

00344



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

5

REQUERIMIENTOS NUTRIMENTALES DE  
PROTEINA EN LARVAS DE *Litopenaeus*  
*setiferus* y *Litopenaeus vannamei*

288865

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOLOGIA DE SISTEMAS  
Y RECURSOS ACUATICOS)  
P R E S E N T A  
BIOL. CLAUDIA VERONICA DURRUTY LAGUNES

DIRECTOR: DRA. GABRIELA GAXIOLA CORTES

MEXICO, D. F.

FEBRERO 2001.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Este trabajo de tesis fue realizado en el Laboratorio de Ecofisiología (Grupo de Biología Marina Experimental) con sede en Ciudad del Carmen, Campeche con el apoyo financiero del proyecto CONACYT No. 3293PN9607 y el proyecto DGAPA IN214594 bajo la dirección de la Dra. Martha Gabriela Gaxiola Cortés (UNAM) y la Dra. Tsai García Galano (Universidad de la Habana).

A Manuel  
Rebeca y Verónica

## CONTENIDO

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Objetivos.....	4
Antecedentes.....	5
Material y Método.....	9
Obtención de los organismos.....	9
Diseño Experimental.....	9
Elaboración de dietas.....	10
Bioensayos preliminares.....	12
Bioensayos definitivos.....	13
Parámetros evaluados.....	14
Resultados.....	18
Experimentos de protozoas.....	18
Experimentos de mysis.....	22
Discusión.....	27
Conclusión.....	31
Anexo.....	32
Lista de Referencias.....	33

## RESUMEN

Las proteínas constituyen la estructura y función de todo ser vivo de ahí que sea el primer nutriente a considerarse en una dieta. La cantidad mínima necesaria de ésta en larvas de camarón depende de la especie y estadio por ello el presente trabajo tuvo como finalidad determinar el requerimiento de proteína en protozoas y mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con dietas microparticuladas purificadas a través del incremento en longitud, índice de desarrollo, sobrevivencia, índice de calidad y rendimiento así como la evaluación de la actividad de proteasas y carbohidrasas y el consumo de oxígeno. El diseño experimental fue aleatorizado con cuatro biensayos. Los niveles proteicos fueron 30, 40, 50 y 60%; 5% de carbohidratos para protozoas y 15% para mysis, y 6.5% de lípidos. El tratamiento testigo consistió en alimento vivo de acuerdo al esquema básico para cada especie y estadio. El índice de desarrollo y el crecimiento fueron mejores con 30% de proteína para protozoas de ambas especies y en 60 y 50% para *L. setiferus* y *L. vannamei* respectivamente. Con estos niveles proteicos la actividad enzimática fue diferente en cada especie y estadio al igual que el gasto metabólico. Existió una tendencia a metabolizar más las proteínas que los carbohidratos en las larvas de *L. vannamei*.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre requerimientos nutritivos de crustáceos como el camarón se han desarrollado por el incremento del cultivo de este organismo a nivel comercial. Las proteínas, lípidos y carbohidratos son fuentes de energía que repercuten en el crecimiento, reproducción y salud de los organismos y como consecuencia en la sobrevivencia (Espinoza and Labarta 1987)

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, aunque los resultados arrojados 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.* 1997a). La información disponible sobre requerimientos nutritivos en larvas de camarón es escasa y ha sido generada solamente para *Marsupenaeus japonicus* y *Penaeus monodon* (Tabla 1).

La necesidad de conocer el requerimiento de proteína para los camarones es debido a que es el nutriente que participa como constituyente de la estructura y función de todo organismo vivo. Las necesidades de ésta en los organismos disminuye a medida que avanza la edad (Espinoza y Labarta 1987). Usualmente es el primer nutriente a considerar en la dieta de peneidos, ya que la requieren en altas concentraciones (entre el 30 y 70%) con fines energéticos para el mantenimiento; además es el componente más caro en la dieta (Tacon 1990; Shiau y Yang 1992).

La cantidad de proteína que los organismos necesitan depende de la proporción de aminoácidos esenciales (Deshimaru y Kuroki 1974; Deshimaru y Yone 1978). También depende de la edad o estado fisiológico del organismo (Kanazawa y Teshima 1981; Kanazawa 1984). A diferencia de los animales terrestres criados en cautiverio, los peces así 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).

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 crecimiento, en la muda, en la tasa metabólica (estimada por el consumo de oxígeno) y en la excreción nitrogenada (Kumaly *et al.* 1989b). Así el

consumo de oxígeno, puede ser visto como un reflejo del costo metabólico asociado a la ingestión y asimilación de cada tipo de alimento (Kurmaly *et al.* 1989b; Rosas *et al.* 1995)

El análisis de las enzimas digestivas es una herramienta en estudios de nutrición al describir los patrones en un animal con un régimen alimenticio y permite conocer su respuesta a diferentes fuentes y niveles de nutrientes (Lee *et al.* 1984). La identificación de las enzimas digestivas, el conocimiento de su modo de acción y sus cambios durante el desarrollo larval, son necesarios para la formulación de dietas adaptadas a la fisiología de cada especie (González *et al.* 1994). Así mismo la variación de su actividad puede estar asociada con cambios en la morfología del tubo digestivo (Lovett y Felder 1990; González *et al.* 1994), con la dieta (Le Vay *et al.* 1993; Le Moullac *et al.* 1994; Rodríguez *et al.* 1994; Kumlu y Jones 1995; Lemos *et al.* 1999) y en el tamaño de los camarones (Lee y Addison 1985).

En los camarones, la etapa larval ha sido muy poco estudiada en cuanto a los requerimientos nutrimentales, las investigaciones se han enfocado fundamentalmente a la fase juvenil, debido a la urgente necesidad de incrementar el rendimiento de los cultivos de estos organismos.

Tradicionalmente las larvas se han cultivado principalmente con alimento vivo (Gallardo *et al.* 1995; Kuban *et al.* 1985; Samocha *et al.* 1988; Tobias-Quinito y Villegas 1982) entre otros. Algunos autores han combinado el alimento vivo con dietas artificiales (Bautista *et al.* 1991; Gelabert *et al.* 1987; Gallardo 2000) o bien lo han sustituido totalmente (Kurmaly *et al.* 1989a; Teshima *et al.* 1982).

A pesar de las cualidades nutrimentales de las microalgas se ha intentado sustituir el alimento vivo por el artificial, pues se sabe que el alimento vivo presenta una variabilidad bioquímica en función de la concentración de nutrientes utilizados y de la etapa de cultivo, lo cual afecta su valor nutrimental (Jones *et al.* 1997b; Arredondo-Figueroa 1998). Aunque se conoce la composición aproximada de carbohidratos, lípidos y proteínas del alimento vivo, ésta cambia en cada especie de microalga de ahí que se empleen mezclas de ellas para cubrir requerimientos dietéticos específicos, por ello la mejor alternativa para determinar éstos es el uso de dietas artificiales pues su formulación balanceada se puede ajustar a las necesidades nutrimentales de las diferentes especies y estadios (Bautista *et al.* 1991; Chamberlain 1988; Jones *et al.* 1997b). Estas dietas deben ser diseñadas tomando en cuenta el tamaño del organismo, sus hábitos alimenticios, entre otros factores, que garanticen la disponibilidad de los nutrientes.



Hasta la fecha la producción de postlarvas de camarón se ha realizado exitosamente con el alimento vivo y con dietas artificiales como complemento a éste, buscar una alternativa en la alimentación de las larvas conociendo el requerimiento específico de nutrientes para cada especie y estadio, ayudaría a establecer mejores esquemas alimentarios y como consecuencia una mayor producción de semilla para cultivo.

#### HIPOTESIS

El requerimiento de proteína es específico para cada especie y disminuye conforme aumenta la edad de los camarones, entonces el requerimiento de este nutriente de las larvas de *Litopenaeus setiferus* será diferente al de las larvas de *Litopenaeus vannamei* y tenderá a disminuir conforme se avance en la etapa larvaria.

*Litopenaeus setiferus* es una especie alternativa de cultivo en el Golfo de México (Sandifer *et al.* 1993) mientras que *L. vannamei* es el camarón más cultivado desde el inicio de la camaronicultura en nuestro país y ocupa el 16% de la producción mundial (Rosenberry 2000). Si para otras especies de peneidos de importancia comercial se ha podido establecer el requerimiento de proteína con dietas artificiales, entonces será posible determinarlo para estas dos especies de camarón blanco, *L. setiferus* y *L. vannamei*.

#### OBJETIVOS

- \* Determinar el requerimiento de proteína para los estadios de protozoa y mysis de *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei* con dietas microparticuladas purificadas a partir del crecimiento, el índice de desarrollo, índice de calidad y sobrevivencia.
- \* Evaluar el impacto de las diferentes concentraciones de proteína dietética en la tasa respiratoria de las protozoas y las mysis de *L. setiferus* y *L. Vannamei*.
- \* Determinar el efecto de distintas concentraciones de proteína dietética en la actividad enzimática de proteinasas (tripsina, quimiotripsina, proteasas totales), carbohidrasas (glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa) y la razón amilasa/proteasa de las protozoas y mysis de *L. setiferus* y *L. Vannamei*.

## ANTECEDENTES

El ciclo de vida de los camarones peneidos presentan tres estadios larvales, nauplio, protozoa y mysis. La fase naupliar con 5 subestadios se alimenta de las reservas del vitelo del huevo. La zoea o protozoa con 3 subestadios que es planctónica y filtradora 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 con 3 subestadios, también planctónicas, filtradoras y depredadoras se alimentan tanto de fitoplancton como de zooplancton (Jones *et al.* 1997b). Las protozoas al ser filtradoras requieren 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 y Labarta 1987; Kumlu *et al.* 1996).

Entre protozoas y mysis, no solo hay diferencias en sus hábitos alimenticios, sino también en la morfología y funcionamiento del aparato digestivo, aunque éste sea muy simple (Lovett y Felder 1989; Lovett y Felder 1990). Se sabe que en las protozoas, la digestión se realiza en el divertículo anterior del intestino medio y el hepatopáncreas a través de enzimas (Lovett y Felder 1989). Estas larvas 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.* 1997b). 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 mucho alimento y asimilan un alto porcentaje de energía de sus presas (Kumlu *et al.* 1996).

Se conoce la composición aproximada de proteínas, carbohidratos y lípidos de algunas microalgas de uso común en la alimentación de larvas de camarón (Tobias-Qunitio y Villegas 1982; Aujero, Millamena, *et al.* 1983). El porcentaje varía dependiendo de la especie, las condiciones ambientales donde se cultivan y la fase del crecimiento. Debido a estas variaciones, trabajos que determinen un requerimiento nutricional para larvas con alimento vivo; es el de Thompson y Harrison (1992) quienes utilizando solo *Thalassiosira pseudonana*, alimentaron a larvas de *Crassostrea gigas*. Ellos obtuvieron altos crecimientos cuando las microalgas contenían baja proteína y altos carbohidratos. Encontraron que la gran cantidad de ácidos grasos esenciales (22:6w3) que contienen las células crecidas con alta luminosidad, les permite a las larvas crecer más.

Existen trabajos previos a los requerimientos nutricionales en larvas de peneidos con alimento artificial demostrando que éste permite crecer a las larvas de igual forma que el alimento vivo, en condiciones de

laboratorio (Kurmaly *et al.* 1989a; Jones and Kurmaly 1987; Jones *et al.* 1989; Teshima *et al.* 1982) y en escala comercial (Kurmaly *et al.* 1989a; Ottogalli 1991).

En cuanto a los requerimientos como tal, Kanazawa and Teshima (1981) determinaron que las larvas de *M. japonicus* requieren diez aminoácidos esenciales y que sin estos los organismos presentan pobres crecimientos. De manera similar Teshima *et al.* (1986) adicionaron L-arginina a una dieta cuya fuente de proteína fue la caseína. Encontraron que la sobrevivencia y el desarrollo fueron iguales o más altos que los de las larvas alimentadas con alimento vivo. Determinaron que es más efectiva la caseína enriquecida con los aminoácidos esenciales que no se encuentran en ella.

Kanazawa *et al.* (1971) y Shudo *et al.* (1971) demostraron que larvas de *M. japonicus* requieren esteroides para crecer y sobrevivir y que 0.5% de colesterol es el nivel óptimo, sin embargo Teshima and Kanazawa (1982) encontraron que con 1.0% el crecimiento y la sobrevivencia son mejores. De manera similar Jones *et al.* (1979a); Teshima y Kanazawa (1984); Kanazawa *et al.* (1985) estimaron que son necesarios ácidos grasos y fosfolípidos para crecimiento y sobrevivencia de larvas de *M. japonicus*. A este respecto para *L. vannamei* Cruz-Terán (2000) probó diferentes fuentes lipídicas en larvas de *L. vannamei* a través de dietas microparticuladas isoproteicas. Varió el porcentaje de lípidos de 15 a 25% encontrando que no había diferencias significativas en crecimiento en longitud, sobrevivencia e índice de desarrollo entre estos niveles lipídicos y el alimento vivo.

Para determinar el requerimiento nutrimental de proteína Teshima y Kanazawa (1984) emplearon dietas microparticuladas desde protozoa hasta postlarva 1 de *M. japonicus*. Ellos combinaron diferentes niveles de proteína y lípidos, y proteína y carbohidratos para determinar los óptimos relacionando estas fuentes energéticas. El estudio se realizó usando el índice de desarrollo y la sobrevivencia. Encontraron que los efectos de los niveles de la proteína dietética varían con el incremento en los niveles de carbohidratos y no con los lípidos. Ellos explican que los carbohidratos pueden ser utilizados más eficientemente porque *M. japonicus* es una especie herbívora. Para estos autores 45%, 45-55% y 55% de proteína corresponde a 25%, 15% y 5% de carbohidratos, respectivamente, como niveles óptimos.

Los trabajos publicados sobre requerimientos nutricionales en larvas de camarones peneidos se presenta en la Tabla 1. En ella puede notarse que solo se conocen los requerimientos para *M. japonicus* y *P. monodon* y que los requerimientos de proteína, lípidos y carbohidratos de las larvas de estas especies son diferentes.

*P. monodon* presenta un intervalo muy amplio de todos los nutrientes y el requerimiento de cada uno de ellos varía notablemente entre los autores; esto en parte es debido a la metodología y al tipo de dietas empleadas (De la Higuera 1990; Halver 1989). También existen diferencias entre los estadios larvales, inclusive dentro del mismo subestadio (Kurmaly 1989; Kurmaly *et al.* 1988; Kurmaly *et al.* 1989a), esto es porque las necesidades de proteína, carbohidratos y lípidos en cada subestadio cambian.

Tabla 1.- Trabajos realizados para conocer los requerimientos nutricionales de proteína (P), carbohidratos (C) y lípidos (L) de las larvas de peneidos. P=protozoas, M=mysis Los valores están dados en porcentaje.

	ESTADIO	P	C	L	AUTOR
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	P y M	45 -55	5 - 25	6.5	Teshima and Kanazawa (1984)
		44			Besbes (1987)
<i>Penaeus monodon</i>	P	48-52	24-33	23.5	Kurmaly <i>et al.</i> (1989a)
	M	51-56	7.5-17.8	18.2	Kurmaly <i>et al.</i> (1989a)
	P	30			Khannapa (1979)
	P			4.3	Kurmaly <i>et al.</i> (1989b)
	M			16	Kurmaly <i>et al.</i> (1989b)

Sobre la bioquímica de la nutrición existen estudios sobre ontogenia de enzimas digestivas en las larvas, los cuales se presenta en tabla 2. Puede notarse que la mayoría de estos trabajos se han realizados con alimento vivo. De manera general la actividad enzimática en las diferentes especies es similar, encontrándose los picos de actividad de las proteasas a finales del estadio de protozoa y los de las amilasas al inicio de mysis. Estos cambios en la actividad enzimática pueden estar correlacionados con la dieta y los hábitos alimenticios Lovett and Felder (1990).

Tabla 2.- Actividad enzimática registrada en larvas de peneidos. En las columnas de las enzimas se encuentra el estadio en donde se presentó el pico de actividad de acuerdo al tipo de alimento empleado. P hace referencia al estadio de protozoa, M a mysis y PL a postlarva.

ESPECIE	ALIMENTACIÓN	PROTEASAS	AMILASA	RAZON A/P	TRIPSINA	QUIMOTRIPSINA	AUTOR
<i>Litopenaeus setiferus</i>	Microalgas	P III	M II	M II			(Lovett and Falder 1990)
<i>Litopenaeus schimitti</i>	Microalgas	P	PL 5	M III			(González et al. 1994)
<i>Farfantepenaeus paulensis</i>	Microalgas	P III - M I			P II - P III		(Lemos et al. 1999)
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	Microalgas				M I		(Le Vay et al. 1993)
	Microparticulado				M II		(Le Vay et al. 1993)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	Microalgas		P III		P III	P III	(Le Moullac et al. 1996)
	Microparticulado		P I		P III	P III	(Le Moullac et al. 1996)
<i>Penaeus monodon</i>	Microalgas	M I	PL 10		M I		(Fang and Lee 1992)

En larvas de *L. vannamei*, Medina-Reyna et al. (2000) evaluaron tres especies de *Chaetoceros* y una especie de *Dunaliella*, con la finalidad de conocer que especie contribuye mejor a la estimulación de enzimas en las protozoas de esta especie. Le Moullac et al. (1994) al evaluar la actividad de tripsina, quimotripsina y  $\alpha$ -amilasa en larvas de *L. vannamei* con diferentes fuentes proteicas y de carbohidratos, estimaron que dicha inducción enzimática es debido a la calidad del alimento independientemente del crecimiento. Esto también se corroboró para *M. japonicus*, (Le Vay et al. 1993) cuando determinaron la influencia del alimento vivo y artificial en la actividad de la tripsina. Para este especie un alto crecimiento fue acompañado por un alta actividad de la tripsina.

Fang and Lee (1992) estimaron la actividad de proteasas y carbohidrasas desde larva hasta adulto en *P. monodon* con la finalidad de conocer la fisiología digestiva al determinar los picos de las enzimas y la razón amilasa/proteasa; mientras que para *Fenneropenaeus indicus* (Kumlu and Jones 1995) evaluaron la actividad de la tripsina en larvas de alimentadas con microalgas y suplementada con dietas artificiales obteniendo crecimientos similares a las del alimento vivo solo. Estos investigadores encontraron una mayor actividad de la tripsina en protozoa cuando el pico se presenta en mysis.

Reportes de evaluaciones del consumo de oxígeno en larvas de camarón se encuentran los de Kurmaly et al. (1989b) quienes alimentando larvas de *P. monodon* con microalgas y *Artemia* evaluaron las tasas de ingestión, respiración y crecimiento para calcular la energía que emplean las larvas en estas funciones. Para

las larvas de *L. setiferus* (Rosas *et al.* 1995) y *L. schimitti* (Rosas *et al.* 1997) evaluaron el consumo de oxígeno en larvas de *L. setiferus* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* encontraron un aumento de éste a medida que avanzaba el desarrollo larval, además de que existe una acumulación de energía metabólica en protozoa III. Estos autores reportaron consumos de 0.5 a 12  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ larva}^{-1}$  de protozoa I a mysis III.

En larvas alimentadas con dietas artificiales (Gallardo 2000) empleó una dieta que contenía 52.7% de proteína, 11.5% de lípidos y 13.5% de carbohidratos con la finalidad de saber la concentración adecuada de esta dieta que pudiera sustituir los nauplios de *Artemia*. Midió el consumo de oxígeno de las larvas y lo relacionó con el crecimiento, sobrevivencia e índice de desarrollo y determinó que de 0.11 a 0.13  $\text{mg larva}^{-1}\text{día}^{-1}$  es la cantidad adecuada de microparticulado para las larvas de esta especie. Con 0.13  $\text{mg larva}^{-1}\text{día}^{-1}$  las larvas consumieron en promedio de 0.44 a 1.69  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ larva}^{-1}$  de mysis I a postlarva 1.

## MATERIAL Y METODOS

### OBTENCIÓN DE LOS ORGANISMOS

Las larvas de *L. setiferus* empleadas para cada experimento se obtuvieron del desove de una hembra recién colectada de la Sonda de Campeche frente a la Isla del Carmen a 4 brazas de profundidad e inseminada artificialmente en el laboratorio. Por otro lado, las larvas de *L. vannamei* fueron donadas por la Granja Sisal de Industrias Pécis, (Mérida, Yucatán), éstas provenían del desove de una sola hembra.

### DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental empleado en los cuatro ensayos que conformaron la presente investigación fue completamente aleatorizado con cinco tratamientos y tres repeticiones para cada tratamiento. Los indicadores evaluados se presentan en la tabla 3.

las larvas de *L. setiferus* (Rosas *et al.* 1995) y *L. schimitti* (Rosas *et al.* 1997) evaluaron el consumo de oxígeno en larvas de *L. setiferus* alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia* encontraron un aumento de éste a medida que avanzaba el desarrollo larval, además de que existe una acumulación de energía metabólica en protozoa III. Estos autores reportaron consumos de 0.5 a 12  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ larva}^{-1}$  de protozoa I a mysis III.

En larvas alimentadas con dietas artificiales (Gallardo 2000) empleó una dieta que contenía 52.7% de proteína, 11.5% de lípidos y 13.5% de carbohidratos con la finalidad de saber la concentración adecuada de esta dieta que pudiera sustituir los nauplios de *Artemia*. Midió el consumo de oxígeno de las larvas y lo relacionó con el crecimiento, sobrevivencia e índice de desarrollo y determinó que de 0.11 a 0.13  $\text{mg larva}^{-1} \text{ día}^{-1}$  es la cantidad adecuada de microparticulado para las larvas de esta especie. Con 0.13  $\text{mg larva}^{-1} \text{ día}^{-1}$  las larvas consumieron en promedio de 0.44 a 1.69  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ larva}^{-1}$  de mysis I a postlarva 1.

## MATERIAL Y METODOS

### OBTENCIÓN DE LOS ORGANISMOS

Las larvas de *L. setiferus* empleadas para cada experimento se obtuvieron del desove de una hembra recién colectada de la Sonda de Campeche frente a la Isla del Carmen a 4 brazas de profundidad e inseminada artificialmente en el laboratorio. Por otro lado, las larvas de *L. vannamei* fueron donadas por la Granja Sisal de Industrias Pecis, (Mérida, Yucatán), éstas provenían del desove de una sola hembra.

### DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental empleado en los cuatro ensayos que conformaron la presente investigación fue completamente aleatorizado con cinco tratamientos y tres repeticiones para cada tratamiento. Los indicadores evaluados se presentan en la tabla 3.

Tabla 3.- Diseño experimental empleado para la evaluación de los requerimientos de proteína de las larvas de *L. setiferus* y *L. vannamei*. PI= protozoa I, PII=protozoa II, PIII=protozoa III.

	PROTOZOFAS		MYSIS	
	<i>L. setiferus</i>	<i>L. vannamei</i>	<i>L. setiferus</i>	<i>L. vannamei</i>
% DE PROTEINA	30, 40, 50, 60	30, 40, 50, 60	30, 40, 50, 60	30, 40, 50, 60
% DE CARBOHIDRATOS	5	5	15	15
% LÍPIDOS	6.5	6.5	6.5	6.5
DOSIS DE ALIMENTO mg larva <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	PI-PIII 0.13	PI 0.06 - 0.08 PII-PIII 0.10	0.13	0.32
FRECUENCIA DE ALIMENTACIÓN	cada 4 horas	cada 4 horas	cada 6 horas	cada 6 horas
EVALUACIONES NUTRITIVAS	Crecimiento (longitud) Índice de Desarrollo Sobrevivencia	Crecimiento (longitud) Índice de Desarrollo Sobrevivencia	Crecimiento (longitud) Índice de Desarrollo Sobrevivencia Índice de Calidad	Crecimiento (longitud) Índice de Desarrollo Sobrevivencia Índice de Calidad
RESPUESTAS METABÓLICAS	Consumo de oxígeno	Consumo de oxígeno	Consumo de oxígeno	Consumo de oxígeno
RESPUESTAS BIOQUÍMICAS	Proteínas totales Proteasas totales Tripsina Quimotripsina $\alpha$ -Amilasa Glucosidasa	Proteínas totales Proteasas totales Tripsina Quimotripsina $\alpha$ -Amilasa Glucosidasa	Proteínas totales Proteasas totales Tripsina Quimotripsina $\alpha$ -Amilasa Glucosidasa	Proteínas totales Proteasas totales Tripsina Quimotripsina $\alpha$ -Amilasa Glucosidasa

## ELABORACION DE LAS DIETAS

Las formulaciones de las dietas que se utilizaron en la presente investigación se indican en la tabla 4.

Las dietas para las larvas de *L. setiferus* y *L. vannamei* se elaboraron moliendo con un molino ciclónico de aspas inicialmente las materias primas secas, excepto el almidón y el alginato, hasta obtener un tamaño de partícula menor de 50 micras. Estas partículas fueron analizadas con un medidor de partículas de rayo laser MALVERN SB.OD. Todos los ingredientes fueron pesados en una balanza analítica.

Los ingredientes secos se mezclaron, a excepción del aglutinante, por espacio de 20 minutos en una bolsa de plástico para incorporarlos perfectamente. Posteriormente a los ingredientes se les agregó los aceites previamente mezclados con la lecitina, en la misma bolsa. Se continuó agitando por 15 minutos mas, de tal manera que los aceites se incorporaran a la mezcla. Después de este tiempo se agregó el alginato y el almidón previamente mezclados y pregelatinizados con un mínimo de agua, hasta obtener una pasta y poder elaborar los extrudidos con un triturador de papas.



Los extrudidos fueron vaporizados durante 15 minutos y después se secaron en estufa a 60°C no más de 8 horas con la finalidad de evitar la pérdida de los nutrientes. Una vez seco el alimento se molió primero en un rotor casero y después en el molino ciclónico para obtener partículas alrededor de 50 micras. Todas las dietas se mantuvieron envasadas al vacío y a 4°C hasta su uso.

Tabla 4.- Ingredientes utilizados para la elaboración de las dietas microparticuladas con distintos niveles de proteína para protozoos y mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei*. Las dietas con el número 1 corresponden a las de protozoos y con el número 2 para mysis. \*E.D. = Energía digestible (Kj gr<sup>-1</sup>).

	TRATAMIENTOS							
	A(%)		B(%)		C(%)		D(%)	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
CASEINA	32.13	32.13	42.78	42.78	53.54	53.54	64.2	64.2
ARGININA	1.69	1.69	2.2	2.2	2.8	2.8	3.3	3.3
ALMIDON	5	15	5	15	5	15	5	15
ACEITE DE BACALAO	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
ACEITE DE GIRASOL	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
COLESTEROL	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
LECITINA	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
ACIDO ASCORBICO	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
PREMEZCLA VITAMINAS	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
PREMEZCLA MINERALES	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
ALGINATO DE SODIO	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
CELULOSA	50.68	40.68	39.47	29.47	28.16	18.16	16.95	6.95
*E.D.	9.81	11.53	11.94	13.66	14.07	15.79	16.20	17.92
PROTEINAS TOTALES	30	30	40	40	50	50	60	60
CARBOHIDRATOS TOTALES	5	15	5	15	5	15	5	15
LÍPIDOS TOTALES	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5

## BIOENSAYOS PRELIMINARES

Las dietas elaboradas presentaron diferentes tamaños (tabla 5) con la finalidad de conocer si estos tamaños de partícula eran digeridos por protozoos y mysis y definir la frecuencia de alimentación, se hicieron dos pruebas preliminares con larvas de *L. setiferus*.

Tabla 5.- Diámetro promedio obtenido en la elaboración de las dietas microparticuladas. Los números 1 hacen referencia a 5% de carbohidratos (para protozoos) y el número 2 a 15% de carbohidratos (para mysis).

DIETA	% PROTEINA	MCRAS
A1	30	25.16
A2	30	20.16
B1	40	39.79
B2	40	42.41
C1	50	42.11
C2	50	48.15
D1	60	40.18
D2	60	43.44

Para determinar si distintos tamaños de partícula eran filtrados, capturados y asimilados de igual manera por las protozoos y mysis se colocaron nauplios IV en 5 litros de agua de mar filtrada y esterilizada a una densidad de 100 larvas  $\text{litro}^{-1}$  en tanques cónicos de 10 litros de capacidad. Se empleó un diseño experimental combinando tres dietas, las de los tamaños extremos y un intermedio (A2, B1 y C2) y tres frecuencias de alimentación (4, 6 y 8 horas). La ración de alimento fue  $0.13 \text{ mg larva}^{-1} \text{ día}^{-1}$  (Gallardo 2000). En ambos experimentos cada tratamiento tuvo dos réplicas.

Las mysis se sembraron 50 protozoos III por litro en 8 litros de agua de mar (con el mismo pretratamiento que en el bioensayo de las protozoos). A las protozoos se les alimentó con el esquema básico (tabla 6) y a partir de mysis I se les realizó un recambio de agua del 50% para eliminar microalgas y nauplios de *Artemia* de tal forma que las larvas solo tuvieran acceso al alimento microparticulado. Se les alimentó con  $0.13 \text{ mg larva}^{-1} \text{ día}^{-1}$  de la dieta microparticulada cada 6 horas.

Media hora antes y después de cada toma de alimento, se hicieron revisiones al microscopio óptico de los tubos digestivos y los cordones fecales. En los tubos digestivos se consideró el espacio que ocupaban las partículas en éste. Si era completamente se consideró un tubo digestivo lleno, si solo era la mitad anterior o posterior se consideró medio lleno y si carecía de partículas era vacío. En la revisión de los cordones fecales, si estos no

sobresalían las espinas caudales fue considerado corto, si alcanzaba el tamaño de la larva era largo y si sobrepasaban el tamaño de ésta fue considerado muy largo. Además se observó la movilidad de las larvas y limpieza de las setas.

Se encontró que los tres tamaños de partícula fueron ingeridos por las protozoas y las mysis. De acuerdo a la frecuencia de alimentación, en el bioensayo de protozoas, solo se encontraron larvas al final de este experimento cuando se alimentaron cada 4 y 6 horas. Las protozoas alimentadas cada 4 horas en su mayoría presentaron tubos medio vacíos y cordones fecales largos, de ahí que se consideró esta frecuencia como adecuada. Las protozoas alimentadas cada 6 horas presentaron tubos digestivos vacíos o medio vacíos y algunas de ellas llegaron a presentar cordones fecales

## BIOENSAYOS DEFINITIVOS

En los experimentos de protozoas se utilizó una densidad de 100 nauplios IV  $\text{litro}^{-1}$  en 5 litros, los cuales se colocaron en recipientes cónicos de 10 litros de capacidad. A las larvas se les adicionó una concentración inicial única de la diatomea *Chaetoceros ceratosporum* (30 000 cel  $\text{ml}^{-1}$  para *L. setiferus* y 10 000 cel  $\text{ml}^{-1}$  para *L. vannamei*) con la finalidad de estimular la actividad enzimática. Cuando cambiaron a protozoa I se les alimentó únicamente con su correspondiente ración de alimento artificial (tabla 6) cada 4 horas hasta que alcanzaron el estadio de protozoa III. Para los experimentos de mysis en 8 litros se sembraron 50 mysis I por litro en los tanques cónicos de 10 litros. A partir de este subestadio se comenzó a alimentar a las larvas únicamente con el alimento microparticulado (tabla 6). El alimento artificial se suministró cada 6 horas. Al tratamiento testigo de todos los experimentos se le ajustó el alimento dos veces al día de acuerdo a su esquema de alimentación (tabla 6).

El agua de mar utilizada para todos los experimentos fue pasada por filtros de arena, de cartucho de 1 micra, de diatomeas y esterilizada con luz ultravioleta. Se adicionó EDTA a razón de 10 mg  $\text{litro}^{-1}$  para eliminar metales pesados. Dos veces al día se midió el pH, la salinidad, el oxígeno disuelto y la temperatura. A los experimentos de mysis diariamente se recambió el 50% de agua.

Tabla 6.- Esquema de alimento vivo empleado en el tratamiento testigo para protozoos y mysis de *L. setiferus* (Gallardo *et al.* 1995) y *L. vannamei* (Le Moullac 1994.). Las microalgas fueron *Chaetoceros ceratosporum* y *Tetraselmis chuii*, las cantidades están en cel ml<sup>-1</sup>. El alimento artificial de las dietas experimentales está en mg larva<sup>-1</sup>día<sup>-1</sup>.

	Estadio	ALIMENTO VIVO		ALIMENTO ARTIFICIAL
		Diatomea	Flagelado	
<i>L. setiferus</i>	N V			
	PI	30 000		0.13
	PII	30 000	2 000	0.13
	PIII	40 000	3 000	0.13
	MI	40 000	3 000	0.13
	MII	40 000	3 000	0.13
	MIII	40 000	3 000	0.13
<i>L. vannamei</i>	N V	10 000	2 500	
	PI	40 000	6 000	0.08 – 0.1
	PII	75 000	10 000	0.12
	PIII	85 000	10 000	0.16
	MI	60 000	25 000	0.32
	MII	50 000	20 000	0.32
	MIII	60 000	20 000	0.32

La condición nutricional se evaluó mediante varios indicadores:

Se determinó el **Índice de desarrollo** de las larvas a través de observaciones directas de las larvas en el microscopio óptico. Se empleó la fórmula propuesta por Villegas y Kanazawa (1979)

$$ID = \frac{\text{suma } A}{N}$$

Donde: A= al valor absoluto asignado a cada estadio larval, los valores fueron 1 para protozoa I, 2 para protozoa II, 3 para protozoa III, 4 para mysis I, 5 para mysis II, 6 para mysis III y 7 para postlarva 1.

N= Número de larvas examinadas en cada muestreo

El **crecimiento en longitud** se obtuvo midiendo a 12 larvas por cada tratamiento en cada subestadio. Las mediciones fueron hechas al microscopio óptico con regla midiendo a las protozoas I desde el extremo anterior del cefalotorax hasta el final de la furca sin espinas; a las protozoas II y III desde el extremo anterior del rostrum hasta el final de la furca sin espinas. Las mysis fueron medidas desde la escotadura post-orbital hasta el extremo posterior del telson. Con estos datos en longitud se calculó la tasa de crecimiento en mm día<sup>-1</sup>.

La **sobrevivencia** para los experimentos de protozoas y mysis fue calculada a partir de la diferencia entre el número de larvas vivas en protozoas III y postlarva 1 respectivamente, el número de larvas sembradas menos las utilizadas durante el experimento para evaluar crecimiento, desarrollo y consumo de oxígeno. El porcentaje de sobrevivencia fue referido al tratamiento testigo, considerando a éste como 100%.

El **Índice de Rendimiento (I.R.)** define un régimen alimentario para larvas de peneidos, permite establecer de manera integral la historia del proceso de cultivo (Gallardo *et al.* 1995). Para las protozoas se calculó de la siguiente manera:

$$\text{I.R.} = \text{Tasa de crecimiento} * \text{Sobrevivencia}$$

donde la Sobrevivencia (fracción de 1) fue un factor de corrección a la tasa de crecimiento.

Para las mysis, además se multiplicó el índice de calidad (fracción de 1). Los valores fueron expresados en  $\text{mm día}^{-1}$ .

El **índice de calidad** solo se aplicó a las postlarvas 1 al término de cada experimento, éste fue calculado de acuerdo a (De la Cruz 1992). Se colocaron a 30 postlarvas 1 en un litro con agua mar a 16‰ y después de una hora se cuantificó el número de postlarvas que presentaron movimiento. Se hicieron tres réplicas por cada tratamiento.

El **estado fisiológico** se evaluó en todos los subestadios larvales a través del consumo de oxígeno.

Diez larvas por tratamiento fueron colocadas de manera individual, en cámaras respirométricas de 10 ml con 200 microlitros de agua de cada tratamiento para protozoas y 300 microlitros para mysis. Se mantuvo termostáticamente controlado a 28°C. Se registró la cantidad de oxígeno en el agua al momento de colocar la larva y 5 minutos después con un oxímetro StratKelvin modelo 781. A la par de las 10 cámaras con larvas se colocó una cámara testigo la cual consistió en el mismo volumen de agua, de acuerdo al estadio y tratamiento, pero sin larva. El consumo real de oxígeno se obtuvo a través de la diferencia del consumo inicial y final en el tiempo menos el consumo de la cámara testigo. Los resultados fueron expresados en  $\mu\text{g}$  de oxígeno  $\text{hr}^{-1}$   $\mu\text{g}$  larva<sup>-1</sup>.

Para la medición de la **actividad enzimática** se colectaron 100 larvas en cada subestadio para protozoas y 50 para mysis por tratamiento. Las larvas fueron obtenidas principalmente de una de las unidades experimentales y se mantuvieron en nitrógeno líquido hasta el momento de su análisis. Los extractos se

prepararon adicionando a las larvas 500 microlitros de agua destilada y se homogenizaron en hielo 1 minuto con un "rotor" a velocidad máxima. Se centrifugaron 6 minutos a 14 000 rpm a 4°C. El sobrenadante se utilizó para las mediciones. Todos los valores fueron expresados en actividad de la enzima por mg de proteína soluble.

Debido a la densidad de larvas mantenida en las unidades experimentales no se realizaron repeticiones de las evaluaciones enzimáticas. Los reactivos empleados para cada una de las enzimas se presentan en la tabla 7. La descripción metodológica de cada una de ellas se presenta a continuación.

Para la amilasa los tubos tanto del blanco como de las muestras se prepararon adicionando 125 µl de sustrato, 125 µl de buffer, 1 ml de DSA (3,5 dinitrosalicílico acid) y 50 µl de enzima. Las muestras se incubaron a 37°C por 5 minutos. Después de este tiempo se sacaron del agua hirviendo, se dejaron enfriar y se les agregó 10 ml de agua destilada. Se leyó en el espectrofotómetro.

Las evaluaciones de la quimotripsina y tripsina se realizaron de manera directa en los viales o celdas del espectrofotómetro debido a que son reacciones rápidas. Se colocó para cada muestra 60 µl del buffer y 20 µl de sustrato, se mezcló y se calibró el espectrofotómetro posteriormente se adicionó 20 µl de extracto puro y se leyó absorbancia.

Para las evaluaciones de la glucosidasa se colocaron en un tubo de ensayo 985 ml de buffer mas 15 ml de sustrato y 20 µl de extracto enzimático, se incubó a 37°C durante 30 minutos, después de este tiempo se agregó a cada tubo 1 ml de carbonato de sodio 1 molar. Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro

En las proteasas totales se colocó 10 µl de muestra (agua para el blanco) y 200 µl de sustrato.

Todas las lecturas fueron referidas a la actividad específica por mg de proteína soluble en las larvas. Para determinar ésta se empleó el método de Bradford (1976).

Tabla 7.- Reactivos empleados para cada una de las enzimas evaluadas en este trabajo de investigación.

	TRIPSINA	QUIMOTRIPSINA	$\alpha$ -AMILASA	GLUCOSIDASA	PROTEASAS TOTALES
BUFFER	Buffer TRIS 0.1M, pH 8	Buffer TRIS 0.1M, pH 8	Buffer PHOSPHATE 10mM, pH 7	Buffer PHOSPHATE 10mM, pH 7	Buffer PHOSPHATE 10mM, pH 7
SUSTRATO	Bapna(N&benzoyl- $\alpha$ - arginine-nitroanilide, sigma B4875)	Sapna (N-succinyl- ala-ala-pro- phe <sub>2</sub> nitroanilide, sigma S7388)	Glycogen sigma G8751	PNPG (paranitropheny&D glucopiranoside, sigma N1377)	Azocoll (azodye- impregnated collagen, sigma A4341)
ABSORBANCIA	405 nm	405 nm	540 nm	410 nm	520 nm
AUTOR	Geiger y Fritz (1988)	Geiger (1988)	Berfield 1955)	Thirunavukkarasu y Priest, (1983)	Bradford.M.M. (1976)

Con la finalidad de integrar todos los indicadores evaluados en este trabajo, se realizaron en todos los experimentos un **análisis de correlación** con el programa de computadora Statistica.

Para el **análisis de los resultados** se aplicó la prueba estadística ANDEVA de una vía para detectar diferencias significativas entre los niveles proteicos para cada estadio larval en los parámetros evaluados, excepto en las actividades enzimáticas. Se usó la prueba de Newman-Keuls para ponderar las diferencias, con un nivel de confianza de 0.05% (Zar 1999). Los resultados de cada especie fueron analizados por separado.

## RESULTADOS

### EXPERIMENTOS DE LAS PROTOZOEAS

Durante los bioensayos de protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei* para evaluar los requerimientos nutrimentales, los **parámetros fisicoquímicos** que se obtuvieron fueron similares a lo establecido para el cultivo larval de peneidos (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos registrados durante los experimentos de requerimiento proteico en protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei*.

	Temperatura(°c)	Salinidad(‰)	pH	Oxígeno (mgO <sub>2</sub> lit <sup>-1</sup> )
Máximo	28.1	40	8.3	6.27
Mínimo	27.3	38	8.0	5.79
Promedio	27.7 ± 0.01	39.09 ± 0.09	8.2 ± .008	6.07 ± .008

El **Índice de desarrollo** no mostró diferencias significativas entre los tratamientos en *L. setiferus* de tal forma que en todas las dietas aparecieron protozoas III a las 120 horas de cultivo; sin embargo en *L. vannamei* si las hubo, siendo las larvas alimentadas con alimento vivo las que se desarrollaron más rápidamente (120 hrs). En esta especie no existió diferencia estadística entre las dietas microparticuladas con 30, 50 y 60% de proteína, pero sí entre éstas y la dieta con 40%; en este último tratamiento las larvas murieron (Tabla 9)

Tabla 9.- Índice de desarrollo obtenido con las dietas microparticuladas y alimento vivo en protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei*. Letras distintas indican diferencias estadísticas (p<0.05). NV= nauplio V, 1=protozoa I, 2=protozoa II, 3=protozoa III. AV= alimento vivo

Hrs	<i>L. setiferus</i>					<i>L. vannamei</i>				
	30 %	40 %	50 %	60 %	A.V.	30 %	40 %	50 %	60 %	A.V.
0	NV	NV	NV	NV	NV	NV	NV	NV	NV	NV
24	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0
48	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0	1.00±0
72	1.92±0.05	1.87±0.05	1.56±1.7	1.87±0.11	1.93±0.05	1.33±0.16	1.11±0.11	1.55±0.17	1.55±0.17	2±0
96	2.00±0	2.00±0	1.90±0.02	2.00±0	2.00±0	1.88±0.11	1.77±0.14	2±0	1.77±0.14	2.66±0.16
120	2.99±0*	2.88±0.11*	2.63±0.08*	2.98±0.01*	2.98±0.01*	2.11±0.11 <sup>b</sup>	1.25±0.16 <sup>c</sup>	1.85±0.14 <sup>b</sup>	2±0 b	3±0*
144						2.77±0.14		2.22±0.14	2.22±0.14	
168								2.77±0.14	3±0	



En relación a la **tasa de crecimiento** (tabla 10) en las protozoas tanto de *L. setiferus* como de *L. vannamei* si existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), siendo el tratamiento control el que presentó la mayor tasa, éste fue seguido por la dieta con 30% de proteína. Las larvas de *L. vannamei* murieron en la dieta con 40% de proteína. Puede notarse que las larvas de *L. setiferus* crecieron más que *L. vannamei* cuando fueron alimentadas con los niveles proteicos probados.

La **sobrevivencia** a protozoa III en ambas especies no fue significativamente diferente entre las dietas microparticuladas (tabla 10), sin embargo en 30% de proteína las protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei* presentaron la mayor sobrevivencia de las dietas artificiales.

El **Índice de Rendimiento** para *L. setiferus* aumentó conforme se incrementó la proteína dietética hasta 50% de proteína, lo inverso sucedió con *L. vannamei*. El valor del tratamiento control fue mayor al resto de las dietas (tabla 10).

Tabla 10.- Resultados de la condición nutricional de los subestadios de protozoa I a III de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con distintos porcentajes de proteína y con alimento vivo. ND=No determinado. A.V.= Alimento Vivo. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ). No fue posible obtener el error estandar en la sobrevivencia de *L. vannamei* debido a que en cada tratamiento solo en una unidad experimental se encontraron protozoas III al final del experimento.

	Dietas	Tasa de Crecimiento (mm día <sup>-1</sup> )	Sobrevivencia (%)	Índice de Rendimiento (mm día <sup>-1</sup> )
<i>L. setiferus</i>	30%	0.216 ± 0.0001 b	24.01 ± 7.44 a	0.051
	40%	0.208 ± 0.0001 c	41.19 ± 10.6 a	0.085
	50%	0.026 ± 0.0001 c	49.19 ± 14.17 a	0.101
	60%	0.210 ± 0.0001 c	39.13 ± 9.12 a	0.082
	A.V.	0.224 ± 0.0001 a	100	0.22
<i>L. vannamei</i>	30%	0.170 ± 0.002 b	24.57 a	0.041
	40%	ND	0	0
	50%	0.146 ± 0.007 c	18.65 a	0.027
	60%	0.147 ± 0.004 c	6.47 a	0.009
	A.V.	0.299 ± 0.006 a	100	0.299

Referente al **consumo de oxígeno** en *L. setiferus* puede verse en la tabla 11 que no existieron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en ningún subestadio de protozoa. El consumo de oxígeno de las larvas alimentadas con las dietas de 30 y 40% de proteína presentó una tendencia similar al de las larvas alimentadas con alimento vivo. Con 60% de proteína el consumo de oxígeno tendió a incrementarse hasta protozoa II.

A este respecto en las larvas de *L. vannamei*, si existieron diferencias significativas en protozoa I y II. Los mayores valores en protozoas I se obtuvieron en las larvas alimentadas con 50% de proteína y con el alimento vivo; mientras que en protozoa II éstos fueron en las dietas con 30% de proteína y alimento vivo ( $p < 0.05$ ). A excepción de las larvas alimentadas con 30 y 40% de proteína el consumo de oxígeno disminuyó conforme avanzó el desarrollo en el resto de las dietas.

Tabla 11.- Valores promedio de consumo de oxígeno de protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con diferentes porcentajes de proteína y microalgas. Letras distintas en la misma columna representan diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en el mismo estadio. Los valores son en  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ qlarva}^{-1}$ . AV= alimento vivo, ND= no determinado

	Dieta	Protozoa I	Protozoa II	Protozoa III
<i>L. setiferus</i>	30%	0.024 ± 0.006 a	0.007 ± 0.001 a	0.008 ± 0.002 a
	40%	0.014 ± 0.002 a	0.005 ± 0.002 a	0.005 ± 0.0008 a
	50%	0.016 ± 0.002 a	0.006 ± 0.001 a	0.010 ± 0.002 a
	60%	0.033 ± 0.005 a	1.31 ± 1.29 a	0.011 ± 0.002 a
	AV	0.017 ± 0.007 a	0.009 ± 0.001 a	0.009 ± 0.003 a
<i>L. vannamei</i>	30%	0.026 ± 0.005 a	0.036 ± 0.004 a	ND
	40%	0.006 ± 0.0003 b	0.008 ± 0.0004 ab	ND
	50%	0.035 ± 0.001 a	0.009 ± 0.0006 b	ND
	60%	0.016 ± 0.001 ab	0.014 ± 0.001 ab	ND
	AV	0.035 ± 0.001 a	0.019 ± 0.0006 ab	ND

La mayor cantidad de proteína total en las protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei* se presentó en diferentes niveles proteicos. En protozoa I y II las larvas tuvieron más proteína soluble con los niveles proteicos de 30 y 40%, mientras que en protozoa III de *L. vannamei* fue en 50% de proteína, así mismo en este estadio la proteína total aumentó en todos los tratamientos (Figura 1).

En la **actividad enzimática** se encontró, que de las proteasas totales evaluadas, las protozoas I de *L. setiferus* presentaron la mayor actividad en 60% de proteína y entre 30 y 40% en protozoa II, mientras que en protozoa I y II de *L. vannamei* la mayor actividad se dio principalmente en las dietas con 30 y 60% de proteína y en protozoa III entre 50 y 60%. (Figura 1; anexo).

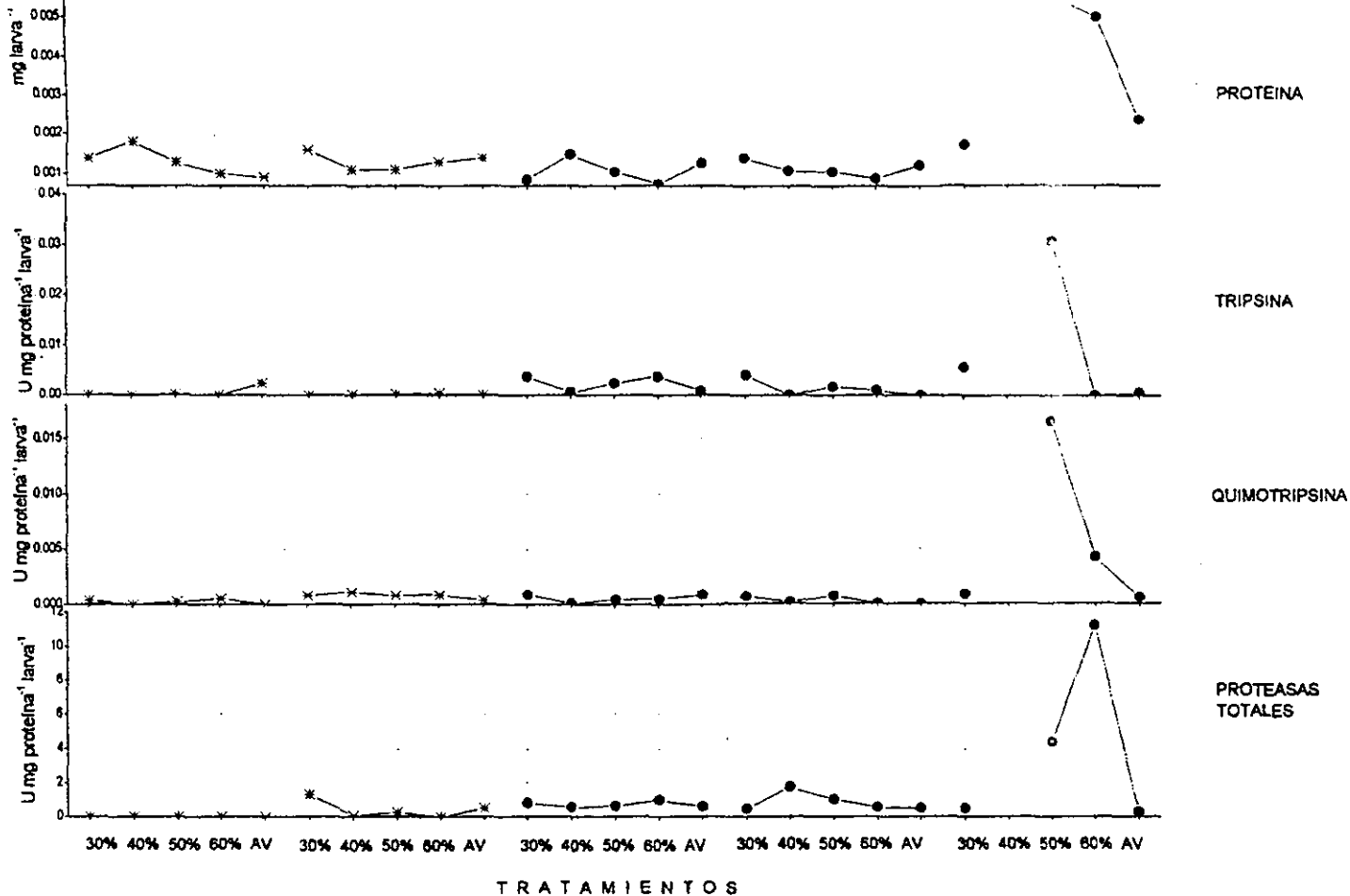


Figura 1.- Valores de proteína total y actividades enzimáticas registradas en protozoos de *L. setiferus* (\*) y *L. vannamei* (o) alimentadas con diferentes niveles proteicos. AV=alimento vivo

Las protozoas de *L. setiferus* presentaron menor actividad de las proteasas que *L. vannamei*. En ambas especies la actividad de la quimotripsina fue menor que la de tripsina. Existió una tendencia a incrementar la actividad de la quimotripsina y de las proteasas totales con el desarrollo de las larvas.

Estos resultados muestran que en los primeros estadios de protozoa de *L. setiferus*, en general el pico de actividad de las proteasas se presentó cuando las larvas fueron alimentadas con altos niveles de proteína (50 y 60%), mientras que en los últimos subestadios existió una tendencia a encontrarse mayor actividad, con bajo porcentaje de inclusión (30 y 40%). En las protozoas de *L. vannamei* en los primeros estadios, la máxima actividad enzimática ocurrió en bajos niveles proteicos y conforme avanzó el desarrollo estos picos se vieron con alta proteína en la dieta.

La amilasa y glucosidasa en *L. setiferus* presentaron su pico de actividad en 60% y alimento vivo en protozoa I y en 30 y 50% en protozoa II respectivamente, mientras que las protozoas I de *L. vannamei* este pico fue entre 50 y 60% de proteína, en protozoa II en alimento vivo y 40% y en 50% para protozoa III. Las protozoas de *L. setiferus* tuvieron de manera general menor actividad de amilasa que *L. vannamei*, la actividad de glucosidasa fue similar para ambas especies (Figura 2, anexo). Así mismo las amilasas tuvieron mayor actividad en las primeras protozoas de *L. setiferus* con las dietas con alto porcentaje de inclusión, lo contrario sucedió en los últimos subestadios; en cambio en *L. vannamei* el pico de actividad de estas enzimas siempre se dio en altos niveles proteicos.

La razón A/P presentó su pico de actividad en 60% para *L. setiferus* y en 50% para *L. vannamei* en protozoa I. En protozoa II y III fue mayor entre 30 y 40% de proteína para ambas especies (Figura 2). Esta razón en *L. setiferus* tendió a disminuir con el desarrollo, lo contrario sucedió con *L. vannamei* solo cuando las larvas fueron alimentadas con 30% de proteína y con alimento vivo.

De acuerdo al análisis de **correlación**, en las protozoas de *L. setiferus* alimentadas bajo las condiciones de este trabajo, el consumo de oxígeno solo fue inversamente proporcional a la razón A/P, la misma relación se dio entre el porcentaje de proteína soluble en las larvas y la proteína dietética (tabla 13). A pesar de que el coeficiente de correlación sugirió asociaciones, en ninguno de los casos fueron estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ).

A este respecto en las protozoas de *L. vannamei* el consumo de oxígeno se relacionó con la actividad enzimática. Mientras que la tasa de crecimiento solo fue inversamente proporcional a la actividad de las

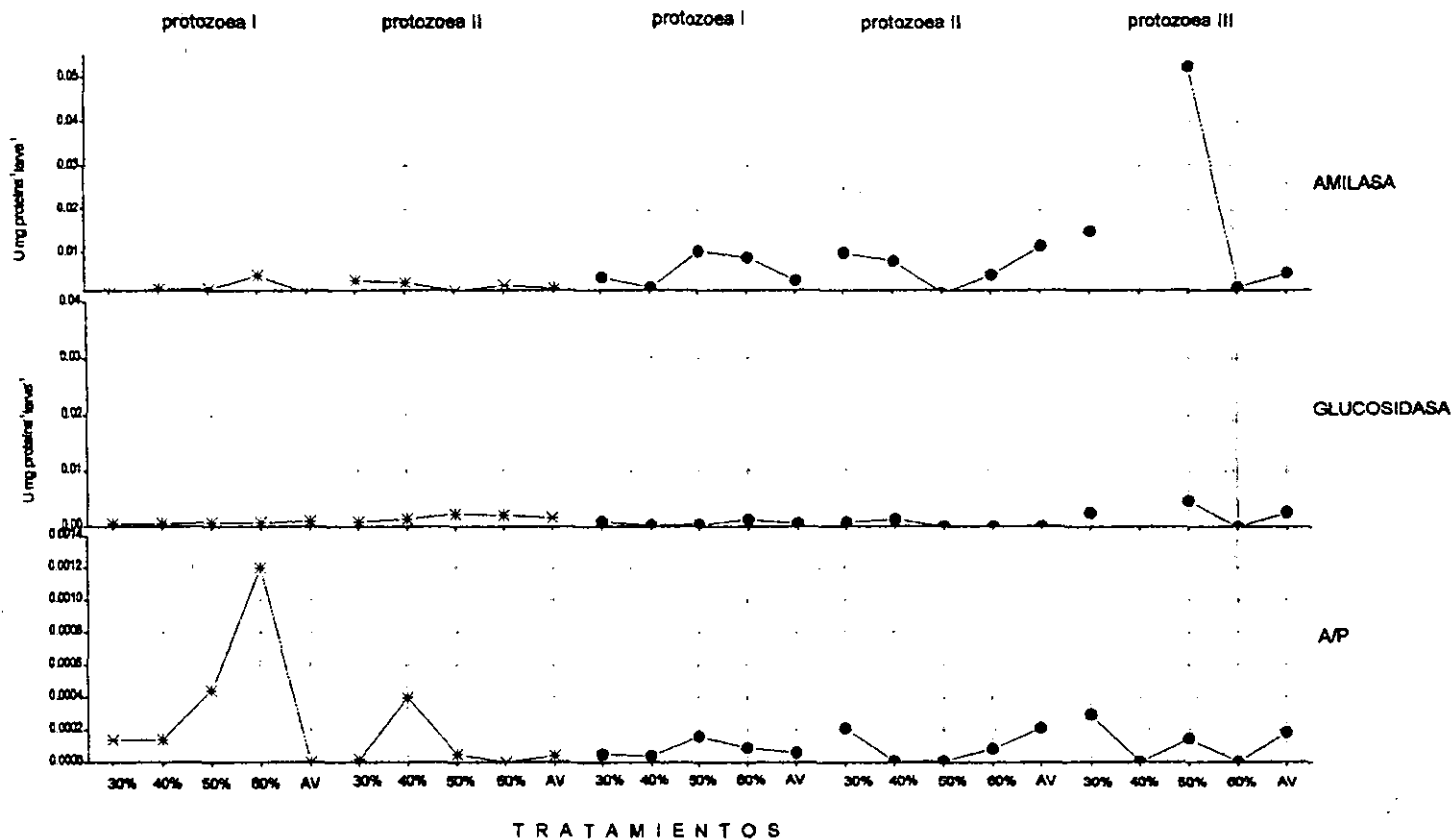


Figura 2.- Actividades enzimáticas registradas en protozoas de *L. setiferus* (\*) y *L. vannamei*(o) alimentadas con diferentes niveles proteicos. AV=alimento vivo A/P=razón amilasa/proteasa.

proteasas totales. El contenido de proteína en la dieta tuvo relación con la proteína soluble; sin embargo ninguna de estas relaciones fue estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) (Tabla 12).

Tabla 12.- Relación de las respuestas evaluadas en las protozoas de *L. setiferus* y *L. vannamei*.  $r$ = correlación,  $r^2$ =coeficiente de determinación y  $p$ =probabilidad. ND= no determinado.

		<i>L. setiferus</i>			<i>L. vannamei</i>		
		$r$	$r^2$	$p$	$R$	$r^2$	$p$
Consumo de O <sub>2</sub> vs	Sobrevivencia	0.15	0.022	0.81	ND	ND	ND
	I.R.	0.14	0.022	0.811	ND	ND	ND
	Tasa Crecimiento	0.05	0.002	0.932	ND	ND	ND
	Amilasa	-0.15	0.02	0.808	0.57	0.336	0.306
	Proteasas totales	0.04	0.001	0.947	-0.67	0.45	0.214
	Razón AP	-0.72	0.52	0.163	0.84	0.71	0.071
Tasa de crecimiento vs	Amilasa	0.044	0.002	0.943	-0.42	0.17	0.579
	Proteasas totales	0.5	0.25	0.389	-0.59	0.34	0.41
	Razón AP	-0.36	0.13	0.555	0.3	0.09	0.691
Proteína soluble vs	Tasa Crec.	0.12	0.014	0.847	0.43	0.18	0.568
	Proteína dietética	-	0.54	0.262	0.58	0.34	0.6
		0.737					

## EXPERIMENTOS DE MYISIS

Los **parámetros fisicoquímicos** registrados durante los experimentos de mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei* se presentan en la tabla 13 éstos estuvieron dentro de lo establecido para las larvas de peneidos en cultivo.

Tabla 13.- Valores de los parámetros fisicoquímicos en los experimentos de mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei*.

	Temperatura (°C)	Salinidad (‰)	pH	Oxígeno
MÁXIMO	27.8	38	8.3	9.13
MÍNIMO	27.4	36	7.9	8.78
PROMEDIO	27.5 ± 0.04	36.3 ± 0.27	8.1 ± 0.07	8.91 ± 0.03

El **Índice de desarrollo** de las mysis de *L. setiferus* no presentó diferencias estadísticas, comenzaron a aparecer las primeras postlarvas 1 a partir de las 72 horas en todos los tratamientos. En las mysis de *L. vannamei* este índice si presentó diferencias significativas, siendo las dietas con alimento vivo y 60% de proteína donde aparecieron las primeras postlarvas a las 72 horas de cultivo (tabla 15).

Tabla 15- Índice de desarrollo obtenido para mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con dietas microparticuladas purificadas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ). 4=mysis I, 5=mysis II, 6=mysis III y 7= postlarva 1.

hrs	<i>L. setiferus</i>					<i>L. vannamei</i>				
	30 %	40 %	50 %	60 %	A.V.	30 %	40 %	50 %	60 %	A.V.
0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4 ± 0	4.00 ± 0	4.00 ± 0	4.00 ± 0	4.00 ± 0	4.00 ± 0
24	4.75 ± 0.13	4.66 ± 0.14	4.91 ± 0.08	4.83 ± 0.11	4.75 ± 0.13	4.44 ± 0.17	4.88 ± 0.20	4.77 ± 0.14	4.66 ± 0.16	5.00 ± 0
48	5.75 ± 0.13	5.66 ± 0.14	5.58 ± 0.14	5.66 ± 0.14	6.00 ± 0	5.66 ± 0.16	5.33 ± 0.16	5.33 ± 0.16	5.44 ± 0.17	5.66 ± 0.16
72	6.18 ± 0.21 *	6.13 ± 0.10 *	6.12 ± 0.09 *	6.25 ± 0.17 *	6.54 ± 0.18 *	5.55 ± 0.17	6.00 ± 0.16	6.00 ± 0	6.30 ± 0.23	6.40 ± 0.17
96						6.00 ± 0.23 <sup>b</sup>	6.80 ± 0.11 <sup>a</sup>	6.44 ± 0.17 <sup>ab</sup>	6.60 ± 0.16 <sup>a</sup>	7.00 ± 0 *
120						6.40 ± 0.17		6.88 ± 0.11		

Las evaluaciones nutritivas realizadas a las mysis de estas dos especies de camarón se muestran en la tabla 15. En ambas especies la **tasa de crecimiento** si presentó diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) donde las larvas con alimento vivo crecieron más; sin embargo entre las dietas artificiales las mysis de *L. setiferus* crecieron mejor en 60% de proteína (0.190 mm día<sup>-1</sup>) mientras que las mysis de *L. vannamei* con 50% (0.143 mm día<sup>-1</sup>).

No existieron diferencias significativas entre los valores de **sobrevivencia** en *L. setiferus*, sin embargo la dieta con 60% de proteína presentó el porcentaje más alto. Para *L. vannamei* si existieron diferencias, siendo el tratamiento con 30% estadísticamente menor que cualquier otra dieta artificial.

En ambas especies el **Índice de calidad** presentó diferencias estadísticas. Las dietas con 30, 50 y 60% de proteína para *L. setiferus* y 50 y 60% para *L. vannamei* presentaron los mas altos valores, sin embargo fueron menores al tratamiento testigo.

El **Índice de Rendimiento** para ambas especies aumentó a medida que incrementó el nivel proteico de las dietas. El tratamiento testigo fue el que presentó el mayor valor 4 y 3 veces más grande que el mejor valor de las dietas artificiales para *L. setiferus* y *L. vannamei* respectivamente.

Tabla 15.- Respuestas nutritivas en los subestadios de mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei*. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ).

	Dietas	Tasa de Crecimiento (mm día <sup>-1</sup> )	Sobrevivencia (%)	Índice de Calidad (%)	Índice de Rendimiento (mm día <sup>-1</sup> )
<i>L. setiferus</i>	30%	0.139 ± 0.018 b	21.74 ± 9.9 a	79.69 ab	0.024
	40%	0.153 ± 0.02 b	45.77 ± 15.5a	66.92 b	0.046
	50%	0.141 ± 0.01 b	45.94 ± 8.8 a	93.33 a	0.06
	60%	0.190 ± 0.01 b	50.34 ± 11.3 a	95.55 a	0.091
	A.V.	0.381 ± 0.06 a	100	100	0.381
<i>L. vannamei</i>	30%	0.115 ± 0.01 b	12.65 ± 2.11 b	25.66 b	0.003
	40%	0.0125 ± 0.01 b	32.65 ± 10.15 ab	44.43 b	0.016
	50%	0.143 ± 0.012 b	30.57 ± 4.96 ab	79.99 a	0.031
	60%	0.096 ± 0.012 b	59.12 ± 16.46 a	98.86 a	0.05
	A.V.	0.214 ± 0.02 a	100	100	0.015

Los resultados del **Consumo de Oxígeno** de este experimento se presentan en la tabla 16. En mysis I y III existieron diferencias significativas entre los tratamientos. Las larvas alimentadas con alimento vivo disminuyeron su consumo a medida que se desarrollaron. Sin embargo con todas las dietas microparticuladas fue mayor el consumo en mysis III que en mysis I. Las dietas con menor contenido proteico presentaron los mayores valores de consumo de oxígeno. El control, 60 y 50% de proteína no presentaron diferencias significativas con respecto a 30 y 40%.

Tabla 16.- Valores de consumo de oxígeno de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentadas con dietas microparticuladas con diferentes niveles proteicos. Los valores son en  $\mu\text{gO}_2 \text{ hr}^{-1} \text{ qlarva}^{-1}$ . ND= no determinado, AV= alimento vivo.

	Dieta	Mysis I	Mysis II	Mysis III	Postlarva 1
<i>L. setiferus</i>	30%	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.007 ± 0.001	ND
	40%	0.007 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.010 ± 0.002	ND
	50%	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.004 ± 0.001	ND
	60%	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.005 ± 0.001	ND
	AV	0.005 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.003 ± 0.001	ND
<i>L. vannamei</i>	30%	0.011 ± 0.001	ND	0.010 ± 0.001	0.007 ± 0.001
	40%	0.011 ± 0.001	0.011 ± 0.001	0.008 ± 0.002	0.015 ± 0.005
	50%	0.012 ± 0.002	0.019 ± 0.002	0.019 ± 0.003	0.015 ± 0.004
	60%	0.017 ± 0.003	0.011 ± 0.001	0.018 ± 0.002	0.013 ± 0.001
	AV	0.005 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.008 ± 0.003	0.004 ± 0.001



El pico de proteína soluble se presentó en mysis I de *L. setiferus* con el alimento vivo y en mysis II y III en este tratamiento y con 40% de proteína, mientras que en las mysis de *L. vannamei* fue entre 50 y 60% (figura 3). Las larvas de *L. vannamei* tuvieron mayor cantidad de proteína que *L. setiferus*.

Las **actividades enzimáticas** registradas se encontró que las proteasas tuvieron mayor actividad en los tres estadios de mysis de *L. setiferus* cuando se les alimentó con 30 y 40% de proteína; se presentó una tendencia a disminuir la actividad con el desarrollo larval. En las mysis de *L. vannamei* las tres proteasas evaluadas tuvieron el pico de actividad en mysis I siempre con alimento vivo, en mysis II principalmente en 50% y en 30% de proteína en mysis III y postlarva 1 (figura 3, anexo).

La actividad de la quimotripsina fue mayor que la tripsina en las dos especies de camarón. Hubo un incremento en la actividad de proteasas totales a medida que avanzó el desarrollo. Por otro lado de las carbohidrasas registradas en *L. setiferus* y *L. vannamei* la amilasa expresó mayor actividad en los primeros estadios de mysis a bajas concentraciones de inclusión de proteína en la dieta (40%), mientras que la glucosidasa ese pico se encontró en altos porcentajes de proteína (60%). Los últimos estadios presentaron mayor actividad a bajos niveles de proteína dietética (figura 4, anexo). En ambas especies, la amilasa presentó mayor actividad que la glucosidasa. La actividad de la amilasa fue mayor en mysis de *L. setiferus* que en *L. vannamei*. Para esta última especie existió un aumento de glucosidasa con el desarrollo de las larvas.

Los picos de la razón amilasa/proteasa se presentaron entre 50 y 60% de proteína en *L. setiferus*. Para *L. vannamei* se presentó principalmente en 50% de proteína.

Dentro de las **correlaciones** solo se encontró relación entre el consumo de oxígeno y el índice de calidad y entre la proteína soluble y la proteína dietética en *L. setiferus* (tabla 17). En cambio en las mysis de *L. vannamei* la sobrevivencia y la tasa de crecimiento estuvieron más asociados al consumo de oxígeno que los índices de rendimiento y de calidad. De las enzimas, la razón amilasa/proteasa estuvo más relacionada con el consumo de oxígeno que con la tasa de crecimiento; sin embargo ninguna de estas relaciones fueron estadísticamente significativas (tabla 17).

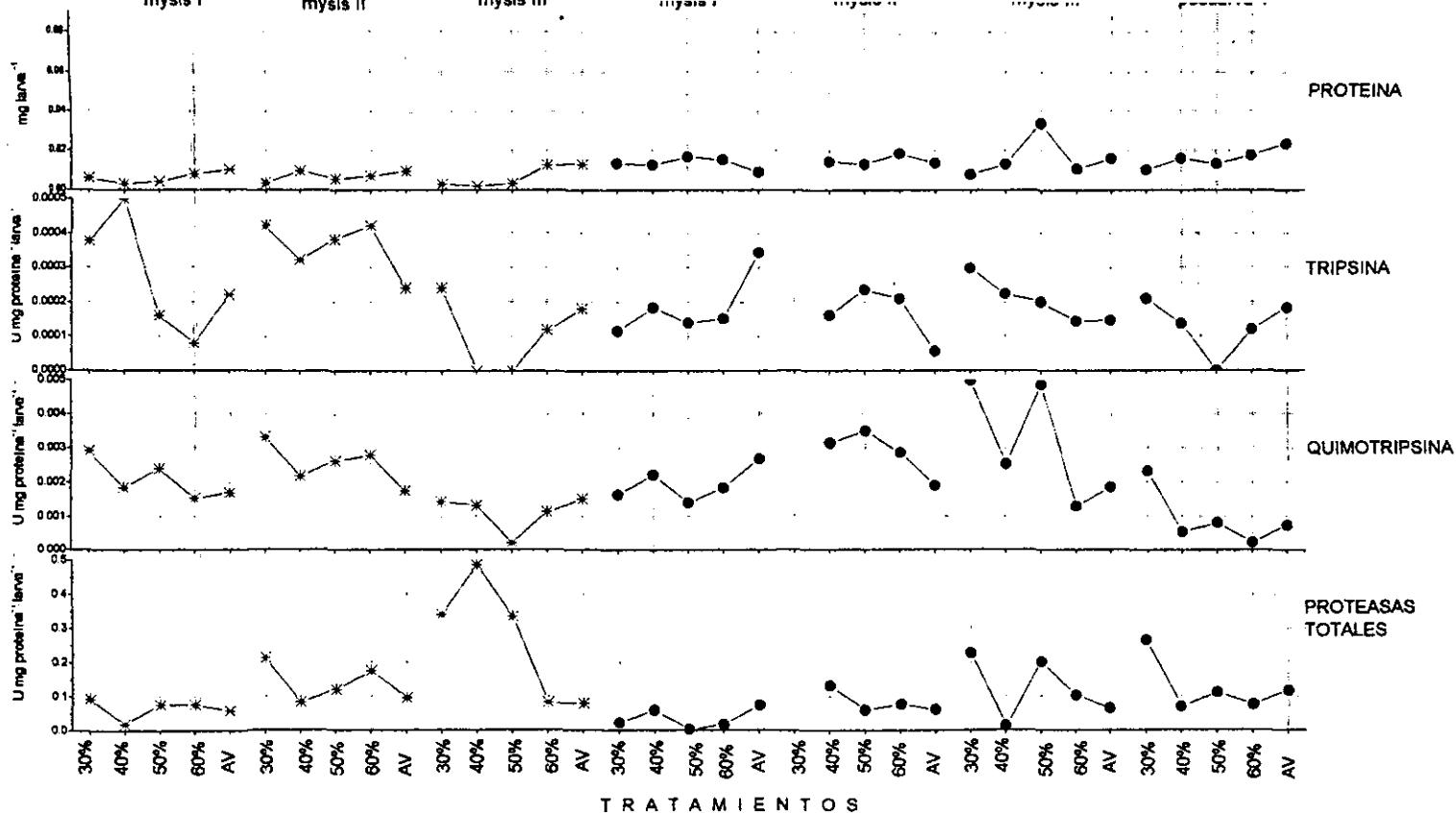


Figura 3.- Valores de proteína total y actividades enzimáticas registradas en mysis de *L. setiferus* (\*) y *L. vannamei* (o) alimentadas con diferentes niveles proteicos. AV=alimento vivo

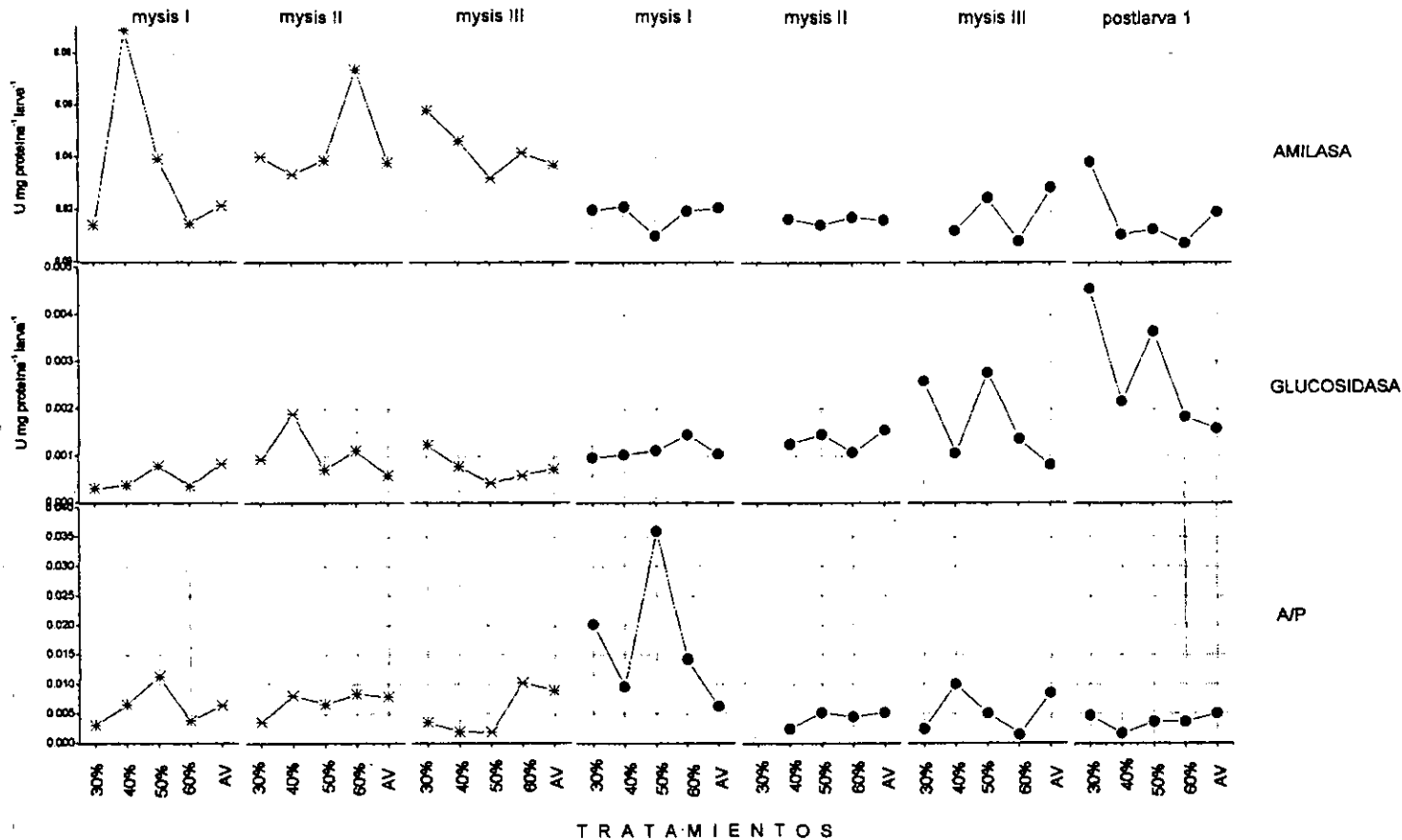


Figura 4.-Actividades enzimáticas registradas en mysis de *L. setiferus* (\*) y *L. vannamei* (o) alimentadas con diferentes niveles proteicos. AV=alimento vivo. A/P=razón amilasa/proteasa

Tabla 17.- Valores del coeficiente de correlación ( $r$ ), coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y probabilidad ( $p$ ) al relacionar las respuestas evaluadas en mysis de *L. setiferus*.

		<i>L. setiferus</i>			<i>L. vannamei</i>		
		$r$	$r^2$	P	$r$	$r^2$	p
VO2 vs	Sobrevivencia	-0.57	0.33	0.306	-0.04	0.23	0.17
	Índice de Rendimiento	-0.62	0.39	0.259	-0.66	0.44	0.353
	Tasa de crec.	-0.58	0.33	0.304	-0.60	0.37	0.276
	Índice de Calidad	-0.97	0.95	0.004	-0.05	0.003	0.929
	Amilasa	0.63	0.4	0.249	-0.67	0.45	0.215
	Proteasas totales	0.78	0.62	0.113	-0.54	0.30	0.339
	Razón A/P	-0.55	0.31	0.327	-0.86	0.75	0.058
Tasa de crec. vs	Amilasa	-0.33	0.11	0.583	0.08	0.006	0.896
	Proteasas totales	-0.69	0.48	0.194	-0.08	0.006	0.896
	Razón A/P	0.67	0.45	0.209	0.57	0.32	0.313
Proteína soluble vs	Tasa de crec.	-0.34	0.12	0.565	0.129	0.016	0.835
	Proteína dietética	0.99	0.99	0.00	-0.58	0.33	0.42

## DISCUSION

El crecimiento medido como un incremento de tamaño o peso durante un periodo es uno de los más complejos procesos en larvas ((Anger 1998)). Si una larva no cubre todas sus necesidades nutritivas con un alimento, el crecimiento se ve mermado, de ahí que sea este parámetro nutricional el que refleje con más certeza el efecto de una dieta sobre los organismos ((Kuban *et al.* 1985)).

En las dos especies de camarón estudiadas se comprobó que los niveles proteicos probados si afectaron el crecimiento de las protozoas, de tal suerte que con estas dietas el nivel de inclusión de 30% permitió a las larvas crecer mejor que en cualquier otro nivel proteico, sin embargo el crecimiento de las protozoas de *L. setiferus* en comparación con *L. vannamei* se vio favorecido por que las primeras al desarrollarse más rápido invirtieron menos energía en su mantenimiento.

Ambas especies crecieron mejor con alimento vivo comprobando que éste cubrió los requerimientos de las larvas, de acuerdo a los reportado por Tobias-Qunitio and Villegas (1982) el tratamiento testigo tenia aproximadamente 36% de proteína, 18% de carbohidratos y 9.6% de lípidos.

Debe existir una activación de las enzimas digestivas enzimática a través del alimento para crecer (Lemos *et al.* 1999), seguido del desarrollo larval y buena sobrevivencia (Jones *et al.* 1997b). En estos procesos hay inversión de energía, el uso de ella de manera eficiente permitirá a la larva aprovechar mejor los nutrientes. Considerando esto las protozoas de *L. setiferus* alimentadas con el más bajo nivel proteico (30%) necesitaron gran cantidad de oxígeno en los primeros estadios como se ha reportado para larvas ((Kurmaly *et al.* 1989b; Rosas *et al.* 1995; Gallardo 2000)). La baja actividad de proteasas y carbohidrasas permitió optimizar la energía para la digestión, la cual fue canalizada principalmente para crecer. Así las larvas durante todo el estadio de protozoa eficientizaron el uso de las proteínas lo cual se muestra por la baja razón A/P (González *et al.* 1994).

Las larvas de *L. vannamei* también usaron más las proteínas, que los carbohidratos dietéticos pero con un costo metabólico mayor. Un aumento en el consumo de oxígeno a medida que las larvas se desarrollaban, mostró que gran parte de la energía se canalizó para aumentar la actividad de las proteasas, pues la activación de las enzimas digestivas puede ser un reflejo en el incremento de la energía (Lemos *et al.* 1999); es por ello que posiblemente su desarrollo y crecimiento fueron menores en relación con *L. setiferus*.

Para estas especies los altos niveles de inclusión (50 y 60%), provocaron una mayor actividad enzimática reflejando una baja disponibilidad de la proteína dietética, por lo tanto una insuficiente asimilación y

bajo crecimiento (Le Vay *et al.* 1993); de manera contraria con 30% de proteína la actividad enzimática fue baja indicando que las protozoas requieren de poca proteína en la dieta.

Aparentemente existió cierta relación entre el consumo de oxígeno y la actividad enzimática y entre la proteína dietética y la proteína soluble; sin embargo no fue posible demostrarlo pues solo fue posible emplear 5 datos para las correlaciones.

Para el estadio de mysis, los niveles proteicos en la dieta también alteraron el desarrollo, el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas. Se encontró que con 60% para *L. setiferus* y 50% para *L. vannamei* las larvas crecieron más que en cualquier otra dieta artificial; estos crecimientos fueron estadísticamente menores a las larvas testigo con 36% de proteína y 18% de carbohidratos aproximadamente. Bajo estas condiciones en *L. setiferus*, la actividad proteolítica fue menor en relación a los bajos niveles de proteína (30 y 40%) eficientizando la digestión de este nutriente, de igual manera, un aumento en la actividad de carbohidrasas mostraron un aprovechamiento de los carbohidratos, esto corroborado con los altos valores de la razón A/P. El uso de los carbohidratos más que de proteínas provocó un aumento en el consumo de oxígeno a medida que las larvas se desarrollaron. Este comportamiento fue inverso al que se presentó en el tratamiento testigo, pero los valores fueron similares (no más de  $0.005 \mu\text{g O}_2^{-1} \text{hr}^{-1} \mu\text{g larva}^{-1}$ ). Así mismo la correlación positiva entre la proteína en la dieta y la proteína en la larva, demostró que las larvas fueron capaces de digerir la proteína e incorporarla como tejido reflejándose a su vez en un incremento en longitud.

Para *L. vannamei* el comportamiento enzimático fue diferente, en la dieta con 50% de proteína y 15% de carbohidratos, se presentó la mayor actividad de proteasas y carbohidrasas, lo que permitió aumentar su asimilación; en mysis I las larvas digirieron mejor los carbohidratos de acuerdo a los picos de la razón A/P, pero después en los últimos estadios las larvas digirieron mejor las proteínas. Este cambio de carbohidrato a proteína quizás se debió a una estrategia para gastar menos energía en la digestión para que la larva pudiera crecer, desarrollarse y sobrevivir; reflejado en una reducción del consumo de oxígeno cuando las larvas presentaron la mayor actividad enzimática. En esta especie no fue posible establecer una correlación entre el consumo de oxígeno y la actividad enzimática aunque existió cierta relación inversamente proporcional, de igual manera entre la proteína dietética y la proteína soluble.

El digerir preferentemente la proteína o el carbohidrato, provocó diferencias en el crecimiento de ambas especies; aunque *L. setiferus* aumentó el consumo de oxígeno con el desarrollo, empleó menos energía que *L. vannamei* lo que le permitió crecer más y desarrollarse más rápido.

Desde el punto de vista ontogenético, se pudo determinar en este trabajo, que las protozoas de ambas especies necesitaron menos proteína que las mysis como consecuencia de los cambios en la actividad enzimática.

Durante el desarrollo larval de *L. setiferus* la actividad de las proteasas solo se incrementó en protozoa III y las carbohidrasas en protozoa III y mysis I de manera similar a lo reportado con alimento vivo para esta especie (Lovett y Felder 1990), *L. schimitti* (González, et al. 1994) y *F. Paulensis* (Lemos, et al. 1999). Posiblemente los niveles de carbohidratos utilizados para las protozoas (5%) hayan sido escasos de tal forma que se aumentó la actividad de carbohidrasas para maximizar su hidrólisis (Harris et al. 1986; Hofer 1982). Así las protozoas usaron mejor las proteínas, mientras que las mysis los carbohidratos (de acuerdo a los valores de la razón A/P) debido a que ocurren cambios en el intestino medio, previos a la conformación de la glándula digestiva (Lovett y Felder 1989; Lovett y Felder 1990), así de ser filtradoras de microalgas principalmente, se vuelven predadoras; después que en postlarva se vuelven bentónicas su alimentación va siendo más herbívora (Emmerson 1984).

Las larvas de *L. vannamei* también aumentaron 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); por los niveles de proteína en la dieta (Lee y Lawrence 1985) y la calidad del alimento (Le Moullac et al. 1994). De manera general, se asimiló más la proteína dietética aunque en cada estadio la actividad de las proteasas fue diferente, es decir, en protozoa se registró una baja actividad mientras que en mysis se presentó el pico de ésta. En mysis esa máxima actividad se dió posiblemente por que 50% de proteína fue insuficiente para este estadio (Harris, et al. 1986; Hofer 1982) porque el nivel de inclusión de carbohidratos quizás fue alto ya que existe una relación entre estos dos nutrientes, una dieta con mayor proteína requiere menor porcentaje de carbohidratos (Teshima y Kanazawa 1984).

Los requerimientos de proteína obtenidos en este trabajo para *L. setiferus* y *L. vannamei* fueron menores a los reportados para *M. japonicus* (Teshima y Kanazawa 1984; Besbes 1987) y *P. monodon* (Kurmaly, Jones, et al. 1989; Kurmaly, Yule, et al. 1989; Khannapa 1979) (tabla 19). Las larvas se desarrollaron más rápido y con sobrevivencias similares a otras especies cuando solo se emplearon dietas artificiales.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

Tabla 19.- Trabajos reportados con trabajos de dietas artificiales PROT=porcentaje de proteína, DES=desarrollo en días, SOB=porcentaje de sobrevivencia, CREC=tasa de crecimiento en mm P= protozoa, M= mysis, PL= postlarva MP=dietas microparticuladas, ME=dietas microencapsuladas, LT=longitud total

ESPECIE	ESTADIO	PROT	DES	SOB	CREC	DIETA	AUTOR
<i>Marsupenaeus japonicus</i>	PL 1	42.7		77		MP	Teshima <i>et al.</i> (1986)
	PL 1			50		ME	Jones <i>et al.</i> (1979b)
	PL 1	35 - 55	10	39 - 70		MP	Teshima and Kanazawa (1984)
	PL 1			67 - 95		MP	Kanazawa <i>et al.</i> (1982)
<i>Farfantepenaeus schmitti</i>	M I			14 - 28		MP	Gelabert (1988)
<i>Penaeus monodon</i>	PL 1			51 - 64		ME	Kurmaly <i>et al.</i> (1989a)
	PL 7			3 - 29		ME	Jones <i>et al.</i> (1987)
	M I			85		MP	Galgani y AQUACOP (1988)
<i>Fenneropenaeus indicus</i>	M I			62		MP	Galgani y AQUACOP (1988)
	M I		6	46	3.66 LT	ME	Kumlu y Jones (1995)
	PL 1		11-12	36.5	5.02 LT	ME	Kumlu y Jones (1995)
<i>Litopenaeus vannamei</i>	M I			42		MP	Galgani y AQUACOP (1988)
	P III			28.5		ME	Holloway y Hopkins (1987)
	PL1			7.7		ME	Holloway y Hopkins (1987)
	P	30	6	24.5	0.17	MP	Presente trabajo
	M	50	4	30.5	0.14	MP	Presente trabajo
<i>Litopenaeus setiferus</i>	PL 2			82 - 100		MP	(Gallardo 2000)
	P	30	5	24	0.21	MP	Presente trabajo
	M	60	3	50.3	0.19	MP	Presente trabajo



## CONCLUSIONES

Las protozoas de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei* requieren alrededor de 30% de proteína cuando la dieta contiene 5% de carbohidratos; mientras que las mysis de estas especies requieren alrededor de 60% y 50% de proteína respectivamente cuando la dieta contiene 15% de carbohidratos.

El consumo de oxígeno se vió afectado por el contenido de proteína en la dieta, el estadio larval, la especie de camarón y la actividad enzimática. Las protozoas de *Litopenaeus setiferus* disminuyeron el consumo de oxígeno con 30% de proteína, mientras que las mysis lo incrementaron cuando se les alimentó con 60% de proteína. Las protozoas de *Litopenaeus vannamei* incrementaron su consumo de oxígeno con 30% de proteína, mientras que las mysis lo disminuyeron con 50% de proteína.

Los picos de actividad de las proteinasas y las carbohidrasas dependieron del nivel proteico de la dieta, del estadio larval y de la especie. Estas enzimas en todo el estadio larval de *Litopenaeus setiferus* presentaron un similar comportamiento. Las protozoas de *Litopenaeus vannamei* disminuyeron la actividad enzimática mientras que en mysis aumentó.

La razón A/P mostró la tendencia de las protozoas de *Litopenaeus setiferus* a metabolizar más las proteínas que los carbohidratos mientras que las mysis degradaron más estos últimos. Las protozoas y mysis de *Litopenaeus vannamei* metabolizaron mejor las proteínas que los carbohidratos.

ANEXO

Valores de proteína soluble (mg larva<sup>-1</sup>), actividad de proteinasas y carbohidrasas (Umg proteína<sup>-1</sup> larva<sup>-1</sup>) y razón amilasa/proteasa (A/P) en todos los estadios de *L. setiferus* y *L. vannamei* alimentados cn dietas microparticuladas con diferentes niveles proteicos y alimento vivo (AV).

Estadio	<i>L. setiferus</i>					<i>L. vannamei</i>					
	30%	40%	50%	60%	AV	30%	40%	50%	60%	AV	
protozoa I	proteína total	0.0014	0.0013	0.0013	0.001	0.0009	0.0008	0.0014	0.0010	0.0007	0.0012
	tripsina	0	0	0.0001	0	0.0023	0.0037	0.0005	0.0024	0.0037	0.0008
	quimotripsina	0.0004	0	0.0002	0.0005	0	0.0009	0.0001	0.0004	0.0005	0.0009
	proteasas totales	0.007	0.017	0.006	0.039	0	0.809	0.563	0.634	0.945	0.603
	amilasa	0.001	0.002	0.002	0.005	0.0009	0.004	0.002	0.010	0.009	0.003
	glucosidasa	0.0005	0.0005	0.0007	0.0007	0.0009	0.0008	0.0003	0.0004	0.0012	0.0005
	A/P	0.0001	0.0001	0.0004	0.0012	0	0.00004	0.00005	0.0001	0.00009	0.00008
protozoa II	proteína total	0.0016	0.0011	0.0011	0.0013	0.0014	0.0014	0.0010	0.0010	0.0008	0.0012
	tripsina	0	0.0001	0.0001	0.0004	0	0.0041	0	0.0017	0.0009	0
	quimotripsina	0.0008	0.0011	0.0008	0.0008	0.0003	0.0007	0.0001	0.0007	0	0
	proteasas totales	1.31	0.083	0.277	0	0.514	0.476	1.75	1.03	0.56	0.54
	amilasa	0.003	0.003	0.001	0.002	0.002	0.01	0.008	0.0008	0.006	0.011
	glucosidasa	0.0009	0.0013	0.0021	0.0020	0.0016	0.0007	0.0012	0	0	0
	A/P	0.0000	0.0003	0.00005	0	0.00004	0.0002	5.71E-06	9.19E-06	8.49E-05	0.0002
protozoa III	proteína total	ND	ND	ND	ND	ND	0.0017	ND	0.0055	0.006	0.0023
	tripsina	ND	ND	ND	ND	ND	0.00547	ND	0.0305	0	0.0005
	quimotripsina	ND	ND	ND	ND	ND	0.0009	ND	0.0164	0.0042	0.0006
	proteasas totales	ND	ND	ND	ND	ND	0.50	ND	4.38	11.22	0.29
	amilasa	ND	ND	ND	ND	ND	0.015	ND	0.052	0.002	0.005
	glucosidasa	ND	ND	ND	ND	ND	0.002	ND	0.004	0	0.002
	A/P	ND	ND	ND	ND	ND	0.0002	ND	0	0.0001	1.8E-06
mysis I	proteína total	0.006	0.003	0.004	0.008	0.010	0.013	0.012	0.016	0.015	0.009
	tripsina	0.0003	0.0005	0.0001	0.00006	0.0002	0.00011	0.00018	0.00014	0.00015	0.00034
	quimotripsina	0.0029	0.0018	0.0024	0.0015	0.0017	0.0016	0.0022	0.0014	0.0018	0.0026
	proteasas totales	0.093	0.019	0.077	0.078	0.058	0.023	0.059	0.002	0.017	0.073
	amilasa	0.014	0.088	0.039	0.014	0.021	0.020	0.021	0.010	0.019	0.020
	glucosidasa	0.0003	0.0003	0.0008	0.0003	0.0008	0.0009	0.0010	0.0011	0.0014	0.0010
	A/P	0.0031	0.0066	0.0114	0.0038	0.0064	0.020	0.009	0.036	0.014	0.006
mysis II	proteína total	0.0036	0.0096	0.0058	0.0072	0.0096	ND	0.014	0.013	0.018	0.013
	tripsina	0.0004	0.0003	0.0003	0.0004	0.0002	ND	0.0001	0.0002	0.0002	0.00005
	quimotripsina	0.0033	0.0021	0.0026	0.0028	0.0017	ND	0.0031	0.0035	0.0028	0.0019
	proteasas totales	0.212	0.082	0.119	0.176	0.095	ND	0.132	0.060	0.076	0.062
	amilasa	0.0398	0.033	0.038	0.073	0.037	ND	0.0166	0.014	0.017	0.016
	glucosidasa	0.0009	0.0018	0.0007	0.0011	0.0005	ND	0.0012	0.0014	0.0010	0.0015
	A/P	0.0035	0.008	0.0066	0.0083	0.0079	ND	0.0024	0.0052	0.0044	0.0052
mysis III	proteína total	0.0032	0.0022	0.0034	0.0128	0.0129	0.0078	0.0132	0.0335	0.0108	0.0160
	tripsina	0.0002	0	0	0.0001	0.0001	0.00029	0.00022	0.0002	0.00014	0.00014
	quimotripsina	0.0014	0.0013	0.0002	0.0011	0.0015	0.0049	0.0025	0.048	0.0012	0.0018
	proteasas totales	0.339	0.484	0.333	0.082	0.079	0.225	0.013	0.201	0.102	0.066
	amilasa	0.057	0.046	0.031	0.041	0.037	0.029	0.012	0.024	0.008	0.028
	glucosidasa	0.0012	0.0007	0.0004	0.0005	0.0007	0.0025	0.0010	0.0027	0.0013	0.0008
	A/P	0.0035	0.0019	0.0018	0.0102	0.0090	0.029	0.012	0.024	0.008	0.028
postlarva I	proteína total	ND	ND	ND	ND	ND	0.0102	0.0159	0.0133	0.0177	0.0233
	tripsina	ND	ND	ND	ND	ND	0.00021	0.00013	0	0.00012	0.00018
	quimotripsina	ND	ND	ND	ND	ND	0.0023	0.0005	0.0008	0.0002	0.0007
	proteasas totales	ND	ND	ND	ND	ND	0.264	0.069	0.110	0.076	0.116
	amilasa	ND	ND	ND	ND	ND	0.037	0.010	0.012	0.007	0.019
	glucosidasa	ND	ND	ND	ND	ND	0.0045	0.0021	0.0036	0.0018	0.0015
	A/P	ND	ND	ND	ND	ND	0.0046	0.0016	0.0036	0.0036	0.005

## Lista de Referencias

- Anger, K. (1998) Patterns of growth and chemical composition in decapod crustacean larvae. *Invertebrate Reproduction and Development* 2-3, 159-176.
- Arredondo-Figueroa, J.L.D.L.-I.G. (1998) Tecnologías de cultivo de microalgas con fines acuaculturales. *Revista Sociedad Mexicana Historia Natural* 48, 105-113.
- Aujero, E.J.; Millena, T.; Tech, T.; Javellana, S.G. (1983) Nutritional value of five marine phytoplankton species isolated from Philippines waters as food for the larvae of *Penaeus monodon*. Contribution 125; Aquaculture Department SEAFDEC. Iloilo, Philippines
- Bautista, M.N., Parado-Esteva, F., Millamena, O.M. and Borlongan, E.L. (1991) Large scale hatchery production of *Penaeus monodon* using natural food and artificial diets. *The Israeli Journal of Aquaculture* 43, 137-144.
- Berfield, P. (1955) Sur une méthode de dosage des amylases In *Methods in Enzymology*. Colowick Kaplan, O.C. (eds) Vol. I. Academic Press. N.Y. 149-154
- Besbes, R. Elaboration de microparticules alimentaires destinées à remplacer la nourriture vivante dans l'élevage des larves de la crevette *Penaeus japonicus* (Crustacea Decapoda). Mémoire diplôme Institut National Recherche Agronomique. 1987. Rennes, France.
- Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive Method for the Quantification of microgram Quantities of protein Utilizing the Principle of Protein Dye Binding. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 72, 248-254.
- Chamberlain, G.W. (1988) Larval feeds. *Biological Bulletin* 72.
- Cruz-Terán, E. M. (2000) Efecto de la Fuente de Lípidos dietarios en la nebulización de alimentos para larvas de camarón. Tesis Licenciatura Universidad del Mar, Puerto Angel, Oaxaca.
- De la Cruz, A. (1992) Pruebas de la resistencia a baja salinidad de postlarvas de *Penaeus schimitti*. *Rev. Invest. - Mar.* 13, 152-158.
- De la Higuera, M. (1990) *Nutrición en Acuicultura*.
- Deshimaru, O. and Yone, Y. (1978) Optimum level of dietary protein for prawn. *Bull. Jap. Soc. Scien. Fish* 12, 1395-1397.
- Deshimaru, O. and Kuroki, K. (1974) Studies on a purified diet for prawn I: Basal composition of diet. *Bull. Jap. Soc. Scien. Fish* 44, 413-419.
- Espinoza, J. and Labarta, U. (1987) *Nutrición en Acuicultura*. Madrid: Industrias Gráficas España, S.L. 272 p.
- Fang, L.S. and Lee, B.N. (1992) Ontogenic change of digestive enzymes in *Penaeus monodon*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 103, 1033-1037.
- Galgani, M.L. and AQUACOP (1988) Essais de substitution des algues vivantes par des microparticules inertes pour l'alimentation des larves zoe de crevettes péneides. *Aquaculture* 69, 115-127.

- Ballardo, P. (2000) Aspectos Nutrimientales y Fisiológicos de Larvas del Camarón Blanco *L. setiferus* (Linneo, 1767): Esquema de Alimentación. Tesis maestría. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Ballardo, P.P., Alfonso, E., Gaxiola, G., Soto, L.A. and Rosas, C. (1995) Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* nauplii. *Aquaculture* **131**, 239-252.
- Beiger, R. (1988) Chymotrypsin. In *Methods of enzymatic analysis*. Vol. V. ed. Bergmeyer, J. and Grab, I.M. pp. 99-104.
- Beiger, R. and Fritz, H. (1988) Trypsin. In *Methods of enzymatic analysis* ed. Bergmeyer, J. and Grab, I.M. pp. 119-124.
- Delabert, R. (1988) Alimentación de larvas de camarón *Penaeus schmitti* con alimento artificial. *Revista de Investigaciones Marinas* **9**, 95-103.
- Delabert, R., Alfonso, E., Hernandez, O. and Leal, S. (1987) Experiencias de alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti* con levaduras obtenidas industrialmente. *Revista de Investigaciones Marinas* **9**, 59-69.
- González, V., Fraga, V. and Carrillo, O. (1994) Cambios ontogenéticos en la actividad de las principales enzimas digestivas de *Penaeus schmitti*. *Revista de Investigaciones Marinas* **15**, 262-268.
- Halver, J.E. (1989) Formulating practical diets for fish. *Journal of Fisheries Resources Board Can* **33**, 1032-1039.
- Harris, R.P., Samain, J., Moal, J. Martin-Jezequel, V. and Poulet, S.A. (1986) Effects of algal diet on digestive activity in *Calanus helgolandicus* *Marine Biology* **90**:353-361
- Hofler, R. (1982) Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivorous cyprinid *Comp. Biochemistry Physiology*
- Holloway, J. and Hopkins, J. S. Survival and Metamorphosis of larvae *Penaeus vannamei* and *Penaeus monodon* on Artificial Diets. Annual Meeting of S.C. Fisheries Workers Assoc. 1987.
- Jones, D.A. (1988) Crustacean larval microparticulate diets. *Reviews in Fisheries and Science* **6**, 41-54.
- Jones, D. A., Amjad, S. and Chitravadivelu, K. (1989) Comparison of artificial feeds used in penaeid shrimp hatcheries. Proceedings of the Third Egyptian-British Conference on Animals, Fish and Poultry Production held in Alexandria, Egypt. 7-10 October 1989:15-20,
- Jones, D.A., Kanazawa, A. and Ono, K. (1979b) Studies on the nutritional requirements of the larval stages of *Penaeus japonicus* - using microencapsulated diets. *Marine Biology* **54**, 261-267.
- Jones, D.A., Kanazawa, A. and Rahman, S.A. (1979a) 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. and Fletcher, D.J. (1997a) The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. *Aquaculture* **155**, 285-295.
- Jones, D.A. and Kurmaly, K. (1987) Feeding and assimilation of artificial feeds by crustacean larvae. *Journal of the World Aquaculture Society* **18**, 56-57.

- Jones, D.A., Kurmaly, K. and Arshard, A. (1987) Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture* **64**, 133-146.
- Jones, D. A., Yule, A. B. and Holland, D. L. (1997b) Larval nutrition. In *Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture* ed. D'Abraham, L.R., Conclin, D.E. and Akiyama, D.M. World Aquaculture Society.
- Kanazawa, A. (1984) Nutrition of penaeid Prawns and Shrimp. First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps. 123-130. SEAFDEC Aquaculture Department.
- Kanazawa, A., Tanaka, N., Teshima, S. and Kashiwada, K. (1971) Nutritional requirements of prawn larvae II. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **37**, 211-215.
- Kanazawa, A. and Teshima, S. (1981) Essential Amino Acids of the Prawn. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **47**, 1375-1377.
- Kanazawa, A., Teshima, S., Sasada, H. and Rahman, S.A. (1982) Culture of the prawn larvae with micro-particulate diets. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* **48**, 195-199.
- Kanazawa, A., Teshima, S.I. and Sakamoto, M. (1985) Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture* **50**, 39-49.
- Khannapa, A. (1979) Effect of various protein levels on growth and survival rates of *Penaeus monodon*. Aquaculture Department. 1, 24-48. South East Asian Fisheries Development Center.
- Kuban, F.D., Lawrence, A.L. and Wilkenfield, J.S. (1985) Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture* **47**, 151-162.
- Kumlu, M. and Jones, D.A. (1995) The effect of live and artificial diets on growth, survival, and trypsin activity in larvae of *Penaeus indicus*. *Journal of the World Aquaculture Society* **26**, 406-415.
- Kumlu, M., Le Vay, L. and Jones, D. A. (1996) Recent advances in the development of microencapsulated diets for shrimp larval culture.
- Kurmaly, K. (1989) Studies on the acceptability and digestibility of artificial diets by Crustacea.. University of Wales, Bangor, UK. 203pp
- Kurmaly, K., Amjad, S. and Jones, D.A. (1988) *Penaeus monodon*: nauplius to juvenile on the same artificial diet. *Journal World Aquaculture* **19**, 43.
- Kurmaly, K., Jones, D.A., Yule, A.B. and East, J. (1989a) Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from Protozoa 1 to Postlarvae 1, on live feeds, artificial diets and on combination of both. *Aquaculture* **81**, 27-45.
- Kurmaly, K., Yule, A.B. and Jones, D.A. (1989b) An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture* **81**, 13-25.
- Le Moullac, G., Klein, B., Sellos, D. and Van Wormhoudt, A. (1996) Adaptation of trypsin, chymotrypsin and alpha-amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **208**, 107-125.

Le Moullac,G., Wormhoudt,A.V. and AQUACOP (1994) Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fiber levels and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea: Decapoda). *Aquatic Living Resources* 7, 203-210.

Le Vay,L., Rodriguez, Kamarudin,M.S. and Jones,D.A. (1993) Influence of live and artificial diets on tissue composition and trypsin activity in *Penaeus Japonicus* larvae. *Aquaculture* 118, 287-297.

Lee,P.G. and Addison,L.L. (1985) Effects of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp, *Penaeus setiferus* Linnaeus. *Journal of the World Mariculture Society* 16, 275-287.

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

Lemos,D., Hernandez-Cortes,M.P., Navarrete,A., Garcia-Carreño,F.L. and 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.

Lovett,D.L. and 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. and Felder,D.L. (1990) Ontogeny Change in Digestive Enzyme Activity of Larval and Postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178, 144-159.

Medina-Reyna, C., Pedroza-Islas, R. and Ronsón-Paulín, J. (2000) Evaluación de Indicadores algales en el larvicultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Congreso de Oceanografía.

Ottogalli,L. (1991) Total substitution of microparticules for algae for *Penaeus stylirostris* larval rearing in New Caledonia. *Journal of the World Aquaculture Society* 22, 46.

Rodríguez,A., LeVay,L., Mourente,G. and Jones,D.A. (1994) Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and post-larvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology* 118, 45-51.

Rosas,C., Sanchez,A., Gallardo,P., Quiroz,J., Gaxiola,G., Diaz-Iglesia,E. and Soto,L.A. (1995) Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia nauplii*. *Aquacult. -Nutr.* 1, 13-20.

Rosas,C., Sanchez,A., Gaxiola,G., Diaz-Iglesia,E., Brito,R. and Soto,L.A. (1997) Tasa respiratoria de larvas de *Penaeus setiferus* Linnaeus y *Penaeus schimitti* Burkenroad (Decapoda: Penaeidae). *Revista Investigaciones- Marinas* 18, 51-57.

Rosenberry, B. (2000) *World Shrimp Farming 2000*. News International.

Samochoa,T., Uziel,N. and Browdy,C.L. (1988) The effect of feeding two prey organisms, nauplii of *Artemia* and Rotifers, *Brachionus plicatilis* (Muller), upon Survival and Growth of Larval Marine Shrimp, *Penaeus semisulcatus* (de Haan). *Aquaculture* 77, 11-21.

Sandifer,P.A., Hopkins,J.S., Stokes,A.D. and Browdy,C.L. (1993) Preliminar Comparations of the native *Penaeus setiferus* and Pacific *Penaeus vannamei* white shrimp for pond culture in South Carolina, USA. *Journal World Aquaculture Society* 24, 295-303.

- Shiau, S.Y. and Yang, C. (1992) Utilization of the different carbohydrates at different dietary protein in grass prawn *Penaeus monodon*, reared in seawater. *Aquaculture* **101**, 241-250.
- Shudo, K., Nakamura, K., Ishikawa, S. and Kitabayashi, K. (1971) Studies on formula feed for Kuruma prawn-VI: On the growth promoting effects of both squid liver oil and cholesterol. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.* **65**, 129-137.
- Tacon, A. G. (1990) *Standard Methods for the Nutrition and Feeding of Farmed Fish and Shrimp*. USA: Argent Laboratories Press.
- Teshima, S. and Kanazawa, A. (1982) Variation in lipid compositions during larval development of the prawn (*Penaeus japonicus*). *Mem. Fac. Fish., Kagoshima University* **31**, 205-212.
- Teshima, S. and Kanazawa, A. (1984) Effect of protein, lipid and carbohydrate levels in purified diets on growth and survival rates of the prawn larvae. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish* **50**, 1709-1715.
- Teshima, S., Kanazawa, A. and Sasada, H. (1982) Requirements of the larval prawn, *Penaeus japonicus*, for cholesterol and soybean phospholipids. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima University* **31**, 193-199.
- Teshima, S.I., Kanazawa, A. and Yamashita, M. (1986) Dietary value of several proteins and supplemental amino acids for larvae of the prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture* **51**, 225-235.
- Thirunavukkarasu, M. and Priest, F.G. (1983) Synthesis of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase by membrane bound ribosomes from *Bacillus licheniformis*. *Biochemical Biophysics Resource Commun.* **114**, 677-682.
- Tobias-Quinitio, E. and 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.
- Villegas, C.T. and Kanazawa, A. (1979) Relationship between diet composition and growth rate of zoal and mysis stages of *Penaeus japonicus* Bate. *Fisheries Research Journal of Philippines* **4**, 34-40.
- Zar, J. H. (1999) *Biostatistical Analysis*. Englewood Cliffs, N.Y.: Prentice-Hall.