 3 muestras de 50 larvas por cada subestadio (M_I a PL_1), por cada tratamiento (A, B y C). El peso húmedo de las muestras, mantenidas en nitrógeno líquido a -70°C en tubos eppendorff, fue registrado utilizando una balanza analítica de 0.0001 g de precisión (OHAUS, USA).

La actividad enzimática fue obtenida de un extracto de larvas homogenizadas (homogenizador de tejidos, modelo Aesa) a 4°C con 500 μl de agua desionizada durante 1 minuto, a una velocidad de 80 rpm.

El homogenado se centrifugó por espacio de 20 minutos a 16 000 rpm a 4°C . Se separó el sobrenadante. Parte de este sobrenadante se diluyó en agua desionizada a una razón de 1/10 (10 μl de extracto homogeneizado y 90 μl de agua estéril). Los homogenados (crudo y diluido) fueron usados para determinar la actividad de las enzimas digestivas. Los valores resultantes de la actividad específica se expresaron en U por mg de proteína⁻¹, solo la Quimotripsina en mU por mg de proteína⁻¹, mientras que la concentración de Proteína se expresó en ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) $\times 10^{-3}$, para las concentraciones de Colesterol y Acilglicéridos se expresan como $\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$.

6.3.2. Proteína Soluble

La concentración de Proteína Soluble se determinó por el método de Bradford (1976): 10 μl de extracto crudo y 200 μl del kit Micro Protein Determination de Biorad (Procedure No. 610), ambos colocados en una placa de lectura de Elisa. Se incubó la reacción a temperatura ambiente durante 15 minutos y se tomó la lectura en un lector de Elisa (Biorad modelo 550), a una absorbancia de 540 nm. La concentración de la Proteína Soluble (mg ml^{-1}) se calculó a partir de la curva estándar BSA (albumina serica bovina) de la solución madre que incluye el kit.

7. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

7.1. Proteasas

La reacción de las **Proteasas Totales** se dió por la hidrólisis del Azocoll (Azo dye-impregnated collagen, sigma A4341) en los homogenados ya diluidos. El Azocoll se utilizó como sustrato, y con amortiguador de Fosfatos 10 mM con un pH 7, todo colocado a una temperatura de 37°C durante 30 minutos en un baño termostático (Lab-Line). La reacción se detuvo con ácido tricloro acético (TCA) al 5 %, para lograr la precipitación de las proteínas solubles. Enseguida se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos, y se recuperó el sobrenadante. Se tomó la lectura en el espectrofotómetro (Spectronic modelo 21 D, USA), a una absorbancia de 520 nm.

Para la evaluación de la actividad de la **Quimotripsina** se utilizó un amortiguador TRIS 0.1 M, pH de 8, como sustrato SAPPNA (N – SUCCINYL – ALA – PRO – SEP – NITROANILIDE, sigma S7388), más el extracto crudo y se tomó la lectura en el espectrofotómetro a 405 nm.

Para la evaluación de la actividad de la **Tripsina** se usó el mismo TRIS 0.1 M pero diferente sustrato (BAPNA: N - α - BENZOYL - DL - ARGENINE p - NITROANILIDE, sigma B4875), y se tomó la lectura a 405 nm.

7.2. Carbohidrasas

Para la evaluación de la **α -Glucosidasa** se usó el amortiguador Sodio-Fosfato 50 mM, pH 6, y del sustrato PNPG (Paranitrophenyl α - D Glucopyranoside, sigma N1377), más el extracto en dilución (1/10), el cual se preparó con 100 μ l del extracto homogenizado crudo y 900 μ l de agua estéril, y se incubó a 37 °C durante una hora. Se detuvo la reacción con 1 ml de Carbonato de Sodio $\text{Na}_2(\text{CO}_3)$ 1 M tomando la lectura a 410 nm.

La actividad de la **α -Amilasa** se evaluó en tubos de vidrio donde se colocaron 125 μ l de amortiguador Sodio-Fosfato, 10 mM pH 7. Se usó como sustrato al Glucógeno, además del extracto en dilución (1/10), en donde se incubó a 37°C durante 45 minutos. Para

detener la reacción se empleó el DSA (ácido dinitro salicilico) a 2.5 %, se incubó durante 5 minutos a 100°C y con el espectrofotómetro se tomó la lectura a 540 nm.

7.3. Metabolitos

Se utilizaron 10 µl de extracto crudo para determinar la concentración de Colesterol y Acilglicéridos, los cuales fueron colocados en una placa para lector de Elisa junto con 200 µl del reactivo suministrado en el kit comercial (Colesterol Sera Pack No. 6670; Triglicéridos CAT No. 6684). Ambos metabolitos se leyeron a 540 nm.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un análisis de varianza de una vía de clasificación (ANDEVA) para ver la posible existencia de diferencias significativas previo a un análisis de homogeneidad de varianzas. Los valores dados en porcentajes fueron transformados al "arc seno" antes de ser sometidos a la prueba estadística. Una prueba pos hoc de rangos múltiples de Tukey fue realizada para la ponderación de las diferencias encontradas en el ANDEVA. Se trabajó con un nivel de probabilidad de 0.05 de acuerdo a Zar (1999).

Para analizar la tasa de Ingestión se aplicó una prueba de t Student. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con los programas de Excel versión 2000, Statistic versión 5.1 y Origin versión 7.0.

detener la reacción se empleó el DSA (ácido dinitro salicilico) a 2.5 %, se incubó durante 5 minutos a 100°C y con el espectrofotómetro se tomó la lectura a 540 nm.

7.3. Metabolitos

Se utilizaron 10 µl de extracto crudo para determinar la concentración de Colesterol y Acilglicéridos, los cuales fueron colocados en una placa para lector de Elisa junto con 200 µl del reactivo suministrado en el kit comercial (Colesterol Sera Pack No. 6670; Triglicéridos CAT No. 6684). Ambos metabolitos se leyeron a 540 nm.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó un análisis de varianza de una vía de clasificación (ANDEVA) para ver la posible existencia de diferencias significativas previo a un análisis de homogeneidad de varianzas. Los valores dados en porcentajes fueron transformados al “arc seno” antes de ser sometidos a la prueba estadística. Una prueba pos hoc de rangos multiples de Tukey fue realizada para la ponderación de las diferencias encontradas en el ANDEVA. Se trabajo con un nivel de probabilidad de 0.05 de acuerdo a Zar (1999).

Para analizar la tasa de Ingestión se aplicó una prueba de t Student. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con los programas de Excel versión 2000, Statistic versión 5.1 y Origin versión 7.0.

9. RESULTADOS

Parámetros Físicoquímicos.

Los parámetros físicoquímicos obtenidos en el experimento se muestran constantes (Tabla 5).

Tabla. 5. Parámetros físicoquímicos registrados durante el experimento.
Promedio \pm Error estándar.

	Temperatura (C°)	Salinidad (‰)	Oxígeno Disuelto ($\mu\text{g O}_2\cdot\text{h}^{-1}\cdot\mu\text{g larva}^{-1}$)	pH
Promedio (a.m)	27.5 \pm 0.1	34 \pm 0	5 \pm 0	8 \pm 0
Promedio (p.m)	27 \pm 0	34 \pm 0	6 \pm 0	8 \pm 0

a.m. = a las 8:00 h, p.m. = a las 16:00.

9.1. Respuestas Zootécnicas

Crecimiento

Los valores promedio de las longitudes (μ) registradas para cada subestadio de cada tratamiento durante el experimento son presentadas en la Tabla 6. No se observaron diferencias de los valores mostrados por las PZ_{III} de cada tratamiento que iniciaron el experimento ($p > 0.05$) (Tabla 6) pudiendo establecerse un valor promedio de 2127 μm . Un incremento constante desde M_I a PL₁ fue mostrado por las larvas alimentadas con alimento vivo (Tabla 6), resultado estadísticamente diferente al observado por los organismos alimentados con las dietas artificiales ($p < 0.05$) (Tabla 6). De M_{II} a PL₁ las larvas mantenidas con la dieta artificial en presencia de algas mostró un mayor crecimiento que las larvas alimentadas exclusivamente con la dieta artificial (Tabla 6) ($p < 0.05$).

Tabla. 6. Longitud de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con dietas microencapsuladas como sustitutas parciales y totales del alimento vivo. Promedio (μ) \pm E.S. N=número de replicas.

	A	B	C
P ₃	2161 \pm 24 ^a	2125.6 \pm 36 ^a	2095 \pm 26 ^a
(N)	(5)	(5)	(5)
M _I	2583.8 \pm 13.6 ^a	2488.4 \pm 17.9 ^b	2451 \pm 24.4 ^b
(N)	(5)	(5)	(5)
M _{II}	2946 \pm 17.9 ^a	2814.5 \pm 19.3 ^b	2753.2 \pm 18.7 ^c
(N)	(5)	(5)	(5)
M _{III}	3238.3 \pm 24.5 ^a	3028.8 \pm 25.4 ^b	2898.9 \pm 17.5 ^c
(N)	(5)	(5)	(5)
PL ₁	3613.9 \pm 17 ^a	3411.6 \pm 23.5 ^b	3081.3 \pm 16.3 ^c
(N)	(5)	(5)	(5)

Tratamientos A) Alimento vivo, B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chunii*) y C) CPSP. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Así, los resultados obtenidos en la tasa específica de crecimiento en longitud ($\mu \text{ día}^{-1}$) mostró el mismo comportamiento, donde las larvas mantenidas con AV reflejaron el mayor valor ($10.3 \pm 0.2 \mu \text{ día}^{-1}$) (Fig. 1), significativamente en relación al resto de los tratamientos ($9.5 \pm 0.3 \mu \text{ día}^{-1}$ para la dieta CPSP + microalgas y $7.7 \pm 0.06 \mu \text{ día}^{-1}$ para la dieta CPSP) ($p < 0.05$) (Fig. 1).

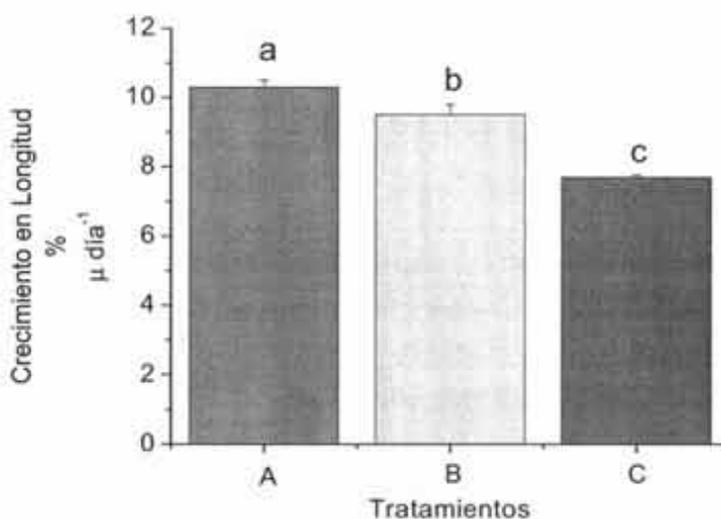


Fig. 1. Tasa Especifica de Crecimiento en longitud de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chunii*) y C) CPSP. Promedio ($\mu \text{ día}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

En la Tabla 7 se presentan los promedios en peso (μg) de los diferentes tratamientos de alimentación. Los diferentes subestadios de las larvas de *L. vannamei* expuestas a diferentes dietas (AV, CPSP + microalgas y CPSP), mostraron crecimientos diferentes durante el experimento ($p < 0.05$). Así como la longitud, en PL_1 los pesos promedios más altos se obtuvieron en las larvas del tratamiento A ($143 \pm 3 \mu\text{g}$) seguido por el tratamiento B ($95 \pm 2 \mu\text{g}$), mientras que la dieta C ($71 \pm 12 \mu\text{g}$) presentó pesos significativamente más pequeños ($p < 0.05$) (Tab. 7).

Tabla. 7. Peso seco de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con dietas microencapsuladas como sustitutas parciales y totales del alimento vivo. Promedio (μg) \pm Error estándar. N= número de replicas

	A	B	C
Protozoa III (N)	4.3 ± 0^a (5)	4 ± 0^b (5)	3.7 ± 0^c (5)
Mysis I (N)	79 ± 2^a (5)	68 ± 2^b (5)	62 ± 2^b (5)
Mysis II (N)	86 ± 3^a (5)	73 ± 2^b (5)	75 ± 2^b (5)
Mysis III (N)	128 ± 4^a (5)	95 ± 3^b (5)	75 ± 2^b (5)
Postlarva I (N)	143 ± 3^a (5)	95 ± 2^b (5)	71 ± 2^c (5)

Tratamientos A) alimento vivo, B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y C) CPSP. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Los valores de la Tasa de Crecimiento en Peso entre PZ_{III} y PL₁, obtenidos por las larvas de *L. vannamei* alimentadas con las diferentes dietas (A, B y C) no mostraron diferencias significativas después de la prueba ($p > 0.05$) (Fig.2).

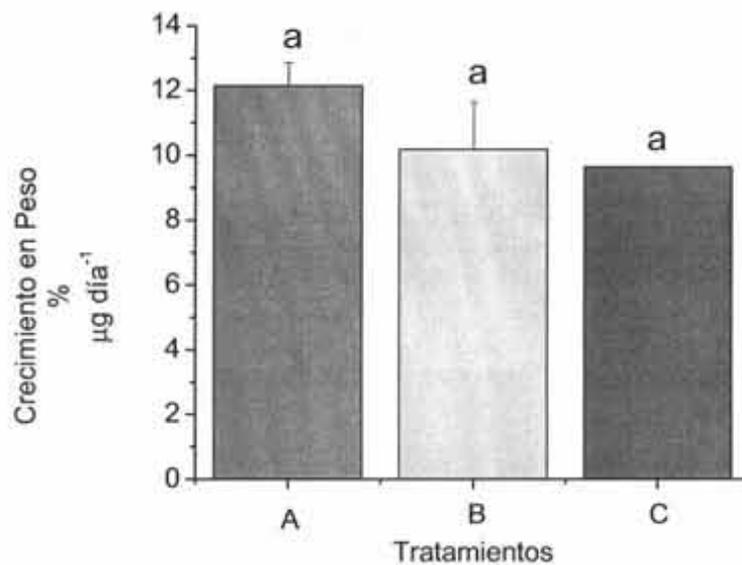


Fig. 2. Tasa de crecimiento en Peso de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*) y C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g día}^{-1}$) \pm E.S. No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

Supervivencia

La supervivencia (%) a postlarva, resultó significativamente afectada en el tratamiento CPSP con un valor promedio de $(29 \pm 0.4\%)$ ($p < 0.05$). Los grupos dietéticos A ($72.8 \pm 2.8\%$) y B ($76 \pm 1.5\%$) no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellos, pero si con respecto al tratamiento con la dieta artificial sola ($p < 0.05$) (Fig. 3).

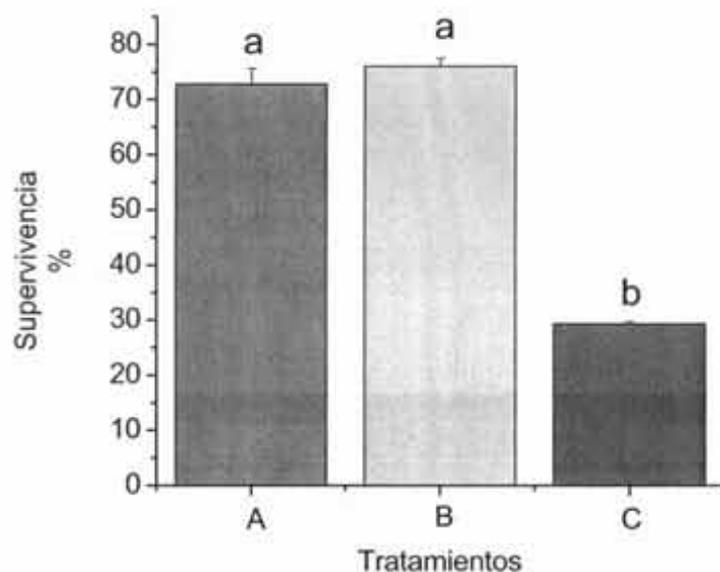


Fig. 3. Supervivencia final de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*) y C) CPSP. Promedio (%) ± E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Índice de Desarrollo

Las pruebas estadísticas en el índice de desarrollo (ID) indicaron que no hay diferencias significativas entre los tratamientos (A, B, C), a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas ($p > 0.05$). Como se muestra en la Tabla 8 los valores absolutos se mantienen constantes.

Tabla. 8. Índice de desarrollo de las larvas *L. vannamei* alimentadas con CPSP como sustituto del alimento vivo. Promedio \pm Error estándar. No se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

	A	B	C
24 hrs	3 \pm 0	3 \pm 0	3 \pm 0
48 hrs	4 \pm 0	4 \pm 0	4 \pm 0
72 hrs	5 \pm 0	5 \pm 0	5 \pm 0
96 hrs	6 \pm 0	6 \pm 0	6 \pm 0
120 hrs	7 \pm 0	7 \pm 0	7 \pm 0

Tratamientos: A) alimento vivo, B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y C) CPSP. $P_{III} = 3$, $M_I = 4$, $M_{II} = 5$, $M_{III} = 6$, $PL_1 = 7$

9.2. Respuestas Fisiológicas

La tasa respiratoria de las Mysis de *L. vannamei* evaluadas a través del consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$) no resultó afectada de manera significativa por ninguno de los tres regímenes alimenticios empleados ($p > 0.05$). Sin embargo en PL_1 un mayor consumo de oxígeno fue observado por las larvas alimentadas con AV (Tratamiento A) ($3.54 \pm 0.32 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$) y la dieta CPSP con microalgas (Tratamiento B) ($4.24 \pm 0.26 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$) en relación mostrado por las larvas mantenidas con la dieta artificial sola, el cual fue 3.4 veces menor ($1.20 \pm 0.19 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$) ($p < 0.05$) (Tabla 9).

Tabla. 9. Consumo de Oxígeno de las larvas *L. vannamei* alimentadas con CPSP como sustituto del alimento vivo. Promedio ($\mu\text{g O}_2\cdot\text{h}^{-1}\cdot\mu\text{g larva}^{-1}$) \pm Error estándar. N = número de datos.

	AV	GGAXCPSP + ALGAS	GGAXCPSP
MYSIS I (N)	5.6 \pm 0.66 ^a (20)	5.65 \pm 0.35 ^a (20)	4.21 \pm 0.59 ^a (20)
MYSIS II (N)	4.70 \pm 0.42 ^a (20)	4.25 \pm 0.24 ^a (20)	5.45 \pm 0.45 ^a (20)
MYSIS III (N)	3.95 \pm 0.13 ^a (20)	3.94 \pm 0.42 ^a (20)	4.29 \pm 0.52 ^a (20)
POSTLARVAS 1 (N)	3.54 \pm 0.32 ^a (20)	4.24 \pm 0.26 ^a (20)	1.20 \pm 0.19 ^b (20)

Tratamientos A) Alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) y C) CPSP. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Índice de Calidad

Los resultados del índice de calidad (IC), obtenidos de la prueba de estrés salino a la que fueron sometidas las postlarvas 1, muestra que los tres tratamientos A (97.6 %), B (98.8 %) y C (99.8 %) no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

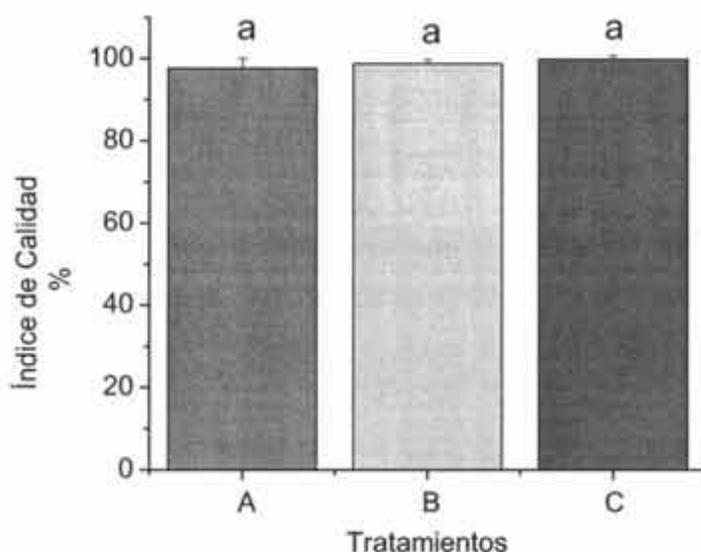


Fig. 4. Índice de Calidad de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo, B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*) y C) CPSP. Promedio (%) \pm E.S. No se presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

Tasa de Ingestión

La tasa de ingestión ($\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) de las diatomeas *Chaetoceros gracilis* fueron similares entre los tratamientos analizados (A y B), sin observarse diferencias estadísticas después de la prueba ($p>0.05$). Solo en PL₁ un mayor consumo de diatomeas fue presentado por las larvas del tratamiento de alimento vivo (70416.7 \pm 3807 $\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) en relación al mostrado por las larvas mantenidas con el tratamiento B (63750 \pm 8057.9 $\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) ($p<0.05$). (ver Anexo 2 y Fig. 5).

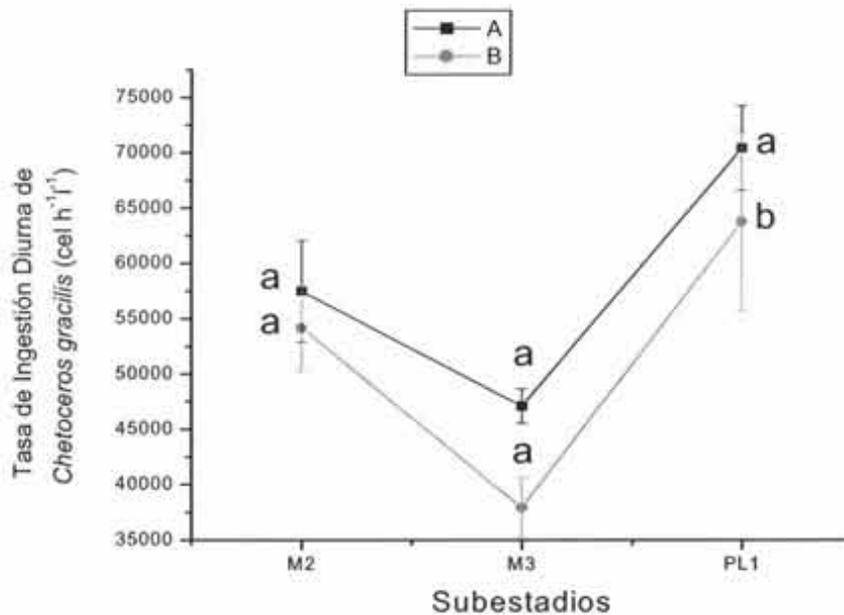


Fig. 5. Tasas de ingestión de la microalga *Chaetoceros gracilis* por las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo y B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*). Promedio ($\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada subestadio ($p<0.05$).

El análisis estadístico de la Tasa de Ingestión ($\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) de *Tetraselmis chuii* por las larvas de *L. vannamei* entre los dos tratamientos de alimentación (A y B) no reflejo diferencias significativas ($p>0.05$) (ver Anexo 3 y Fig. 6).

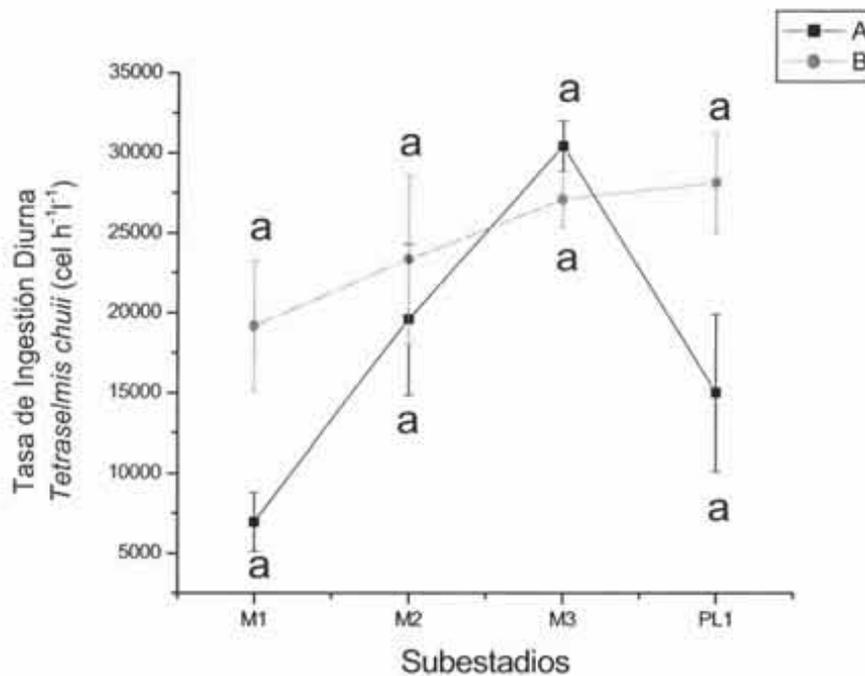


Fig. 6. Tasa de ingestión de la microalga *Tetraselmis chuii* en larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo y B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*) Promedio ($\text{cel}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{larva}^{-1}$) \pm E.S. No se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$).

9.3. Respuestas Bioquímicas

La actividad específica de las Proteasas Totales ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos en cada uno de los subestadios de Mysis y de postlarva (PL_1) (Fig.7a).

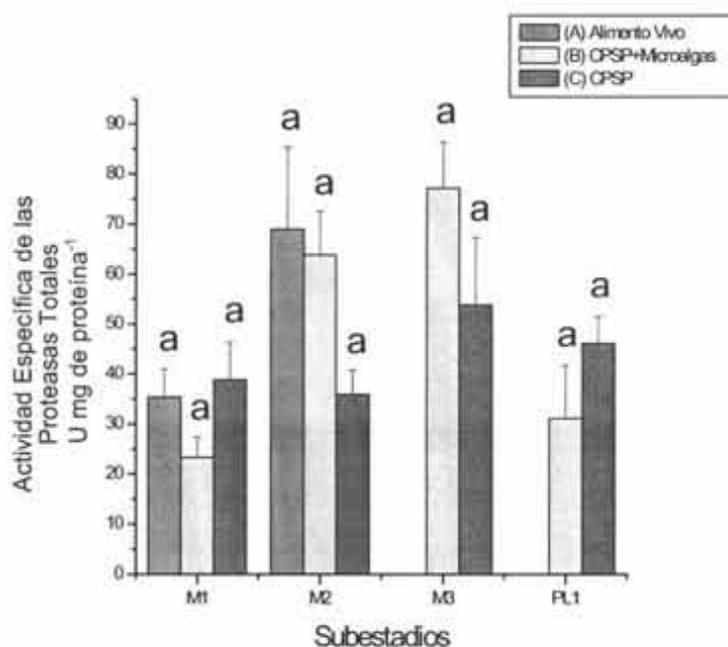


Fig. 7a. Actividad específica de las Proteasas Totales de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la actividad específica de las Proteasas Totales ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) se observan en la Fig. 7b. La actividad mostrada por las larvas mantenidas con alimento vivo (tratamiento A), no reflejo diferencias significativas en los subestadios de M_I y M_{II} ($p > 0.05$). Las larvas alimentadas con la dieta CPSP + Microalgas (tratamiento B), mostraron la mayor actividad en M_{II} (63.9 ± 8.7) y M_{III} (77.18 ± 9.18), la cual resultó estadísticamente diferente a las observadas en M_I y PL_1 ($p < 0.05$) (Fig. 7b).

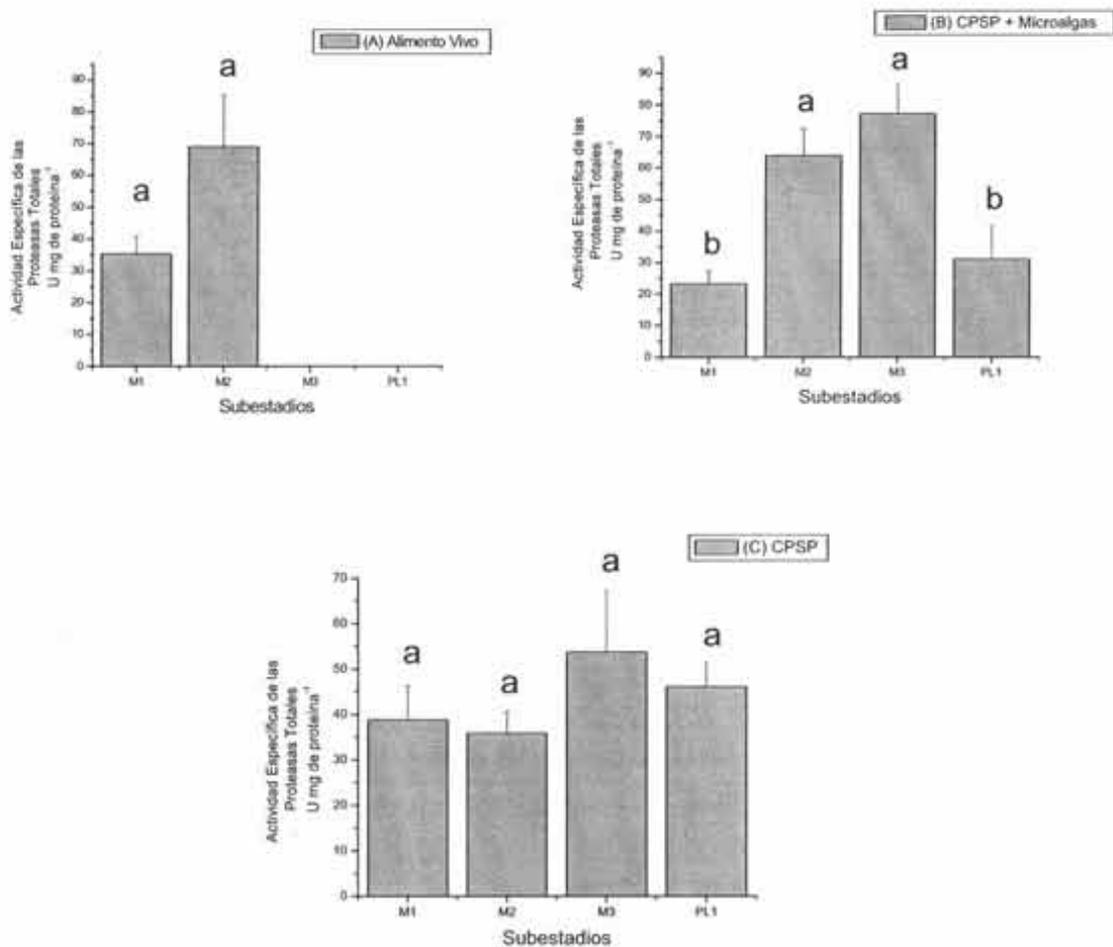


Fig. 7b. Evolución ontogenética de la actividad específica de Proteasas Totales de larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p < 0.05$).

No se observaron diferencias estadísticas en la actividad específica de la Quimotripsina ($\text{mU mg de proteína}^{-1}$) entre los diferentes tratamientos en cada uno de los subestadios analizados ($p < 0.05$) (Fig. 8a).

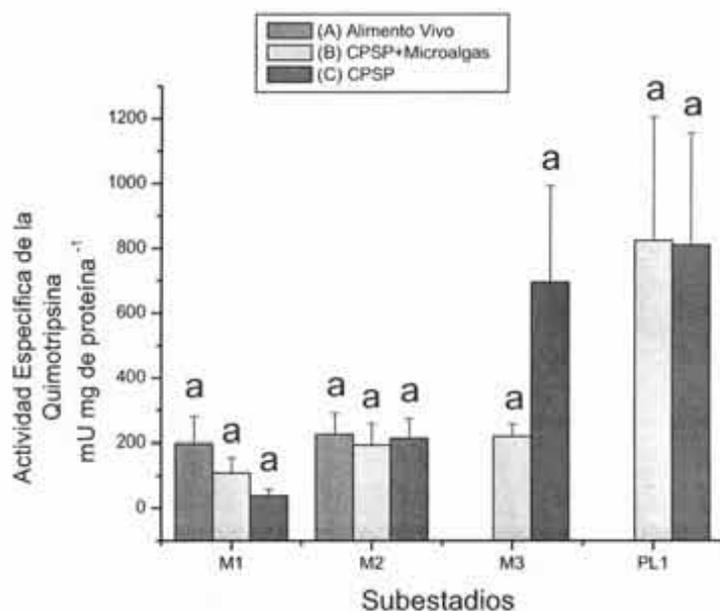


Fig. 8a. Actividad específica de la Quimotripsina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{mU mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada subestadio ($p < 0.05$).

En cuanto a la evolución ontogenética de la actividad específica de la Quimotripsina ($\text{mU mg de proteína}^{-1}$), no se observaron diferencias estadísticas con el tratamiento de alimento vivo (A), en los subestadios de M_I y M_{II} ($p > 0.05$). Para el grupo dietético CPSP + Microalgas (B), no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los subestadios. Con respecto a la actividad mostrada por las larvas alimentadas con la dieta artificial sola, un incremento significativo fue observado durante el desarrollo (Fig. 8b), habiendo la mayor actividad en PL_1 (811.23 ± 343.68)

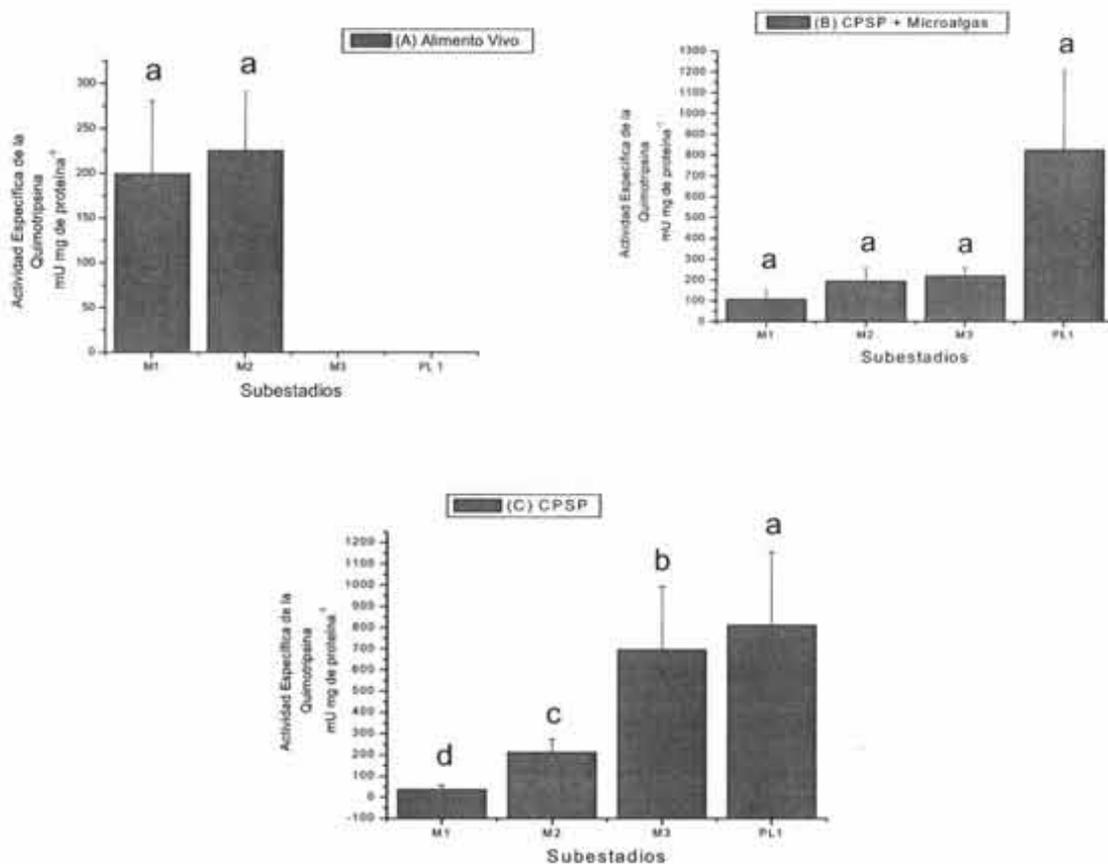


Fig. 8b. Evolución ontogenética de la actividad específica de Quimotripsina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{mU mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p < 0.05$).

La actividad específica de la Tripsina ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) en el subestadio de M_I ($p < 0.05$) siendo el grupo dietético (A) alimento vivo (29.6 ± 3.7) el de mayor actividad, seguido por el tratamiento (B) CPSP + Microalgas (22.1 ± 1.6), y se presentó la menor actividad en el grupo dietético (C) CPSP (7.08 ± 2.3). En los subestadios de M_{II} , M_{III} y PL_1 no se presentaron diferencias significativas entre diferentes tratamientos de alimentación ($p < 0.05$) (Fig. 9a).

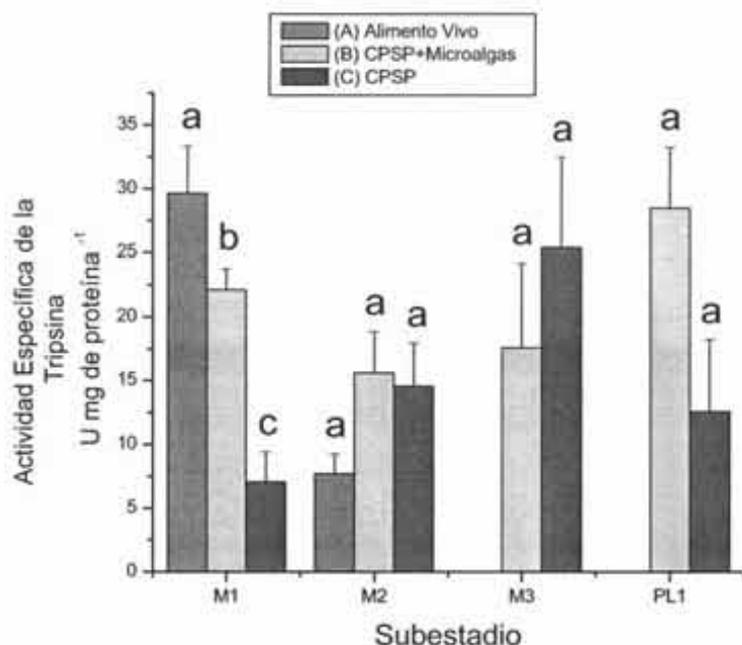


Fig. 9a. Actividad específica de la Tripsina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos en cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la actividad específica de la Tripsina ($\text{U mg de proteína}^{-1}$), mostró diferencias significativas con el tratamiento de alimento vivo (A), en los subestadios de M_I (29.63 ± 3.69) y M_{II} (7.69 ± 1.56) ($p > 0.05$). Las larvas mantenidas con el grupo dietético (B) CPSP + Microalgas, no mostraron diferencias significativas en cuanto a la actividad específica en los diferentes subestadios ($p > 0.05$). En el tratamiento (C) CPSP, se observó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los subestadios, siendo M_{III} (25.4 ± 7.1) el que presentó la mayor actividad, superior a la observada en M_{II} (14.6 ± 3.41) y PL_1 (12.6 ± 5.7). La menor actividad se presentó en M_I (7.1 ± 2.34) (Fig.9b).

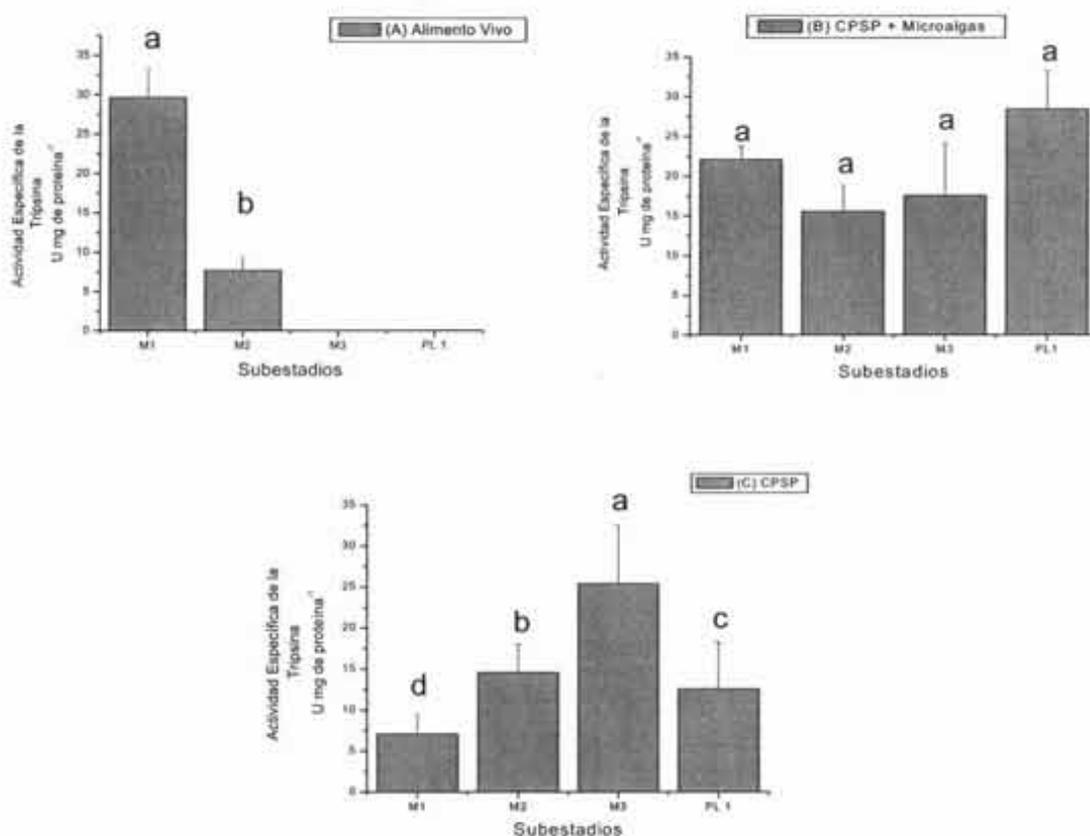


Fig. 9b. Evolución ontogenética de la actividad específica de la Tripsina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p < 0.05$).

La actividad específica de α -Glucosidasa ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) no presentó diferencias significativas ($p>0.05$) en el subestadio de M_I en los diferentes tratamientos (A, B y C) evaluados. Solo en M_{II} se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0.05$), siendo el grupo dietético (A) Alimento vivo, (0.80 ± 0.02) el de mayor actividad, continuando con una menor actividad el tratamiento (B) CPSP + Microalgas (0.50 ± 0.01), y presentando la menor actividad las larvas mantenidas con la dieta artificial sola C (0.40 ± 0.03) ($p<0.05$) (Fig. 10a).

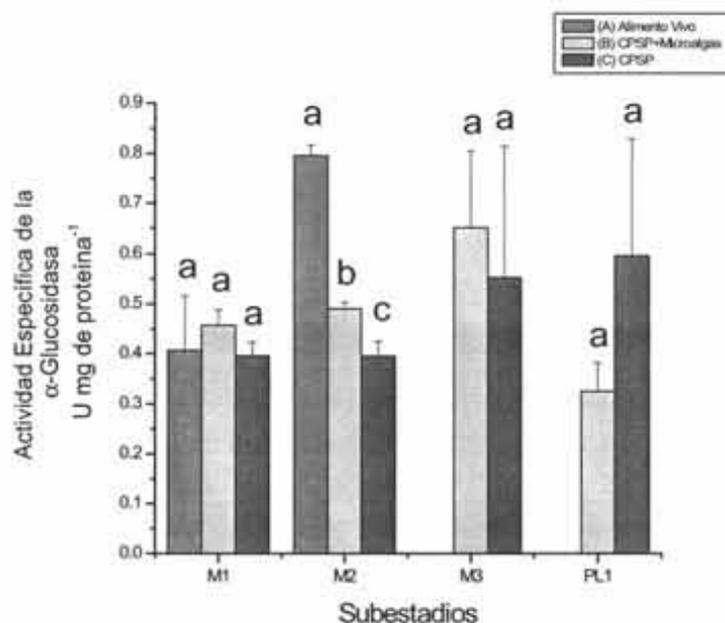


Fig. 10a. Actividad específica de α -Glucosidasa de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de cada subestadio ($p<0.05$).

La evolución ontogenética de la actividad específica de la α -Glucosidasa ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* se observa en la Fig. 10b. No se presentaron diferencias significativas entre los subestadios de cada tratamientos de alimentación ($p > 0.05$) (Fig. 10b).

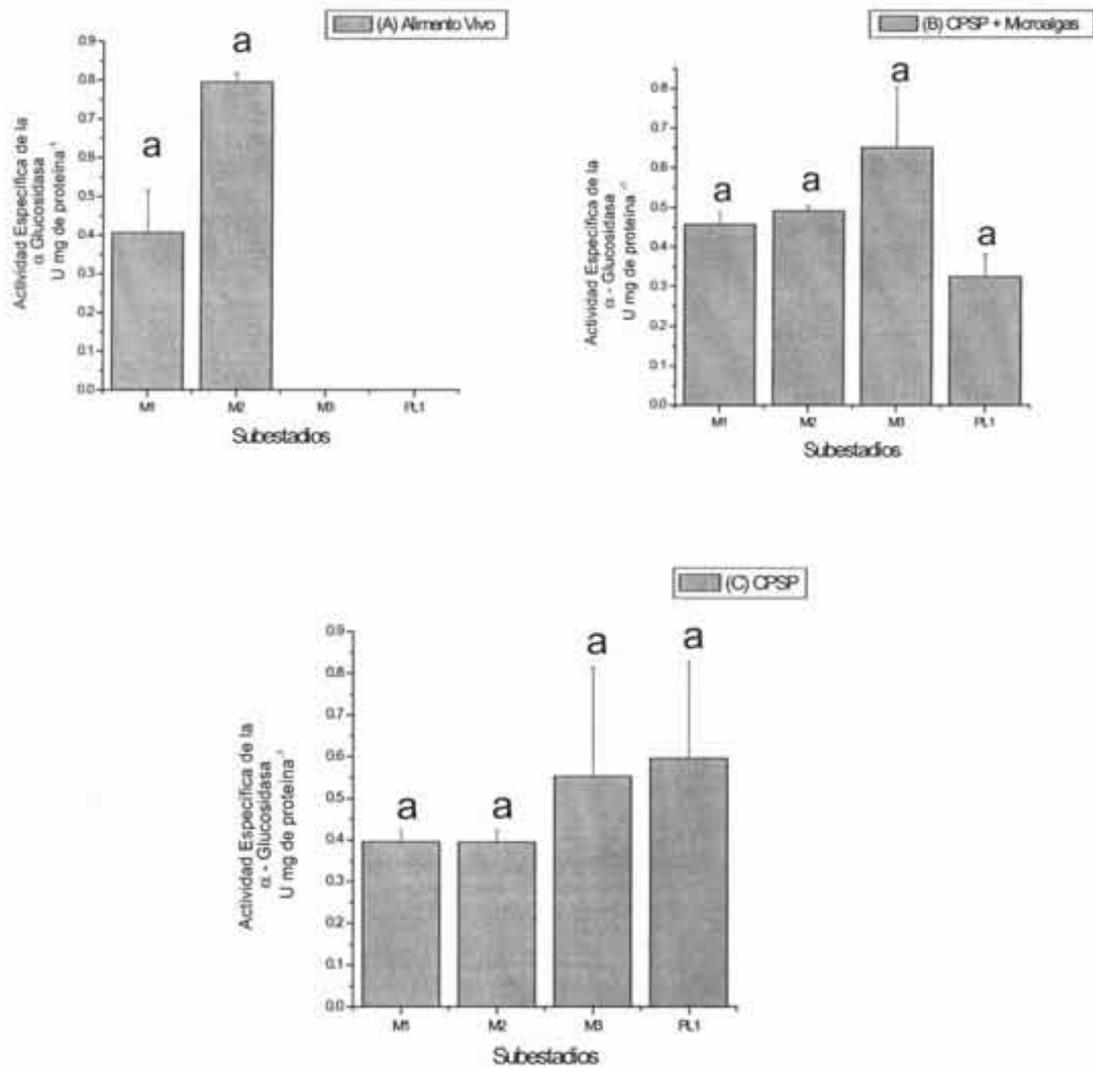


Fig. 10b. Evolución ontogenética de la actividad específica de α -Glucosidasa de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p < 0.05$).

La actividad específica de la α -Amilasa ($\text{U mg de proteina}^{-1}$) fue afectada significativamente por los tratamientos en los primeros subestadios de Mysis ($p < 0.05$). Una actividad significativamente menor fue observada en M_1 en las larvas alimentadas únicamente con la dieta artificial en relación al resto de los tratamientos, $1 \pm 0.3 \text{ U mg de proteina}^{-1}$ y $0.55 \pm 0.04 \text{ U mg de proteina}^{-1}$ para los tratamientos A y B respectivamente ($p < 0.05$). En M_{II} una actividad significativamente menor fue observada en las larvas alimentadas con las dietas CPSP + Microalgas $0.42 \pm 0.06 \text{ U mg de proteina}^{-1}$ en relación al resto de los tratamientos ($p < 0.05$) (Fig. 11a).

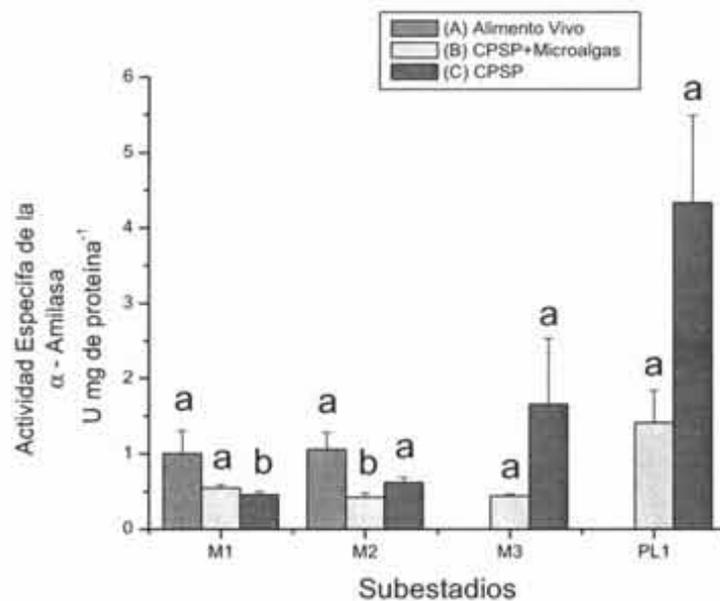


Fig. 11a. Actividad específica de la α -Amilasa de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteina}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la actividad específica de la α -Amilasa ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas se observa en la Fig. 11b. Los diferentes subestadios larvales analizados de los tratamientos A y B no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$). Diferencias en la actividad fueron observadas en las larvas alimentadas con la dieta artificial sola CPSP. La mayor actividad fue observada en PL_1 (4.34 ± 1.20), seguida por M_{III} (1.70 ± 0.90) ($p>0.05$). Una actividad significativamente menor fue observada en M_I (0.50 ± 0.05) (Fig. 11b).

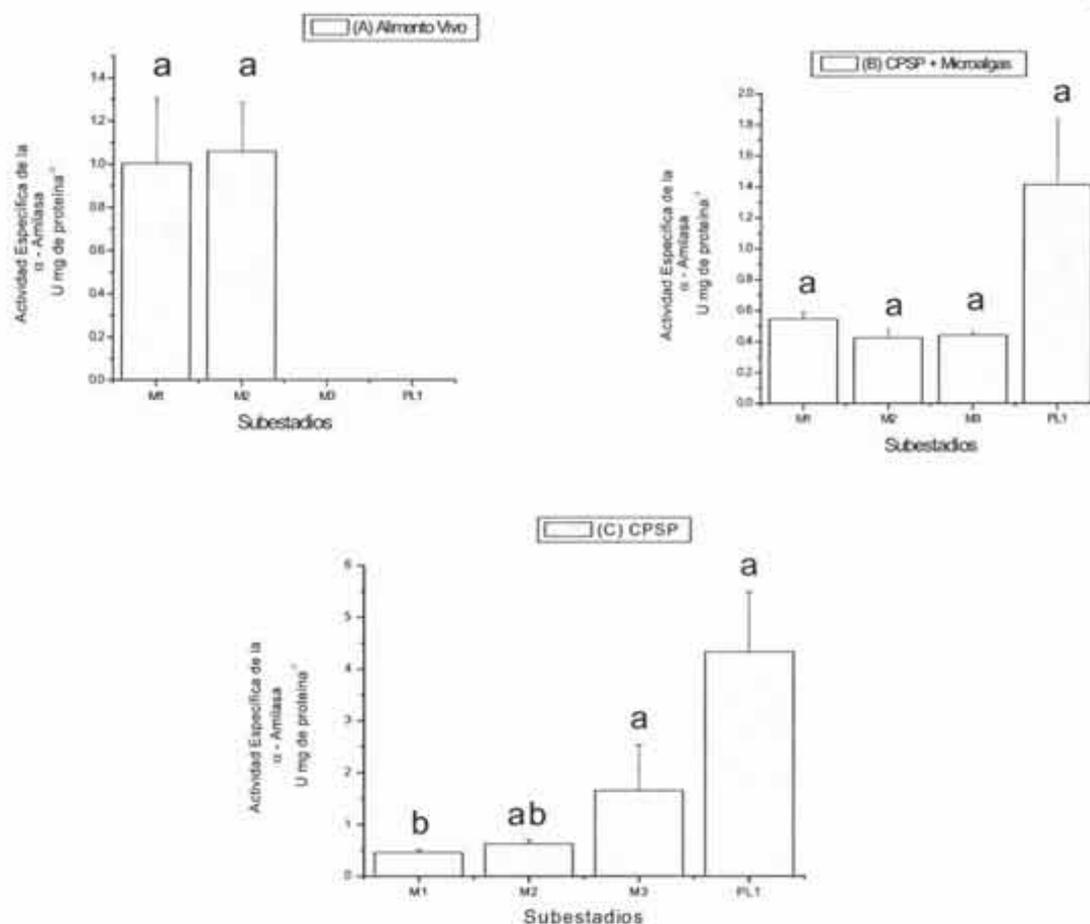


Fig. 11b. Evolución ontogenética de la actividad específica de la α -Amilasa de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\text{U mg de proteína}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre subestadios de cada tratamiento ($p<0.05$).

La razón α -Amilasa: Proteasas Totales de las larvas de *L. vannamei* se observa en la Fig. 12a. solo se visualizaron diferencias estadísticas entre los tratamientos en los subestadios de M_{II} y M_{III}. Una mayor razón por parte de las larvas del tratamiento C (CPSP) fue observada en estos subestadios en relación al resto de los tratamientos ($p < 0.05$). En M_{III} el grupo dietético C un valor de 0.03 ± 0.008 resultó significativamente mayor al estimado para las larvas del tratamiento B (0.006 ± 0.0005) ($p < 0.05$) (Fig. 12a).

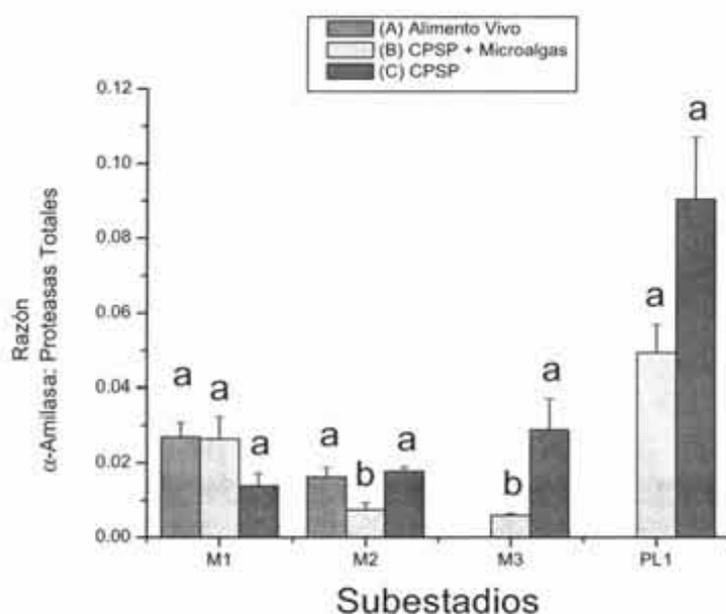
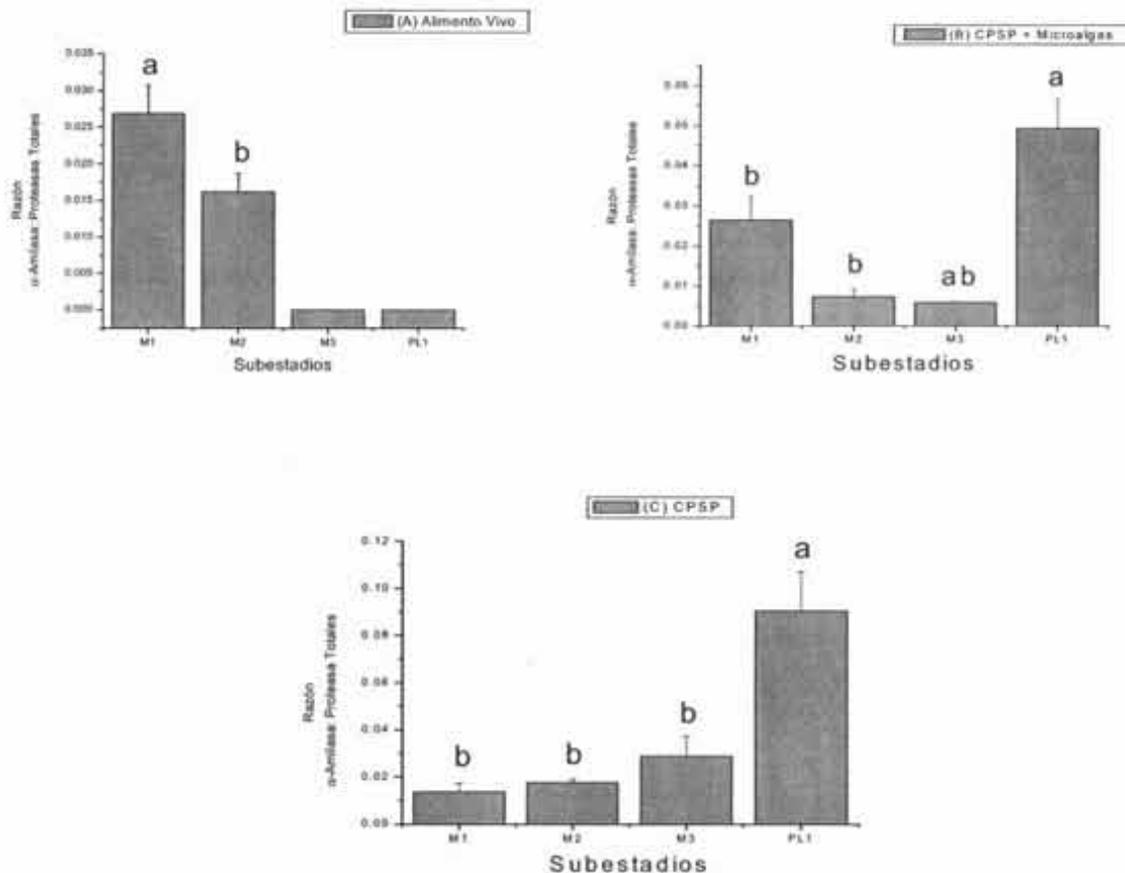


Fig. 12a. Razón α -Amilasa: Proteasas Totales de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas; (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la razón α -Amilasa: Proteasas Totales de las larvas de *L. vannamei* se observa en la Fig. 12b. Con el tratamiento de alimento vivo (A), la razón estimada para las M_I (0.03 ± 0.004) resultó significativamente mayor a M_{II} (0.02 ± 0.003) ($p < 0.05$). Para las larvas del tratamiento CPSP + Microalgas (B), las PL_I (0.05 ± 0.008) mostraron una razón significativamente mayor ($p < 0.05$) a las M_I (0.03 ± 0.006), quienes presentaron el menor valor de la razón α -Amilasa: Proteasas Totales ($p < 0.05$). En cuanto a la razón estimada para las larvas alimentadas con la dieta artificial sola (C), los valores para PL_I (0.09 ± 0.02) resultaron estadísticamente mayores a los observados para M_{III} (0.03 ± 0.008), M_{II} (0.02 ± 0.001), y M_I (0.01 ± 0.003), los cuales no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre sí (Fig. 12b).



Figs. 12b. Evolución ontogenética de la Razón α -Amilasa: Proteasas Totales de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La concentración de Proteína Soluble en larvas de *L. vannamei* se muestra en la Fig. 13a. Mayores contenidos de proteínas soluble fueron observados en los subestadios de M_{II} (12.57±1.10) y M_{III} (12.59±1.07) por las larvas mantenidas con la dieta artificial CPSP +Microalgas con respecto al resto de los tratamientos (p<0.05) (Fig. 13a).

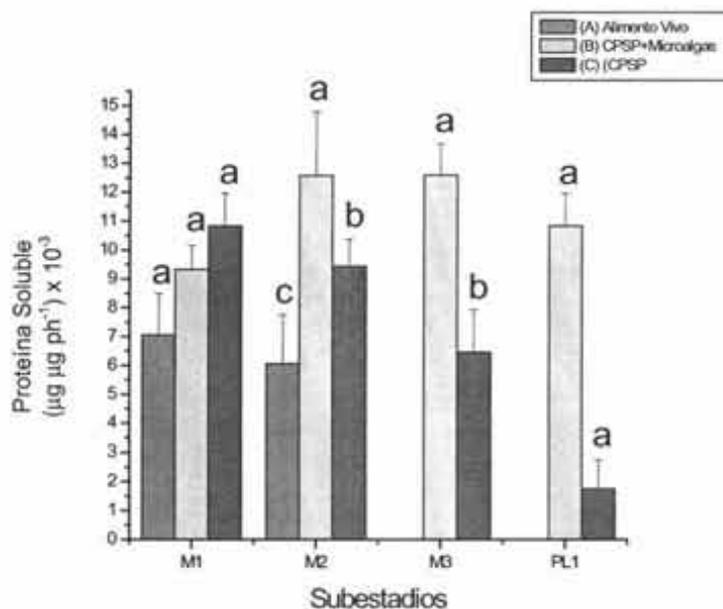
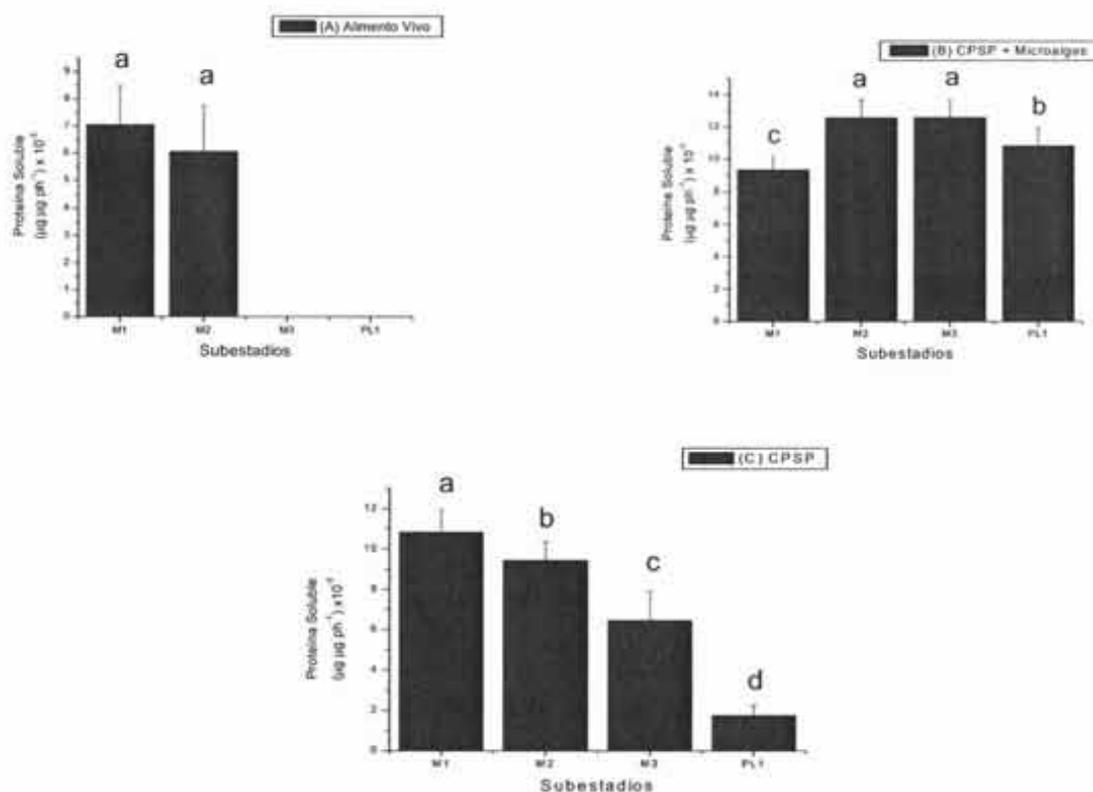


Fig. 13a. Contenido de Proteína Soluble de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la concentración de Proteína Soluble en las larvas de *L. vannamei* se muestra en la Fig. 13b. Mayores concentraciones de proteína soluble fueron observadas en los subestadios de M_I y M_{II} en las larvas mantenidas con alimento vivo en relación al resto de los subestadios analizados ($p < 0.05$). En el grupo dietético (B) CPSP + Microalgas, los subestadios de M_{II} (12.57 ± 1.10) y M_{III} (12.60 ± 1.07) no presentaron diferencias significativas entre ellos, mientras que la concentración en PL₁ (10.83 ± 1.23) resultó menor significativamente. La menor concentración se observó en M_I (9.32 ± 0.83). Con respecto a la actividad observada en las larvas mantenidas con la dieta artificial sola CPSP, una disminución significativa entre cada uno de los diferentes subestadios del desarrollo fue observada ($p < 0.05$), siendo (10.83 ± 1.12) donde se observó la mayor concentración, mientras que en PL₁ (1.80 ± 0.50) se obtuvo la menor cantidad de proteína soluble (Fig. 13b).



Figs. 13b. Evolución ontogenética de la Proteína Soluble alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La concentración de las reservas de Colesterol en las larvas de *L. vannamei* no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los diferentes tratamientos (A, B y C) en los subestadios de M_I y M_{II} y se presentan en la Fig. 14a. En M_{III} se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos, siendo las larvas del tratamiento B (0.99 ± 0.14) las que presentaron la mayor concentración, seguida del tratamiento C (0.38 ± 0.11). En PL₁ las larvas del tratamiento C (1.65 ± 0.02) presentaron la mayor concentración de Colesterol seguida del tratamiento B (1.59 ± 0.58) ($p < 0.05$) (Fig. 14a).

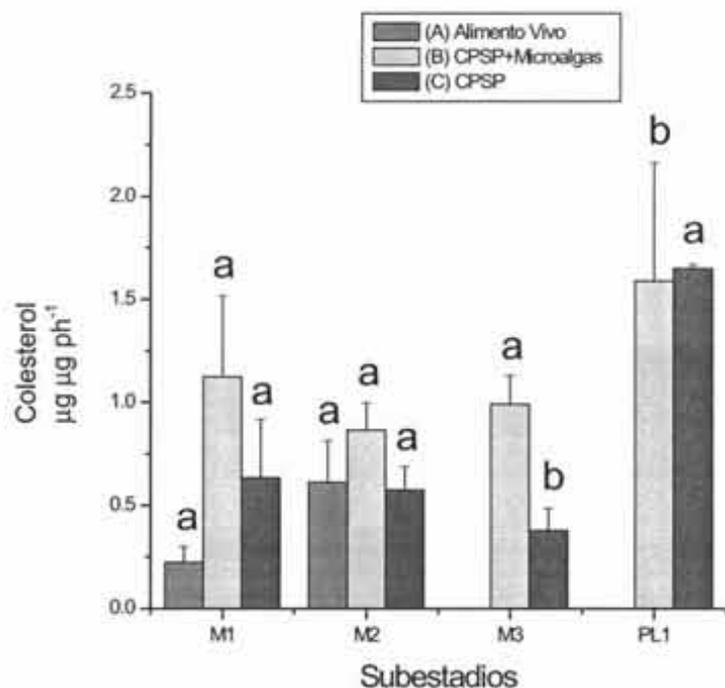
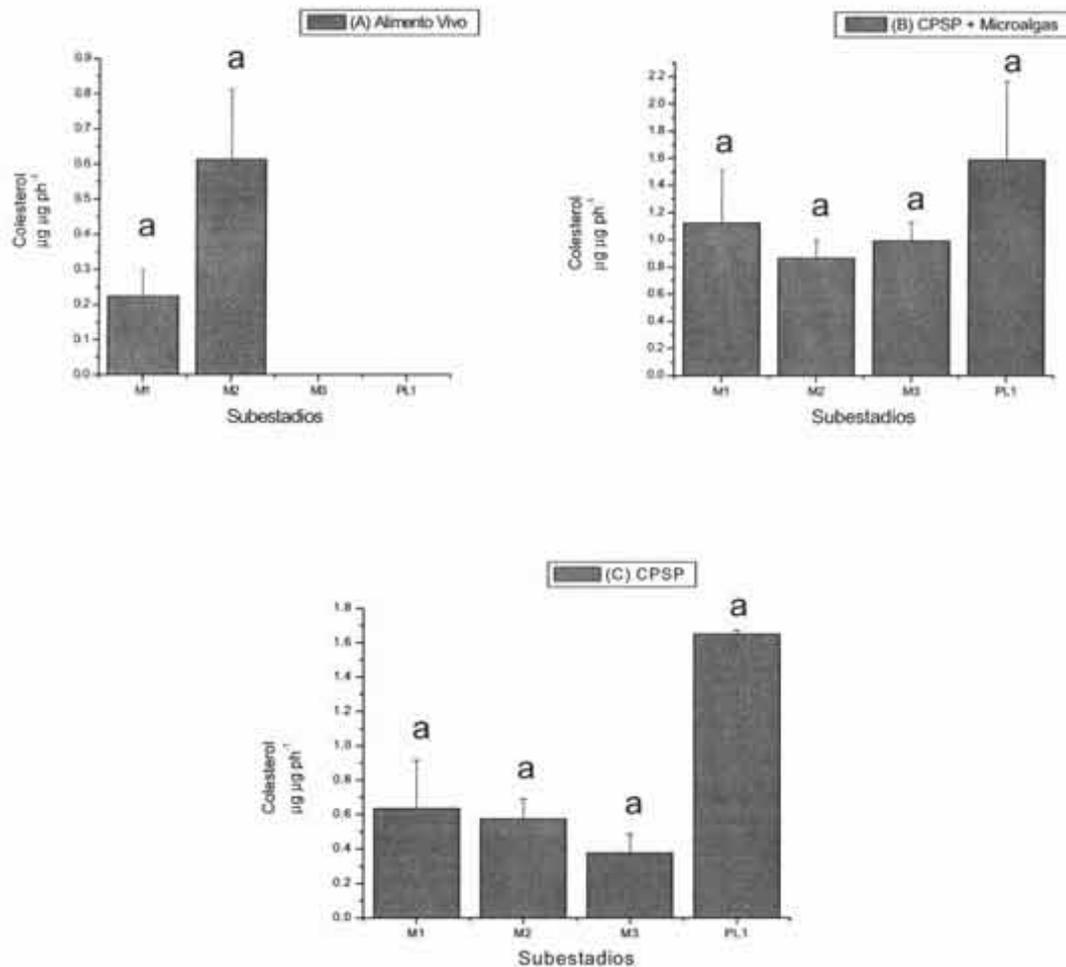


Fig. 14a. Reservas de Colesterol alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la concentración de las reservas de Colesterol en las larvas de *L. vannamei* se observan en la Fig. 14b. La prueba estadística no mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos de alimentación ($p > 0.05$) (Fig. 14b).



Figs. 14b. Evolución ontogenética de las Reservas de Colesterol alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g } \text{ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La concentración de Acilglicéridos de las larvas de *L. vannamei* presentó diferencias significativas en M_I, M_{II} y M_{III} ($p < 0.05$) entre los tratamientos de alimentación. En M_I el tratamiento B (1.20 ± 0.03) y C (1.22 ± 0.09) no son diferentes significativamente ($p > 0.05$), mientras que A (0.37 ± 0.10) es significativamente menor ($p < 0.05$). En M_{II} las larvas de los grupos dietéticos B (1.40 ± 0.04) y C (1.12 ± 0.12) no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre ellas, mientras que las del tratamiento C (0.71 ± 0.15) presentaron la menor concentración. En PL₁, no hubo diferencias significativas entre los dos tratamientos evaluados (B y C) ($p > 0.05$) (Fig. 15a).

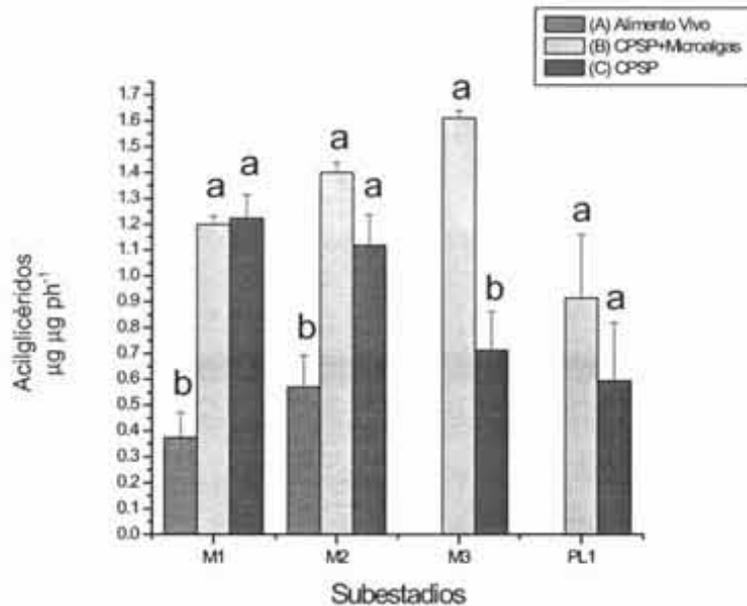


Fig. 15a. Reservas de Acilglicéridos alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g } \text{ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética en la concentración de Acilglicéridos de las larvas de *L. vannamei* se observan en la Fig. 15b. Las larvas del tratamiento (A) Alimento vivo, no presentó diferencias significativas ($p>0.05$) entre los subestadios de M_I y M_{II} . Las del tratamiento (B) CPSP + Microalgas, mostraron diferencias significativas ($p<0.05$) entre los subestadios, teniendo la mayor concentración en M_{III} (1.61 ± 0.03), mientras que las menores concentraciones fueron registradas en los subestadios de M_I (1.23 ± 0.099) y PL_1 (0.91 ± 0.25) ($p<0.05$). En el grupo dietético (C) CPSP, no se observó diferencias significativas ($p<0.05$) entre los subestadios analizados (Fig. 15b).

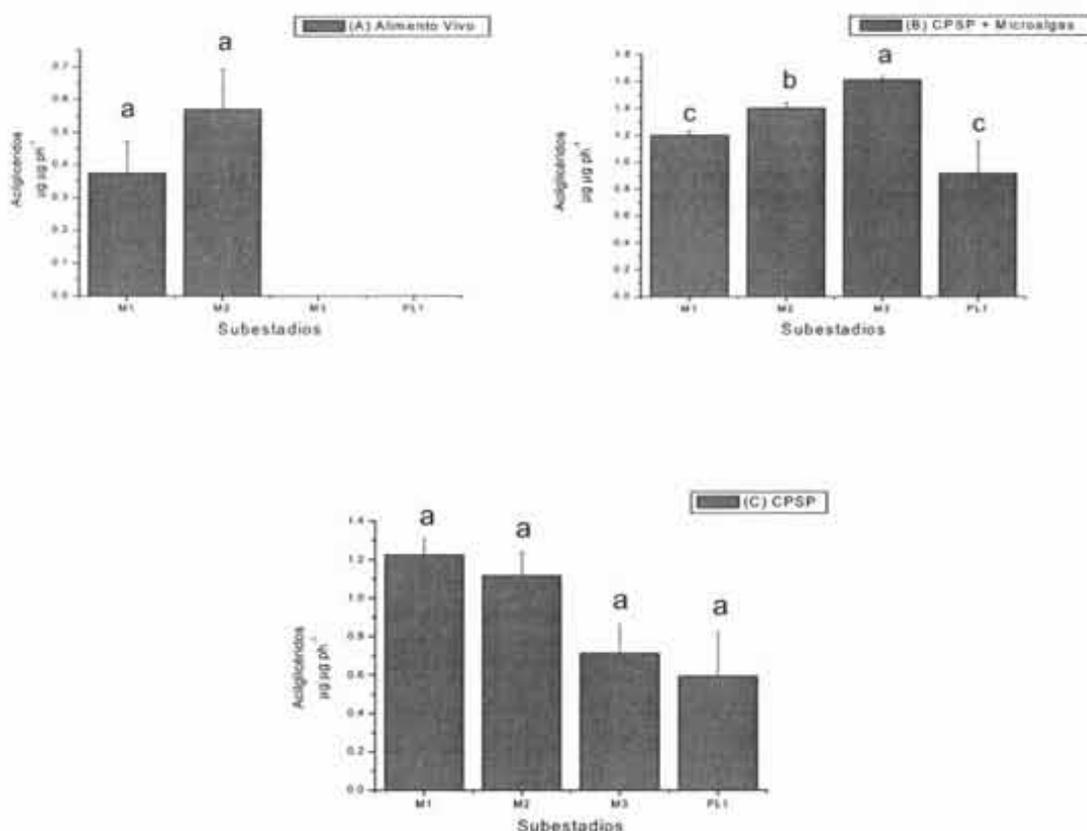


Fig. 15b. Evolución ontogenética de las Reservas de Acilglicéridos alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p<0.05$).

La razón Colesterol: Acilglicéridos de las larvas de *L. vannamei* se observa en la Fig. 16a. No presentó diferencias significativas entre los tratamientos (A, B y C) en cada subestadio analizado ($p > 0.05$) (Fig.16a).

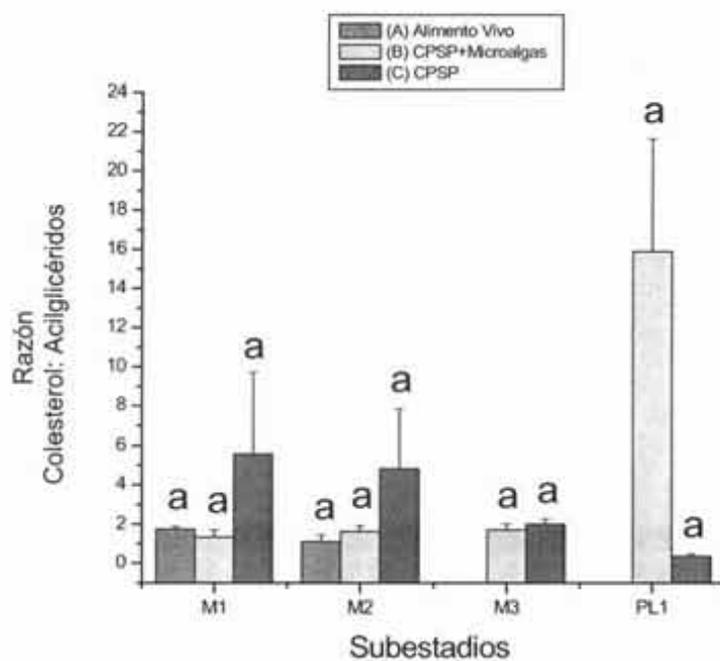


Fig. 16a. Razón Colesterol: Acilglicéridos alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p < 0.05$).

La evolución ontogenética de la razón Colesterol: Acilglicéridos de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con las diferentes dietas se observa en la Fig. 16b. Las larvas mantenidas con las dietas de los tratamientos A y B no mostraron diferencias significativas durante el desarrollo ($p>0.05$). Un valor promedio mayor de la razón colesterol: acilglicéridos en las larvas del tratamiento C (CPSP), fue obtenido en M₁ (5.58 ± 4.14) en relación a los demás subestadios ($p<0.05$) (Fig. 16b).

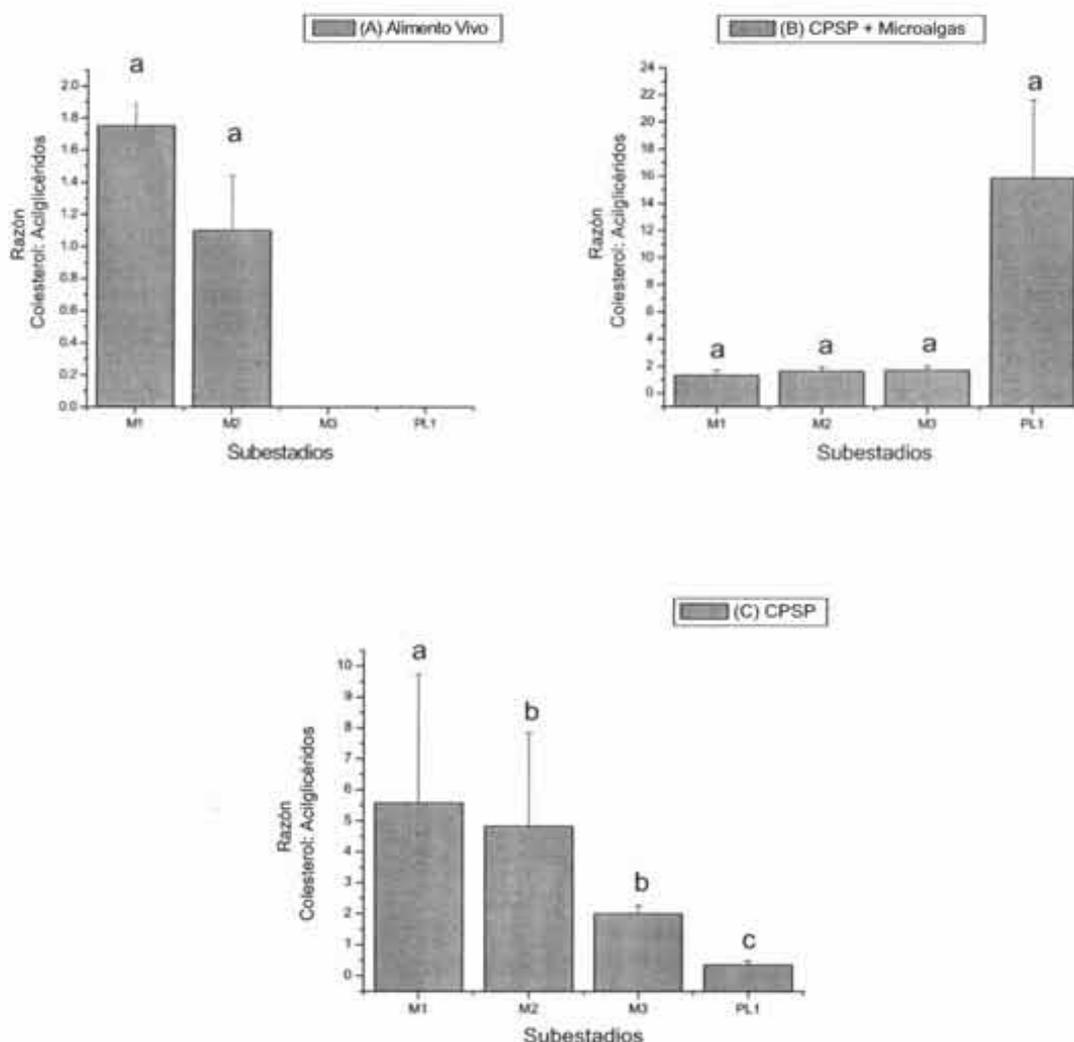


Fig. 16b. Evolución ontogenética de la Razón Colesterol: Acilglicéridos alimentadas con diferentes dietas: (A) Alimento vivo, (B) CPSP + Microalgas y (C) CPSP. Promedio ($\mu\text{g } \mu\text{g } \text{ph}^{-1}$) \pm E.S. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamiento de cada subestadio ($p<0.05$).

10. Discusión

Como se puede apreciar (Tab. 5), los valores promedio de los parámetros fisicoquímicos registrados durante el experimento se encontraron dentro de los rangos óptimos reportados para el cultivo de las larvas de peneidos en general (Smith et al., 1993), así como las especies de *Litopenaeus schmitti* y *Farfantepenaeus notialis* (Alfonso et al., 1993) y de *L. setiferus* (Gallardo, 1994; Rosas, 1995).

Si bien la supervivencia y el crecimiento de las larvas son influenciadas por las condiciones del medio, donde se relacionan los factores de temperatura, salinidad, oxígeno y turbidez, de los cuales la temperatura y la salinidad son afectadas por el entorno, mientras que el oxígeno y la turbidez son modificados por la población larvaria, el alimento juega un papel crucial tanto en la cantidad como en la calidad del mismo (Licop, 1984; Chu y Ovsianico-Koulikovski, 1994; Villarreal et al., 1994; Rosas et al., 1997). De las condiciones del medio, la temperatura es el parámetro que más influye sobre el crecimiento y el desarrollo. Así, se ha observado que a temperaturas mayores de 28°C se acelera el desarrollo de las larvas, mientras que a temperaturas menores se presenta un retraso en la metamorfosis de las larvas (Alfonso et al., 1988). La salinidad afecta en menor proporción que la temperatura en el crecimiento y desarrollo de las larvas (Brito et al., 2000). Lester y Pante (1992) mencionan que las larvas de *P. plebejus* obtuvieron una mejor supervivencia cuando la temperatura se encontró entre 19 y 29°C con salinidades entre 30-35 ppm.

Un aspecto importante en el análisis del crecimiento, es desde la perspectiva de indicador nutrimental, que evalúa la calidad de la dieta. Este indicador se estimó con la Tasa Específica de Crecimiento (TEC) que permite visualizar el tiempo (días) que tardan las larvas en alcanzar tallas y pesos ante un determinado régimen de alimentación (Gallardo, 1994). En este sentido, en el presente estudio, la TEC en longitud de las Mysis alimentadas con la microcápsula con microalgas (B) ($9.5 \pm 0.3 \mu\text{día}^{-1}$) y la microcápsula sola (C) ($7.7 \pm 0.1 \mu\text{día}^{-1}$) son significativamente menores a las estimadas para las Mysis mantenidas con el alimento vivo (A) ($10.3 \pm 0.2 \mu\text{día}^{-1}$). Al comparar el crecimiento en longitud de las larvas expuestas al alimento vivo y la microcápsula acompañada de microalgas (B) (Fig. 1) la cercanía de estos valores, quizá refleja un contenido proteico por

parte de la microcápsula CPSP acompañada de microalgas, suficiente para tratar de igualar al aporte proteico dado por los nauplios de *Artemia* ofrecidos en el tratamiento de alimento vivo (Tab. 6). A su vez, el crecimiento de las larvas expuestas a la microcápsula sola (C) declinó significativamente y aunado a esto, una disminución significativa en la supervivencia, de más de un 30 % (Fig. 3), quizá signifique que la microcápsula por si sola presentó una deficiencia en nutrientes, por lo que no logra sustituir totalmente al alimento vivo (microalgas y nauplios de *Artemia*).

Los autores Kanazawa y Teshima (1981) determinaron que las larvas de *M. japonicus* requieren de 10 aminoácidos esenciales, cuya deficiencia en las dietas genera bajos crecimientos. Ahora ya se han determinado los aminoácidos esenciales para algunos invertebrados y han sido identificados: la arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Aunado a esto, se da la participación de otros dos aminoácidos, la cisteína y la tirosina. Donde la cisteína al ser sintetizada forma metionina, y la tirosina que es fundamental en la síntesis de fenilalanina (Zandee, 1966). Ambos resultantes son aminoácidos esenciales en la obtención de buenos crecimientos en las larvas de camarones.

En el presente estudio, se tomó como referencia la composición aminoácídica de los juveniles de camarón blanco *L. vannamei*, (Tacon, 1990) para realizar el cómputo químico (Tabla 10) de la dieta artificial utilizada en este trabajo, en si este cómputo químico consiste en la relación entre el contenido de aminoácidos de la dieta y la composición de aminoácidos del organismo y sirve para establecer si la dieta cumple con los requerimientos de aminoácidos que el organismo requiere (Lim, 1993).

Tabla 10. Composición aminoacídica de la microcápsula y cómputo químico usando como proteína de referencia el músculo de la cola de *L. vannamei* g/100 g para juveniles.

a.a.	% a.a./total de a.a.	Músculo de la cola de camarón	Cómputo químico (%).
ASP	10.04		
GLU	15.9		
SER	5.24		
HIS	1.8	1.9	95
GLY	8.5		
ALA	6.9		
TYR	2.6		
MET	2.0	2.6	77
VAL	4.5	3.8	119
TRP	0.7	1.1	66**
PHE	3.8	3.6	106
ILE	3.9	3.6	107
LEU	7.8	6.5	119
LYS	7.6	6.4	118
THR	4.8	3.4	142
CYS	0.4		62*
ARG	6.0		81

* Primer aminoácido limitante

** Segundo aminoácido limitante

Al visualizar los resultados del cómputo químico nos encontramos con 2 aminoácidos limitantes, el primero es la cisteína y el segundo es el triptófano, siendo ambos aminoácidos esenciales e indispensables para la formación de una mayor cantidad de proteína que es utilizada para la formación de nuevos tejidos que irán incorporando en sus cuerpos los camarones (D'Abramo et al., 1997). Esto podría explicar por qué se presentaron menores crecimientos en longitud en las larvas expuestas a la dieta con hidrolizado más microalgas (B), y a la microcápsula sola (C), en relación al crecimiento observado en las larvas mantenidas con el alimento vivo.

Por lo anterior se piensa que quizás las dietas deben incluir elementos altamente digeribles y / o que estimulen la secreción de enzimas digestivas. Razón para utilizar alimentos artificiales acompañados de microalgas, ya que se sabe que estas poseen sustancias que estimulan la actividad enzimática e incrementan la digestión (tratamiento B) (Lee-Shing y Bon-Ning, 1992).

A pesar del desbalance aminoácido que presentó la microcápsula que se reflejó en la disminución del crecimiento en longitud de las dietas con el hidrolizado (B y C), y el decremento de la supervivencia del tratamiento C, no se vieron afectados los resultados de crecimiento en peso, índice de desarrollo e índice de calidad, de las larvas expuestas a las dietas B y C que sustituyeron al alimento vivo. Por ello se puede considerar que la microcápsula acompañada de microalgas no pone en peligro la vida de las larvas.

En cuanto al crecimiento en peso registrado por las larvas del presente estudio, en donde un valor promedio de las tres dietas ($10.7 \pm 0.9 \mu\text{g día}^{-1}$) puede ser estimado al no presentarse diferencias estadísticas entre ellas, permite pensar que la microcápsula con hidrolizado CPSP, sí dió el mínimo de proteína para que las larvas de los tratamientos B y C obtuvieran crecimientos en peso similares a las *Mysis* expuestas al alimento vivo (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis chuii* y *Artemia*) (Fig. 2).

Se sabe que las proteínas de origen animal son las más usadas en la alimentación del camarón. La harina de pescado se encuentra en casi todas las dietas comerciales, debido a que es muy atrayente, digestiva y rica en aminoácidos esenciales, como la lisina y otros aminoácidos básicos. Sin embargo se debe tener mucho cuidado con su calidad; una buena harina de pescado debe de tener pocos lípidos y cenizas, además de un bajo índice de peroxidación de lípidos y no debe de contener histamina. Aun las mejores harinas de pescado no deben de ser incluidas en niveles que excedan un 40 % (en el caso de dietas para *Litopenaeus vannamei*), para que no haya una depresión del crecimiento. Sin embargo, las razones de este efecto no son bien conocidas (Cruz Suárez et al., 1987).

Considerando lo observado por Cruz Suárez et al., (1987) y de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio en lo referente a una depresión del crecimiento en longitud, quizá se deba a que la microcápsula CPSP 65 % de proteína, sea mucho hidrolizado, lo cual es proteína parcialmente digerida y sin embargo las larvas no le pueden sacar mucho provecho como se pensaría y posiblemente una causa adicional por la cual no se obtuvieron buenos crecimientos en longitud. (Fig. 1). Afirmando lo anterior tenemos a Brito (2002) quién reportó buenos crecimientos en longitud ($3.8 \pm 0.1 \mu\text{ día}^{-1}$) y peso ($11.7 \pm 0.75 \mu\text{g día}^{-1}$) para *L. vannamei*, derivados de la dieta CPSP con un nivel de inclusión del 15 al 16 % de proteína.

Una forma de medir la tasa de metamorfosis de las larvas es a través del índice de desarrollo (Villegas & Kanazawa, 1979), la cual es afectada directamente por la temperatura, y de igual manera se encuentra influenciada por la calidad del alimento suministrado a las larvas. Con base en lo anterior en el presente estudio, se analizó el índice de desarrollo de las larvas de *L. vannamei* observando que cada 24 horas se presentó la metamorfosis de manera simultánea en los 3 tratamientos. Lo que pone en evidencia la disponibilidad de aminoácidos por parte de la microcápsula CPSP, generando así, una buena digestión y por tanto una alta asimilación de los aminoácidos requeridos para la síntesis de proteínas que conforman los tejidos para el crecimiento de los organismos. Resultado que se comparó con Brito (2002) quién reportó valores muy cercanos con la dieta CMCPSP con respecto al alimento vivo. Por lo que en este sentido los diferentes tratamientos no modificaron de manera directa la metamorfosis. Al respecto, Liao et al., (1969) menciona que la metamorfosis también implica cambios muy drásticos, que son tanto morfológicos, como fisiológicos y bioquímicos, y en cada uno de estos puntos se ve reflejado los requerimientos nutricionales que son necesarios y diferentes en cada subestadio larvario.

Es importante hacer referencia un estudio reciente de Gallardo (2000), quien presentó índices de desarrollo con alimentos microencapsulados y microparticulados en *L. setiferus* de M₁ a PL₁ de 96 a 120 h respectivamente. Resultados similares fueron reportado por Durruty (2001) para larvas de *L. vannamei* y *L. setiferus* de 120 y 72 h respectivamente, expuestas a dietas microparticuladas. Este mismo comportamiento se visualizó en el ID del presente estudio para *L. vannamei* de P_{III} a PL₁ de 120 h con la microcápsula CPSP 65 % de proteína, sustituyendo a los nauplios de *Artemia*. Estos resultados muestran que la exposición de las larvas a las dietas artificiales no alteran el ID, comparado con el que se dió en las larvas alimentadas con alimento vivo (microalgas y *Artemia*) (Tab. 8).

La supervivencia es otro indicador que se encontró directamente influenciado por el tipo de alimento. Como se puede apreciar en los resultados del presente estudio, los tratamientos A y B presentaron un promedio de (74.4±1.2 %) de supervivencia, sin diferencias significativas. Esto pone en evidencia que la microcápsula (CPSP 65 % de proteína) acompañada de microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chuii*) resultó benéfica para las larvas de *L. vannamei*. En contraparte el tratamiento C (la microcápsula sola) presentó un valor (29.3±0.4 %) muy por debajo de los otros tratamientos (Fig. 4).

Esto se puede explicar a partir de que fueron pocas las microcápsulas de CPSP suministradas a las larvas de *L. vannamei*, lo que generó competencia entre los organismos, razón para que solo las larvas que pudieron digerir y asimilar la microcápsula CPSP, lograron sobrevivir al subestadio de PL₂. Quizá este resultado tan pequeño pueda deberse a que la cantidad de la dieta fue insuficiente originándose así la competencia por las partículas alimenticias (CPSP), entre las Mysis razón para que solo las larvas que pudieran digerir y asimilar la microcápsula lograron sobrevivir al subestadio de PL₂.

Con los resultados obtenidos en este estudio, se muestra que las larvas de *L. vannamei* pueden crecer, desarrollarse y sobrevivir con alimentos artificiales en sustitución de los nauplios de *Artemia*, de igual manera que lo reportado en otros trabajos con microparticulados y microencapsulados en *L. setiferus* por Gallardo (2000) y microencapsulados en *L. vannamei* por Brito (2002) y Martínez (2002).

En cuanto al índice de calidad del presente estudio, es comparable a lo reportado por Martínez (2002), quién utilizó dos microcápsulas con conteniendo hidrolizado de krill, obteniendo I.C. de 83 % y 64.9 %. De la misma manera Brito (2002) menciona 87.9 % de IC con una microcápsula conteniendo hidrolizado CMCPSP y 75.9% de IC con la misma dieta sin hidrolizado. Estos resultados han sido superados en el presente estudio por las dietas que incluían al hidrolizado, obteniendo un valor promedio de ambas dietas de 99.3 % de IC (Fig. 5). Considerando lo anterior se puede mencionar que las larvas del presente estudio, se encontraban en una condición fisiológica tal que les permitió resistir muy bien el cambio de salinidad al que fueron expuestas.

Otro de los elementos evaluados es la ingestión de alimento, de la cual las larvas adquieren energía que es almacenada y transformada de acuerdo a su uso (Durruty, 2001). Los camarones emplean parte de esta energía en el crecimiento, la muda y en la respiración, esta última estimada por el consumo de oxígeno y que refleja el costo metabólico asociado a la ingestión y asimilación del tipo de alimento (Kurmaly et al., 1989; Rosas et al., 1995).

Los autores afirman que son pocos los estudios enfocados en analizar la relación entre el consumo de oxígeno y la dieta o el estado nutricional de los primeros estadios larvales en peneidos (Kurmaly et al., 1989; Chu y Ovsianico-Koulikowsky, 1994; Rosas et al., 1995).

Además el consumo de oxígeno valorado durante el desarrollo larval, bajo condiciones controladas puede ser usado como un indicador de la condición fisiológica que presentan las larvas ante las diferentes dietas.

El consumo de oxígeno es una respuesta metabólica en la que se ha observado en el presente estudio, una tendencia a disminuir, conforme al avance del desarrollo larvario sin dejar de ser constante en los tratamientos A y B, mientras que en las PL₁ del tratamiento C se visualizó una disminución drástica a $1.20 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$ (Tab.9). Brito (2002) reporta para las larvas de *L. vannamei* una tasa respiratoria que tiende a incrementarse en la dieta del alimento vivo hacia $0.82 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$, mientras que con las dietas microencapsuladas tanto con CPSP y calamar se presentan valores de 0.36 a $0.44 \mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g larva}^{-1}$ respectivamente para PL₁.

Este comportamiento del descenso de la tasa de consumo de oxígeno quizá refleja un gasto metabólico derivado del proceso de ingestión, asimilación y absorción de las diferentes dietas (A, B y C). La constancia de los valores del tratamiento B con respecto a los del tratamiento A en PL₁, pudiera reflejar un menor gasto de energía. Por tanto se refuerza que la dieta microencapsulada implica un menor gasto metabólico para generar crecimientos similares a cuando se utilizan, nauplios de *Artemia*.

Por otro lado, las PL₁ del tratamiento C presentaron una tasa respiratoria 3 veces menor a la observada en otros tratamientos, por lo cual podría pensarse que no hubo un almacenamiento de energía que le permitiera a los organismos llevar a cabo sus procesos fisiológicos adecuadamente y repercutiera en su crecimiento y supervivencia hacia la fase de postlarva. Esto podría, evidenciar que la microcápsula conteniendo CPSP como único alimento, no es capaz de cubrir las necesidades energéticas de las larvas de *L. vannamei*.

De acuerdo con Loya-Jovellana (1989), el comportamiento de las larvas hacia la dieta y su densidad es un factor crítico que afecta la alimentación y define las condiciones ideales del cultivo. Desde la perspectiva anterior el comportamiento puede ser valorado durante el desarrollo larvario a través de la tasa de ingestión definida por Paffenhoffer (1971) como la cantidad de alimento consumido por la larva por unidad de tiempo.

Uno de los objetivos del presente estudio fue comprobar si la microcápsula CPSP funcionó como sustituto de la *Artemia*. Por ello se comparó la tasa de ingestión de microalgas de los tratamientos A y B. La tasa de ingestión de la diatomea *Chaetoceros gracilis* presentó en general solo diferencias significativas en PL₁, siendo el tratamiento A con un valor promedio mayor (70416.7 cel h⁻¹larva⁻¹), además de que el alimento vivo siempre presentó valores por encima del tratamiento B en todos los subestadios (Fig.6 y Anexo 2).

A su vez, la tasa de ingestión del flagelado *Tetraselmis chuii* no presentó diferencias significativas tanto en la dieta A como en B. Esto refleja que las larvas en ambas dietas consumieron cantidades semejantes de ésta microalga. Además se visualizó un pico en M_{III} en la dieta A, debido quizás a la necesidad de las Mysis de obtener energía suficiente para realizar la metamorfosis a PL₁. En relación a lo anterior se puede considerar que el crecimiento, desarrollo y supervivencia que presentaron las larvas que se les sustituyó la *Artemia* (B), no resultaron de una ingestión mayor de microalgas (Fig.7, Anexo 3).

El mesenterón o intestino medio es un sitio que presenta las funciones de absorción de nutrientes del alimento digerido, la absorción de iones y el control del flujo de agua entre el lumen del intestino medio y la hemolinfa, la excreción de iones, la formación y secreción de membrana peritrófica, además de servir para la acumulación y el metabolismo tanto del calcio como del cobre y para la inactivación y destoxicación de metales tóxicos (Dall & Moriarty, 1983). Este intestino medio se conforma por un tronco medio y varios plegamientos (ciegos y ventrículos) que durante el desarrollo larvario darán lugar a la glándula digestiva presente en los adultos de los crustáceos. De acuerdo con algunos autores esta glándula es formada durante la ontogenia del aparato digestivo, en donde las larvas experimentan varias transformaciones como un par de ciegos anteriores que se ubican en la unión del estomoideo con el tubo del intestino medio y un par de ciegos laterales. (Lovett & Felder, 1989, 1990). El proceso digestivo en las larvas de camarones peneidos está estrechamente asociado a estas transformaciones y la maquinaria enzimática se vuelve más eficiente conforme el tubo digestivo se va desarrollando. Las enzimas digestivas por tanto, actúan de acuerdo a las transformaciones morfofisiológicas que van ocurriendo, además de los cambios en el comportamiento alimenticio al pasar durante la fase larvaria de hábitos completamente herbívoros a la omnivoría a partir de PZ_{III}.

Lovett & Felder, (1990); Jones et al., (1997) y Guzmán (1997) mencionan que las enzimas digestivas tienen como principal función hidrolizar las proteínas, péptidos, carbohidratos y lípidos del alimento; por tanto su análisis es una herramienta en el estudio de la nutrición.

Cordova-Murueta & García Carreño (2002) señalan que el camarón *L. vannamei* puede modular las secreciones enzimáticas de acuerdo al tipo de proteína ingerida, lo cual fue observado con las actividades enzimáticas evaluadas en el presente estudio.

Lee-Shing & Bon-Ning (1992) reportaron que la actividad de las proteasas durante el estadio de Nauplio para *P. monodon* era muy pobre, aumentando muy poco en el subestadio de Protozoa y siendo mayor después de arribar al estadio de Mysis. Asimismo, en este trabajo estos autores reportan que la actividad de tripsina y la quimotripsina muestran los valores más altos de actividad en el estadio de Mysis. Lovett & Felder, (1990), reportan dos patrones de cambio ontogenético en la actividad enzimática de larvas y postlarvas de *Litopenaeus setiferus*: 1) Proteasas, cuya actividad es baja en Nauplio N_v, incrementándose hasta un máximo para PZ_{III}, disminuyendo hasta un mínimo alrededor de PL₁, comportamiento que se mantiene hasta PL₇, con un incremento ligero durante el último estadio larval; 2) Amilasas, cuya actividad es relativamente baja en Nauplio N_v y se incrementan hasta un máximo en M_{II} para disminuir hasta un mínimo en postlarva PL₁ - PL₄.

La actividad de las proteasas totales es la que más se ha reportado (González et al., 1994; Lemos et al., 1999; Lovett & Felder, 1990; Fang & Lee, 1992), seguida por la tripsina que tiene una alta especificidad por la hidrólisis de ésteres y péptidos que involucran el grupo carboxilo de los aminoácidos. La tripsina representa por sí sola el 60% de la actividad de las proteasas del hepatopáncreas en los crustáceos peneidos, la importancia relativa de esta enzima es su especificidad hacia los aminoácidos básicos que son esenciales para la nutrición de los crustáceos (Cruz-Suarez, 1996). La quimotripsina recientemente ha sido identificada en las larvas de *L. vannamei* (Le Moullac et al., 1992), se caracteriza por no ser específica y su actividad usualmente es alta (Guillaume, 1997).

Como se puede apreciar, en las gráficas de bioquímica no se incluyó los valores de M_{III} y PL₁ para el tratamiento A debido a que las larvas de éste tratamiento murieron a la mitad

del experimento, provocado al cambiar las larvas de tina, la cual se rompió y logrando salvar la mayoría de las Mysis, pero sin poder evitar el estrés generado por ésta manipulación siendo así un factor determinante en la muerte de las larvas.

La actividad específica de las proteasas totales en el subestadio de M_I (38.87 ± 7.49 U mg de proteína⁻¹) en el tratamiento solo con la microcápsula, presentó un pico de actividad enzimática, el cual pudiera ser resultado de una inducción de la actividad de esta enzima por el hidrolizado de pescado. Se ha reportado que los hidrolizados proteicos contienen factores de crecimiento y que generan un efecto secretagogo el cual involucra además la secreción de enzimas digestivas y estimuladores del crecimiento como la gastrina y la colecistoquinina (Ravallec-Ple, 2000). Van Wornhoudt (1996) menciona que en los crustáceos se presentan hormonas tipo gastrina y colecistoquinina (CCK) las cuales se encuentran en las paredes del estómago. Estas hormonas aumentan la síntesis de enzimas digestivas en las zonas de producción y secreción (Van Wornhoudt, 1996). Sin embargo para el caso de las M_{II} , la actividad específica presentada por las dietas artificiales solas o en compañía con microalgas fue menor, resultando un valor promedio de ambos tratamientos de alimentación de 49.9 ± 6.7 U mg de proteína⁻¹, en relación a la actividad mostrada por las larvas mantenidas con alimento vivo (valor promedio 68.99 ± 16.31 U mg de proteína⁻¹) (Fig.7a).

En M_I y M_{II} la actividad específica de la quimotripsina en los tratamientos que incluían la microcápsula sola y/o acompañada de microalgas, (125.62 ± 40.16 mU mg de proteína⁻¹, 151.8 ± 55.4 mU mg de proteína⁻¹ respectivamente), presentaron valores más pequeños sin diferencias significativas, con respecto al alimento vivo estos mismos subestadios (212.09 ± 74 mU mg de proteína⁻¹) (Fig.8a). Estos valores menores en relación al observado con el uso de alimento vivo en las larvas de *L. vannamei* que presentaron las dietas con el hidrolizado pudieran estar asociados con las bajas tasas de crecimiento específico en longitud, promedio de ambas dietas (8.6 ± 0.2 μ día⁻¹) (Fig.1), además de la baja supervivencia que se obtuvo en el tratamiento que llevó solo la microcápsula, valor promedio ($29 \pm 0.4\%$) (Fig.4). Lo anterior también puede estar estrechamente relacionado con el desbalance aminoacídico de la dieta y que pudo haber influido en un desgaste metabólico importante para aprovechar al máximo el alimento ofrecido y por tanto repercutir en la supervivencia hacia PL_1 cuando la dieta artificial fue ofrecida como único alimento.

Así también, la actividad específica de la tripsina en el subestadio de M_I cuando fue utilizado alimento vivo (29.64 ± 3.7 U mg de proteína⁻¹) resultó más alto significativamente en relación a los otros tratamientos de alimentación. Sin embargo en M_{II} , una mayor actividad específica de esta enzima por las larvas alimentadas con la dieta artificial sola o acompañada de microalgas en relación a la observada cuando se utilizó alimento vivo, muestran una inducción de la actividad específica de la tripsina, que le permitió a los organismos aprovechar al máximo las entidades proteicas presentes en ambos regímenes de alimentación, que el caso del tratamiento de la dieta artificial con microalgas permitió a las larvas sobrevivir a PL_1 .

En la evolución ontogenética de la actividad específica de las proteasas totales en el subestadio de M_I , valor promedio (35.4 ± 5.5 U mg de proteína⁻¹) del alimento vivo, se da una disminución de la actividad enzimática. Este comportamiento se ha asociado a una regresión de los ciegos y divertículos del intestino medio, regiones del intestino que contribuyen con componentes esenciales del fluido digestivo que funcionan en la activación y secreción de las enzimas proteolíticas. Un aspecto importante en el análisis de la ontogenia, es desde la perspectiva en que M_{II} y M_{III} , valor promedio de ambos subestadios (70.5 ± 9.0 U mg de proteína⁻¹), de la dieta con el hidrolizado CPSP más microalgas, presentó un aumento en la actividad. Suceso semejante que se visualizó en el subestadio de Mysis, valor promedio (42.86 ± 8.6 U mg de proteína⁻¹), del tratamiento con el hidrolizado solo (Fig.7b).

Podría pensarse entonces que el hidrolizado CPSP presenta péptidos con acción secretagogo similares a la gastrina y colecistoquinina y que participan activamente en la fisiología digestiva durante las transformaciones morfológicas del tracto digestivo de las larvas de camarón (Lovett & Felder, 1990).

En la evolución ontogenética de la quimotripsina, en M_I , valor promedio (199.3 ± 81.8 mU mg de proteína⁻¹) del alimento vivo, presentó una disminución de la actividad enzimática. La actividad ontogenética del subestadio de Mysis, valor promedio (174 ± 49.6 mU mg de proteína⁻¹) en el tratamiento con la microcápsula y microalgas, se visualizó una disminución de la actividad. Resultado que coincide con la regresión de los ciegos y divertículos del intestino medio. En la actividad ontogenética de M_{III} , valor promedio (695.4 ± 297.4 mU mg de proteína⁻¹) de la dieta con el hidrolizado solo, se

observó un aumento en la actividad, que podría explicarse debido al efecto secretagogo (Fig.8b).

La evolución ontogenética de la actividad específica de la tripsina, en M_{II} , valor promedio (7.7 ± 1.5 U mg de proteína⁻¹), del alimento vivo, se observó una disminución de la actividad enzimática. Mientras que en la microcápsula con microalgas se visualizó un valor constante en el subestadio de Mysis, valor promedio (18.78 ± 3.8 U mg de proteína⁻¹). Y un pico de actividad en M_{III} , valor promedio (25.4 ± 7 U mg de proteína⁻¹) en las larvas con la microcápsula sola. Ambos casos con el hidrolizado CPSP resultados que hacen referencia a los efectos secretagogos (Fig. 9b).

Las carbohidrasas (la α -amilasa y la α -glucosidasa), evaluadas en este trabajo, son enzimas que digieren carbohidratos como el almidón, mismos que pueden usarse como fuente de energía, como reserva de glucógeno en la síntesis de quitina, en ácidos nucleicos y en la formación de esteroides y de ácidos grasos. Aunque la mayoría de las especies de camarón no son capaces de asimilar grandes cantidades de carbohidratos por su limitada digestión de almidones, su uso es recomendable, ya que puede ser una buena fuente de energía ahorrando cantidades de proteína (Cruz-Suarez, 1996).

Respecto a la α -glucosidasa en el subestadio de M_I , valor promedio (0.46 ± 0.03 U mg de proteína⁻¹), en la dieta que incluía el hidrolizado con microalgas, se visualizó el mayor valor, al compararse con el alimento vivo, valor promedio (0.41 ± 0.11 U mg de proteína⁻¹) y el tratamiento con la microcápsula sola, valor promedio (0.40 ± 0.03 U mg de proteína⁻¹), resultados que proyectan una inducción de la actividad enzimática por parte del hidrolizado acompañado de microalgas, donde se observó un comportamiento normal en la disminución de la actividad de la α -glucosidasa que es asociado a una regresión de los ciegos y divertículos del intestino medio (Lovett & Felder, 1990). En la actividad específica de M_{II} el valor más alto lo presentó el alimento vivo, valor promedio (0.80 ± 0.02 U mg de proteína⁻¹), al compararlo con las dietas que incluían el hidrolizado solo, valor promedio (0.49 ± 0.01) y/o acompañada de microalgas, valor promedio (0.40 ± 0.03 U mg de proteína⁻¹). Lo anterior constató que a las larvas se les permitió aprovechar de manera máxima la glucosa para la obtención de energía que utilizaron los organismos en los procesos fisiológicos, además de la obtención del glucogeno.

Tomando como referencia que la α -glucosidasa en los tratamientos que incluyeron la microcápsula con CPSP, comenzó a decaer la actividad a excepción de la dieta que incluía las microalgas en el subestadio de M_I , que mostró un pico en la actividad (Fig.10a), caso muy parecido al reportado por Brito (2002), ya que la actividad en sus dietas microancapsuladas (CPSP y calamar), tienden a disminuir paulatinamente hasta el subestadio de PL_1 , en un rango de 0.30 a 0.92 respectivamente.

La actividad específica de la α -amilasa es otra de las respuestas evaluadas en este estudio, reflejando el valor más alto en el subestadio de M_I y M_{II} , valor promedio, (1.03 ± 0.3 U mg de proteína⁻¹) del alimento vivo, con respecto a las dietas que contenían la microcápsula sola y/o acompañada de microalgas, promedio de ambas dieta (0.52 ± 0.16 U mg de proteína⁻¹) (Fig.11a). Probablemente el comportamiento de la α -amilasa se deba a que las larvas con alimento vivo necesitan de una mayor cantidad de energía para formar glucógeno como reserva de energía y glucosamina para formar quitina que se emplea en los procesos de metamorfosis, que no es aportada por la gluconeogénesis de la proteína animal, porque es utilizada para el crecimiento. Al respecto, es interesante resaltar que la respuesta de una enzima responde a fuentes de carbohidratos distintas. Al enfocarnos en los carbohidratos presentes en el alimento vivo que son fuentes ricas de energía, se ha evidenciado que las larvas van a echar a andar su maquinaria enzimática más intensamente para aprovechar al máximo cuidando siempre mantener un balance entre sus gastos y recuperación de energía. Si bien, las microalgas presentan una pared celular con celulosa además de otros carbohidratos, mientras que las dietas artificiales contienen almidón. En las larvas alimentadas con las dietas que incluyen la microcápsula, se mostró utilización limitada de los carbohidratos con lo que puede pensarse que estas larvas utilizaron en primera instancia el nivel alto de proteínas que se les proporcionó.

En la evolución ontogenética de la actividad específica de la α -glucosidasa en el subestadio de M_I (0.41 ± 0.1 U mg de proteína⁻¹) del alimento vivo, se visualizó una disminución de la actividad lo que hace referencia a un comportamiento normal. Para el subestadio de M_{III} , valor promedio (0.40 ± 0.03 U mg de proteína⁻¹), de la dieta con la microcápsula sola se visualizó un pico de actividad enzimática. Como se puede apreciar en M_{II} y M_{III} , valor promedio de ambos subestadios (0.48 ± 0.15 U mg de proteína⁻¹) un incremento de la actividad sin presentar diferencias significativas. Ambos valores pueden ser relacionados con los efectos secretagogos (Fig.10b).

El comportamiento de la evolución ontogenética de la actividad específica de la α -amilasa en los subestadios de M_I y M_{II} , valor de ambos subestadios (1.03 ± 0.3 U mg de proteína⁻¹), del alimento vivo, se mantuvo constante. En cambio la dieta con la microcápsula sola acompañada de microalgas en el subestadio de Mysis, valor promedio (0.47 ± 0.04 U mg de proteína⁻¹), permaneció con un valor pequeño, fue posible observar en el subestadio de PL_1 , valor promedio (1.41 ± 0.42 U mg de proteína⁻¹), un pico de actividad enzimática. En la actividad de la α -amilasa se puede apreciar un incremento, resultando un pico de actividad, en el subestadio de PL_1 , valor promedio (4.34 ± 1.16 U mg de proteína⁻¹), en la dieta con la microcápsula sola, valor que puede significar la presencia de factores de crecimiento (Fig.11b).

El comportamiento de la razón α -amilasa: proteasas totales indica la relación existente entre los cambios alimenticios por los cuales las larvas pasan al desarrollarse. Normalmente el comportamiento de esta relación es el presentar un máximo de energía durante el subestadio de PZ_{III} y al pasar a M_I decrece abruptamente relacionándose los cambios de hábitos herbívoros por los de omnívoros (Jones et al., 1997). En la razón α -amilasa: proteasas totales, se observó un decremento de la razón en M_I debido al cambio a un hábito carnívoro (Le Vay et al., 2001). Este decremento fue más notorio en las larvas mantenidas con la microcápsula sola (0.01 ± 0). En M_{II} la razón se mantiene constante entre los tratamientos del alimento vivo y la microcápsula sola, razón promedio de ambas dietas (0.02 ± 0.002), mostrando la razón menor la dieta mixta (0.007 ± 0.001), resultado que coincide con una menor actividad de la α -amilasa para la obtención de energía, lo que pone en evidencia el buen aprovechamiento y adaptación de la proteína animal del hidrolizado (Fig.12a). Al respecto Lee-Shing & Bon-Ning (1992), mencionan una razón semejante en las larvas de *P. monodon* expuestas al alimento vivo, y Brito (2002), quién evaluó la razón en las larvas de *L. vannamei* alimentadas con la microcápsula CPSP al 15 - 16 % de inclusión.

Ahora bien, cuando se analizó la evolución ontogenética de la razón α -amilasa: proteasas totales se observó que en M_I , las larvas mantenidas con alimento vivo (promedio de 0.03 ± 0.003), presentaron una razón mayor significativa con respecto a los otros tratamientos. Fue posible también observar en el subestadio de Mysis, valor promedio (0.02 ± 0.004), de la dieta con el hidrolizado más microalgas, una razón muy pequeña. En

cambio en PL₁, (promedio de 0.5±0.01), del mismo tratamiento se presentó un aumento de la razón. El patrón de comportamiento que se visualizó en el subestadio de Mysis, valor promedio (0.02±0.01), del tratamiento que llevó solo la microcápsula, una razón muy pequeña con diferencias significativas al compararla con la razón del PL₁, valor promedio (0.9±0.02) que presentó diferencias significativas (Fig.12b).

La eficiencia de los alimentos puede ser analizada también a través de la medición de las reservas de nutrientes en los organismos. Entre estos nutrientes se encuentran los acilglicéridos, el colesterol y las proteínas (Anger, 2001).

Es importante señalar que los requerimientos proteínicos de los animales acuáticos son altos comparados con los terrestres, Bowen (1987) menciona un estado aparentemente alto en los requerimientos de los animales ectodérmicos. Más aun, menciona que el alimento natural acuático tiene escasez de carbohidratos y abundancia de lípidos y proteínas, entonces es muy común la probabilidad de que los organismos acuáticos usen las proteínas como fuente primaria de energía.

La proteína es el ingrediente que se encuentra en mayor proporción en las dietas debido a que de ella depende estrictamente el crecimiento (Lemos & Rodríguez, 1998) también aporta energía a otros procesos fisiológicos como las vías gluconeogénicas.

De entre las respuestas evaluadas, se tiene la concentración de proteína soluble en el subestadio de M_I, (10.83±1.12 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³), en la dieta que llevó la microcápsula sola (C), se observó el máximo valor, comparado con el tratamiento de la microcápsula acompañada de microalgas (B) (9.32±0.83 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³) mientras que el alimento vivo muestra la concentración más pequeña (7.05±1.44 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³), valores que nos hablan de un incremento en la concentración de proteína soluble por parte de las dietas que incluían la microcápsula. La evaluación de M_{II}, (12.57±1.11 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³), en el tratamiento con la microcápsula más microalgas (B), se visualizó la concentración más alta con respecto, (9.44±0.94 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³), a la dieta con la microcápsula sola (C), y siendo la concentración más pequeña la que presentó el alimento vivo, (6.07±1.69 (µg µg ph⁻¹) x 10⁻³) (Fig.13a).

En ambos subestadios larvales se observó un incremento de la concentración de la proteína soluble por parte de los alimentos que incluyeron la microcápsula CPSP (tratamiento B y C) al compararse con el alimento vivo, este comportamiento al ser relacionado con el crecimiento en longitud se observó valores diferentes estadísticamente, indicando que hubo bajo trabajo metabólico que es más notorio en la dieta con la microcápsula CPSP sola. En cambio el crecimiento en peso al no presentar valores diferentes estadísticamente indica que no se vió afectado como la respuesta anterior.

Kanazawa et al., (1971) mencionan que el colesterol es el mayor esteroles presente en los tejidos animales y se considera un nutriente esencial para los crustáceos debido a que ellos no pueden sintetizar esteroles *de novo*, por lo que necesitan fuentes exógenas que se las proporcionen. De igual manera es el precursor de una gran variedad de productos, participando en la síntesis de membranas celulares, en precursores de hormonas esteroides como la edicsona, y en la hormona de la muda, que al no ser suministrado el colesterol en la dieta en cantidades apropiadas inhibe el crecimiento y retarda el desarrollo larvario (Teshima, 1972). La presencia de los esteroles es de gran importancia para mantener un buen crecimiento, desarrollo y supervivencia en los crustáceos. Sheen et al., (1994) reporta diferentes valores de inclusión en dietas artificiales para diferentes especies. *P. japonicus* requiere valores entre 0.2 y 0.5 % del total de la dieta para un buen crecimiento y *P. monodon* valores del 0.05 %. Generalmente un 0.5 % del contenido total de las dietas artificiales es el valor más utilizado en sus formulaciones.

A través, de lo que se observó en la concentración del colesterol en el subestadio de M_I, (1.12±0.40 µg µg ph⁻¹) de la dieta con la microcápsula y microalgas (B), se presentó una concentración mayor comparada con la del tratamiento de la microcápsula sola (C) (0.64±0.28 µg µg ph⁻¹) y la concentración menor se visualizó en el alimento vivo (0.22±0.08 µg µg ph⁻¹). Para M_{II}, (0.90±0.13 µg µg ph⁻¹) del alimento mixto (B) (microcápsula y microalgas) se presentó la concentración mayor al compararse con la concentración del alimento vivo (0.61±0.2) y la microcápsula sola (C) (0.58±0.11 µg µg ph⁻¹) (Fig.14a). Estos resultados de colesterol concuerdan con los presentados por Brito (2002) en donde los alimento artificiales superaron la concentración que se observó en el alimento vivo.

En la concentración de acilglicéridos en M_I , valor promedio de ambas dietas ($1.2 \pm 0.06 \mu\text{g ph}^{-1}$) de los alimentos mixtos (B) y solo (C), se visualizó la concentración más alta al compararse con la concentración del alimento vivo ($0.38 \pm 0.1 \mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$). En M_{II} , valor promedio de ambas dietas ($1.2 \pm 0.2 \mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) de los alimentos mixtos y solo, se presentó la concentración mayor con respecto a la concentración del alimento vivo ($0.6 \pm 1.12 \mu\text{g } \mu\text{g ph}^{-1}$) (Fig. 15a). Este comportamiento quizá refleja un aumento en la tasa metabólica que es asociado a la dieta ingerida y asimilada, que produce cambios bruscos de energía. Los autores (Lemos & Rodríguez, 1998) mencionan, que las reservas energéticas son consumidas en la búsqueda de un nicho que ocupar en el hábitat y en la construcción de nuevas estructuras.

Las concentraciones de lípidos en los diferentes regímenes de alimentación utilizadas en este trabajo mayores para las larvas donde la dieta artificial estuvo presente en relación a las mostradas por los organismos mantenidos con alimento vivo pudieran ser un reflejo del uso de los nutrientes para crecer, desarrollarse y sobrevivir a la fase postlarva. Las menores concentraciones cuando el alimento vivo fue utilizado como alimento podrían evidenciar un uso máximo de sus reservas para mantener un equilibrio en el uso de sus fuentes energéticas para la construcción de biomasa y a la vez enfrentar la metamorfosis subsecuentes durante la fase larval. Así mientras que las larvas mantenidas con la dieta artificial sola mostró mayores concentraciones de su reservas lipídicas puede hablar de un desbalance nutricional de la dieta, donde la mayor presencia de las proteínas jugo un papel importante ya que las mismas pudieron ser utilizadas en la misma proporción para completar las necesidades energéticas para la conformación de tejidos y mantenerse vivas a la vez que se desarrollaban.

11. Conclusiones

Las Mysis de *L. vannamei*, presentaron crecimientos en longitud significativamente menores, cuando fueron alimentadas solamente con microcápsulas mejorando el crecimiento en talla cuando las microalgas fueron incorporadas.

Las Mysis de *L. vannamei* alimentadas con la microcápsula con 65 % de proteína, presentaron crecimientos en peso muy similares a las Mysis alimentadas con microalgas y *Artemia*.

La supervivencia de las Mysis fue negativamente afectada cuando las larvas se alimentaron solamente con la microcápsula con 65 % de proteína, la relación de las larvas alimentadas con microcápsulas y microalgas no fue afectada, ni el esquema completo de alimento vivo.

Las Mysis de *L. vannamei* en su índice de desarrollo alcanzaron el subestadio de PL₁ a las 120 horas en los tres tratamientos, observándose un desarrollo muy parejo en las Mysis alimentadas con la microcápsula CPSP respecto a las larvas del control.

El consumo de oxígeno de las Mysis de *L. vannamei* fue afectado por la microcápsula sola, presentándose una disminución del consumo de oxígeno (3 veces menor), con respecto a las PL₁ mantenidas con alimento vivo.

El alto porcentaje del índice de calidad evaluado en PL₂ refleja una gran resistencia por los organismos mantenidos tanto con la dieta artificial sola o acompañada de microalgas como por los de alimento vivo.

La dieta CPSP acompañada de microalgas fue capaz de aportar un nivel tal de nutrientes que mostró un incremento en las reservas lipídicas como en las proteínicas, durante el desarrollo larvario en el subestadio de Mysis de *L. vannamei*.

La microcápsula CPSP acompañada de microalgas permitió actividades digestivas de proteasas totales, y en la α -glucosidasa similares a las del alimento vivo en las larvas de

L. vannamei, lo cual pudiera ser reflejo de un efecto secretagogo promovido por la presencia del hidrolizado (CPSP).

12. Anexos

Anexo 1. La relación Pared-Dieta se determinó de la siguiente manera:



En 100 g de microcápsula se presentó 33 g de dieta, más 67 g de pared. La pared contenía 50.25 g de CPSP con un 90 % de proteína, más 16.75 g de goma de mezquite.

En la formulación de la dieta (Tabla 3) se determinó 40.4 g de proteína, ahora bien se tenía una relación pared: dieta de 2:1. De esta manera el valor anterior se divide entre 2, con lo que se obtiene un valor de 20.2 g de proteína.

Por lo tanto teóricamente la microcápsula (Pared: dieta) debe tener 60.6 g de proteína.

Anexo.2. Tasa de Ingestión ($\text{cel h}^{-1}\Gamma^{-1}$) de *Chaetoceros gracilis* en las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*). Promedio \pm Error estándar

	A	B
Mysis 2 (N) (a.m)	57500 ± 4592.8^a (5)	54166.7 ± 3897.6^a (5)
Mysis 3 (N) (a.m)	47083 ± 1559^a (5)	37916.7 ± 2667.9^a (5)
Postlarvas 1 (N) (a.m)	70416.7 ± 3807^a (5)	63750 ± 8057.9^b (5)

Las diferentes letras presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).
a.m. = a las 8:00 h

Anexo. 3. Tasa de Ingestión ($\text{cel h}^{-1}\Gamma^{-1}$) de *Tetraselmis chuii* en las larvas de *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas A) alimento vivo B) CPSP + microalgas (*Chaetoceros gracilis* y *Thetraselmis chuii*). Promedio \pm Error estándar

	A	B
Mysis 1 (N) (a.m)	6944.44 ± 1837^a (5)	19166.7 ± 4082.5^a (5)
Mysis 2 (N) (a.m)	19583 ± 4732^a (5)	23333 ± 1413^a (5)
Mysis 3 (N) (a.m)	30416.7 ± 1559^a (5)	27083 ± 1743^a (5)
Postlarva 1 (N) (a.m)	15000 ± 4903^a (5)	28125 ± 3125^a (5)

Las diferentes letras presentan diferencias significativas ($p < 0.05$).
a.m. = a las 8:00 h

13. Lista de Referencias

- Alfonso, E., Leal S. & Guitart, B. 1985. Ensayos sobre alimentación de protozoas de *Penaeus notialis* en el laboratorio. Rev. Invest. Mar. 6(1) : 79-86.
- Alfonso, E., & Gelabert, R. 1986. Metodología para la producción de postlarvas del camarón blanco *P. Schmitti*. Rev. Invest. Mar. 7(1): 43-50.
- Alfonso, E., Martínez, L., Gelabert, R. & Leal, S. 1988. Alimentación de las larvas del Camarón *Penaeus schmitti* (Diatomeas y Flagelados). Rev. Inv. Mar. 9(1): 47-57.
- Alfonso, E., Ramos L., Días-Iglesias., García T., Rosas C. 1993. Manual del Segundo Curso Internacional de Producción de Postlarvas de camarones Peneidos del Atlántico de América. Facultad de Ciencias. UNAM. p. 132.
- Akiyama, D. M., Dominy, G. W. & Lawrence, A. L. 1992. *Penaeid shrimp* nutrition. In A.W. fast and Lester, L. J. aditors. Marine shrimp culture principles and practices. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 535-568.
- Anderson, W. W. 1956. Observations upon the Biology, Ecology and Life History of Common Shrimp, *Penaeus setiferus* along the South Atlantic and Gulf Coasts of the United States Proc. I. P. F. C. 6 (111) 399-403.
- Anger, K. 2001. Crustacean issues. The biology of decapod crustacean larvae. Balkema Publishers. Lisse. 419 pp.
- AQUACOP. 1983. Penaeid larval rearing in the Centre Oceanologique du Pacifique. En: Hadbook of Mariculture (J. P. McVey, ed.) Crustacean Aquaculture, 1: 123-127.
- Bautista, M.N., Millamena, M. M. & Kanazawa A. 1989. Use of kappa-carrageenan microboud diet (C-MBD) as feed for *Penaeus monodon* larvae. Marine Biology. 103, 169-173.
- Biendembach, J. L., Smith, L. M. , Thomsen, T. K., & Lawrence, A. L. 1989. Use of the nematode *Penagrellus redivivus* as an *Artemia* replacement in a larval penaeid diet. Wolrd Aquac. Soc. 20 (2) : 61-71.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Ann. Biochem. p. 72, 248.
- Brito, R., Chimal, C., Chimal, M.E., Gaxiola, G., Rosas, C. 2000. Growth, metabolic rate, and digestive enzyme activity in the white shrimp *Litopenaeus setiferus* early postlarvae fed different diets. J. Exp. Mar. Biol. and Ecol. 255, 21-36.
- Brito, R. 2001. Fisiología y bioquímica de la nutrición de potslarvas tempranas de los camarones blancos (*Litopenaeus setiferus* (Linnaeus, 1767) y *Litopenaeus vannamei* (Bonne, 1931). Tesis Doctoral Facultad de Ciencias. UNAM. 57 pp.
- Brito, A. 2002. Sustitución de los nauplios de *Artemia sp* por dos alimentos microencapsulados para la alimentación de las Mysis del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei* (Bonne, 1931). Tesis de Licenciatura Facultad de Ciencias. UNAM. 95 pp.

- Bowen, S. H. 1987. Dietary protein requirements of fishes. A reassessment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 1995-2001.
- Chu, K., Ovsianico-Koulikowky, N.N. 1994. Ontogenetic changes in metabolic activity and biochemical composition in the shrimp, *Metapenaeus ensis*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 183: 11-26.
- Córdova-Murueta, J.H. , García-Carreño F.L. 2002. Nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. *Aquaculture*. (In press).
- Cortés, J. E. 1998. Frecuencia y distribución alimenticia en juveniles de camarón blanco *Penaeus vannamei* en cultivo intensivo. Tesis de Maestría. CICIMAR – IPN. 98 pp.
- Cruz-Suárez, E. 1996. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. En: Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, del 11 al 13 de noviembre de 1996, UANL, Monterrey , Nuevo León, México. p. 218-232.
- Cruz-Suarez, E.J., Guillaume & A. Van Wormhoudt. 1987. Effect of various levels of squid protein on growth and some biochemical parameters of *Penaeus japonicus* juveniles. *Nippon Suisan Gakkaishi* 53: 2083-2088.
- D'Abramo, L. R. D. & Castell J. D. 1997. Reserach methodology. En L. D. D' Abramo, D. E. Conklin & D. Akiyama. *Crustacean Nutrition. Advances in Wolrd Aquaculture 6*, Wolrd Aquaculture Society, Barton Rouge, Louisiana, Estados Unidos : 3 – 25.
- Dall, W., Moriarty, D. J. W. 1983. Functional aspects of nutrition and digestion. *The Biology of Crustacea. Volume 5. Internal Anatomy and Physiological Regulation*. 215-261 pp.
- Dassow, J.A. 1982. Fish Proteins: their modification and potential uses in the food industry. In R.E. Martin et al., (editors), *Chemistry and biochemistry of marine food products*, p. 13-25. Avi. Publ. Co., West Port, Conn. 474 pp.
- De la Cruz, S.A. 1992. La selección del tamaño de partícula alimenticias por larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. *Centro de Investigaciones Marinas* 10 (2): 163-174.
- De la Higuera, M. 1990. *Nutrición en Acuicultura*.
- Deshimaru, O. & Kuroki, K. 1974. Studies on a purified diet for prawn I: Basal composition of diet. *Bull. Jap. Soc. Scien. Fish.* 44, 413-419.
- Deshimaru, O. & Yone, Y. 1978. Optimun level of dietary protein for prawn. *Bull. Jap. Soc. Scien. Fish* 12, 1395-1397.
- Durruty, C. 2001. Requerimientos Nutricionales de proteína en larvas de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. UNAM. 37 pp.
- Espinoza, J. & Labarta, U. 1987. *Nutrición en Acuicultura*. Madrid: Industrias Gráficas España, S. L. 272 pp.
- Fang, L. S. & Lee, B. N. 1992. Ontogenic changenic of digestive enzymes in *Penaeus monodon*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 103, 1033-1037.
- Felder, D. L ., Martin, J. W. & Goy J. W. 1985. Patterns in early postlarval development of decapods In A. M. Wenner (Ed.): *Crustacean Issues, Vol. 2. Larval Growth, Vol. 2*. Róterdam: A. A. Balkema. 163 – 225.

- Flores, T. A. 1988. Aspectos generales de la producción larvaria de camarón. En: Memorias del Seminario Nacional de cultivo larvario de camarón Peneido. Fideicomiso Fondo Nacional para el Desarrollo Pesquero. San Blas, Nayarit. México.
- Galgani, F. & Benyamin, Y. 1985. Radioimmunoassay of shrimp trypsin: application to the larval development of *Penaeus japonicus* Bate, 1888. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 87:145-151.
- Gallardo, P. P. 1994 Alimentación de larvas de *Litopenaeus setiferus* (Linneo, 1967) *Chaetoceros cerastoporum*, *Tetraselmis chuii* y *Artemia franciscana* (CRUSTACEA: PENAIDEA). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 54 pp.
- Gallardo, P. P. 2000. Aspectos nutrimentales y fisiológicos de las larvas de camarón blanco *Litopenaeus setiferus* (Linneo, 1767): Esquema de alimentación. Tesis de Maestría en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gallardo, P. P., Pedroza-Islas R., García-Galeano T., Pascual C., Rosas C., Sánchez A., & Gaxiola G. 2002. Replacement of live food with microbound diet in feeding *Litopenaeus setiferus* (Burken road) larvae. *Aquaculture Research* 33 : 1-11.
- Gardner, G.L. 1966. Manufacturing en capsulated products. *Chemical Engineering Progress* 62 (4): 87-91.
- Gelabert, R., Alfonso, E., Hernández, O. & Leal, S. 1987. Experiencias de alimentación de larvas de camarón *Penaeus schmitti* con levaduras obtenidas industrialmente. *Rev. Inv. Mar.* 9(1): 59-69.
- Guillaume, J. 1997. Larval Nutrition. *Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture*, World Aquaculture Society. Louisiana U.S.A. 6, 353-389.
- González R., Fraga V. & Carrillo, O. 1994. Cambios ontogenéticos en la actividad de las principales enzimas digestivas de *Penaeus schmitti*. *Rev. Invest. Mar.* 15(3), 262-268.
- Grossman, M. I., Greengard, H. & Ivy, A. C. 1943. The effect of dietary composition on pancreatic enzymes. *Am. J. Physiol.*, 138, 676-682.
- Guzmán, M. C. 1997. Evaluación de la actividad de enzimas digestivas del camarón blanco *Penaeus setiferus* en condiciones controladas de alimentación. Tesis Profesional, Facultad de Ciencias, UNAM.
- Johnson A., R. Hurwitz, N. & Kretchmer N., 1977. Adaptation of rat pancreatic amylase and chymotrypsinogen to changes in diet. *J. Nutr.*, 107, 87-96.
- Jones, D. A. 1995. Frippak-the facts. A response to the article by P.R. Muir and D.C. Sutton, *J. World Aquaculture Soc.* 26(2):220-222.
- Jones, D. A., Holland, D. L. & Jaborie, S. 1984. Current status of microencapsulated diets for aquaculture. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 10: 275 – 288.
- Jones, D. A., Kanazawa, A., Arman, S. A. 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture*. 17: 33-43.
- Jones, D. A., Kumlu, M., Le Vay, L. & Fletcher, D. J. 1997. The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. *Aquaculture* 155, 285-295.

- Kanazawa, A., Tanaka, N. Teshima, S. & Kashiwada, K. 1971. Nutritional requirements of prawn II. Requirement for sterols. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 37: 211-215.
- Kanazawa, A. & Teshima, S. 1981. Essential Amino Acids of the Prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 47, 1375-1377.
- Kanazawa, A., Teshima, S. Takae, M., 1984. Qualitative and quantitative requirements of some vitamins for the prawn larvae. Abstract of the Autumn Meeting of Jpn. Soc. Sci. Fish., p. 25.
- Kanazawa, A. & Teshima, S. 1988. Microparticulate diets for fish larvae. En A. K. Sparkcs (ed). New and innovative advances in biologie / engeniering with potential for use in Aquaculture. NOAA Tech. Rep. NMFS70, Natl. Mar. Fish. Serv., Seattle : 57-62.
- Kuban, F. D., Lawrence, A. L. & Wilkenfield, J. S. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four Penaeid species fed six food combinations. Aquaculture. 47: 151-162.
- Kumlu, M. & Jones, D. A. 1995. The Effect of Live and Artificial Diets on Growth, Survival and Tripsin Activity in Larvae *Penaeus indicus*. J. World Aquacult. Soc., 26(4), 406-415.
- Kumlu, M., Le Vay, L. & Jones, D. A. 1996. Recent advances in the development of microencapsulated diets for shrimp larval culture.
- Le Vay, D. A., Jones, A. C., Puello-Cruz, R. S., Sangha, C. 2001. Digestión in relation to feeding strategies exhibited by crustacean larvae. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 128: 623-630.
- Leal, S., Alfonso, E., Gainza, A. 1985. Recomendaciones sobre La alimentación de larvas de camarones *Penaeus notialis* y *Penaeus schmitti* en cultivo. Rev. Invest. Mar. 6(1): 87-91.
- Langdon, C. J., Levine, D.M., Jones, D. A. 1985. Microparticulate feeds for marine suspension-feeds. J. Microencapsulation 2(1): 1-11.
- Le Moullac, G., Roy, P., Van Wormdhout, A. 1992. Effects of trophic prophylactic factors on some digestive enzymatic activities of *Penaeus vannamei* larvae. In Calderón, J., Sandoval, v. (Eds.) Memorias Primer Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, SENAIM, 187-297.
- Le Moullac, G., Klein, B., Sellos, D., Wormhoudt, A.V. 1996. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and α -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 208, 107-125.
- Lee, P.G., Smith, L. L. & Lawrence, A.L. 1984. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet. Aquaculture. 42, 225-239.
- Lee-Shing, F. & Bon-Ning, L. 1992. Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon*. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 103B, No. 4, 1033-1037.
- Lemos, D., & Rodríguez, A. 1998. Nutritional effects on body composition, energy content and trypsin activity of *Penaeus japonicus* during early postlarval development. Aquaculture. 160, 103-116.
- Lemos, D., Hernandez-Cortés, M. P., Navarrete, A., García-Carreño, F. L. & Phan, V. N. 1999. Ontogenetic Variation in digestive activity of larvae and postlarvae of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). Marine Biology 135, 653-662.

- Lester, L. J & Pante, M. J. R. 1992. Penaeid temperature and salinity responses. In. Arlo, W.F. (Eds.), Marine shrimp: Principles and practices, Elsevier. Amsterdam, 515-534 pp.
- Liao, I. C., Huang, T.L. & Katsukani, K. 1969. Summary of preliminary report on artificial propagation of *Penaeus monodon* Fabricius. JCRR Fisheries Ser. 8, 67-71.
- Licop, M. S. 1984. The influence of temperature and salinity on oxygen consumption of *Penaeus monodon* postlarvae. Proceedings Of The First International Conference On The Culture Of Penaeid Prawns Shrimps, Iloilo City, Philippines 1985, 178.
- Lim, C. 1993. Effect of dietary pH on amino acid utilization by shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture. 114: 293-303.
- Lovett, D. L. & Felder, D. L. 1989. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). Journal of Morphology 201, 253-272.
- Lovett, D. L. & Felder, D.L. 1990. Ontogenetic Change in Digestive Enzyme Activity of Larval and Postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) Biol. Bull. 178, 144-159.
- Loya-Jovellana, G. N. 1989. Ingestión saturation and growth responses of *Penaeus monodon* larvae to density. Aquaculture. 81: 329-336.
- Martínez, C. L. 1993. Camaronicultura. Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones peneidos. A. G. T. Editor, S. A. México. 233.
- Martínez, G. 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* (Bonne, 1931). Tesis de Licenciatura UG. Guadalajara, Guadalajara. 58 pp.
- Mourente, G. & Rodriguez, A. 1997. Effects of salinity and dietary DHA (22: 6n-3) content on Lipid composition and performance of *Penaeus kerathus* postlarvae. Mar. Biol. 128, 289-298.
- Muir, P.R. & Sutton, C. 1994. Bacterial degradation of microencapsulated feed used in larval culture. J. World Aquaculture Soc. 25 (3), 371-379.
- Orozco, A. & Salices, H. 1992. Unidad de Educación en Ciencia y Tecnología del Mar. Manual para el Cultivo del Camarón. SEP. México. 12-24.
- Paffenhoffer, G.A. 1971. Grazing and ingestión rates of nauplii copepodids and adults and adults of the marine planktonic copepod *Calanus helgolandicus*. Mar. Biol. 11, 286-298.
- Pedroza-Islas. 2000. Estudios de difusión de nutrimentos en alimentos microencapsulados para larvas de crustáceos. Tesis de Doctorado. (Doctorado en Ciencias Químicas (Ingeniería Química)). Facultad de Química. UNAM. México, D.F. 142 pp.
- Pedroza-Islas, R., Gallardo, P., Vernon-Carter, E. J., García-Galeano, T., Rosas, C.; Pascual, C. & Gaxiola G. 2004. Growth, survival, and digestive enzymes activities on larval shrimp fed microencapsulated, mixed and live diets. Aquaculture Nutrition (in press).
- Peréz-Farfante, I. & Kensley, B. 1997. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World (Keys and Diagnosis for the Families and Generas). Museum National d'Histoire Naturelle. France. 233 pp.

- Ravallec-Plé, R., 2000. Valorisation d' hydrolysats d'origine marine optimization de la concentration en peptides apparentes aux facteurs de croissance et aux agents secretagogues. Essais in vitro et in vivo. These de docteur. Université de Bretagne Occidentales. France. 171 pp.
- Roche-Mayzaud, O., Mayzaud, P., Biggs, D. C., 1991. Medium-term acclimation of feeding and od digestive and metabolic enzyme activity in the neritic copepod *Acartia clausi*: I. Evidence from laboratory experiments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69, 25-40.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gallardo, P., Quiroz, J., Gaxiola, G., Díaz-Iglesias, E. & Soto, L. A. 1995. Oxygen consumption and ingestión rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. *Aquacult. – Nutr.* 1, 13-20.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gaxiola, G., Díaz-Iglesias, E., Brito, R. & Soto, L. A. 1997. Tasa respiratoria de larvas de *Penaeus setiferus* Linnaeus y *Penaeus schimitti*. Burkenroad (Decapoda: Penaeidae). *Revista Investigaciones Marinas* 18, 51-57.
- Shanga, R. S., Puello Cruz, A.C., Chavez Sánchez, M.C., Jones, D.A. 2000. Survival and growth of *Litopenaeus vannamei* (Bonne) larvae fed a single dose of live algae and artificial diets with supplements. *Aquaculture Research.* 31, 683-689.
- Shaid Amjad & Jones D.A. 1992. An evaluation of artificial larval diets used in culture of penaeis shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius)., *Pakistan J. Zool.*, 24 (2), 135-142.
- Sáenz, M. P. G. 1987. El cultivo del camarón en México. Los recursos del Mar y la Investigación. Tomo 1. I.N.P., 35-43.
- Shenn, S.S., Liu, P., Chen, S.N., Chen, J.Ch. 1994. Cholesterol requirement of juvenile tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture*, 125 (1-2), 131-137.
- Sheu, T.Y. & Rosenberg, M. 1995. Microencapsulation by spray-drying ethylcaprylate whey protein and carbohydrate wall systems. *J. Food Sci.*, 60, 98-103.
- Sheu, T. Y. & Rosenberg, M. 1998. Microstruture of microcapsules consisting of whey proteins and carbohydrates. *J. Food Sci.*, 63, 491-494.
- Smith, L., Fox, J. M., Treece, G. D. McVey, J. P. 1993. Intensive larviculture techniques. *Handbook of Mariculture.* Florida 153-172.
- Sorgeloos, P & Léger, P. 1992. Inproved larviculture outputs of marine fish, shrimp and Prawn. *J. World Aquaculture Soc.* 23(4), 251-264.
- Sorgeloos, P., Coutteau, P., Dhert, P., Merchie, G., Lavens, P. 1998. Use of Brine Shrimp, *Artemia* sp., in Larval Crustacean Nutrition: A Review. *Reviews in Fisheries Science*, 6: 1-2.
- Strayer, L. 1995. Enzimas: Conceptos Básicos y Cinética. Reverté S.A. (eds) I : 181-227 pp.
- Sudaryno, A., Hoxey, M.J., Kailis, S.G. & Evans, L.H. 1995. Investigation of alternative protein sources in practical diets for juvenile shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture.* 184, 313-323.
- Tacon, A. G. 1990. Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp. USA: Argent Laboratories Press. 2-18.
- Thesima, S. I. 1972. Sterol metabolism. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University* 69-147.

- Thesima, S. I., Kanazawa, A. & Sakamoto, M. 1982. Microparticulate diets for the larvae of aquatic animals. Min. Rev. Data File Fish. Res., 2: 67-86.
- Treece G. D. & Yates. M. E. 1990 Laboratory Manual for the culture of penaeid shrimp. Marine Advisory Service Sea Grant College Program. Texas A & M University, College Station. TAMU-SG-88-202 @ 95 pp.
- Tobias-Quinitio, E. & Villegas, C. T. 1982. Growth, survival and macronutrient composition of *Penaeus monodon* Fabricius larvae fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis chuii*, Aquaculture. 29: 253-260.
- Villarreal, H., Hinojosa, P., Naranjo, J. 1994. Effect of temperature and salinity on the oxygen consumption of laboratory produced *Penaeus vannamei* postlarvae. Comp. Biochem. Physiol., 108A (2-3): 331-336.
- Van Wormhoudt, A, & P. Favrel. 1988. Electrophoretic characterization of *Palaemon elegans* (Crustacea, Decapoda) α -amylase system: study of amylase polymorphism during the intermolt cycle. Comparative Biochemistry and Physiology 89B: 201-207.
- Van Wormhoudt A. 1996. Digestión de los crustáceos. En G. Bernabé (ed). Bases biológicas y ecológicas de la Acuicultura. Editorial Acribia, Zaragoza, España: 263-280.
- Villamar, D.F. & Brusca, G.J. 1987. And growth of *Crangon nigricauda* larvae (Decapoda, Caridea) raised on experimental diets. J. World Aquaculture Soc. 18 (1): 11-25.
- Villegas, D.K. & Kanazawa, A. 1979. Relationship between diet composition and growth of the zoeal and Mysis stages of *Penaeus japonicus* bate. Fish, Res. J. Phillip., 4(2), 32-40.
- Villegas, D. K. & Kanazawa, A. 1980. Rearing of the larval stage of prawn *Penaeus japonicus* bate, using artificial diet. Memoirs of the Kagoshima University Research Center for the South Pacific 1 (1): 43-49.
- Zandee, D.I. 1966. Metabolism in the crayfish *Astacus astacus* (L.). I. Biosynthesis of amino acids. Archives of International Physiology and Biochemistry 74: 35-44.
- Zar, J.H. 1999. Biostatistical Análisis. Prentice-Hall. USA.