



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**EFECTO DEL ALIMENTO NATURAL EXÓGENO
EN LA PRODUCCIÓN, RESPUESTA FISIOLÓGICA,
INMUNE Y CALIDAD POST-COSECHA DEL
CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus
vannamei* (BOONE, 1931) Y EN LA CALIDAD DEL
AGUA DEL SISTEMA.**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctor en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos
Naturales
(Orientación en Acuicultura)

p r e s e n t a

Alfredo Campaña Torres

La Paz, B.C.S. Agosto de 2010

ACTA DE LIBERACION DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 10 horas del día 15 del Mes de Agosto del 2010, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"EFECTO DEL ALIMENTO NATURAL EXÓGENO EN LA PRODUCCIÓN, RESPUESTA FISIOLÓGICA, INMUNE Y CALIDAD POST-COSECHA DEL CAMARÓN BLANCO DEL PACÍFICO *Litopenaeus vannamei* (BOONE, 1931) Y EN LA CALIDAD DEL AGUA DEL SISTEMA."

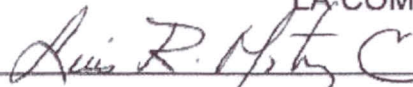
Presentada por el alumno:

Alfredo Campaña Torres

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACION DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACION EN **Acuicultura**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que **satisface** los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA



Dr. Luis Rafael Martínez Córdova
DICTUS-UNIVERSIDAD DE SONORA
DIRECTOR DE TESIS

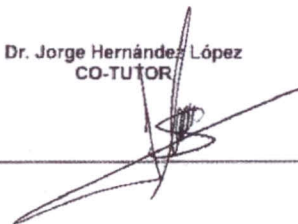


Dr. Humberto Villarreal Colmenares
CO-DIRECTOR DE TESIS

Dra. Josefát Marina Ezquerro Brauer
DIPA-UNIVERSIDAD DE SONORA
CO-TUTOR



Dr. Jorge Hernández López
CO-TUTOR



Dr. Edilmar Cortés Jacinto
CO-TUTOR



DRA. ELISA SERVIERE ZARAGOZA,
DIRECTORA DE ESTUDIOS DE POSGRADO



CONFORMACIÓN DE COMITÉS

COMITÉ TUTORIAL

Dr. Luis R. Martínez Córdova	(Director)	USON
Dr. Humberto Villarreal Colmenares	(Co-director)	CIBNOR
Dra. Josafat Marina Ezquerro Brauer	(Co-tutor)	USON
Dr. Jorge Hernández López	(Co-tutor)	CIBNOR
Dr. Edilmar Cortés Jacinto	(Co-tutor)	CIBNOR

COMITÉ REVISOR DE TESIS

Dr. Luis R. Martínez Córdova	(Director)	USON
Dr. Humberto Villarreal Colmenares	(Co-director)	CIBNOR
Dra. Josafat Marina Ezquerro Brauer	(Co-tutor)	USON
Dr. Jorge Hernández López	(Co-tutor)	CIBNOR
Dr. Edilmar Cortés Jacinto	(Co-tutor)	CIBNOR

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

Dr. Luis R. Martínez Córdova	USON
Dr. Humberto Villarreal Colmenares	CIBNOR
Dr. Jorge Hernández López	CIBNOR
Dr. Edilmar Cortés Jacinto	CIBNOR
Dr. Angel Isidro Campa Córdova	CIBNOR
Dra. Lucía Ocampo Victoria (Suplente)	CIBNOR

RESUMEN.


Se llevó a cabo un estudio experimental en tres fases, a fin de evaluar el efecto de alimento natural exógeno sobre la respuesta productiva, condición nutricional e inmune, y calidad post cosecha del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*, durante la pre-engorda superintensiva. En la primera fase se evaluaron 4 grupos zooplanctónicos (rotíferos, copépodos, *Artemia* e insectos acuáticos) en 4 densidades, sobre el desempeño productivo y calidad del agua del sistema. En la segunda fase se evaluaron dos medios de cultivo alternativos, uno agrícola y otro acuícola, para la producción de las microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*, las cuales a su vez fueron evaluadas como alimento para *Brachionus rotundiformis*, *Acartia sp.* y *Calanus pacificus*. En la tercera fase se evaluó la sustitución parcial y total del alimento formulado, por alimento natural exógeno (insectos), en la respuesta productiva, condición nutricional e inmune y calidad post cosecha de juveniles de camarón.

El medio a base de fosfato monoamónico fue similar al medio Guillard F2 en la producción de biomasa de *N. oculata*. Sin embargo, microalgas en un medio con Nutrilake generaron mayor producción de rotíferos (132.5 ± 6.35 r/ml) y fecundidad (1.25 ± 0.09 huevos/hembra) comparado con el control (111.5 ± 9.29 r/ml y 0.67 ± 0.12 huevos/hembra, respectivamente). Se encontró que la inclusión de alimento natural exógeno tuvo efectos positivos en la respuesta productiva del camarón y no hubo efectos adversos significativos en la calidad del agua. Camarones alimentados con insectos acuáticos alcanzaron 4.97 ± 0.50 g, con una sobrevivencia de 86.67%. Camarones alimentados con rotíferos alcanzaron 3.40 ± 0.07 g, con una sobrevivencia de 92.42%, mientras que el control alcanzó 2.18 ± 0.31 g, con sobrevivencia de 62.12%. La sustitución parcial al 50% del alimento formulado por insectos acuáticos, resultó en biomasa similares al control, una mejor sobrevivencia y un factor de conversión de alimento significativamente menor (1.44 ± 0.06).

Se presentó una tendencia en la que la cantidad de hemocitos se incrementa en función a la cantidad de alimento natural. Los conteos más bajos de hemocitos y más altos de profenol oxidasa se presentaron en el tratamiento con alimento artificial. Se estableció que hay una mayor cantidad de proteína y menor cantidad de glucosa, colesterol y triglicéridos en la hemolinfa de camarones que recibieron alimento natural. En cuanto a la calidad postcosecha, se presentó una mayor cantidad de proteína y lípidos en el músculo en camarones que recibieron 100% alimento natural. Los resultados indican que es factible la sustitución parcial de alimento formulado por alimento natural.

Palabras clave: Alimento natural, *Litopenaeus vannamei*, copépodos, rotíferos, *Artemia*.

Vo. Bo.



Dr. Humberto Villarreal Colmenares

ABSTRACT.

A three-phase experimental study was conducted to evaluate the effect of natural feed on the production response, nutritional and immune condition, and post harvest quality of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in a super intensive nursery phase. In the first phase 4 zooplankton groups (rotifers, copepods, *Artemia* and aquatic insects) were evaluated at 4 densities, in terms of productive performance of shrimp fed on them, and water quality of the system. In the second phase, 2 alternative mediums: 1 agricultural and 1 aquaculture fertilizer, were evaluated for the production of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros muelleri*, which were also evaluated as feed for *Brachionus rotundiformis*, *Acartia* sp. and *Calanus pacificus*. In the third phase, the partial and total replacement of formulated feed by exogenous natural feed (insects) was evaluated in terms of production response, nutritional and immune condition and post harvest quality of shrimp.

The use of mono ammonic phosphate medium for the production of *N. oculata* generated similar results to the use of Guillard F2. Microalgae in a Nutrilake fertilized system produced higher number of rotifers (132.5 ± 6.35 r/ml) and fecundity (1.25 ± 0.09 eggs/female) when compared with the control (111.5 ± 9.29 r/ml y 0.67 ± 0.12 eggs/female, respectively). Inclusion of natural exogenous food had a positive response in terms of production, with no apparent negative effects in terms of water quality. Shrimp fed with aquatic insects attained a final test weight of 4.97 ± 0.50 g, and survival of 86.67%. Rotifer fed shrimp had a mean final weight of 3.40 ± 0.07 g, and a survival of 92.42%. Mean final weight for control shrimp was 2.18 ± 0.31 g (survival = 62.12%). A 50% formulated feed substitution for aquatic insects resulted in a similar final biomass to the control, better survival and a significantly lower food conversion rate (1.44 ± 0.06).

Hem's cite count increased as the level of natural feed increased in the treatments. This is a reflection of the immune state of the organism. Low hem cite and high prophenol oxidase levels were present in the control (artificial feed) treatment. There was a higher protein and lower glucose, cholesterol and triglyceride levels in the hem lymph of shrimp receiving natural exogenous feed. A higher protein and lipid level was recorded for muscle tissue from shrimp receiving 100% natural feeds. It is concluded that the partial replacement of formulated feed by natural feed is feasible.

Key word: Natural feed, *Litopenaeus vannamei*, copepods, rotifers, *Artemia*.

Vo. Bo.



Dr. Humberto Villarreal Colmenares

DEDICATORIA

A Dios:

Por permitirme vivir y desarrollarme como ser humano, en forma profesional y académica, y por mantenerme siempre bajo su manto.

A mi esposa Yadira y a mis hijas Mili y Yayis:

Por su amor y porque han sido fuente de inspiración para mi superación y crecimiento interior, para lograr esta y todas las metas que me proponga.

A mi gran amigo Dr. Luis R. Martínez Córdova:

Por dirigirme y apoyarme en todos los procesos de mis estudios doctorales, experimentos, elaboración de la tesis, artículos científicos y en la vida misma.

A mi gran amigo Dr. Humberto Villarreal Colmenares:

Por su apoyo que ha sido pilar en mi formación desde maestría hasta el doctorado en el CIBNOR.

A mis padres y hermanos:

Por brindarme su apoyo moral y en todos los sentidos, que me hacen día a día tratar de superarme más, siguiendo el ejemplo y educación que siempre me han brindado.

AGRADECIMIENTOS.

Al CIBNOR SC, por la oportunidad y apoyo para mi ingreso y formación de maestría a Doctorado en ciencias; así como al personal de Posgrado: Dra. Elisa Serviere, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Lic. Leticia González Rubio, Beatriz Gálvez, Claudia Olachea, Ma. Guadalupe Sánchez, Horacio Sandoval y José Manuel Melero, por su valioso y siempre amable apoyo.

Se agradece al CONACYT por la beca otorgada (Clave: **121103**) para estudiar y obtener el grado de Doctor, así como el financiamiento de los proyectos para llevar a cabo los experimentos.

A mis codirectores de tesis el Dr. Luis R. Martínez Córdoba y al Dr. Humberto Villarreal Colmenares por su valioso apoyo desde mi ingreso al programa de post grado, mi formación y titulación desde Maestría hasta el doctorado, su valiosa ayuda en la redacción y revisión de artículos científicos y lo que resulte.

Mis sinceros agradecimientos a la Dra. Josafat Marina Ezquerro Brauer del DIPA por su apoyo en la realización de los análisis químicos proximales, de firmeza medida en forma instrumental y la evaluación sensorial, así como en la revisión de esta tesis. Así mismo, agradezco el apoyo de los M. en C. Flor Angélica Moreno Villa, Octavio Cota Arriola y Zulema Morales, al igual que a la Dra. Ofelia Rouzaud Sáñez por su apoyo en la realización de los análisis químicos proximales de camarones y alimentos de esta tesis, así como a Joe Arias por su apoyo en los análisis de firmeza instrumental.

Se agradece mucho el apoyo brindado por el Dr. Marcel Martínez Porchas por su ayuda en la redacción, corrección de los artículos científicos y de esta tesis.

Agradezco el valioso apoyo de personal del CIBNOR Unidad Hermosillo, principalmente al Dr. Jorge Hernández López y al técnico M. en C. Fernando Mendoza Cano quien fue parte importante en la toma de muestras y realización de los análisis de respuesta fisiológica e inmune en la hemolinfa de los camarones experimentales.

Mis más grandes agradecimientos para al personal Técnico de la UEK-DICTUS Asistente Técnico María Guadalupe Cota y al Técnico Académico Isidro Vázquez por su apoyo para la realización de los diferentes experimentos que ahí se realizaron.

Al Dr. Edilmar Cortés Jacinto, por su valioso apoyo para la realización de experimentos, análisis de muestras, datos, y para la redacción, corrección de artículos científicos y exposición de esta tesis.

Se agradece al personal técnico del CIBNOR, al M. C. Ernesto Goytortua Bores y a los Doctores Roberto Medina y Roberto Civera por su apoyo en la formulación y elaboración de los alimentos experimentales. Se agradece a M. en C. Roberto Hernández Herrera por su apoyo en la realización de los análisis químico proximales de microalgas y zooplancton.

Mis agradecimientos a mi gran amigo Dr. Dwaith Arrieche por su valioso apoyo para terminar esta tesis y al M.C. Javier Coronado por darme alojamiento y apoyarme en mis estancias en La Paz B.C.S.

INDICE GENERAL	PÁGINAS
Acta de Revisión de Tesis.....	I
Conformación del comité.....	II
Resumen.....	III
Abstract.....	IV
Dedicatoria.....	V
Agradecimientos.....	VI
Índice General.....	VIII
Contenido.....	VIII
Lista de Figuras y Anexos.....	XI
Lista de Tablas.....	XII
Lista de Publicaciones.....	XIV
1. INTRODUCCIÓN.....	
1.1.Importancia del alimento natural.....	2
1.2.Indicadores de la condición nutricional e inmune de los organismos cultivados	4
1.3.Valor nutrimental del zooplancton.....	5
1.4.Relación entre alimentación y calidad post-cosecha del camarón.....	7
2. JUSTIFICACIÓN.....	8
3. HIPOTESIS.....	10
4. OBJETIVOS.....	11
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	12
5.1.PRIMERA FASE EXPERIMENTAL.....	13
5.1.1. Protocolos de cultivo de rotíferos, copépodos, <i>Artemia</i> y captura de insectos acuáticos.	13
5.1.1.1.Cultivo de rotíferos.....	13
5.1.1.2.Cultivo de copépodos.....	14
5.1.1.3.Cultivo de <i>Artemia</i>	14
5.1.1.4.Captura de insectos acuáticos.....	15
5.1.2. Evaluación de los cuatro zooplancteres usados como ANE para juveniles de camarón blanco.	15
5.1.3. Mantenimiento y registro de variables fisicoquímicas y de calidad del agua	16
5.1.4. Parámetros de producción.....	17
5.2.SEGUNDA FASE DE EXPERIMENTAL.....	18
5.2.1. Protocolo de los cultivos experimentales de microalgas.....	18
5.2.2. Obtención y mantenimiento de las cepas de microalgas.....	20
5.2.3. Condiciones experimentales de los cultivos de microalgas.....	20
5.2.4. Parámetros de producción de las microalgas.....	22
5.2.5. Determinación de la composición químico proximal de las microalgas.....	23
5.2.6. Utilización de las microalgas experimentales para el cultivo de rotíferos y copépodos.	24
5.3.TERCERA FASE DE EXPERIMENTOS.....	25
5.3.1. Elección del insecto acuático (<i>Trichocorixa</i> sp.) como ANE.....	25
5.3.2. Formulación y elaboración del Alimento artificial experimental.....	25
5.3.3. Monitoreo de las variables fisicoquímicas y de calidad del agua.....	30
5.3.4. Parámetros de producción.....	30

5.3.5. Evaluación de la respuesta fisiológica e inmune de los camarones experimentales	31
5.3.6. Evaluación de la calidad post-cosecha del músculo abdominal con exoesqueleto	32
5.3.7. Evaluación sensorial del músculo abdominal cocido.....	32
5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	33
6. RESULTADOS.....	34
6.1. Primera fase de experimentos: con rotíferos, copépodos, <i>Artemia</i> e insectos acuáticos usados como ANE en juveniles <i>L. vannamei</i> .	34
6.1.1. Bioensayo con Rotíferos.....	34
6.1.1.1. Variables fisicoquímicas y de la calidad del agua.....	34
6.1.1.2. Parámetros de producción de los camarones alimentados con rotíferos.	34
6.1.2. Experimento con copépodos.....	36
6.1.2.1. Variables fisicoquímicas y de la calidad del agua.....	36
6.1.2.2. Parámetros de producción camarones alimentados con copépodos.....	37
6.1.3. Experimento con <i>Artemia</i> adulta.....	39
6.1.3.1. Variables fisicoquímicas y de la calidad del agua.....	39
6.1.3.2. Parámetros de producción de juveniles de <i>L. vannamei</i> alimentados con <i>Artemia</i> adulta.	40
6.1.4. Resultados del experimento con insectos acuáticos (IA).....	41
6.1.4.1. Variables fisicoquímicas y de la calidad del agua.....	41
6.1.4.2. Parámetros de producción de los juveniles de <i>L. vannamei</i> alimentados con IA.	43
6.2. Segunda fase de experimentos.....	44
6.2.1. Evaluación de medios alternativos de cultivo en la producción y composición química de las microalgas (<i>N. oculata</i>).	44
6.2.1.1. Variables fisicoquímicas.....	44
6.2.1.2. Parámetros de producción de las microalgas.....	45
6.2.1.3. Composición químico proximal de las microalgas.....	45
6.2.2. Efecto del uso de <i>N. oculata</i> producidas con medios alternativos de cultivo, en la producción y composición química de <i>B. rotundiformis</i> .	46
6.2.2.1. Variables fisicoquímicas.....	46
6.2.2.2. Parámetros de producción de los rotíferos.....	46
6.2.2.3. Composición químico proximal de los rotíferos.....	47
6.2.3. Evaluación de medios alternativos de cultivo en la producción y composición químico proximal de las diatomeas (<i>C. muelleri</i>)	48
6.2.3.1. Variables fisicoquímicas.....	48
6.2.3.2. Parámetros de producción de <i>C. muelleri</i>	48
6.2.3.3. Composición químico proximal de <i>C. muelleri</i>	48
6.2.4. Efecto del uso de <i>C. muelleri</i> producidas con medios alternativos de cultivo, en la producción y composición química de <i>Acartia</i> sp. y <i>C. pacificus</i> .	49
6.2.4.1. Variables fisicoquímicas del experimento.....	49
6.2.4.2. Parámetros de producción de los copépodos.....	49
6.2.4.3. Composición químico proximal de los copépodos.....	50
6.2.4.4. Consideraciones generales de la reducción de costos de los medios alternativos para el cultivo de microalgas.	51

6.3. TERCERA FASE DE EXPERIMENTOS.....	52
6.3.1. Efectos de la sustitución de ANE por AAE en la calidad del agua y la producción de juveniles de camarón blanco.	52
6.3.1.1. Variables fisicoquímicas y calidad del agua.....	52
6.3.1.2. Parámetros de producción de los juveniles de camarón blanco.....	53
6.4. Respuesta fisiológica e inmune evaluadas en la hemolinfa de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.	54
6.4.1. Respuesta fisiológica de los camarones experimentales.....	54
6.4.1.1. Respuesta inmune de <i>L. vannamei</i>	55
6.4.1.2. Conteo total de hemocitos, y concentración de PFO y FO en la hemolinfa de los camarones.	55
6.5. Evaluación post-cosecha de los camarones de la tercera fase experimental.	56
6.5.1. Composición químico proximal del músculo abdominal con exoesqueleto de los camarones.	56
6.5.2. Composición químico proximal del músculo abdominal con exoesqueleto (en base húmeda).	58
6.5.3. Firmeza o resistencia al corte del abdomen de los camarones silvestres y experimentales.	58
6.5.4. Análisis sensorial (propiedades organolépticas) los camarones experimentales y el silvestre.	59
7. DISCUSIÓN.....	61
8. CONCLUSIONES.....	91
9. RECOMENDACIONES.....	93
10. LITERATURA CITADA.....	96

LISTA DE FIGURAS Y ANEXOS	PÁGINAS
Figura 1. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>), alimentados con diferentes concentraciones de rotíferos y alimento artificial comercial.	35
Figura 2. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>), alimentados con diferentes concentraciones de copépodos y alimento artificial comercial.	38
Figura 3. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>), alimentados con diferentes concentraciones de <i>Artemia</i> adulta y alimento artificial comercial.	41
Figura 4. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>), alimentados con diferentes concentraciones de rotíferos y alimento artificial comercial.	43
Figura 5. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>), alimentados con diferentes niveles de sustitución de ANE por AAE.	53
ANEXO 1. HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL.....	124
ARTÍCULO CIENTÍFICO 1.....	
ARTÍCULO CIENTÍFICO 2.....	

LISTA DE TABLAS	PÁGINAS
Tabla I. Composición del Medio Guillar “F/2” (J. Stein 1979).	19
Tabla II. Composición de Bedoyecta [®] , el multivitaminico usado en los medios de cultivo experimentales (fosfato mono amónico [®] y Nutrilake [®] con fósforo).	20
Tabla III. Composición química de fertilizantes utilizados como medios de cultivo de las microalgas (expresados en %).	21
Tabla IV. Composición química de los fertilizantes alternativos usados como medios de cultivo de microalgas (expresados en g L ⁻¹).	22
Tabla V. Composición química del alimento artificial experimental (AAE) y organismos del zooplancton usados como ANE en la primera fase (en base seca).	26
Tabla VI. Tratamientos que se evaluaron de la tercera fase de experimentos.	26
Tabla VII. Contenido de aminoácidos del camarón blanco del Pacífico (<i>L. vannamei</i>) y aporte de estos aminoácidos del AAE, calculado por el programa Nutrion Pro [®] y los requerimientos de la especie según la bibliografía consultada.	27
Tabla VIII. Formulación realizada con el software Nutrion Pro [®] del alimento artificial experimental (AAE) empleado en la tercera fase de bioensayo (cantidades de ingredientes empleados para elaborar 6 kg).	28
Tabla IX. Composición químico proximal calculada con el programa Nutrion Pro [®] del alimento artificial experimental empleado en la tercera fase de experimento.	29
Tabla X. Aportación de aminoácidos de los macro-ingredientes (harinas) comúnmente utilizadas en la preparación de alimentos artificiales (contenido en 100g), según el cálculo del software Nutrion Pro [®] , los marcados en letras negritas se emplearon para elaborar el alimento usado en el presente estudio.	30
Tabla XI. Comportamiento de las variables de calidad del agua del experimento con rotíferos usados como ANE de <i>L. vannamei</i> .	36
Tabla XII. Parámetros de producción de <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes concentraciones del rotífero <i>B. rotundiformis</i> y alimento artificial comercial.	36
Tabla XIII. Calidad del agua en el experimento usando copépodos como ANE en <i>L. vannamei</i> .	37
Tabla XIV. Parámetros de producción de <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes concentraciones de copépodos <i>Acartia</i> sp. y <i>C. pacificus</i> .	39
Tabla XV. Calidad del agua del experimento de evaluación de <i>A. franciscana</i> como alimento natural exógeno para <i>L. vannamei</i> .	40
Tabla XVI. Parámetros de producción utilizando <i>A. franciscana</i> adulta (AA) como alimento natural exógeno de <i>L. vannamei</i> .	41
Tabla XVII. Calidad del agua en el experimento con insectos acuáticos (IA) <i>Trichocorixa</i> sp. como alimento natural exógeno (ANE) para <i>L. vannamei</i> .	42
Tabla XVIII. Parámetros de producción de <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes concentraciones del insecto acuático (IA) <i>Trichocorixa</i> sp.	44
Tabla XIX. Parámetros de producción de <i>N. oculata</i> , producida con el control y los fertilizantes como medios de cultivo.	45
Tabla XX. Composición químico proximal de <i>N. oculata</i> producida con los tres diferentes medios de cultivo.	46

Tabla XXI. Producción de <i>B. rotundiformis</i> alimentados con <i>N. oculata</i> producida con diferentes medios de cultivo.	47
Tabla XXII. Composición química de <i>B. rotundiformis</i> alimentados con <i>N. oculata</i> , producida con diferentes medios de cultivo.	47
Tabla XXIII. Parámetros de producción de <i>C. muelleri</i> , producida con el control y los fertilizantes como medios alternativos de cultivo.	48
Tabla XXIV. Composición químico proximal (en base seca) de <i>C. muelleri</i> producida con los diferentes medios de cultivo.	49
Tabla XXV. Producción de <i>Acartia</i> sp. y <i>C. pacificus</i> , alimentados con <i>C. muelleri</i> producidas con diferentes medios de cultivo.	50
Tabla XXVI. Composición químico proximal de <i>Acartia</i> sp. y <i>C. pacificus</i> alimentados con <i>C. muelleri</i> producidas con diferentes medios de cultivo.	50
Tabla XXVII. Calidad del agua en la evaluación de diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE en juveniles de <i>L. vannamei</i> .	52
Tabla XXVIII. Parámetros de producción de juveniles de <i>L. vannamei</i> alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.	54
Tabla XXIX. Respuesta fisiológica de los camarones alimentados con los diferentes tratamientos.	55
Tabla XXX. Respuesta inmune de los camarones alimentados con diferente nivel de sustitución de AAE por ANE.	56
Tabla XXXI. Composición químico proximal del músculo abdominal con exoesqueleto de los camarones alimentados con diferentes proporciones de alimento artificial experimental AAE y alimento natural exógeno ANE (en materia seca).	57
Tabla XXXII. Contenido químico proximal del abdomen con exoesqueleto de los camarones alimentados con diferentes proporciones de AAE y ANE (en base húmeda).	58
Tabla XXXIII. Firmeza o resistencia al corte del músculo del abdomen (sin exoesqueleto) de los camarones experimentales y el silvestre, evaluada con el texturómetro Chatillon®.	59
Tabla XXXIV. Análisis sensorial (propiedades organolépticas) del músculo del abdomen de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.	60

LISTA DE PUBLICACIONES

- I. Campaña-Torres A., Martinez-Cordova L.R., Villarreal Colmenares H., Hernandez-Lopez J., Ezquerra-Brauer J.A. y Cortes-Jacinto E. (2009). Efecto de la adición del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Tschugunoff, 1921) sobre la calidad del agua y producción, en cultivos super-intensivos de camarón blanco del Pacifico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(2): 335-342.

- II. Campaña-Torres A., Martinez-Cordova L.R., Villarreal Colmenares & Cortes-Jacinto E. (2010). Evaluation of different concentrations of adult live *Artemia* (*Artemia franciscana*, Kellogs 1906) as natural exogenous feed on the wáter quality and production parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) pre-grown intensively. Aquaculture Research, 1-7 pp.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad económica con una notable expansión en el mundo. En México, este crecimiento se ha visto reflejado principalmente en el Noroeste. Una de las ramas de la acuicultura que ha presentado mayor crecimiento, es la camaronicultura, con producciones que superan los 3 millones de toneladas al año.

Para el 2008, la producción de camarón cultivado en México fue de alrededor de 130,000 toneladas, destacando el estado de Sonora con más de 60% del total. Estos volúmenes fueron mayores a los obtenidos por medio de la pesca y contribuyeron fuertemente a la obtención de divisas y la generación de un número de empleos superior al de otras actividades agroindustriales.

Para que la camaronicultura siga expandiéndose tanto del noroeste mexicano al el resto del país, es necesario manejar varios factores de tal forma que la actividad sea económicamente rentable y ecológicamente sustentable. Dos aspectos que pueden contribuir a lo anterior, son el manejo adecuado del alimento balanceado y de las estrategias de alimentación, tomando muy en cuenta la productividad natural.

En la producción comercial de camarón se considera que el alimento suplementario representa hasta el 50 % o más de los costos operativos en granjas semi-intensivas (Barg 1991; Lee y Wikins 1992; Akiyama *et al.* 1993; Usha-Rani *et al.* 1993; Zendejas-Hernández 1994; Martínez Córdova 1999; Martínez-Córdova *et al.* 2003).

La proteína es el componente principal y el de mayor costo en los alimentos balanceados para camarón, además de ser un factor determinante para el crecimiento (Hopkins *et al.* 1994; Kureshy y Davis 2002). Sin embargo, el uso indiscriminado de este nutrimento en

los alimentos formulados puede tener efectos negativos en la calidad del agua del cultivo, tanto en el estanque mismo como en cuerpos receptores de las descargas (Molina-Poveda 1998). En un estudio realizado por Jory (1995), se encontró que el uso de dietas con alto porcentaje de proteína, puede ser innecesario si existe abundancia de alimento natural en un sistema de cultivo.

1.1. Importancia del alimento natural

Diversos trabajos han demostrado la importancia del alimento natural en la nutrición del camarón en cultivo, el cual puede aportar hasta el 70% de sus requerimientos nutrimentales (Jory 2000; Martínez *et al.* 1997, Martínez-Córdova *et al.* 1998b y Martínez-Córdova 2002a, 2007, 2009).

Se han utilizado diversas prácticas para incentivar el desarrollo de las comunidades bióticas en los estanques de cultivo de camarón. La más común de ellas es la fertilización (inorgánica y orgánica), la cual promueve el florecimiento del fitoplancton y a partir de él, la abundancia de otros organismos de la cadena trófica como el zooplancton y el zoobentos. Estos grupos de animales son aprovechados de manera eficiente por los camarones, teniendo un efecto positivo en su desempeño productivo (Rubright 1981; Chiu y Chen 1992; Barraza-Guardado 1996; Martínez Córdova *et al.* 1998a; Peña Messina 1999; Martinez-Cordova y Peña-Messina 2008). Sin embargo, hasta ahora no se han obtenido grandes ventajas de ellos a nivel de granjas comerciales. El problema radica en mantener una adecuada biomasa de estos organismos durante el periodo de cultivo, de tal

manera que puedan representar una contribución significativa en la alimentación del camarón (White 1986; Barraza-Guardado 1996; Martínez Córdova *et al.* 1998a, 1998b).

También se han sugerido algunas estrategias para promover directamente la abundancia de zooplankton y zoobentos al interior del estanque, como lo es el uso de inductores experimentales o comerciales de zooplankton y el uso de sustratos artificiales también conocidos como “aquamats” (Martínez-Córdova *et al.* 2002b, 2004). Además de las anteriores, se ha sugerido también la incorporación de alimento natural exógeno a dichos sistemas (Molina *et al.* 2007).

Sin embargo el uso y manejo de todas las estrategias anteriormente mencionadas para incentivar la producción natural no se ha hecho de una manera sistemática hasta ahora, por lo que muchos productores no están convencidos del éxito de su uso en sus sistemas de producción.

Aún así, el aprovechamiento óptimo del alimento natural puede representar un ahorro significativo en los gastos operativos de las granjas camaronícolas, al utilizar en forma efectiva dietas con menor cantidad proteína (Jory 1995; Martínez-Córdova 1999 y 2002). Las proteínas son importantes para los crustáceos en general ya que son utilizadas principalmente para el crecimiento (Andrews *et al.* 1972), para la regulación interna de la presión osmótica (Lignot *et al.* 1999 y 2000) y para mejorar o activar el sistema inmune (Vargas-Albores *et al.* 1999, Sánchez *et al.* 2001). Hay evidencias de que organismos que tienen acceso a una suficiente cantidad de alimento natural, presentan una condición nutricional e inmune mejor que aquellos que son solamente alimentados con dietas formuladas (Porchas-Cornejo *et al.* 2010).

Por lo anteriormente mencionado, es plausible pensar que la presencia y/o incorporación de suficiente alimento natural en un sistema de cultivo, tendría un efecto favorable sobre los parámetros de producción y la calidad del agua del sistema, así como también en su calidad nutricional e inmune.

1.2. Indicadores de la condición nutricional e inmune de los organismos cultivados.

Existen diversos indicadores de la condición nutricional de los organismos cultivados; los mayormente utilizados hasta hoy son los parámetros hemolinfáticos, entre los cuales destacan: la concentración de proteína (Cuzon *et al.* 1980; Ferraris *et al.* 1986), glucosa (Gaxiola *et al.* 2005), colesterol (Stuck *et al.* 1996), lactato (Santos y Keller 1993; Schmitt y Santos 1993a y 1993b; Taylor *et al.* 1994). Como indicadores de la condición inmune se destaca la presencia de diversos componentes como la fenoloxidasa, profenoloxidasa, superóxidodismutasa, entre otros (Rodríguez y Le Moullac 2000).

Se ha reportado que factores abióticos como la salinidad, nutrimentales como el contenido de carbohidratos en la dieta, y fisiológicos como el ciclo de muda, afectan el contenido de glucosa en la hemolinfa del camarón blanco (*L. vannamei*), (Gaxiola *et al.* 2005).

La glucosa es un indicador importante del metabolismo de los carbohidratos. Se ha encontrado que el nivel de ésta se eleva rápidamente cuando los camarones son expuestos a condiciones estresantes para de esta forma ser usados como fuente de energía ante tales condiciones (Rosas *et al.* 2001 y 2002).

Diversos investigadores han documentado que una disminución de colesterol en la hemolinfa de los camarones indica una necesidad de su consumo para la síntesis de la

hormona de la muda, entre otras cosas (Rosas *et al.* 2002a). En cuanto a otros indicadores de calidad nutricional, Racotta y Hernández-Herrera (2000) encontraron que la exposición de juveniles de camarón blanco (*L. vannamei*) a altas concentraciones de amonio, provoca cambios en la concentración de glicógeno, lactato, oxihemocianina, acilgliceroles y colesterol en hemolinfa, hepatopáncreas y músculo de estos organismos.

Los triglicéridos, al igual que la glucosa son una fuente importante de energía de los crustáceos tanto de uso inmediato como de reserva. Una disminución en la concentración de estos nutrimentos indica que hay una mayor movilidad de ellos hacia la epidermis. Los triglicéridos son procesados en el hepatopáncreas y se distribuyen a todo el organismo mediante la hemolinfa (Rosas *et al.* 2002a).

Además se ha reportado que el transporte y eliminación del dióxido de carbono (CO₂) depende de la concentración de lactato en la hemolinfa (Morris y Taylor 1988).

1.3. Valor nutrimental del zooplancton.

El valor nutrimental del zooplancton es muy adecuado para organismos bajo condiciones de cultivo ya que contiene altos porcentajes de proteínas de buena calidad (altamente digeribles), aminoácidos esenciales (McClelland y Montoya 2002, Gorokhova y Kyle 2002), pigmentos carotenoides como las astaxantinas que favorecen la respuesta inmune y son precursores de vitaminas (Lorenz y Cysewski 2000, Moren *et al.* 2002, Anderson *et al.* 2003), además de las xantófilas que han demostrado ser efectivos para mejorar la producción (Martínez *et al.* 2002). Estos organismos del zooplancton también son fuente de quitina y minerales para la formación del exoesqueleto de los camarones (Cauchie

2003), así como de lípidos, particularmente ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) o altamente insaturados (AGAI), los cuales juegan un papel importante en diversas funciones metabólicas de los organismos en engorda (D´Abramo *et al.* 1995 y 1997, Mayzaud *et al.* 2003, Shin *et al.* 2003, Stevens 2004).

Aunque el uso de alimento natural exógeno se ha implementado en el cultivo del camarón y de otras especies acuáticas, por lo general se ha hecho solamente en la fase de cultivo larvario. Por otro lado, aun no se han determinado las concentraciones óptimas ni se ha evaluado su efecto en los parámetros hemáticos ni en la calidad post cosecha. Tampoco se han realizado estudios relacionados con la viabilidad económica de su producción.

Como alimento natural exógeno se han utilizado además de la *Artemia* (Cisneros Burga 1994), varias especies de rotíferos (Fengqi 2003), copépodos (Cabrera *et al.* 2002), cladóceros (Rodríguez y Escaplés 1995; Escaplés 1999), y otros a nivel experimental o comercial. Sin embargo, la información hasta ahora obtenida es aún limitada para su implementación a gran escala.

El uso de *Artemia* en forma de quistes, nauplios o juveniles, aunque no es una práctica común más allá del cultivo larvario y ocasionalmente en la maternización, se ha utilizado exitosamente para incentivar el crecimiento y la producción de varias especies bajo condiciones de cultivo. En el caso de estanques de pre-engorda o engorda, los reportes indican que el uso de aproximadamente $350\text{g ha}^{-1}\text{ día}^{-1}$, en los primeros días de la preparación de los estanques, mejoran la producción de camarón (Martínez-Córdova *et al.* 2003, 2004).

1.4. Relación entre alimentación y calidad post-cosecha del camarón.

Diversas investigaciones han demostrado que la alimentación tiene un efecto positivo y muy significativo no solamente sobre los parámetros de producción sino además en la calidad post-cosecha del camarón cultivado. En este sentido, se ha encontrado que el nivel proteico de los alimentos artificiales empleados, así como la promoción de alimento natural (fitoplancton, zooplancton y zoobentos) en el sistema de engorda, influyen directamente en la firmeza, actividad proteolítica, entalpía, composición proximal del músculo y calidad microbiológica del producto (Rivas-Vega *et al.* 2001 y 2002; Martínez-Córdova *et al.* 2002, Ezquerro-Brauer *et al.* 2003 y 2004) y en las propiedades organolépticas de los camarones (Arredondo-Figueroa *et al.* 2003).

2. JUSTIFICACIÓN

El camarón blanco del Pacífico (*L. vannamei*) es la especie más importante para el cultivo en nuestro país y en general en el mundo (Martínez Córdova 1999; FAO 2006), por lo que se considera preponderante trabajar con esta especie a fin de contribuir a que su cultivo sea cada vez más sustentable (Martínez-Córdova *et al.* 2009).

En el cultivo comercial de camarones en México, se formulan y utilizan alimentos que en la mayoría de los casos están sobre enriquecidos en proteína, vitaminas y minerales. Esto se debe sobre todo a que fueron elaboradas sin tomar en cuenta la producción natural de los sistemas acuícolas, y provoca que sean más costosos y más contaminantes, considerando que a mayor nivel proteico, mayor excreción de nitrógeno amoniacal.

El precio en el mercado de camarones producidos con alimento natural, es de un 20 a 50% superior al cultivado de la forma habitual. Esto para clientes selectos de U. S. A y Japón (Del Monte Ocean Garden *com. pers.*)

Es por ello que evaluar el efecto del alimento natural en la etapa de pre-engorda de los camarones puede arrojar resultados importantes tanto desde el punto de vista económico (disminuyendo el costo de la alimentación suplementaria) como ecológico (minimizando el impacto ambiental de dichos alimentos).

Con el presente estudio se pretendió contribuir significativamente en los siguientes aspectos de la camaronicultura:

- a. Selección y evaluación de organismos adecuados como alimento natural del camarón en la etapa de pre-engorda.

- b. Cultivar en forma eficiente y económica los organismos seleccionados
- c. Establecer el efecto de estos organismos sobre los parámetros de producción, condición sanitaria nutricional, y calidad postcosecha del camarón, y calidad del agua del sistema.

Todas estas evaluaciones se consideraron muy relevantes ya que no solo repercuten en los costos operativos sino que además están estrechamente relacionadas con la inocuidad alimentaria.

3. HIPOTESIS

3.1. HIPOTESIS 1.

La adición de concentraciones adecuadas de zooplancton (rotíferos, copépodos, *Artemia* adulta e insectos acuáticos), como alimento natural exógeno (ANE) tiene efectos positivos en la producción de juveniles de camarón blanco del Pacífico *L. vannamei* y en la calidad del agua del sistema.

3.2. HIPOTESIS 2.

El uso de fertilizantes alternativos de bajo costo (agrícola y acuícola) fosfato mono amónico[®] (FMA) y Nutrilake[®] con fosforo (NLK), igualan o mejoran la producción y composición química de microalgas *N. oculata* y *C. muelleri*; así como de rotíferos *B. rotundiformis* y copépodos *Acartia sp. C. pacificus*, alimentados con ellas, en comparación con el medio de producción más recomendado usado como control (Guillar F/2).

3.3. HIPOTESIS 3.

La sustitución parcial o total de un alimento formulado o artificial experimental (AAE) por alimento natural exógeno (ANE), mejora la producción, respuesta fisiológica e inmune y la calidad post-cosecha de juveniles de *L. vannamei*, así como en la calidad del agua del sistema.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del alimento natural exógeno sobre la producción, condición fisiológica e inmune y calidad post-cosecha del camarón blanco del pacífico (*L. vannamei*).

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Estimar la efectividad de cuatro organismos zooplanctónicos (rotíferos, copépodos, *Artemia* e insectos acuáticos) a diferentes concentraciones, como alimento natural exógeno (ANE) para el camarón blanco del Pacífico, en cuanto a su efecto en los parámetros de producción y calidad del agua.
- Evaluar medios alternativos para el cultivo de microalgas a utilizarse como alimento del zooplancton (rotíferos y copépodos) y su viabilidad en términos de producción y composición químico proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) a mínimo costo.
- Evaluar la sustitución parcial y total de un alimento formulado experimental por alimento natural exógeno, sobre producción, calidad del agua, respuesta inmune, fisiológica y calidad post cosecha, de juveniles de camarón blanco del Pacífico.

5. MATERIAL Y METODOS.

Los bioensayos del presente estudio se llevaron a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental Kino (UEK) del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), ubicada en Bahía de Kino, Sonora, México.

El estudio se realizó en tres fases que se detallan a continuación:

Fase 1: Consistió en la evaluación individual del potencial de cuatro especies zooplanctónicas: el rotífero *Brachionus rotundiformis* (Tschugunoff 1921); los copépodos *Acartia* sp. (**Copepoda:** Calanoida: Acartiidae) y *Calanus pacificus californicus* (Brodsky 1959), el banquiópodo *Artemia franciscana* (Kellog 1905); y el insecto acuático *Trichocorixa* sp. (**Corixidae:** Hemiptera: Heteroptera), como alimento natural exógeno para el camarón, en combinación con alimento formulado (AAE), en términos de los parámetros de producción del camarón y calidad del agua del sistema de cultivo. Cada bioensayo duró 49 días (7 semanas).

Fase 2: Consistió en la evaluación de medios alternativos para el cultivo de las microalgas *Nannochloropsis oculata* (Hibberd 1981) y *Chaetoceros muelleri* (Lemmerman 1898), en términos de producción y composición químico proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos), mismas que posteriormente fueron evaluadas como alimento de dos especies de zooplancton consideradas en la Fase 1 (rotíferos y copépodos). Los bioensayos para producción *N. oculata* y *C. muelleri* duraron 9 días cada uno, y su evaluación en la producción de *B. rotundiformis*, *Acartia* sp. y *C. pacificus*, 15 días cada uno. Los bioensayos de producción se llevaron a cabo en el laboratorio de producción de microalgas de la UEK-DICTUS.

Fase 3: Evaluación de la sustitución parcial y total de alimento formulado por alimento natural exógeno, utilizando la especie zooplanctónica que promovió el mejor desempeño en la producción del camarón (insectos acuáticos) en la fase 1. Esta evaluación se hizo en términos de producción de *L. vannamei*, calidad del agua del sistema, respuesta fisiológica o nutricional, inmune y calidad post-cosecha de esta especie. El bioensayo tuvo una duración de 10 semanas.

5.1. PRIMERA FASE EXPERIMENTAL

5.1.1. Protocolos de cultivo de copépodos, rotíferos, *Artemia* e insectos acuáticos.

Los cultivos de estos grupos zooplanctónicos se realizaron al interior del laboratorio de nutrición de la UEK-DICTUS.

5.1.1.1. Cultivo de rotíferos

La cepa pura del rotífero (*B. rotundiformis*) fue donada por la Universidad Autónoma de Jalisco (UAJ) Unidad Tomatlán, Jalisco. El mantenimiento de la cepa y el cultivo de rotíferos se realizaron siguiendo la metodología descrita por Fukusho (1989) y Fengqi (1996). Para ello se mantuvieron en matraces Erlenmeyer de 2 L a una temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ y se alimentaron con la microalga *N. oculata*. Los cultivos a mayor escala se realizaron en instalaciones bajo techo, en garrafones de polietileno teraftalato de 19 L y después se transfirieron a columnas de fibra de vidrio de 80 L para garantizar la producción requerida para los experimentos posteriores. En invierno los cultivos de zooplancton se realizaron en el mismo laboratorio, en donde se mantuvieron temperaturas

superiores a los $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por medio de un calentador de ambiente de 1500 watts. Las cosechas se realizaron cuando los rotíferos alcanzaron una concentración superior a 300 organismos mL^{-1} , utilizando un tamiz de $60 \mu\text{m}$.

5.1.1.2. Cultivo de copépodos

La cepa de copépodos *Acartia* sp. fue donada por la misma Universidad donde se obtuvieron los rotíferos. El copépodo *C. pacificus* se aisló de los estanques de engorda de camarón de la UEK-DICTUS. El mantenimiento de las cepas y su cultivo se realizaron siguiendo las metodologías descritas por Fukusho (1980) y Cabrera *et al.* (2002). Ambas especies se colocaron en matraces Erlenmeyer de 2 L y se alimentaron con una mezcla de microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* (Puello *et al.* 2008), en una proporción 70:30. La engorda a mayor escala se realizó también en instalaciones bajo techo en condiciones de luz y aireación constantes (24 h). Se mantuvieron igualmente temperaturas de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, mediante los calentadores de ambiente arriba descritos. Los copépodos, se cosecharon con un tamiz de $150 \mu\text{m}$, con el fin de utilizar solo los organismos adultos (machos y hembras aun con saco ovígero).

5.1.1.3. Cultivo de Artemia

Para la obtención de nauplios de *A. franciscana*, se utilizaron los métodos desarrollados por Soorgelos *et at.* (1983, 1997) posteriormente adaptados por Cisneros-Burga (2002). El cultivo se hizo en tanques de fibra de vidrio de 2000 L, que se llenaron con agua de mar filtrada y esterilizada y se cubrieron con tergalina para evitar el ingreso de insectos

acuáticos y otros organismos que pudieran afectar a los nauplios, metanauplios o la *Artemia* adulta. Los organismos se alimentaron con las microalgas *C. muelleri* e *I. galbana*, mismas que se emplearon por separado o en combinación. Una vez que las *Artemias* alcanzaron una talla de 1 ± 0.3 cm, se cosecharon con una red de 1 mm, evitando usar las hembras grávidas (las cuales se separaron para tener un ciclo cerrado de producción de nauplios).

5.1.1.4. Captura de insectos acuáticos

Los insectos acuáticos *Trichocorixa* sp. (**Corixidae**, Hemiptera: Heteroptera) se capturaron de un estanque de oxidación empleado como receptor de los efluentes de la granja camaronícola experimental de la UEK-DICTUS y se emplearon directamente como alimento vivo. Dicha captura se realizó diariamente con red cuchara con luz de malla de 500 μm , en la noche (20:00 h).

5.1.2. Evaluación de los cuatro zooplancteres usados como ANE para juveniles de camarón blanco.

Para evaluar la viabilidad de los cuatro grupos zooplanctónicos mencionados como alimento natural exógeno para el camarón, se realizaron experimentos individuales de 49 días de duración cada uno. En todos los casos se utilizó un diseño experimental simple en un arreglo completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento. Las unidades experimentales consistieron en tanques de plástico de 50 L. En cada unidad se colocaron 25 juveniles de camarón (equivalente a una densidad de 125 organismos m^{-2-1}), con un peso

de 0.2 ± 0.02 g. Estos juveniles fueron obtenidos como postlavas del Laboratorio de Producción Larvaria Maricultura del Pacífico en Bahía Kino, Sonora, México y posteriormente maternizados en el laboratorio de la UEK-DICTUS hasta la talla indicada. Se evaluaron cuatro concentraciones (tratamientos) de cada una de las especies (ANE), combinadas con el alimento artificial comercial (AA) y un quinto tratamiento (control) en donde sólo se alimentaron con AA comercial sin ANE. Los tratamientos fueron los siguientes:

Primer experimento: se evaluaron: 0, 5, 10, 15 y 20 rotíferos mL^{-1} .

Segundo: 0, 1, 2, 4 y 8 copépodos mL^{-1} .

Tercero: 0, 1, 2, 4 y 8 *Artemias* adultas L^{-1} .

Cuarto: 0, 5, 10, 20 y 30 insectos L^{-1} .

Los camarones se alimentaron diariamente con el alimento artificial comercial (AA) Camaronina Purina[®] de 35% de p. c. (elaborado por Purina[®] Ciudad Obregón, Sonora, México) a razón del 5 % de la biomasa, en dos raciones diarias (09:00 y 20:00 h). El alimento natural exógeno (ANE), se administró a las 10:00 h para el caso de los rotíferos, copépodos y *Artemia*. En el caso de los insectos acuáticos, se administró a las 21:00 h, debido a que su alimentación es principalmente nocturna y a esa hora de la noche fue más fácil capturarlos.

5.1.3. Mantenimiento y registro de variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

Se mantuvieron niveles de oxígeno superiores a 5 mg L^{-1} con la ayuda de un soplador de 2 HP. La temperatura se mantuvo en todos los experimentos alrededor de $28 \text{ °C} \pm 3\text{°C}$; en invierno esto se logró con la ayuda de dos calentadores de ambiente de 1500 watts.

Diariamente a las 11:00 h se registraron las siguientes variables fisicoquímicas: temperatura del agua, oxígeno disuelto, pH y salinidad. Para ello se utilizó una sonda multi parámetros YSI 6600 (YSI Inc., YellowSpring, OH., USA). Semanalmente se registraron parámetros de la calidad del agua tales como: concentración de nitrógeno amoniacal, nitritos, nitratos y fosfatos, utilizando un espectrofotómetro programable Hach DR 4000[®] y su respectivo kit de reactivos (Hach Co. Loveland, CO., USA).

5.1.4. Parámetros de producción.

Semanalmente y al final de cada experimento, se pesaron todos los camarones de cada unidad experimental para estimar el peso promedio, la ganancia en peso y calcular la ración alimenticia de la siguiente semana. También se contaron para conocer la supervivencia y biomasa finales. Se estimó la tasa de conversión alimenticia en base a la biomasa final y el alimento balanceado suministrado.

Se evaluó el desarrollo de los organismos en términos del crecimiento total (1), biomasa final (2), supervivencia final (3) y factor de conversión alimenticia (4), de acuerdo a las fórmulas siguientes (tomadas de Cortés-Jacinto *et al.* 2003).

(1) $CT = \text{Peso final} - \text{Peso inicial}$

(2) $BF = \text{Peso total de los camarones supervivientes.}$

(3) $SF = (\text{Número de camarones cosechados} / \text{número inicial de camarones}) \times 100$

(4) FCA= peso total del alimento suministrado / biomasa final de los camarones cosechados. En este último parámetro de producción se consideró el peso seco del total de ANE y se sumó al alimento artificial suministrado.

5.2. SEGUNDA FASE EXPERIMENTAL

5.2.1. Protocolo de los cultivos experimentales de microalgas.

Se evaluaron 2 medios experimentales y 1 control, con tres replicas distribuidas al azar. Las unidades experimentales fueron garrafones de polietileno tereftalato (PET) de 19 L de capacidad.

El tratamiento control fue el medio Guillar F/2 al que se denominó GF/2 (Guillar y Rither 1979), cuya composición se presenta en la Tabla I. El tratamiento 1 fue el fertilizante agrícola fosfato mono amónico Tepeyac[®] al que se denominó FMA, del cual se usaron 137 g diluidos en 1 L de agua destilada y esterilizada en autoclave, adicionada con una mezcla de minerales traza (la misma que fue usada en el tratamiento control) y enriquecida con 30 g L⁻¹ de metasilicato de sodio, (solo cuando se usó para *C. muelleri*). El tratamiento 2 fue el fertilizante acuícola Nutrilake con fósforo[®] (Fertilizantes Tepeyac, Ciudad. Obregón, Sonora, México), adicionado con las vitaminas para consumo humano, con el nombre comercial de Bedoyecta (Tabla II), a este tratamiento se de denominó NLK.

Las cantidades de fertilizantes a usar en cada caso se establecieron de acuerdo a la respuesta productiva de las microalgas obtenidas en un estudio preliminar en el cual se utilizó la misma cantidad de los componentes del medio Guillar F/2 (137 g), pero el fertilizante Nutrilake con fosforo[®] presentó una respuesta productiva muy baja en cuanto a

crecimiento poblacional. Por esta razón la cantidad se elevó al doble, disolviendo 274 g en 1 L de agua destilada. En la Tabla III se muestra la composición química de los medios utilizados como tratamientos en porcentaje (%) y en la Tabla IV la misma composición (g L⁻¹).

Tabla I. Composición del Medio Guillar “F/2” (tomada de J. Stein 1979).

<i>Nutrientes Mayores</i>	
Nitrato de Sodio (NaNO ₃).	75 g/L
Fosfato monosódico (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O)	5.0 g/L
Cloruro de amonio (NH ₄ Cl)	26.5 g/L
Metasilicato de sodio (Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O).	30 g/L
	136.52
MICRONUTRIENTES (Metales traza)	
Sulfato de cobre (CuSO ₄ .5H ₂ O).	0.98 g/L
Sulfato de Zinc Heptahidratado (ZnSO ₄ .7H ₂ O)	2.2 g/L
Cloruro de Zinc (ZnCl ₂)	1.05 g/L
Cloruro de cobalto (CoCl ₂ .6H ₂ O)	1 g/L
Cloruro de Manganeseo (MnCl ₂ .4H ₂ O)	18 g/L
Permanganato de sodio (Na ₂ MnO ₄ .3H ₂ O)	0.63 g/L
Solución Primaria de vitaminas	
Biotina (aforado a 96 mL)	10 mg
Cianocobalamina o Vitamina B12 (aforado a 100 mL)	1 mL (U.S. 1000 mg/mL de solución inyectable).
Solución secundaria de vitaminas (aforado a 100 mL)	1 mL de Biotina (S.P.) y 1 mL de B12 (S.P.)

Se uso 1 mL de los metales traza por cada litro del medio con los macro-nutrientes.

Se uso 1 mL de la solución secundaria de vitaminas, por cada litro de agua de mar usada para el cultivo de microalgas.

Tabla II. Composición de Bedoyecta[®], el multivitaminico usado en los medios de cultivo experimentales (fosfato mono amónico[®] y Nutrilake[®] con fósforo).

<i>Ascorbato de calcio, equivalente a : mg de vitamina C. (mg).</i>	<i>100</i>
Ácido fólico (mg).	0.5
Mononitrato de tiamina (vitamina B1) (mg).	36
Riboflavina (vitamina B2) (mg).	5
Clorhidrato de piridoxina (vitamina B6) (mg).	10
Cianocobalanina (vitamina B12) (µg).	18
Inositol (mg).	5
Rutina (mg).	5
Excipiente cbp cápsula	1

Los cultivos de las microalgas se iniciaron en tubos de ensayo de 50 mL; cuando superaron la densidad de 4×10^6 células mL⁻¹, se transfirieron a matraces Erlenmeyer de 250 mL y al alcanzar estos últimos la concentración antes mencionada, se pasaron a matraces de 2 L. En esta última fase, una vez que las microalgas alcanzaron una concentración superior a 5×10^6 células mL⁻¹, se transfirieron a las botellas antes descritas y una vez que alcanzaron de nuevo una concentración similar, se inocularon a columnas de fibra de vidrio de 80 L.

5.2.2. Obtención y mantenimiento de las cepas de microalgas.

Las cepas puras se obtuvieron del laboratorio de microalgas de Maricultura del Pacífico, del Centro de Reproducción de Especies Marinas del Estado de Sonora (CREMES), así como del DICTUS. En laboratorio, para el mantenimiento de las cepas se usó el medio Guillard F/2 (Guillard 1975).

5.2.3. Condiciones experimentales de los cultivo de microalgas.

Para todos los bioensayos se mantuvo una iluminación constante de 10 a 15 Klux con lámparas de luz blanca de 200 W y una temperatura de 16 a 20 °C con aire acondicionado de acuerdo a lo sugerido por López-Elías *et al.* (2004).

El agua de mar, se obtuvo directamente del mar abierto usando una bomba sumergible de 5 HP (Jacuzzi™, Chino Ca. U.S.A). Se esterilizó en autoclave y adicionando cloro (1 mL L⁻¹ de agua de mar), mismo que se neutralizó con tiosulfato de sodio (López-Elías *et al.* 2004).

Tabla III. Composición química de fertilizantes utilizados como medios de cultivo de las microalgas (expresados en %).

	<i>Medio Guillar F/2 (%)</i>	<i>Fosfato mono-amónico® (%)</i>	<i>Nutrilake con fósforo® (%)</i>
Nitrato de sodio	54.74		
Nitrógeno		8.85	30.52
Nitrógeno amoniacal		8.85	
Fosfato monosódico	3.65		
Pentóxido de fósforo		41.83	12.41
Azufre		17.33	
Cloruro de amonio	19.34		
Silicatos			7.12
Metasilicatos	21.90	22.77	
Sodio			47.20
Otros minerales	0.36	0.38	2.76
Nitrógeno total	81.24	17.70	30.52
Fósforo total	5.00	41.83	12.41
Silicatos totales	21.90	22.77	7.12

Tabla IV. Composición química de los fertilizantes alternativos usados como medios de cultivo de microalgas (expresados en g L⁻¹).

	<i>Guillar</i> <i>F/2 (g L⁻¹)</i>	<i>Fósforo</i> <i>mono-</i> <i>amónico (g</i> <i>L⁻¹)</i>	<i>Nutrilake</i> <i>Fosfatado (g</i> <i>L⁻¹)</i>
Nitrato de sodio	75	-	-
Nitrógeno	-	11.66	55.88
Nitrógeno amoniacal	-	11.66	-
Fosfato mono sódico	5	-	-
Pentóxido de fósforo	-	55.12	22.72
Azufre	-	22.83	-
Cloruro de amonio	26.5	-	-
Silicatos	-	-	13.04
Meta silicatos	30	30	0
Sodio	-	-	85.68
Otros minerales	0.5	0.5	5.05
Nitrógeno total	101.5	23.32	55.88
Fósforo total	5	55.12	22.72
Meta silicatos o Silicatos totales	30	30	13.04
Proporción Nitrógeno- fósforo	16: 1	1:2.4	2.5:1
Gramos empleados por litro	137	137	274

5.2.4. Parámetros de producción de las microalgas.

Diariamente se realizó una evaluación de la tasa de crecimiento en términos de concentración celular y al final de cada bioensayo (7 días), el número total (células mL⁻¹). La cuantificación del número de células, se realizó con la ayuda de un hemacitómetro ó cámara de Neubauer[®] (VWR Scientific, Los Angeles, CA., USA), y un microscopio óptico (Ward's[®], Rochester, N. Y., USA).

Para calcular la velocidad de crecimiento, se utilizó la siguiente fórmula:

Velocidad de crecimiento $K = (\ln C_f - \ln C_i) / (t_f - t_i)$

El tiempo de duplicación (TD) se calculó en la etapa de crecimiento exponencial y estacionario, con la fórmula siguiente:

$$TD = \ln 2 / K$$

La producción (P), se calculó con la siguiente fórmula:

$$P = (C_f - C_i) / (t_f - t_i)$$

Donde:

Ci: Concentración inicial, Cf: Concentración final del cultivo al término de la fase exponencial, $t_f - t_i$: duración de la fase exponencial en días.

5.2.5. Determinación de la composición químico proximal de microalgas.

Al final del experimento se filtraron diferentes volúmenes de los cultivos de microalgas (dependiendo de la concentración obtenida) con el fin de realizar los análisis químico proximales para determinar el contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos. Para esto se usaron filtros de fibra de vidrio GFC de 47 mm (Walkman[®] Maidstone UK), previamente secados y calcinados a 400 °C por 4 horas, y después se llevaron a peso constante. El filtrado se realizó mediante una bomba de vacío y un embudo magnético.

Los filtros se secaron en una estufa de aire caliente por 12 h a 50 °C y se introdujeron en un desecador por 1 h para llevarlos a peso constante; una vez transcurrido este tiempo, se registró el peso. Las muestras finales se guardaron en congelación a -20°C para su posterior análisis químico proximal.

El contenido de proteínas se determinó siguiendo la metodología de Bradford (Bradford 1976), usando albumina en suero de bovino como estandar. Los carbohidratos se determinaron con método de Antrona (Roe *et al.* 1957) y los lípidos con el método de sulfovanillina (Barnes y Balckstock 1973). Los resultados de estos análisis se expresaron en base seca y se realizaron en el laboratorio de Bioquímica y Fisiología del CIBNOR La Paz B.C.S.

5.2.6. Utilización de las microalgas experimentales para el cultivo de rotíferos y copépodos.

El cultivo de rotíferos tuvo una duración de 15 días, se inicio en matraces Erlenmeyer de 2 L y se finalizó en los garrafones indicados en la sección 5.2.1. A cada uno de los matraces se les agregaron 50 mL de la cepa conteniendo 96 ± 30 rotíferos mL^{-1} . Al final del cultivo se contó el total de rotíferos contenidos en 1 mL, los huevos sueltos y el índice de fecundidad. Este índice se calculó dividiendo el número de huevos entre el número de hembras, (Ramirez-Sevilla *et al.* 1991). Al final del experimento se cosecharon con una malla de 60 micras para ser utilizados como ANE y se prosiguió su cultivo en las mismas unidades experimentales para garantizar el abastecimiento del suficiente número de estos organismos durante todo el bioensayo.

El cultivo de copépodos tuvo una duración de 15 días. Éste inició en matraces Erlenmeyer de 1 L y finalizó en recipientes de 7 L. Al inicio se agregaron 100 mL de la cepa conteniendo 24 copépodo mL^{-1} (40% de los cuales eran nauplios y 60% adultos). Al final se contaron el total de copépodos (nauplios y adultos) de cada tratamiento. El índice de

fecundidad se calculó dividiendo el número de hembras con sacos ovígeros entre el total de adultos de copéodos. Al igual que en el bioensayo anterior el cultivo de copéodos prosiguió y se desdobló a 15 y después a 19 L en las botellas antes mencionadas, para abastecer el experimento en que ellos fueron usados como ANE.

5.3. TERCERA FASE DE EXPERIMENTOS

5.3.1. Elección del insecto acuático (*Trichocorixa* sp.) como ANE.

En esta última fase de bioensayos se decidió usar los insectos acuáticos como alimento natural exógeno por su adecuado contenido químico proximal (Tabla V), su mejor desempeño productivo en la fase 1 y por la facilidad de su obtención. Se utilizó la concentración que mostró la mejor producción (30 insectos acuáticos L⁻¹), como el tratamiento de 0/100 (100% ANE) y en base a este se definieron los diferentes tratamientos de sustitución de AAE por ANE (Tabla VI).

5.3.2. Formulación y elaboración del Alimento artificial experimental (AAE).

Este alimento artificial experimental se formuló y elaboró de tal manera que se cubrieran los requerimientos nutrimentales básicos (proteínas, carbohidratos y lípidos), así como los de aminoácidos de *L. vannamei* (Tabla VII, tomada de Cruz Suárez *et al.* 2009).

En la Tabla VIII se muestra la formulación del alimento artificial experimental y los ingredientes empleados, así como las cantidades que se emplearon para elaborar 6 Kg.

Tabla V. Composición química del alimento artificial experimental (AAE) y organismos del zooplancton usados como ANE en la primera fase (en base seca).

	<i>Cenizas</i> (%)	<i>Proteínas</i> (%)	<i>Lípidos</i> (%)	<i>Carbohidratos</i> (%)
AAE	9.37	36.48	8.57	45.58
Insectos acuáticos	7.41	64.95	9.87	17.76
Rotíferos	10.70	64.35	15.96	15.56
Copépodos	16.87	49.39	20.25	13.50
<i>Artemia</i>	28.37	40.43	10.64	20.57

Tabla VI. Tratamientos que se evaluaron de la tercera fase de experimentos.

Tratamiento 1 (100/0).	100% de alimento artificial (AAE).
Tratamiento 2 (75/25)	75% de AAE + 25% de ANE
Tratamiento 3 (50/50)	50% de AAE + 50% de ANE
Tratamiento 4 (25/75)	25% de AAE + 75% de ANE
Tratamiento 5 (0/100)	100% de alimento natural exógeno (ANE).

Tabla VII. Contenido de aminoácidos del camarón blanco del Pacífico (*L. vannamei*) y aporte de estos aminoácidos del AAE, calculado por el programa Nutrion Pro® y los requerimientos de la especie según la bibliografía consultada.

	<i>Contenido de aa de camarón %100 g CIBNOR</i>	<i>Requerimientos de aa del camarón blanco (L. vannamei) tomado de Cruz-Suarez et al. (2007).</i>	<i>Evonic-Degussa et al. (2008).</i>	<i>Viader et al. (2007), postlarvas</i>	<i>Aporte de aa de AAE (%100g).</i>
MET	0.94	1.35	1.35	0.72	5.32
CYS	0.42	0.6	0.58	0.41	1.81
M+C	0.73	1.9	1.93		4.82
LYS	1.66	4.3	4.33	3.98	6.77
THR	4.62	2.4	2.44	1.51	13.02
ARG	1.83	4.6	4.62	3.33	5.58
ILE	2.44	2.5	2.46	1.86	8.39
LEU	2.09	4.4	4.35	2.83	6.76
VAL	2.33	2.8	2.83	2.07	7.83
HIS	3.36	1.6	1.55	1.24	13.67
PHE	3.06	2.8	2.8	2.18	10.58
GLY	0.94	4.4	4.42	3.81	5.32
SER	0.42	2.5	2.45	1.77	1.81
PRO	0.73	4.2	4.22		4.82
ALA	1.66	3.6	3.64	2.46	6.77
ASP	4.62	6.5	6.48	3.3	13.02
GLU	1.83	9.1	9.08	5.58	5.58
TYR				1.85	

Tabla VIII. Formulación realizada con el software Nutrion Pro[®] del alimento artificial experimental (AAE) empleado en la tercera fase de bioensayo (cantidades de ingredientes empleados para elaborar 6 kg).

<i>Ingredientes</i>	<i>g/1000 g</i>	<i>g de 6 kg</i>
¹ Harina integral trigo (HIT0607)	419.06	2514.33
² Harina de pescado 68 (HP0607-1)	220.00	1320
³ Pasta de soya (Psoy0607-1)	158.13	948.78
⁴ Harina calamar (HCAL0506)	100.00	600
^A Aceite de hígado de bacalao	29.88	179.25
^B Acido alginico (A-7128)	20	120
^C Premezcla vitamina crustáceos	18	108
^D Lecitina de soya (lsoy0607)	15	90
^E Fosfato dibasico de sodio	12	72
^F Premezcla mineral crustáceos	5	30
^G Cloruro de colina	2	12
^H Vitamina C	0.9	5.4
^I Antioxidante BHT	0.04	0.24

Harinas de: ¹integral de trigo (clave: HIT 0607), ² Pescado 67% p.c. (HP0607-1), ³ pasta de soya (Psoy0607-1), ⁴ calamar (HCAL0506).

^A Aceite de hígado de Bacalao (clave: ABAC 0607), ^BÁcido alginico (A-7128), ^CPremezcla de vitaminas para crustáceos (excepto donde las unidades se indican, los valores son en mg/kg de alimento): Vit. A Retinol, 5000 UI; Vit. D₃, 4000 UI; Vit. E Tocoferol, 100; Vit. K Menadiona, 5; Tiamina, 60; Riboflavina, 25; Piridoxina, 50; Ac. DL-Pantoténico, 75; Niacina, 40; Biotina, 1; Inositol, 400; Cianocobalamina, 0.2; Ac. Fólico, 10. ^DLecitina de soya (LSY0607), ^E Fosfato Difásico de Sodio (FDS 7128). ^FPremezcla de minerales para crustáceos (g/Kg de alimento): KCl, 0.5; MgSO₄.7H₂O, 0.5; ZnSO₄.7H₂O, 0.09; MnCl₂.4H₂O, 0.0234; CuSO₄.5H₂O, 0.005; KI, 0.005; CoCl₂.2H₂O, 0.0025; Na₂HPO₄, 2.37. ^G Agente activo 62%. ^HVitamina “C” Stay-C. Roche. ^IAntioxidante BTH (ABTH-0607).

En la Tabla IX se presenta la composición químico proximal calculada del alimento artificial experimental.

En la Tabla X se muestra la formulación hecha con el software Nutrion Pro, donde se presenta el aporte de aminoácidos de los macro-ingredientes.

En esta serie de bioensayos las unidades experimentales fueron las mismas de la primera fase. También se usó un diseño experimental simple con una distribución aleatoria con tres replicados por tratamiento.

Una vez que concluyó este bioensayo y que se determinaron los parámetros de producción y la calidad del agua, a los camarones se les extrajo hemolinfa para evaluar la respuesta fisiológica e inmune.

Tabla IX. Composición químico proximal calculada con el programa Nutrion Pro[®] del alimento artificial experimental empleado en la tercera fase de experimento.

<i>Proteína cruda</i>	%	35
Extracto etéreo	%	8
Fibra cruda	%	2.5
Cenizas	%	8.6
Extracto libre nitrógeno	%	40.0
Energía bruta	Kc Kg ⁻¹	3944.5

Tabla X. Aportación de aminoácidos de los macro-ingredientes (harinas) comúnmente utilizadas en la preparación de alimentos artificiales (contenido en 100g), según el cálculo del software Nutrion Pro[®], los marcados en letras negritas se emplearon para elaborar el alimento usado en el presente estudio.

<i>Clave ingredientes</i>	<i>MetD %</i>	<i>Cis D %</i>	<i>His D %</i>	<i>Tre D %</i>	<i>Arg D %</i>	<i>Tir D %</i>	<i>Val D %</i>	<i>Fen D %</i>	<i>Ile D %</i>	<i>Leu D %</i>	<i>Lis D %</i>
HP-0508	1.33	0.50	1.79	2.23	3.82	1.76	2.96	2.29	2.49	4.20	4.12
HPES68-0602	1.21	0.46	1.61	2.35	3.55	1.69	2.74	1.70	2.43	4.08	2.62
HPES65-0602	1.21	0.48	1.16	1.92	3.37	1.48	2.37	1.63	2.18	3.48	3.20
ATÚN-0602	0.95	0.37	1.24	1.66	2.96	1.37	1.94	1.43	1.97	3.18	2.68
HDAC-0602	1.04	0.54	0.42	0.99	3.71	1.30	1.56	1.19	1.68	2.49	2.57
HCAM-0602	0.94	0.42	0.73	1.66	4.62	1.83	2.44	2.09	2.33	3.36	3.06
HL-9804	0.72	0.33	0.94	1.12	3.13	1.08	1.64	1.14	1.03	1.93	1.88
HCAL-0506	3.34	0.58	1.52	2.44	5.44	1.85	2.77	2.28	2.68	5.14	4.73
CPSP-0506	1.58	0.77	1.44	3.08	7.35	2.29	3.55	2.91	3.66	5.69	5.34
HCER-0508	0.67	0.32	0.64	1.53	3.51	0.94	1.82	1.18	1.53	2.63	1.14
HAVE-0602	1.16	0.45	1.01	2.20	4.38	1.45	2.36	1.83	2.27	3.70	2.75
PS-0507	0.59	0.54	1.43	1.66	3.55	1.65	2.31	2.27	2.20	3.66	2.78
HIT-0508	0.18	0.23	0.27	0.32	0.48	0.39	0.57	0.51	0.53	0.80	0.45
GT-0509	1.26	1.65	1.68	1.85	2.81	2.46	3.18	4.22	3.27	5.30	1.23
GLUTMAÍZ- 0602	1.80	0.76	1.25	1.65	1.91	2.50	2.38	2.87	2.22	7.38	0.89
HSORG-0507	0.13	0.11	0.11	0.16	0.35	0.23	0.32	0.30	0.26	0.95	0.43
Caseína, SIGMA	2.69	0.55	2.71	3.60	3.27	4.67	5.73	4.48	4.78	8.25	5.85

5.3.3. Monitoreo de variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

Las condiciones de oxígeno y temperatura, al igual que la formas de alimentación de los camarones, fueron las mismas que en la primera fase de bioensayos. La medición de las variables fisicoquímicas y la determinación de la calidad del agua, se hicieron con los mismos instrumentos y técnicas indicados en la primera fase de experimentos.

5.3.4. Parámetros de producción.

Los parámetros de producción (crecimiento total, biomasa y supervivencia finales y factor de conversión alimenticia), se determinaron tal como se describe en la fase 1.

5.3.5. Evaluación de la respuesta fisiológica e inmune de los camarones experimentales.

Para la realización de todos estos estudios, se obtuvo hemolinfa por punción ventral en el primer segmento abdominal en medio de los pleópodos (Hernández-López *et al.* 1999), utilizando una jeringa para insulina de 1 mL. La hemolinfa se mezcló con anticoagulante previamente enfriado (18°C), a razón de 1:2 (hemolinfa: anticoagulante). La solución salina anticoagulante se preparó como lo sugiere Vargas-Albores *et al.* (1993) utilizando 450 mM de NaCl, 10 mM de KCL, 10 mM de EDTA-Na₂, 10 mM de HEPES, pH 7.3, 850 miliosmoles kg⁻¹. Una vez obtenida la hemolinfa, las muestras se mantuvieron en hielo por un periodo menor de 30 minutos previo a su análisis.

La concentración de metabolitos plasmáticos (glucosa, proteínas, colesterol y triglicéridos) se determinó utilizando métodos enzimáticos modificados para microplaca (Hernández-López *et al.* 1999; Gollas-Galván *et al.* 2003), utilizando un lector BIO-RAD®. La evaluación de actividad profenol-oxidasas (PFO) y fenol-oxidasas (FO) se realizaron por el método de oxidación de L-DOPA y protección de proteasas respectivamente, también adaptadas al sistema de microplaca (Hernández-López *et al.* 1999; Gollas-Galván *et al.* 2003).

La cuenta total de hemocitos se realizó por observación directa en microscopio óptico 40X y con el uso de un hemocitómetro o cámara de Neubauer® (Hatfield PA USA).

5.3.6. Evaluación de la calidad post-cosecha del músculo abdominal con exoesqueleto.

Este estudio también se realizó solamente a los camarones de la tercera fase experimental. Estos camarones se introdujeron en agua con hielo (5 °C), se les retiró el cefalotórax y posteriormente se congelaron a -80°C.

Una vez en el laboratorio, al músculo de los abdómenes sin exoesqueleto se le evaluó la firmeza medida en forma instrumental con un texturómetro (Chatillon® Empire Scale Co., Santa Fe Spring, CA, USA), el cual mide la fuerza necesaria para cortar el músculo. Esta evaluación se repitió diez veces para asegurar la reproducibilidad de los datos y para tener un análisis estadístico más preciso.

La calidad post-cosecha en términos de composición química proximal (humedad, cenizas, proteínas, carbohidratos y lípidos), se llevó a cabo de acuerdo a la metodología descrita por la AOAC (1995). Las determinaciones se hicieron por triplicado.

A los camarones se les analizó el contenido químico proximal en base seca y húmeda (Rivas-Vega *et al.* 2002).

5.3.7. Evaluación sensorial del músculo abdominal cocido.

Un parámetro que es importante considerarse dentro de los productos acuícolas, es su aceptación por parte del consumidor. En base a ello se realizó un análisis sensorial de los camarones cosechados en todos los tratamientos y adicionalmente a camarones silvestres como grupo de control.

Este análisis se hizo al músculo abdominal sin exoesqueleto, previamente hervido durante diez minutos. Para ello se emplearon 25 panelistas no entrenados. La metodología aplicada para llevar a cabo este estudio fue la descrita previamente por Pedrero y Pangborn (1989). Se utilizó una escala hedónica del 0 al 5. Donde 5 indica que gusta mucho y 0 que disgusta mucho (Anexo 1). Los atributos evaluados fueron: color, firmeza, olor y sabor. La firmeza sensorial fue evaluada indicando a los panelistas que llevaran a cabo una mordida usando los dientes incisivos.

Con el fin de evitar el efecto negativo del almacenamiento en frío sobre las propiedades organolépticas evaluadas, principalmente la firmeza (Rivas-Vega *et al.* op.cit.), el análisis sensorial se realizó a los camarones del final de la fase 3, mismos que fueron congelados por no más de 20 días.

5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

A los datos de parámetros de producción, calidad del agua, respuesta inmune, estado fisiológico y calidad post-cosecha, se les aplicó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas. A los que cumplieron con ambas premisas, se les aplicó una ANOVA paramétrica de una vía, y posteriormente una prueba de comparaciones múltiple de medias (Tukey), con un nivel de confianza de 0.05%. A los datos que no cumplieron con ser normales y/u homocedásticos, se les aplicó una ANAVA no paramétrica (Kruskal Wallis) (Sokal y Rohlf 1981, 1995; Zar 1989). Para estos análisis, se utilizó un paquete computacional estadístico STATGRAFIC PLUS[®], versión 5.1.

6. RESULTADOS

6.1. Primera Fase de experimentos con rotíferos, copépodos, *Artemia* e insectos acuáticos usados como ANE en juveniles *L. vannamei*.

6.1.1. Bioensayo con rotíferos.

6.1.1.1. Variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedios de temperatura ($27.46 \pm 1.32^{\circ}\text{C}$), oxígeno disuelto ($5.42 \pm 2.71 \text{ mg L}^{-1}$) y salinidad ($36.12 \pm 1.07 \text{ ppmil}$). Los valores de pH resultaron significativamente menores en los tratamientos con 15 y 20 rotíferos·mL⁻¹ en comparación con el control y con el de 5 rotíferos·mL⁻¹.

La concentración de fosfatos fue estadísticamente similar en todos los tratamientos, sin embargo la de compuestos nitrogenados aumentó en función de la concentración de rotíferos, presentando valores significativamente más altos en los tratamientos con 15 y 20 rotíferos·mL⁻¹. (Tabla XI). Las concentraciones de nitratos y nitrógeno amoniacal total fueron mayores en el tratamiento con 20 rotíferos·mL⁻¹. La concentración de nitritos fue mayor en los tratamientos con 10, 15 y 20 rotíferos·mL⁻¹.

6.1.1.2. Parámetros de producción de los camarones alimentados con rotíferos.

Algunos de los parámetros de producción presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla XII). En el crecimiento semanal se observó una relación directa con la concentración de rotíferos añadidos (figura 1). Lo mismo fue observado para los demás parámetros de producción, ya que todos ellos (talla, biomasa y supervivencia finales) fueron significativamente mayores en el tratamiento con 20 rotíferos·mL⁻¹ que en los

demás tratamientos, mientras que los menores valores se presentaron en el control donde no se adicionaron rotíferos. El FCA fue significativamente menor en el tratamiento con 20 rotíferos·mL⁻¹ y mayor en el control.

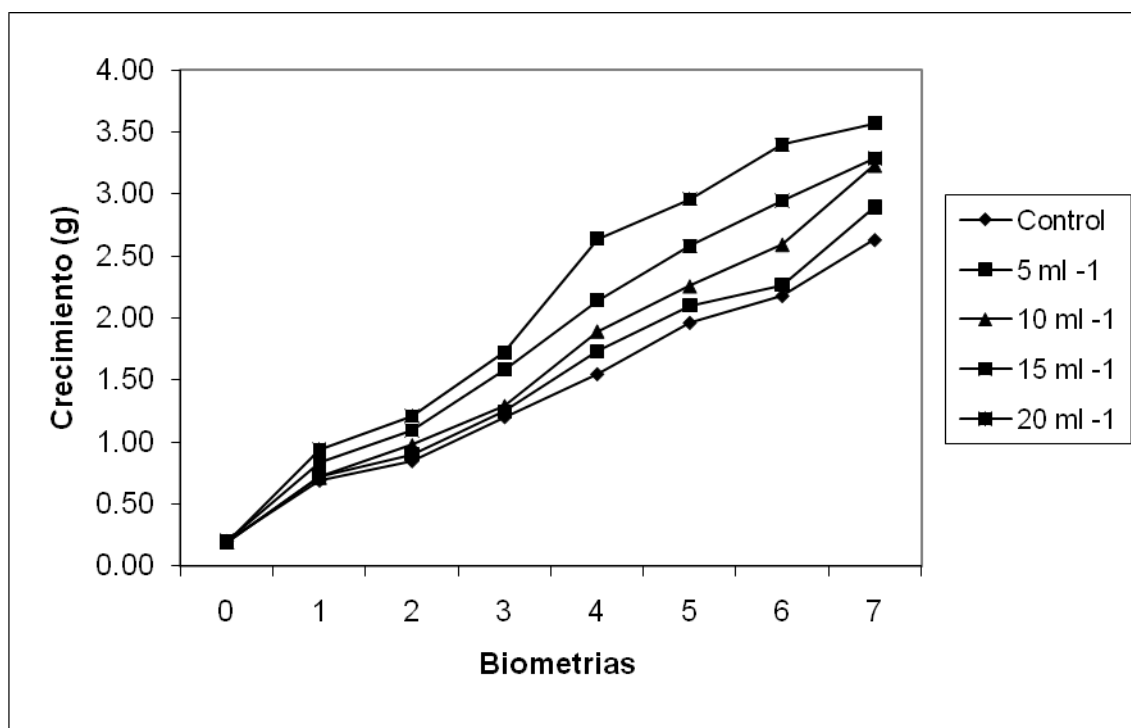


Figura 1. Crecimiento semanal de juveniles de *L. vannamei* alimentados con diferentes concentraciones de rotíferos y alimento artificial comercial.

Tabla XI. Comportamiento de las variables de calidad del agua del experimento con rotíferos usados como ANE de *L. vannamei*.

<i>Tratamientos</i>	<i>N-NH₃/NH₄</i> (mg/L)	<i>N-NO₂</i> (mg/L)	<i>N-NO₃</i> (mg/L)	<i>P-PO₄</i> (mg/L)
Control (0 R mL ⁻¹).	0.69±0.06 ^a	0.43 ± 0.08 ^a	1.80 ± 0.56 ^a	1.03 ± 0.11 ^a
5 Rotíferos mL ⁻¹	0.72±0.06 ^a	0.45 ± 0.03 ^a	1.94 ± 0.24 ^a	1.08 ± 0.22 ^a
10 Rotíferos mL ⁻¹	0.76±0.01 ^b	0.47 ± 0.08 ^{ab}	2.74 ± 0.63 ^b	1.06 ± 0.19 ^a
15 Rotíferos mL ⁻¹	0.78±0.07 ^b	0.49 ± 0.02 ^{ab}	3.18 ± 0.21 ^b	1.08 ± 0.09 ^a
20 Rotíferos mL ⁻¹	0.85±0.02 ^c	0.55 ± 0.04 ^b	3.38 ± 0.49 ^b	1.01 ± 0.13 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

Tabla XII. Parámetros de producción de *L. vannamei* alimentado con diferentes concentraciones del rotífero *B. rotundiformis* y alimento artificial comercial.

<i>Tratamientos</i>	<i>Talla Final</i> (g)	<i>Biomasa</i> (g)	<i>Supervivencia</i> (%)	<i>FCA</i>
Control (0 Rotíferos mL ⁻¹).	2.18±0.31 ^a	29.92±5.36 ^a	62.12±2.62 ^a	2.74±0.09 ^b
5 Rotíferos mL ⁻¹	2.26±0.31 ^a	34.81±5.10 ^{ab}	69.70±2.62 ^b	2.73±0.14 ^b
10 Rotíferos mL ⁻¹	2.59±0.34 ^{ab}	40.39±4.24 ^b	71.21±6.94 ^b	2.66±0.24 ^b
15 Rotíferos mL ⁻¹	2.95±0.28 ^{bc}	51.98±3.22 ^c	80.30±2.64 ^c	2.32±0.44 ^{ab}
20 Rotíferos mL ⁻¹	3.40±0.07 ^c	69.11±3.41 ^d	92.42±2.62 ^d	1.94±0.54 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.1.2. Experimento con copépodos.

6.1.2.1. Variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores medios de temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH. La temperatura promedio fue 28.08°C ± 1.86°C, la salinidad 36.65 ± 1.79 ppmil, el oxígeno disuelto 8.75 ± 2.65 mgL⁻¹ y el pH 8.76 ± 0.48.

La concentración de fosfatos fue mayor en los tratamientos con 4 y 8 copépodos mL⁻¹, mismos que a su vez, no fueron estadísticamente diferentes entre sí.

La concentración de nitrógeno amoniacal total fue mayor en los tratamientos con 1 y 4 copéodos mL⁻¹ (Tabla XIII).

Tabla XIII. Calidad del agua en el experimento usando copéodos como ANE en *L. vannamei*.

<i>Tratamientos</i>	<i>N-NH₃/NH₄</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>N-NO₂</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>N-NO₃</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>P-PO₄</i> (<i>mg L⁻¹</i>)
Control (0 C mL ⁻¹)	2.17±0.52 ^{ab}	0.0013±0.001 ^a	5.83±2.52 ^a	5.03±1.16 ^a
1 Copéodos mL ⁻¹	3.08±0.94 ^b	0.0017±0.001 ^a	10.01±3.05 ^{bc}	5.13±0.60 ^a
2 Copéodos mL ⁻¹	1.42±0.29 ^a	0.0017±0.001 ^a	9.17±0.58 ^{abc}	4.83±0.35 ^a
4 Copéodos mL ⁻¹	3.08±1.12 ^b	0.0023±0.002 ^a	6.67±3.51 ^{ab}	6.03±1.16 ^b
8 Copéodos mL ⁻¹	1.67±0.38 ^a	0.0370±0.021 ^b	10.9±1.53 ^c	6.03±0.67 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

La concentración de nitritos mostró ser estadísticamente mayor en el tratamiento con 8 copéodos mL⁻¹ que en todos los demás tratamientos.

La concentración de nitratos fue superior en el tratamiento con 8 copéodos mL⁻¹, pero no fue significativamente diferente de los tratamientos con 1 y 2 copéodos mL⁻¹.

6.1.2.2. Parámetros de producción de los camarones alimentados con copéodos.

El crecimiento semanal, al igual que en el experimento con rotíferos, presentó una relación directa con la concentración de copéodos suministrados (Fig. 2), los demás parámetros de producción mostraron un comportamiento similar (Tabla XIV).

La talla final fue significativamente mayor en los tratamientos con 4 y 8 copéodos mL⁻¹ que en los demás tratamientos.

La supervivencia final fue significativamente superior en los tratamientos con 2 y 8 copéodos mL⁻¹ que el control, pero no lo fue respecto a los demás tratamientos.

La biomasa final fue estadísticamente mayor en el tratamiento con 4 copépodos mL^{-1} que el control, pero no que en los demás tratamientos. El mismo tratamiento con 4 copépodos mL^{-1} , presentó el FCA más bajo con respecto a los demás.

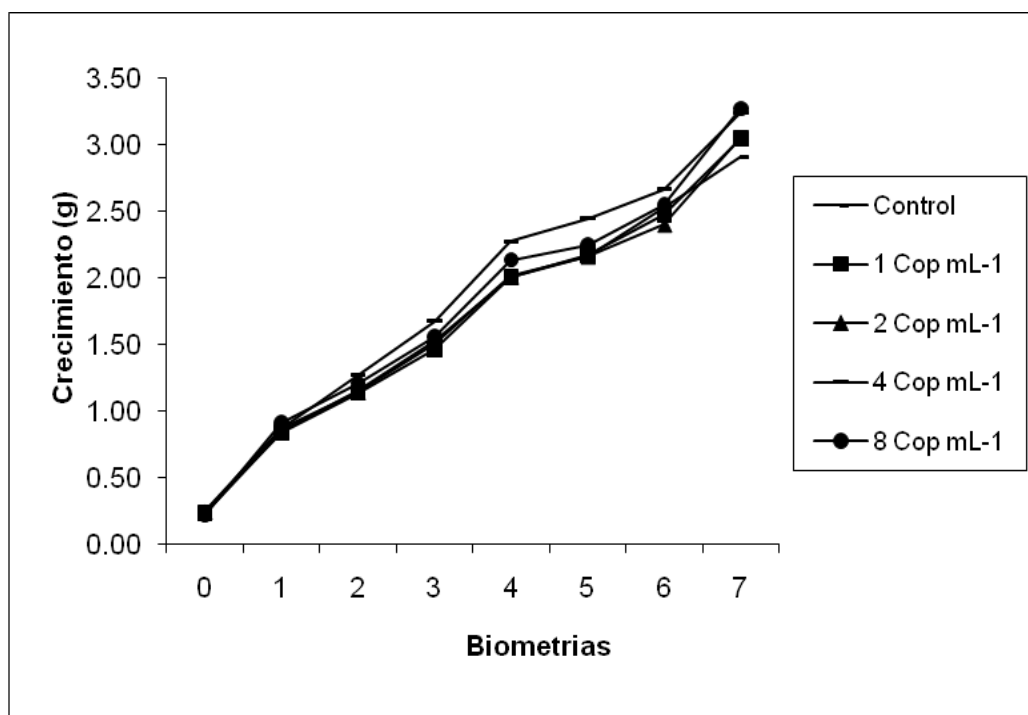


Figura 2. Crecimiento de juveniles *L. vannamei* alimentados con diferentes concentraciones de copépodos y alimento artificial comercial.

Tabla XIV. Parámetros de producción de *L. vannamei* alimentado con diferentes concentraciones de copéodos *Acartia* sp. y *C. pacificus*.

Tratamientos	Talla final (g)	Biomasa final (g)	Supervivencia final (%)	FCA
Control (0 C mL ⁻¹)	2.91±0.13 ^a	54.53±3.65 ^a	86.67±7.64 ^a	1.96±0.08 ^b
1 Copéodos mL ⁻¹	3.05±0.09 ^{ab}	56.03±3.12 ^{ab}	91.67±7.64 ^{ab}	1.90±0.16 ^{ab}
2 Copéodos mL ⁻¹	3.06±0.05 ^{ab}	59.67±8.54 ^{ab}	98.33±2.89 ^b	1.19±0.18 ^{ab}
4 Copéodos mL ⁻¹	3.25±0.26 ^b	61.77±6.10 ^b	93.33±5.77 ^{ab}	1.73±0.09 ^a
8 Copéodos mL ⁻¹	3.28±0.09 ^b	59.20±3.59 ^{ab}	96.67±2.89 ^b	1.81±0.14 ^{ab}

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.1.3. Experimento con *A. franciscana* adulta (AA).

6.1.3.1. Variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

La temperatura, salinidad y oxígeno disuelto no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, con promedios de $29.38 \pm 2.23^{\circ}\text{C}$, 36.21 ± 3.26 ppmil y 7.48 ± 2.45 mgL⁻¹, respectivamente. El pH (8.81 ± 0.43) aunque fue más bajo en los tratamientos con la mayor concentración de *Artemia* adulta (AA) y mayor supervivencia de camarones, no presentó diferencias significativas respecto a los demás tratamientos.

Por lo que respecta a la calidad del agua, se encontraron diferencias significativas en la concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT). La mayor concentración fue registrada en el tratamiento 8 AA L⁻¹.

La concentración de nitritos no presentó diferencias estadísticas entre los diferentes tratamientos.

Una concentración significativamente mayor de nitratos se observó en el tratamiento con 2 AA L⁻¹ (Tabla XV), con respecto a los demás.

La concentración de fosfatos fue mayor en todos los tratamientos alimentados con AA, entre los cuales no se encontraron diferencias, pero si con respecto al control.

Tabla XV. Calidad del agua del experimento de evaluación de *A. franciscana* como alimento natural exógeno para *L. vannamei*.

<i>Tratamientos</i>	<i>N-NH₃/NH₄</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>N-NO₂</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>N-NO₃</i> (<i>mg L⁻¹</i>)	<i>P-PO₄</i> (<i>mg L⁻¹</i>)
Control (0 AA L ⁻¹)	1.24±1.33 ^a	0.033±0.02 ^a	3.44±0.81 ^{ab}	3.38±0.98 ^a
1 AA L ⁻¹	2.45±1.99 ^{ab}	0.022±0.02 ^a	4.72±1.75 ^{bc}	6.22±2.16 ^b
2 AA L ⁻¹	1.99±0.93 ^a	0.024±0.02 ^a	5.58±1.95 ^c	5.91±0.60 ^b
4 AA L ⁻¹	2.22±1.21 ^a	0.027±0.02 ^a	2.34±1.32 ^a	6.62±1.96 ^b
8 AA L ⁻¹	3.88±2.25 ^b	0.038±0.03 ^a	5.44±1.22 ^c	6.03±3.42 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.1.3.2. Parámetros de producción de juveniles de *L. vannamei* alimentados con *Artemia* adulta.

En la figura 3 se observa el crecimiento semanal de los juveniles de camarón blanco, alimentados con diferentes concentraciones de *Artemia* adulta en los 49 días que duró el bioensayo.

La mayor talla final la presentaron los camarones alimentados con 8 AA L⁻¹ (Tabla XVI).

La biomasa final fue significativamente mayor en todos los tratamientos alimentados con *Artemia* que en el control.

La mayor supervivencia final se presentó en el tratamiento con 4 AA L⁻¹.

El menor FCA se registró en el tratamiento con 8 AA L⁻¹ pero no fue significativamente diferente de los tratamientos con 2 y 4 AA L⁻¹.

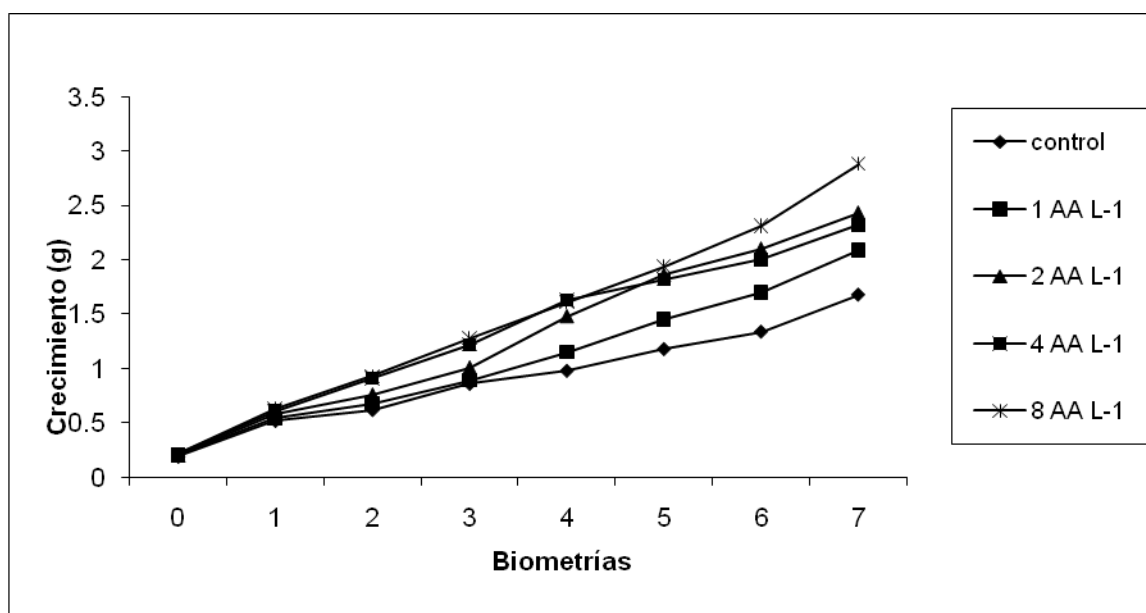


Figura 3. Crecimiento semanal de juveniles de *L. vannamei* alimentados con diferentes concentraciones de *Artemia* adulta y alimento artificial comercial.

Tabla XVI. Parámetros de producción utilizando *A. franciscana* adulta (AA) como alimento natural exógeno de *L. vannamei*.

Tratamientos	Talla final (g)	Biomasa final (g)	Supervivencia final (%)	FCA
Control (0 AA L ⁻¹)	1.68±0.31 ^a	36.62±2.13 ^a	84.03±6.91 ^a	2.70±0.65 ^c
1 AA L ⁻¹	2.09±0.42 ^{ab}	44.57±5.65 ^b	90.79±2.31 ^a	2.10±0.26 ^{bc}
2 AA L ⁻¹	2.43±0.17 ^b	52.27±9.90 ^b	90.74±12.91 ^a	1.81±0.42 ^{ab}
4 AA L ⁻¹	2.32±0.10 ^b	54.14±2.57 ^b	94.79±2.32 ^b	1.73±0.13 ^a
8 AA L ⁻¹	2.88±0.80 ^b	54.96±4.55 ^b	88.03±8.01 ^a	1.70±0.09 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.1.4. Resultados del experimento con insectos acuáticos (IA).

6.1.4.1. Variables fisicoquímicas y de calidad del agua.

No se encontraron diferencias significativas entre los valores promedios de temperatura, oxígeno disuelto, salinidad y pH. La temperatura promedio de todos los tratamientos fue de 28.12 ± 2.55 °C, la salinidad 36.44 ± 2.71 ppmil, el oxígeno disuelto 8.42 ± 2.12 mg L⁻¹ y el pH 8.64 ± 0.52 .

Se presentaron diferencias en algunos de los parámetros de calidad del agua. La concentración de fosfatos fue significativamente mayor en el tratamiento con 30 IA que los demás tratamientos.

La concentración de nitrógeno amoniacal total fue estadísticamente mayor en el control y en los tratamientos con 10, 20 y 30 IA L⁻¹ que en el de 5 IA L⁻¹.

La nitritos presentaron su concentración mayor en el tratamiento con 20 IA L⁻¹, que los demás tratamientos.

La mayor concentración de nitratos se presentó en el control, el tratamiento al que no se le adicionaron insectos acuáticos (Tabla XVII).

Tabla XVII. Calidad del agua en el experimento de insectos acuáticos (IA) *Trichocorixa* sp. usados como alimento natural exógeno (ANE) para *L. vannamei*.

<i>Tratamientos</i>	<i>N-NH₃/NH₄</i> (mg L ⁻¹)	<i>N-NO₂</i> (mg L ⁻¹)	<i>N-NO₃</i> (mg L ⁻¹)	<i>P-PO₄</i> (mg L ⁻¹)
Control (0 IA L ⁻¹)	3.38±0.31 ^b	1.02±0.07 ^a	5.29±0.28 ^d	0.15±0.03 ^a
5 IA L ⁻¹	1.36±0.22 ^a	1.01±0.06 ^a	2.87±0.34 ^c	0.27±0.04 ^b
10 IA L ⁻¹	3.48±0.29 ^b	2.99±0.12 ^c	0.50±0.05 ^a	0.24±0.04 ^b
20 IA L ⁻¹	3.15±0.21 ^b	3.39±0.14 ^d	1.86±0.21 ^b	0.25±0.04 ^b
30 IA L ⁻¹	3.06±0.23 ^b	1.85±0.11 ^b	2.90±0.28 ^c	0.36±0.03 ^c

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.1.4.2. Parámetros de producción de los juveniles de *L. vannamei* alimentados con IA.

El crecimiento semanal presentó una relación directa con la concentración de insectos acuáticos suministrados (figura 4). La misma tendencia se observó en los demás parámetros de producción. La talla y biomasa finales fueron significativamente mayores en los tratamientos con 20 y 30 IA L⁻¹. La supervivencia final fue estadísticamente superior en los tratamientos con 10, 20 y 30 IA L⁻¹.

El factor de conversión alimenticia (FCA), fue estadísticamente menor en los tratamientos con 5, 10 y 20 IA L⁻¹ (Tabla XVIII).

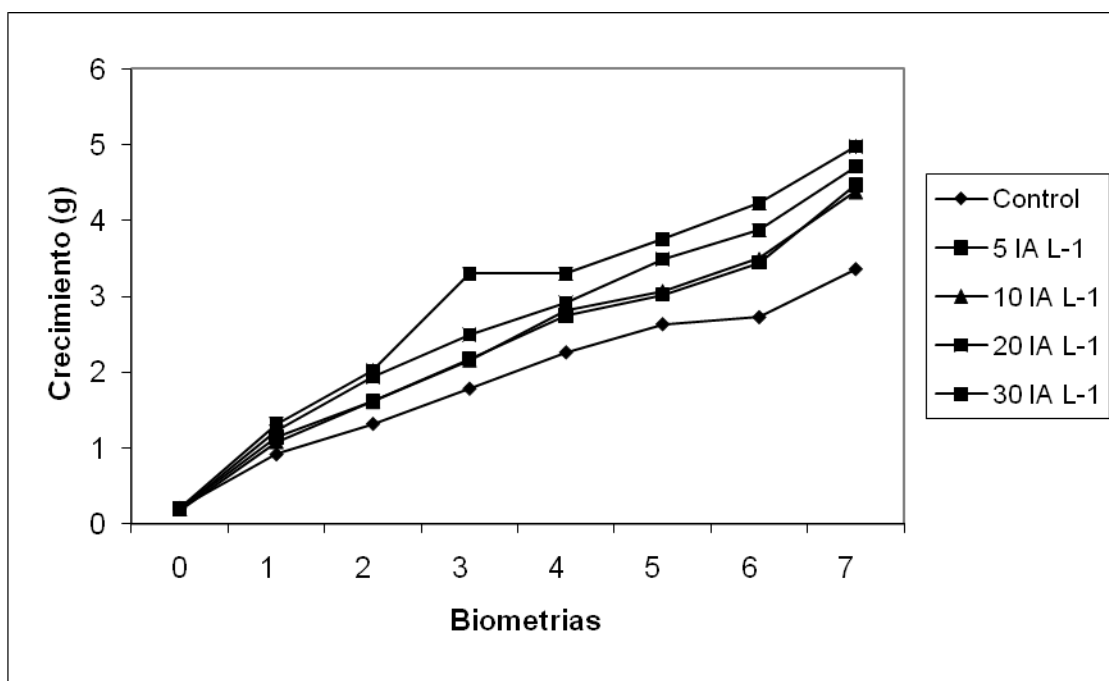


Figura 4. Crecimiento semanal de juveniles de camarón blanco (*L. vannamei*) alimentados con diferentes concentraciones de insectos acuáticos y alimento artificial.

Tabla XVIII. Parámetros de producción de *L. vannamei* alimentado con diferentes concentraciones del insecto acuático (IA) *Trichocorixa* sp.

Tratamientos	Talla final (g)	Biomasa (g)	Supervivencia (g)	FCA
Control (0 IA L ⁻¹)	3.36±0.50 ^a	60.35±1.08 ^a	82.22±3.85 ^a	2.03±0.06 ^b
5 IA L ⁻¹	4.47±0.18 ^b	80.71±1.29 ^b	82.22±3.84 ^a	1.64±0.05 ^a
10 IA L ⁻¹	4.38±0.20 ^b	85.58±1.01 ^c	88.89±7.69 ^b	1.64±0.07 ^a
20 IA L ⁻¹	4.71±0.08 ^c	91.65±0.79 ^d	88.89±3.84 ^b	1.71±0.05 ^a
30 IA L ⁻¹	4.97±0.50 ^c	93.32±1.16 ^d	86.67±6.67 ^{ab}	2.03±0.09 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

Los resultados obtenidos de la biomasa final en los 4 bioensayos arriba mencionados, no parecerían ser significativos a la escala tan baja en que se realizaron (15 L), pero si se extrapolaran a hectárea, en el primero (usando rotíferos como ANE) se obtendrían: 32,240 Kg Ha⁻¹, en el segundo (usando copépodos) serían: 41, 118 Kg Ha⁻¹, con Artemia: 36, 640 Kg Ha⁻¹ y al usar insectos acuáticos se producirían 62, 213.33 Kg Ha⁻¹.

6.2. Segunda fase de experimentos.

6.2.1. Evaluación de los medios en la producción y composición química de *N. oculata*.

6.2.1.1. Variables fisicoquímicas.

La temperatura (25.3 ± 0.88°C), la salinidad (36.21±1.34 ppmil) y el oxígeno disuelto (13.65 ± 2.87 mgL⁻¹), no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. El pH en los tratamientos FMA y NLK (8.30±0.10 y 8.40±0.05) fue estadísticamente inferior al control (8.55±0.06).

6.2.1.2. Parámetros de producción de las microalgas.

Algunos de los parámetros de producción de las microalgas presentaron diferencias significativas entre los tratamientos o medios de cultivo evaluados (Tabla XIX). La velocidad de crecimiento (K) de la microalga no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos, aunque se observa que el valor promedio de las producidas con Guillar F/2 fue visiblemente mayor. El tiempo de duplicación en la etapa de crecimiento exponencial (3 días) fue mayor en los tratamientos NLK y GF/2, aunque no fue significativamente diferente del tratamiento FMA.

La producción (células mL⁻¹) fue evidentemente superior en los tratamientos FMA y GF/2 que en el tratamiento NLK (Tabla XIX).

Tabla XIX. Parámetros de producción de *N. oculata*, producida con el control y los fertilizantes como medios de cultivo.

<i>Medios de cultivo</i>	<i>K</i>	<i>TD</i>	<i>Producción (células mL⁻¹)</i>
FMA	0.69±0.81 ^a	1.23±0.57 ^a	2.05±0.67 ^b
NLK	0.46±0.29 ^a	1.38±0.67 ^a	1.26±0.49 ^a
GF/2	0.71±0.65 ^a	1.35±0.75 ^a	1.76±0.80 ^b

K: velocidad de crecimiento (divisiones día⁻¹), TD: tiempo de duplicación (células día⁻¹) y P: producción. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.1.3. Composición química proximal de las microalgas.

El contenido de carbohidratos de *N. oculata* fue mayor en los tratamientos FMA y NLK. El contenido de lípidos fue significativamente superior en el tratamiento GF/2 y el contenido de proteínas no presentó diferencias entre los tratamientos (Tabla XX) aunque el promedio de las producidas con el tratamiento NLK fue mayor.

Tabla XX. Composición química proximal de *N. oculata* producida con los tres diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Carbohidratos</i> (%)	<i>Lípidos</i> (%)	<i>Proteínas</i> (%)
FMA	36.83±1.49 ^b	34.54±1.49 ^a	28.63±2.00 ^a
NLK	31.63±0.69 ^b	37.58±0.69 ^a	32.12±0.74 ^a
GF/2	28.96±1.83 ^a	42.01±1.83 ^b	29.02±2.25 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.2. Efecto del uso *N. oculata* producida con medios alternativos, en la producción y composición química proximal de *B. rotundiformis*.

6.2.2.1. Variables fisicoquímicas.

No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a la temperatura del agua (28.48 ± 1.68 °C), salinidad (37.67 ± 1.88 ppmil), oxígeno disuelto (12.42 ± 2.12 mgL⁻¹) y pH (8.36 ± 1.36).

6.2.2.2. Parámetros de producción de los rotíferos.

La mayor densidad (rotíferos mL⁻¹) e índice de fecundidad (huevos por hembra, sueltos y unidos) al final del experimento, fueron encontrados en los organismos alimentados con microalgas producidas con el fertilizante acuícola NLK. (Tabla XXI) en comparación con el control.

Tabla XXI. Producción de *B. rotundiformis* alimentados con *N. oculata* producida con diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Rotíferos mL⁻¹</i>	<i>Huevos libres mL⁻¹</i>	<i>Huevos unidos mL⁻¹</i>	<i>Índice de Fecundidad</i>
FMA	96.75±10.56 ^a	10.5±2.38 ^b	11.25±2.63 ^b	1.12±0.11 ^b
NLK	132.50± 6.35 ^c	14.5±1.29 ^c	20.25±3.30 ^c	1.25±0.09 ^c
GF/2 (control)	111.50± 9.29 ^b	2.50±2.38 ^a	7.00±2.16 ^a	0.67±0.12 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.2.3. Composición químico proximal de los rotíferos.

Los rotíferos mostraron un patrón diferente al observado en las microalgas. El contenido de carbohidratos fue diferente en cada uno de los tratamientos, con el mayor valor en el FMA y el menor en el NLK.

El contenido de lípidos también fue estadísticamente mayor en el tratamiento FMA en comparación con los otros dos, los cuales no mostraron diferencias estadísticas entre sí.

Los rotíferos alimentados con microalgas cultivadas los medios NLK y control (GF/2) presentaron los mayores contenidos de proteína (Tabla XXII).

Tabla XXII. Composición química de *B. rotundiformis* alimentados con *N. oculata*, producida con diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Carbohidratos (%)</i>	<i>Lípidos (%)</i>	<i>Proteínas (%)</i>
FMA	25.92±1.72 ^c	26.34±2.39 ^b	47.74±3.47 ^a
NLK	12.95±1.10 ^a	22.79±3.33 ^a	64.27±4.42 ^b
GF/2	18.79±2.15 ^b	23.08±2.62 ^a	58.13±2.82 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.3. Evaluación de medios alternativos en la producción y composición químico proximal de *C. muelleri*.

6.2.3.1. Variables fisicoquímicas.

Las variables fisicoquímicas que se registraron en el bioensayo de cultivo *C. muelleri*, se comportaron muy similares al bioensayo anterior. La temperatura promedio fue $25 \pm 2.41^\circ\text{C}$, la salinidad 36.21 ± 1.15 ppmil, el oxígeno disuelto 12.51 ± 3.86 mg L⁻¹ y el pH de 8.85 ± 0.47 , sin diferencias significativas entre los tratamientos en ninguno de los casos.

6.2.3.2. Parámetros de producción de *C. muelleri*.

La velocidad de crecimiento fue significativamente mayor en el tratamiento FMA que el tratamiento NLK (Tabla XXIII).

El tiempo de duplicación fue mayor en el tratamiento NLK, mientras que la producción fue superior en el tratamiento FMA que en el NLK.

Tabla XXIII. Parámetros de producción de *C. muelleri*, producida con el control y los fertilizantes como medios alternativos de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>K</i>	<i>TD</i>	<i>Producción</i>
FMA	1.00 ± 0.27^b	0.89 ± 0.46^a	3.69 ± 0.76^b
NLK	0.61 ± 0.22^a	1.33 ± 0.45^b	2.28 ± 0.67^a
GF/2	0.86 ± 0.29^{ab}	0.83 ± 0.31^a	2.94 ± 0.09^{ab}

K: velocidad de crecimiento (divisiones día⁻¹), TD: tiempo de duplicación (células día⁻¹) y P: producción (células 10⁵).

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.3.3. Composición químico proximal de *C. muelleri*.

El contenido de carbohidratos fue significativamente mayor en el tratamiento FMA.

El contenido de lípidos no presentó diferencias entre tratamientos. Las proteínas tuvieron una concentración estadísticamente mayor en el control. (Tabla XXIV).

Tabla XXIV. Composición químico proximal (en base seca) de *C. muelleri* producida con los diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Carbohidratos (%)</i>	<i>Lípidos (%)</i>	<i>Proteínas (%)</i>
FMA	35.52±2.64 ^b	40.45±2.10 ^a	24.03±2.70 ^a
NLK	34.31±1.32 ^{ab}	41.67±0.69 ^a	24.02±1.00 ^a
GF/2	30.76±1.43 ^a	41.68±2.78 ^b	27.56±1.48 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.4. Efecto del uso de *C. muelleri* producidas con fertilizantes como medios alternativos y Guillar F/2, en la producción y composición químico proximal de *Acartia* sp. y *C. pacificus*.

6.2.4.1. Variables fisicoquímicas del experimento.

No se presentaron diferencias estadísticas en la temperatura (29 ± 3.17 °C), la salinidad (37.45 ± 2.08 ppmil), el oxígeno disuelto (10.37 ± 2.52 mg mL⁻¹) y el pH (8.58 ± 0.34), entre los tratamientos.

6.2.4.2. Parámetros de producción de los copépodos.

El índice de fecundidad fue significativamente mayor en los tratamientos FMA y NLK comparado con el control.

Los copépodos alimentados con microalgas producidas con medio NLK presentaron la mayor densidad final ($1.52 \text{ copéodos mL}^{-1}$), misma que fue estadísticamente superior a los demás tratamientos (Tabla XXV).

Tabla XXV. Producción de *Acartia* sp. y *C. pacificus*, alimentados con *C. muelleri* producidas con diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Índice de fecundidad</i>	<i>Proporción nauplios:adultos</i>	<i>Densidad final copéodos mL⁻¹</i>
FMA	0.74 ± 0.09^b	$2.6:1^a$	1.31 ± 1.79^a
NLK	0.76 ± 0.07^b	$2.1:1^a$	1.52 ± 1.22^a
GF/2	0.49 ± 0.11^a	$2.2:1^a$	0.97 ± 2.60^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.4.3. Composición químico proximal de los copépodos.

La composición químico proximal de los copépodos alimentados con *C. muelleri*, no presentó diferencias entre tratamientos en cuanto al contenido de carbohidratos, ni lípidos (Tabla XXVI). El contenido de proteína fue estadísticamente mayor en el tratamiento control (GF/2), respecto a los otros dos.

Tabla XXVI. Composición químico proximal de *Acartia* sp. y *C. pacificus* alimentados con *C. muelleri* producidas con diferentes medios de cultivo.

<i>Tratamientos</i>	<i>Carbohidratos (%)</i>	<i>Lípidos (%)</i>	<i>Proteínas (%)</i>
FMA	18.68 ± 1.44^a	25.80 ± 2.56^a	55.52 ± 1.21^a
NLK	15.51 ± 0.80^{ab}	25.81 ± 1.16^a	58.68 ± 1.60^a
GF/2	15.91 ± 2.31^a	24.83 ± 0.48^a	62.26 ± 1.92^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.2.4.4. Consideraciones generales de la reducción de costos de los medios alternativos para el cultivo de microalgas.

El análisis económico de la producción de ANE, fitoplancton y zooplancton se enfocó específicamente sobre los medios de cultivo, ya que los demás costos (energía eléctrica, costos de personal, equipo y otros), permanecieron constantes.

Los únicos costos que se redujeron fueron los de los medios de cultivo de fitoplancton (medios alternativos como fuentes de nitrógeno, fósforo, micronutrientes y vitaminas).

En el caso del medio Guillar F/2, los trabajos citados recomiendan el uso de reactivos químicos grado analítico, mismos que resultan sumamente caros, con un costo total incluyendo las vitaminas, superior a US \$ 360.00, mismos que alcanzan para producir 10,000 L de microalgas, el costo para producir 1 L es de US \$0.036.

En el caso del Nutrilake con fosforo, el costal de 50 Kg costó US \$44.00 (50 Kg) más una caja de vitaminas Bedoyecta (US \$ 10.00) y 500 g de metasilicato de sodio (US\$20), estos fueron suficientes para producir 182,482 L de microalgas cuyo costo fue US\$ 0.0004 L⁻¹, equivalente a US \$4.00 para producir también 10,000 L de microalgas.

El costo del costal de 40 Kg de fosfato mono amónico fue de US \$40.00, más las vitaminas Bedoyecta US\$ 10.00, la mezcla de minerales (US\$ 20.00) y el metasilicato de sodio (US\$ 20.00), juntos fueron suficientes para producir 291,971 L de microalgas, cuyo costo fue de US\$0.00031 L⁻¹, para comparar con dos medios anteriores el costo para producir 10,000 L de microalgas fue de US \$3.10 evidentemenete menor a los anteriores.

6.3. TERCERA FASE DE EXPERIMENTOS.

6.3.1. Efectos de la sustitución de ANE por ANE en la calidad del agua y la producción de juveniles de camarón blanco.

6.3.1.1. Variables fisicoquímicas y calidad del agua.

La temperatura promedio fue $30.24 \pm 1.86^\circ\text{C}$, la salinidad 39.42 ± 2.09 ppmil y el oxígeno disuelto 7.34 ± 2.51 mg L⁻¹, sin diferencias significativas entre los tratamientos. El pH fue significativamente menor en el tratamiento 75/25.

La concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) fue mayor en el tratamiento 25/75, que solo difirió significativamente del tratamiento 0/100, pero no de los demás tratamientos (Tabla XXVII).

La concentración de nitratos y nitritos no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos. La concentración de fosfatos fue superior en el tratamiento 75/25.

Tabla XXVII. Calidad del agua en la evaluación de diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE en juveniles de *L. vannamei*.

<i>Tratamientos: Proporción AAE/ANE</i>	<i>Nitrógeno amoniacal total (mg L⁻¹)</i>	<i>Nitritos (mg L⁻¹)</i>	<i>Nitratos (mg L⁻¹)</i>	<i>Fosfatos (mg L⁻¹)</i>	<i>pH</i>
100/0	1.97±2.23 ^{ab}	1.58±2.23 ^a	9.47±10.11 ^a	8.00±6.51 ^{ab}	8.23±0.22 ^{ab}
75/25	2.83±2.47 ^{ab}	3.77±2.47 ^a	5.87±5.95 ^a	9.50±6.47 ^c	8.19±0.21 ^a
50/50	3.07±2.66 ^{ab}	3.04±2.66 ^a	8.40±6.66 ^a	5.61±3.30 ^b	8.41±0.21 ^b
25/75	4.59±2.75 ^b	3.05±4.02 ^a	9.24±8.32 ^a	5.09±3.14 ^{ab}	8.73±0.30 ^{ab}
0/100	1.52±2.75 ^a	2.73±2.76 ^a	9.57±7.84 ^a	2.75±1.36 ^a	8.43±0.21 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.3.1.2. Parámetros de producción de juveniles de camarón blanco alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.

El crecimiento semanal mostró diferencias entre los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE (figura 5).

Los camarones alimentados con el 100% AAE (100/0) tuvieron una talla final significativamente mayor que los de los otros tratamientos.

La biomasa final fue mayor en los tratamientos 100/0 y 50/50.

Los mayores porcentajes de supervivencia, los presentaron los tratamientos 50/50 y 25/75.

(Tabla XXVIII).

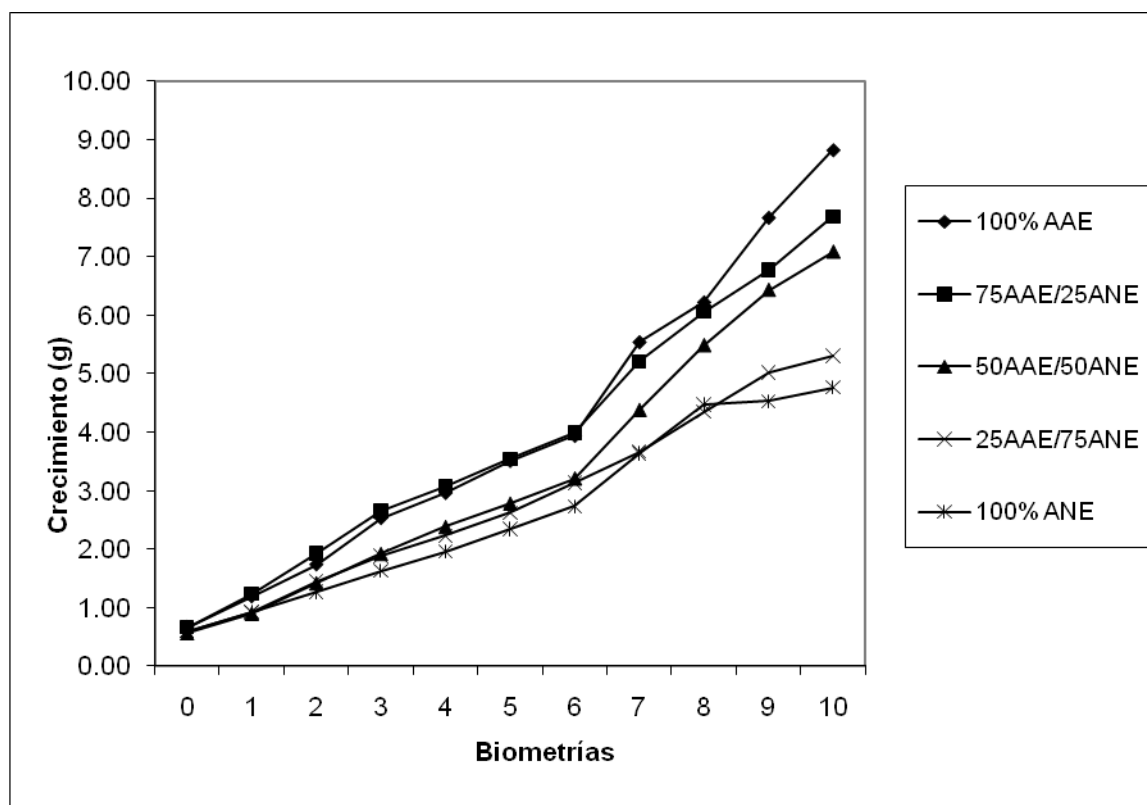


Figura 5. Crecimiento de juveniles de camarón blanco *L. vannamei* alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.

Tabla XXVIII. Parámetros de producción de juveniles de *L. vannamei* alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.

<i>Tratamientos</i> <i>Proporción:</i> <i>AAE/ANE</i>	<i>Talla final</i> <i>(g)</i>	<i>Biomasa</i> <i>(g/tina)</i>	<i>Supervivencia</i> <i>(%)</i>	<i>FCA</i>
100/0	8.83±0.20 ^c	105.3±7.73 ^c	59.09±4.54 ^b	2.17±0.16 ^b
75/25	7.48±0.79 ^b	76.3±13.81 ^b	51.51±10.50 ^{ab}	2.49±0.42 ^b
50 /50	6.89±0.57 ^b	104.8±4.37 ^c	72.73±7.87 ^c	1.44±0.06 ^a
25 /75	5.11±0.57 ^a	80.63±3.61 ^b	75.76±5.25 ^c	1.54±0.05 ^a
0/100	4.66±0.37 ^a	37.37±5.76 ^a	40.91±4.54 ^a	2.18±0.31 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

Aplicando el mismo ejercicio de extrapolación que con los bioensayos de la fase 1, se encontró que los camarones del tratamiento 50/50 serían: 69,867 Kg Ha⁻¹ mientras que los del control serían 70200 Kg Ha⁻¹. Aunque este último fue ligeramente mayor no lo fue significativamente y tuvo un 13.64% menor de supervivencia.

6.4. Respuesta fisiológica e inmune de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.

6.4.1. Respuesta fisiológica de los camarones experimentales.

La Tabla XXIX presenta el contenido de proteínas, glucosa, colesterol y triglicéridos en la hemolinfa de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de alimento artificial experimental (AAE) por alimento natural exógeno (ANE).

El contenido más alto de proteína en la hemolinfa se encontró en el tratamiento 0/100.

La concentración de glucosa fue significativamente mayor en los tratamientos 100/0 y 50/50.

El colesterol presentó una mayor concentración en la hemolinfa de los camarones del tratamiento 50/50.

El mayor contenido de triglicéridos en la hemolinfa lo presentaron los camarones del tratamiento 100/0.

Tabla XXIX. Respuesta fisiológica de los camarones alimentados con los diferentes tratamientos.

<i>Tratamientos Proporción AAE/ANE</i>	<i>Proteínas (mg mL⁻¹)</i>	<i>Glucosa (mg mL⁻¹)</i>	<i>Colesterol (mg mL⁻¹)</i>	<i>Triglicéridos (mg mL⁻¹)</i>
100/0	277.8±69.5 ^{bc}	0.086±0.04 ^b	0.039±0.01 ^{ab}	0.123±0.04 ^b
75/25	242.9±69.5 ^{ab}	0.063±0.02 ^{ab}	0.038±0.013 ^{ab}	0.092±0.04 ^b
50/50	310.7±64.4 ^c	0.082±0.05 ^b	0.044±0.017 ^b	0.097±0.04 ^b
25/75	202.7±45.2 ^a	0.043±0.02 ^a	0.038±0.012 ^{ab}	0.097±0.04 ^b
0/100	404.3±61.2 ^d	0.041±0.03 ^a	0.028±0.023 ^a	0.038±0.03 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.4.2. Respuesta inmune de *L. vannamei*.

6.4.2.1. Conteo total de hemocitos, concentración de pro fenol oxidasa PFO y fenol oxidasa FO en la hemolinfa de los camarones.

El mayor número de hemocitos se registro en los camarones del tratamiento 0/100, o sea alimentados con 100% de ANE.

El contenido de pro fenol oxidasa (PFO), fue superior en los camarones del tratamiento 100/0.

El contenido de fenol oxidasa (PO) en la hemolinfa de los camarones no presentó diferencias entre ninguno de los tratamientos del bioensayo. (Tabla XXX).

Tabla XXX. Respuesta inmune de los camarones alimentados con diferente nivel de sustitución de AAE por ANE.

<i>Tratamientos Proporción AAE/ANE</i>	<i>Contenido de hemocitos Células mL⁻¹</i>	<i>PFO ($\mu\text{g mg}^{-1}$ de proteína)</i>	<i>FO ($\mu\text{g mg}^{-1}$ de proteína)</i>
100/0	14600 \pm 2560 ^a	0.022 \pm 0.02 ^b	0.026 \pm 0.02 ^a
75/25	15100 \pm 1060 ^a	0.014 \pm 0.02 ^{ab}	0.018 \pm 0.02 ^a
50/50	16100 \pm 2100 ^a	0.009 \pm 0.004 ^a	0.014 \pm 0.05 ^a
25/75	16900 \pm 1220 ^a	0.012 \pm 0.008 ^{ab}	0.015 \pm 0.01 ^a
0/100	17900 \pm 350 ^b	0.009 \pm 0.01 ^a	0.015 \pm 0.01 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.5. Evaluación post-cosecha de los camarones experimentales de la tercera fase de experimentos.

6.5.1. Composición químico proximal del músculo abdominal con exoesqueleto de los camarones.

Se observaron algunas diferencias significativas en la composición químico proximal del abdomen con exoesqueleto de los camarones provenientes de los tratamientos con diferentes proporciones de AFE y ANE (Tabla XXXI).

El contenido de cenizas fue significativamente superior en los camarones de los tratamientos con 25/75 y 0/100.

El mayor porcentaje de proteína se presentó en los camarones de origen silvestre seguido por los alimentados con 100% de ANE.

El contenido de lípidos fue mayor en los camarones de los tratamientos 25/75 y 0/100 que en todos los de los demás.

El contenido de carbohidratos fue significativamente mayor en los camarones del tratamiento 75/25.

Tabla XXXI. Composición químico proximal del músculo abdominal con exoesqueleto de los camarones alimentados con diferentes proporciones de alimento artificial experimental AAE y alimento natural exógeno ANE (en materia seca).

<i>Tratamientos Proporción AAE/ANE</i>	<i>Cenizas</i>	<i>Proteínas</i>	<i>Lípidos</i>	<i>Carbohidratos</i>
100/0	10.66±0.53 ^b	73.99±1.56 ^b	1.83±0.12 ^{ab}	13.57±1.48 ^{cd}
75/25	10.16±1.00 ^b	71.04±1.57 ^a	1.80±0.21 ^{ab}	16.99±1.19 ^c
50/50	10.44±0.86 ^b	71.95±0.16 ^{ab}	1.98±0.52 ^b	15.39±1.31 ^{de}
25/75	12.96±0.57 ^c	73.03±1.61 ^{ab}	2.58±0.28 ^c	11.35±2.22 ^{bc}
0/100	12.96±0.62 ^c	76.91±1.68 ^c	2.58±0.05 ^c	8.08±1.62 ^a
Camarón Silvestre	8.91±0.61 ^a	80.82±0.76 ^d	1.43±0.12 ^a	8.94±0.79 ^{ab}

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.5.2. Composición químico proximal del abdomen con exoesqueleto (en base húmeda).

El contenido de humedad fue estadísticamente mayor en el camarón silvestre que en los provenientes de todos los tratamientos. En los camarones experimentales, los contenidos significativamente mayores de humedad se registraron en los tratamientos 100/0, 75/25, 25/75 y 0/100 en comparación con el tratamiento 50/50.

El contenido de cenizas fue mayor en los camarones de los tratamientos: 100/0, 50/50, 0/100 y 25/75.

El porcentaje de proteínas, no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos del bioensayo, ni con respecto a los camarones silvestres.

Los camarones de los tratamientos 50/50, 25/75 y 0/100 presentaron mayor contenido de lípidos que los de los demás tratamietos.

El contenido de carbohidratos fue estadísticamente superior en los camarones de los tratamientos 100/0, 75/25 y 50/50. (Tabla XXXII).

Tabla XXXII. Contenido químico proximal del abdomen con exoesqueleto de los camarones alimentados con diferentes proporciones de AAE y ANE (en base húmeda).

<i>Tratamientos Proporción AAE/ANE</i>	<i>Humedad</i>	<i>Cenizas</i>	<i>Proteínas</i>	<i>Lípidos</i>	<i>Carbohidratos</i>
100/0	78.60±0.42 ^{ab}	2.27±0.08 ^{bc}	15.84±0.45 ^a	0.39±0.03 ^b	2.90±0.32 ^{bc}
75/25	79.54±3.36 ^{ab}	2.06±0.24 ^b	14.54±2.44 ^a	0.36±0.03 ^b	3.49±0.75 ^c
50/50	76.90±1.25 ^a	2.46±0.09 ^c	16.62±0.86 ^a	0.45±0.10 ^{bc}	3.57±0.50 ^c
25/75	79.76±1.70 ^{ab}	2.64±0.30 ^c	14.80±1.55 ^a	0.52±0.07 ^c	2.28±0.30 ^{ab}
0/100	79.76± 0.63 ^{ab}	2.58±0.21 ^c	15.92±0.53 ^a	0.53±0.01 ^c	1.67±0.33 ^a
Camarón Silvestre	81.71±2.24 ^b	1.62±0.26 ^a	14.79±1.93 ^a	0.26±0.01 ^a	1.62±0.05 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.5.3. Firmeza o resistencia al corte del abdomen de los camarones silvestres y experimentales.

La firmeza del músculo del abdomen sin exoesqueleto de los camarones de los diferentes tratamientos presentó diferencias estadísticas (Tabla XXXIII). La mayor firmeza se presentó en los camarones de los tratamientos 100/00, 75/25 y silvestres.

Tabla XXXIII. Firmeza o resistencia al corte del músculo del abdomen (sin exoesqueleto) de los camarones experimentales y el silvestre, evaluada con el texturómetro Chatillon®.

<i>Tratamientos</i> <i>Proporción AAE/ANE</i>	<i>Textura (Newtons)</i>
100/0	4.25±0.99 ^c
75/25	3.89±0.96 ^{bc}
50/50	3.42±0.70 ^{ab}
25/75	2.89±0.72 ^a
0/100	2.98±1.12 ^a
Camarón silvestre	4.44±1.01 ^c

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

6.5.4. Análisis sensorial (propiedades organolépticas) de los camarones experimentales y el camarón silvestre.

La mayor calificación otorgada por los panelistas para el color externo fue para el camarón silvestre. En los camarones experimentales, la mayor calificación de color fue otorgada para los camarones del tratamiento 50/50.

La firmeza sensorial presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos, mostrando la mayor aceptación los camarones del tratamiento 100% AAE, seguida del camarón silvestre.

En cuanto al olor, los panelistas no detectaron diferencias entre los camarones provenientes de los diferentes tratamientos evaluados, ni con respecto al camarón silvestre.

La calificación del sabor fue significativamente mayor para los camarones del tratamiento 100/0, y la más baja correspondió a los camarones del tratamiento 75/25 (Tabla XXXIV).

Tabla XXXIV. Análisis sensorial (propiedades organolépticas) del músculo del abdomen de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de AAE por ANE.

<i>Tratamientos Proporción AAE/ANE</i>	<i>Color</i>	<i>Firmeza</i>	<i>Olor</i>	<i>Sabor</i>
100/0	2.45±0.89 ^{ab}	4.25±0.64 ^d	3.35±1.15 ^a	3.50±1.15 ^b
75/25	2.65±0.93 ^{ab}	3.85±0.93 ^{bcd}	3.05±1.10 ^a	2.65±0.64 ^a
50/50	2.90±0.97 ^b	2.80±1.15 ^a	3.25±1.10 ^a	3.50±1.10 ^b
25/75	2.45±0.64 ^a	3.35±0.93 ^{ab}	3.25±0.83 ^a	3.55±0.83 ^b
0/100	2.75±0.97 ^{ab}	3.45±1.15 ^{bc}	3.25±0.89 ^a	3.45±0.88 ^b
Camarón Silvestre	4.05±0.82 ^c	4.00±0.79 ^{cd}	3.45±1.05 ^a	3.50±1.05 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos con un 95% de confianza.

7. DISCUSIÓN.

Las condiciones ambientales en que se desarrollaron todas las corridas experimentales fueron las adecuadas para el cultivo del camarón blanco. La temperatura, salinidad, y el oxígeno disuelto se mantuvieron dentro de los rangos recomendados o al menos aceptables para la especie (Teitchert-Codington 1994; Martínez-Córdova *et al.* 2009) y no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos. El pH alcanzó niveles bajos en algunos bioensayos, sobre todo en los tratamientos con altas concentraciones de ANE, sin embargo estos valores no se considera que pudieran representar problemas para el cultivo de camarón blanco del Pacífico (Clifford 1994; Boyd 1996).

En términos generales se encontró que la utilización de cualquiera de los organismos evaluados: rotíferos, copépodos, *Artemia* o insectos acuáticos, como alimento natural exógeno (ANE) para *L. vannamei*, no tuvo un efecto negativo de gran significancia en la calidad del agua, aunque es necesario mencionar que se presentaron en todos los tratamientos, concentraciones de metabolitos tóxicos de amonio y nitritos, así como nutrientes nitratos y fosfatos, más altas que las que se encuentran normalmente en las granjas acuícolas (De la Lanza y Hernández 1999; Burford *et al.* 2003).

El nitrógeno amoniacal total, que es uno de los parámetros más importantes a considerar debido a su toxicidad para el camarón (Tomasso 1994), presentó variaciones significativas tanto entre los organismos probados como entre las densidades utilizadas. Los valores más elevados se encontraron con la utilización de copépodos, *Artemia* e insectos y los más bajos con la de rotíferos. Aunque no se presentó un patrón bien definido entre la densidad de organismos utilizados y la concentración de NAT, en términos generales se encontró

que las concentraciones más elevadas de éstos metabolitos se presentaron en los tratamientos con mayores supervivencias de camarones y mayor densidad de organismos agregados como ANE. En ninguno de los casos se superaron los valores de seguridad reportados para diferentes especies de camarones peneidos (Lin y Chien 1999). Chen y Chin (2007) encontraron que la LC_{50} de NAT para postlarvas de *P. Monodon* fue de $8.23 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Lin y Chen (2007), reportaron valores similares. Sin embargo, Alcaraz *et al.* (2007) encontraron que camarones expuestos a niveles superiores a $0.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de NH_3 , causan severos daños en las branquias (tasa respiratoria) y esta concentración fue letal cuando se presentaron bajos niveles de oxígeno disuelto. En los experimentos realizados en la primera y tercera fases, se encontraron concentraciones más altas que las reportadas en la bibliografía, pero no fueron letales para los camarones, entre otras cosas, porque los niveles de pH siempre estuvieron dentro del intervalo entre 7.4 y 8.5 lo que significa que menos del 9 % del NAT correspondió al amonio no ionizado (NH_3). Sin embargo, si se considera que bajo ciertas condiciones (por ejemplo a un pH mayor de 10), una gran proporción del nitrógeno amoniacal pudiera estar en la forma no ionizada (NH_3), que es la más tóxica para el camarón y otros organismos acuáticos, entonces se superarían los rangos recomendados. Los resultados implican que para poder utilizar estos zooplancteres como ANE a altas densidades es necesario diseñar sistemas adecuados que minimicen las concentraciones altas de NAT o su efecto tóxico.

Las altas concentraciones de NAT encontradas en el agua de algunos de los bioensayos, se pueden atribuir a las excreciones tanto de los camarones como de los organismos añadidos como ANE. Estas altas concentraciones de amonio se dieron por lo general en las unidades

experimentales en que hubo mayores porcentajes de supervivencia del camarón. Considerando las densidades super-intensivas utilizadas ($125 \text{ camarones m}^{-2-1}$) y un bajo recambio de agua ($< 5 \%$ por día), es lógico esperar estas concentraciones de NAT. Por otra parte, es conocido que existe una tendencia a incrementar la excreción de desechos nitrogenados por los organismos sometidos a condiciones que pudieran ser estresantes para los camarones en cultivo (Bindu *et al.* 2002) como son la alta densidad y el bajo recambio de agua (lo que provocó aumento de salinidad y metabolitos tóxicos).

Las concentraciones de NAT al parecer no tuvieron efectos negativos en algunos parámetros de producción como la supervivencia. Es necesario tomar en consideración que los experimentos reportados como referencia, se hicieron con camarones provenientes de ambientes libres o con muy bajas concentraciones de NAT (Chen y Chin 2007), por lo que quizá fueron menos resistentes a los metabolitos nitrogenados que los usados en el presente estudio. Los camarones, como otros animales acuáticos mediante el proceso de aclimatación, se van adaptando a las condiciones estresantes, como el incremento de desechos nitrogenados, salinidad, etc., siempre y cuando se mantengan otras variables físicas o químicas en intervalos tolerables. La aireación suplementaria y la adición de ciertos productos para incrementar la alcalinidad, pueden ser eficientes en este sentido, la primera porque oxida el NAT hasta nitratos el cual es inocuo a concentraciones relativamente altas (Boyd 1995), y la segunda porque al aumentar la alcalinidad se evitan fluctuaciones grandes de pH. Algunas otras medidas para reducir la concentración de desechos nitrogenados pueden ser la manipulación del pH, el incremento de la aireación, la promoción de la productividad primaria (incremento del fitoplancton); o la adición de

productos comerciales como extractos de *Yucca schidigera* que han demostrado disminuir estos metabolitos en estanques camaronícolas (Martínez-Córdova 1999; Martínez-Córdova *et al.* 2008).

Los nitritos también presentaron concentraciones superiores a las encontradas comúnmente en los estanques de cultivo de camarones, las cuales en ninguno de los casos se acercaron siquiera a los límites considerados peligrosos para *P. chinensis* (37.7 mg L^{-1}) *P. monodon* (42.2 mg L^{-1}) (Chen *et al.* 1990) y *P. setiferus* (Alcaraz *et al.* 2007). Gross *et al.* (2004) reportaron que la concentración letal media (LC_{50}) de los nitritos fue de 9 mg L^{-1} para *L. vannamei* cultivado en bajas salinidades. Se ha reportado que niveles mayores de 6.4 mg L^{-1} , reducen el crecimiento de *P. indicus*, *P. monodon* y *Macrobrachium rosenbergii*, pero sin afectar la supervivencia (Boyd 1994).

La concentración de nitratos registrada en todos los bioensayos fue mucho menor a la reportada como dosis letal media (LC_{50}) para camarones peneidos, la cual se ha reportado es de 3400 mg L^{-1} (Tsai y Chen 2002). Seneriches-Abiera *et al.* (2007) encontraron que a concentraciones superiores de 2000 mg L^{-1} , el crecimiento de *Scylla serrata* se reduce, pero sin afectar la supervivencia.

Las concentraciones de fosfatos también fueron superiores a las reportadas como niveles normales en los estanques camaronícolas, que son de alrededor de 1 mg/L (De la Lanza y Hernández 1999; Burford *et al.* 2003). Esto sucedió en todos los bioensayos, sobre todo con la utilización de copépodos, *Artemia* adulta e insectos acuáticos. En la literatura no hay reportes sobre la dosis letal media (LC_{50}) de los fosfatos para camarones peneidos, por lo que se asumiría que estos no afectan sus parámetros de producción. Sin embargo, habría

que pensar en el problema que representarían efluentes tan enriquecidos en fósforo, sobre todo en la eutrofización y nutrificación de los ecosistemas receptores (Millamena 1990, Xia *et al.* 2007). Algunas alternativas para enfrentar este problema serían la recirculación y reutilización de los efluentes, el policultivo utilizando macroalgas, así como la biorremediación (Boyd 1995; Rivera-Monroy *et al.* 1999; Martínez Córdova 2009; Xia *et al.* op. cit.).

Los parámetros de producción de los juveniles de camarón *L. vannamei*, mejoraron en todos los tratamientos en los que se les administraron organismos zooplanctónicos como alimento natural exógeno (ANE), sobretodo en los tratamientos con mayores concentraciones (20 rotíferos mL⁻¹, 4 y 8 copépodos mL⁻¹, 3 y 4 *Artemias* adultas L⁻¹ y 30 insectos acuáticos L⁻¹). No existe en la literatura una referencia de uso de altas concentraciones de zooplancton como ANE en condiciones de cultivo super-intensivo en las fases de pre-engorda o engorda temprana, pero los resultados obtenidos son mucho mejores a los obtenidos en granjas comerciales con sistema de cultivo semi-intensivo e intensivo (Martínez-Córdova 2002a, 2009).

Las mayores tallas finales, biomasas y supervivencias, así como los menores valores de FCA, generalmente se observaron en casi todos los tratamientos con ANE, con respecto al control.

La depredación de la *Artemia* adulta y los insectos acuáticos fue casi inmediata debido a su tamaño (1.2 ± 0.2 cm y 4 ± 2 mm), mientras que los rotíferos y copépodos debido a su tamaño tan pequeño (80 ± 20 µm y 250 a 500 µm), solo pudieron ser consumidos cuando precipitaron al fondo y se adhirieron al alimento o a las heces, esto se pudo corroborar al

observar en microscopio el contenido estomacal e intestinal al final del bioensayo. Por otra parte, en los tanques experimentales, nunca hubo microalgas por lo que los rotíferos y copépodos pudieron morir de inanición. También pudieron morir por las altas concentraciones de metabolitos tóxicos (amonio o nitritos), en los tanques experimentales arriba mencionados.

Las densidades de camarón utilizadas en todas las corridas experimentales (125 m^{-2-1}), corresponden a un cultivo super-intensivo (Martínez Córdova 1999). Esto explica parcialmente que el crecimiento registrado en los bioensayos con rotíferos, copépodos y *Artemia* adulta fuera inferior al que regularmente se puede obtener en granjas camaronícolas intensivas o semi-intensivas (Lee y Wickins 1992). Sin embargo estas altas densidades afectaron por igual a los tratamientos que al control, por tanto es válido afirmar que la adición de estos organismos del zooplancton como alimento natural exógeno, contribuyó a incrementar la ganancia en peso, sobre todo en los tratamientos con mayor concentración de ANE. Igualmente la supervivencia y el FCA no fueron tan buenas como las que se reportan en cultivos intensivos experimentales (Reid y Arnold 1998). En el caso del uso de insectos acuáticos, el crecimiento de los camarones fue similar e incluso mejor al que se obtiene en las granjas comerciales.

La respuesta productiva de los camarones juveniles al utilizar insectos acuáticos como ANE, fue mejor a la obtenida al usar rotíferos, copépodos y *Artemia* adulta. Es por ello que se pudiera considera a este grupo zooplanctónico como una de las mejores opciones para su uso como alimento vivo, o como ingrediente para la elaboración de alimentos artificiales. Sin embargo queda por resolver el problema de tener organismos disponibles

en cantidad suficiente y en el tiempo requerido, por lo que no se puede depender de su captura en estanques camaronícolas. Se necesitaría implementar técnicas apropiadas para su cultivo o promover su crecimiento poblacional en cuerpos de agua. No se encontraron trabajos que mencionen una extrapolación de la producción de camarón en sistemas superintensivos, pero evidentemente si se observa un notorio aumento en la producción con esta conversión, pero debe tratarse con cuidado ya que si se mejoraran las condiciones como se realizaron los bioensayos del presente estudio, también se mejoraría la producción.

Las variables fisicoquímicas registradas en los bioensayos de evaluación de medios alternativos en la producción de *N. oculata*, tales como la temperatura ($23 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$) y el oxígeno disuelto ($8.25 \pm 1.74 \text{ mg L}^{-1}$), fueron similares a las reportadas como óptimas para la especie (Ostrowski y Divakaran 1990). Sin embargo no fue así para el caso de la salinidad y el pH. Álvarez-Lajonchère *et al.* (1996) sugieren que la mejor temperatura y salinidad para esta especie es de 22.73°C y 31.53 ppmil, respectivamente. La salinidad registrada en el presente estudio fue de 39.13 ± 1.50 ppmil, misma que pudo afectar algunos parámetros de producción o calidad nutricional de las microalgas. El pH fue también superior al que se ha reportado como óptimo para el cultivo de esta microalga (Guerra Aznay *et al.* 2006), pero los valores de pH de (8.30 a 8.55) del presente estudio, no afectaron la producción.

La temperatura y salinidad registradas en el experimento con *C. muelleri* ($28 \pm 18^{\circ}\text{C}$ y 39.43 ± 1.64 ppmil) fueron superiores a las reportadas como óptimas para este género (15 a 20°C y 30 a 35 ppmil, FAO 1988 y 1989); sin embargo, no se afectaron los parámetros de

producción. El pH registrado en los tratamientos del presente estudio (8.45 ± 0.23) no fue muy diferente al que otros autores reportan como adecuado (Valenzuela-Espinosa 1999).

La velocidad de crecimiento de *N. oculata* en el tratamiento con NLK, fue similar a la reportada por Guerra-Aznay *et al.* (2006) para *T. fluviatilis*, con el mismo fertilizante como medio de cultivo, solo que ellos usaron 10 mg de Nutrilake adicionados a 200 mL de medio Guillar F/2, sumando entre ambas una composición similar al medio de cultivo empleada en el presente estudio (24 mg L^{-1}). La velocidad de crecimiento en el tratamiento FMA (0.69 ± 0.81 divisiones día⁻¹) fue superior al reportado por Leal *et al.* (2004), quienes obtuvieron velocidades de 0.51 a 0.52 divisiones día⁻¹ para *Tetraselmis suecica*, usando diferentes concentraciones de Zeolita Cubana, adicionadas al medio Guillar "F". Por el contrario la velocidad de crecimiento de *N. oculata* registrada en todos los medios en el presente estudio (FMA 0.69), NLK (0.46) y GF/2 (0.71 divisiones día⁻¹) fueron inferiores a lo encontrado por Sánchez-Torres *et al.* (2008), quienes usaron ensilados biológicos de pescado hidrolizados y no hidrolizados como medio de cultivo (0.97 y 0.80 divisiones día⁻¹). En otra evaluación que ellos realizaron usando harina de anchoveta como fuente de nutrientes, adicionada al medio Guillar F/2, en el cultivo de *N. oculata*, reportaron que estas microalgas presentaron una velocidad de crecimiento muy cercana a la encontrada en el presente estudio (0.71 divisiones día⁻¹). En la presente evaluación se encontró que las microalgas producidas con el fertilizante agrícola FMA presentaron una velocidad de crecimiento similar a las producidas con Guillar F/2, lo que confirma la hipótesis que con esta fuente alternativa de nutrientes de bajo costo, se pueden obtener los mismos resultados que usando el medio tradicional.

El tiempo o tasa de duplicación (TD) de *N. oculata*, en el presente estudio usando el fertilizante acuícola Nutrilake (1.38 ± 0.67 células día⁻¹) y el agrícola FMA (1.23 ± 0.57 células día⁻¹), fueron mayores al que reportan Guerra-Aznay *et al.* (2006), de 0.40 células día⁻¹ para *T. fluviatilis*. En ambos bioensayos se usaron cantidades muy similares de estos fertilizantes, lo que sugiere que ambos medios son adecuados para la producción de microalgas a bajo costo.

La mayor producción de *N. oculata* en los tratamientos control y FMA (2.05 ± 0.67 y $1.76 \pm 0.80 \times 10^6$), fue inferior a lo reportado por Valenzuela-Espinoza *et al.* (op. cit.), (3.16 a 3.31×10^6), quienes usaron fertilizantes agrícolas (nitrato de amonio y penta-óxido de fósforo).

La mayor velocidad de crecimiento de *C. muelleri*, cultivadas con el medio FMA (1.00 ± 0.27 divisiones día⁻¹), fue menor a la reportada por Valenzuela-Espinoza *et al.* (2004) con la misma especie y fertilizantes agrícolas (2.26 divisiones día⁻¹) y mayor a la reportada por Leal *et al.* (op. cit.) (0.51 a 0.52 divisiones día⁻¹), para *T. suecica* con el mismo medio. Por el contrario, las microalgas producidas con el medio de cultivo Guillar F/2 y NLK (0.89 ± 0.29 y 0.61 ± 0.22 divisiones día⁻¹), presentaron una menor velocidad de crecimiento que el reportado por Valenzuela-Espinoza (op. cit.), usando nitrato de amonio y pentóxido de fósforo (40.3 mg L^{-1}). Esto pudo deberse al uso excesivo de fertilizantes, ya que Leal *et al.* (op.cit) y Guerra-Aznay (op.cit), reportan que el uso de cantidades mayores que 23.7 mg L^{-1} de Nutrilake tuvieron efectos negativos en la producción de microalgas. La mayor tasa de duplicación de *C. muelleri* encontrado en el presente estudio (1.33 ± 0.45) fue menor a la que reportan Guerra-Aznay *et al.* (op. cit) con *T. fluviatilis* (4 a 6.6 células día⁻¹), quienes

usaron el fertilizante acuícola Nutrilake a diferentes concentraciones (10, 40 60 mg L⁻¹ agregados al medio Guillar F/2). En el presente estudio el fertilizante acuícola antes mencionado, fue el que presentó la mayor tasa de duplicación.

La producción de *C. muelleri* reportada por Valenzuela-Espinoza *et al.* (op. cit.), (3.16 a 3.31 X 10⁶), fue mayor a la encontrada en el presente trabajo en los tres tratamientos (2.28 a 3.69 X 10⁵); sin embargo, el promedio de microalgas producidas con el medio FMA fue superior al de las producidas con Guillar F/2, lo que reafirma la hipótesis propuesta.

El contenido de carbohidratos de *N. oculata* cultivadas con el medio FMA (36.83 % en base seca) fue muy similar al reportado por Reboloso-Fuentes *et al.* (2001a) (37.6) para la misma especie; sin embargo las microalgas cultivadas con Nutrilake y Guillar, tuvieron un contenido menor (31.63% y 28.96%). Los porcentajes de carbohidratos para la presente evaluación experimental son mayores que los encontrados por Rueda-Jaso (1996) quien reporta un contenido de 24.6, 19.4, 22.5 y 23.8% de carbohidratos para *Nannochloris sp.*, *Nannochloropsis sp.*, *Chlorella sp.* y *Spirulina sp.* (deshidratada), respectivamente. En el presente trabajo, el contenido de carbohidratos de *N. oculata* fue mayor al usar fertilizantes FMA y Nutrilake que el medio Guillar F/2, lo cual concuerda con lo obtenido por Piña *et al.* (2007), para *Talassiosira weissflogii*, en donde se obtuvieron mayores valores de este nutrimento al utilizar urea y Nutrilake adicionados al medio Guillar F, que cuando utilizaron únicamente medio Guillar F mientras que para *Tetraselmis suecica*, no se observaron diferencias entre los medios de cultivo

El contenido de lípidos de *N. oculata* en base seca en el presente estudio fue mucho mayor en los 3 tratamientos (34.54, 37.58 y 42.01% para FMA, NLK y GF/2, respectivamente) al

de 18.4 % reportado para la misma especie por Reboloso-Fuentes *et al.* (op.cit.). En el presente trabajo el contenido de carbohidratos y lípidos fue mayor en las microalgas producidas con el fertilizante agrícola FMA y mayor al reportado por los mismos autores.

El contenido de proteínas encontrado en el presente estudio en los tres tratamientos (28.63, 32.12 y 29.02; FMA, NLK y GF/2, respectivamente) fue similar al reportado por Reboloso-Fuentes *et al.* (op. cit.) (28.8%). También fueron similares a los encontrados por Piña *et al.* (op.cit), para las microalgas *T. weissflogii*, *Isochrysis* sp. y *T. suecica* cultivadas usando el medio Guillar F con urea, las que a su vez, presentaron mayores contenidos de proteínas que las cultivadas con el medio Guillar F al que se le adicionó Nutrilake.

El contenido de carbohidratos de *C. muelleri*, cultivada con los fertilizantes fosfato mono amónico (FMA) (35.52 ± 2.64) y NLK (34.31 ± 1.32) fue mayor al reportado por Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998), para la misma especie de diatomeas producidas con medio Guillar F/2, en la misma etapa de crecimiento estacionaria (16.63%) y tiempo (9 días).

El contenido de carbohidratos y lípidos de *C. muelleri* en el presente estudio fue superior al reportado por Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (op. cit.), una de las causas podría ser que en esta investigación no se determinaron las cenizas, lo que podría afectar los resultados. El contenido de estos nutrimentos también fue mayor al reportado por Lemus *et al.* (2006) con la misma especie de diatomea (4.2 a 18.1%).

El contenido de proteínas para *C. muelleri*, obtenido con el fertilizante agrícola FMA y el medio Guillar F/2 (24.03 ± 2.70 y 27.56 ± 1.48 ambos en base seca) en el presente estudio, fue menor a lo encontrado por Medina-Reyna y Cordero-Esquivel (1998) (30.24 %), con la

misma especie, el mismo medio, periodo de cultivo (7 a 9 días) y volumen de agua (19 L). Lemus *et al.* (2006), con la misma diatomea, en cultivos discontinuos y semi-continuos, encontraron porcentajes menores (21.4 y 21.1 % de proteínas respectivamente) que los encontrados en el presente estudio. En un estudio llevado a cabo por Valenzuela Espinoza *et al.* (2004) con *Rhodomonas* sp. producidas con medio Guillar F/2 y fertilizantes agrícolas, encontraron que las que fueron cultivadas con el primero, tuvieron un mayor contenido de proteínas que las obtenidas con fertilizantes. Los altos valores del contenido de nutrimentos (carbohidratos, lípidos y proteínas) encontrados en los experimentos con *N. oculata* y *C. muelleri* con los medios alternativos y el control, se vieron incrementados debido entre otras cosas a que en el presente estudio no se determinó el contenido de cenizas y el cálculo porcentual se centró en estos tres. *C. muelleri* producida con los fertilizantes alternativos (FMA y NLK), en el presente estudio tuvo mayor contenido de carbohidratos y similar de proteínas, a las cultivadas con el control.

La mayor producción final de rotíferos registrada en el presente estudio fue de 132.5 organismos mL⁻¹, y fue inferior a la reportada por Rueda-Jaso (1991) para *B. plicatilis* alimentado con microalgas del mismo género (193 organismos mL⁻¹). El índice o tasa de crecimiento que se registró en el presente estudio para *B. rotundiformis* fue de 0.67 rotíferos día⁻¹, también inferior al reportado por Rueda-Jaso (op.cit) que fue de 0.99 rotíferos día⁻¹. Es importante destacar que los cultivos en el presente estudio se realizaron en condiciones de alta salinidad (39.57 ± 0.83 ppmil), considerando que la óptima para la especie es cercana a 20 ppmil (Hirayama y Ogawa 1972), lo que pudo haber afectado su producción.

El contenido de carbohidratos en *B. rotundiformis* para los tratamientos NKL y Guillar F/2 (12.95 ± 1.10 y 18.79 ± 2.15 respectivamente), fue similar al reportado Guisande y Serrano (1989), quienes para *B. calciflorus*, encontraron una relación directa entre la fecundidad y el contenido de carbohidratos, ya que en cultivos donde predominaron hembras ovadas, se observó un porcentaje mayor de estos nutrimentos (15%) que otros con bajo índice de fecundidad (6%).

El contenido de lípidos de los rotíferos alimentados con *N. oculata* en todos los tratamientos (22.79 a 26.34 %), fue superior al reportado por Rueda-Jaso (1991), quien encontró que solo los alimentados con *Chlorella* sp. presentaron un porcentaje cercano (20.9 % en base seca) a los obtenidos en el presente estudio.

El contenido de proteínas de los rotíferos del tratamiento NLK (64.27 ± 4.42) fue superior al reportado por Srivastava *et al.* (2006) quienes registraron porcentajes entre 44.28 y 52.32 % para *B. plicatilis* alimentado con levadura de pan mezclada con *Chlorella* sp. y alimento comercial Selco 3000™. El porcentaje de proteína reportado por Øie y Olsen (1997) también con *B. plicatilis* (1997) fue similar al encontrado en los tratamientos GF/2 y NLK (47.74 a 64.27 %). En un estudio realizado por Rueda-Jaso (op. cit.) con *B. plicatilis*, se encontró que los porcentajes de proteína fueron también similares (64.9% en base seca) a los obtenidos en el presente estudio, cuando se alimentaron con microalga del mismo género y cercanos e incluso superiores cuando fueron alimentados con otras especies como *Nannochloris* sp., *Chlorella* sp. y *Spirulina* sp. (deshidratada), (59.9, 56.5 y 69.7% respectivamente). El contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas en los rotíferos que fueron alimentados con microalgas producidas con los medios alternativos de bajo

costo (FMA y NLK), fue superior a los alimentados con las microalgas cultivadas en el medio Guillar F/2, por lo que también se acepta la hipótesis de que los medios alternativos de bajo costo para producir microalgas, igualan o mejoran el contenido de nutrimentos que las producidas con medio Guillar F/2.

El contenido químico proximal de copépodos (*Acartia* sp. y *C. pacíficus*) encontrado en el presente estudio concuerda con lo reportado por Morris y Hopkins (1983) quienes al analizar una mezcla de copépodos del Golfo de México, encontraron que contenían de 29.6 a 67.7 % de proteínas; y de 2.9 a 56.3 % de lípidos, aunque no reportan en que estadio de desarrollo se encontraban o si había hembras grávidas en sus copépodos analizados. Los mismos autores reportaron que el copépodo *Pleuromamma abdominalis* tuvo entre 50.3 y 57.9 % de proteína, valores muy cercanos a los encontrados en el presente trabajo, y de 8.3 a 6.8 % de lípidos, que fueron menores a los encontrados con *Acartia* sp. y *C. pacíficus*. Houde y Roman (1987) reportaron que el contenido proteico de *Acartia tonsa* fue de 27.7 %, el de lípidos de 19.5 %, y el de carbohidratos de 25.4 %; estos dos últimos, cercanos a los encontrados en el presente estudio.

El contenido de proteínas en base seca que se encontró en los copépodos del presente estudio en los tratamientos FMA, NLK y GF/2 (55.52, 58.62 y 62.26% respectivamente) fue similar al reportado por Watanabe *et al.* (1983) para *Tigriops japonicus* alimentado con *Chlorella* sp sola. (55.1%), y combinada con levadura de pan (61.87%); así como para *Acartia* sp. alimentados con la misma especie de microalga (62.93 %).

La composición químico proximal de los copépodos alimentados con microalgas cultivadas en los diferentes medios de cultivo en el presente estudio, fue diferente a la

reportada por Rosas *et al.* (2007), quienes evaluaron el efecto de cuatro microalgas (*T. chuii*, *Chlorella* sp., *I. galbana* y *N. oculata*) sobre el contenido químico del copépodo *Oithona ovalis* y encontraron que el porcentaje de proteínas (11.27 y 14.38 % en base húmeda), fue bajo comparado con los valores obtenidos en el presente estudio, e incluso que otros valores reportados en la literatura. El contenido de lípidos que ellos reportan, varió entre 3.62 y 5.24 %, que también fue bajo porcentaje comparado con el encontrado en otros estudios, incluyendo el presente.

La concentración de nitrógeno amoniacal total (NAT) del experimento de sustitución de AFE por ANE como alimento para *L. vannamei* presentó valores similares a los reportados por Rosas *et al.* (2001) con juveniles de la misma especie. Ellos encontraron que camarones a los que se les proporcionó un alimento rico en carbohidratos, produjeron menor excreción de desechos nitrogenados, que aquellos alimentados con más baja concentración de estos nutrimentos; además de que estos desechos fueron mayores cuando los camarones se mantuvieron en alta salinidad (40 ppmil), situación muy similar a la que se registró a lo largo del presente estudio (39.42 ppmil). Es posible que si el experimento se hubiese realizado en condiciones de salinidad óptima de la especie (20 a 25 ppmil) según (Bray *et al.* 1995) los desechos nitrogenados, se hubiesen reducido considerablemente. La alta concentración de NAT en los tratamientos con mayor sustitución de AAE por ANE (insectos acuáticos vivos), se debió en primer término a la alta supervivencia de camarones y adicionalmente a la excreción nitrogenada de los propios insectos. La misma explicación puede ser aplicable para las altas concentraciones de nitritos y nitratos. Las altas concentraciones de fosfatos pudieran ser atribuibles a la

descomposición de alimentos, restos de insectos no consumidos y heces. Por otro lado también se debió a que en los tanques no hubo presencia de microalgas que pudieran haber hecho uso de estos nutrientes. Es por ello que el uso de rotíferos, copépodos, *Artemia* e insectos acuáticos usados como ANE pudiera ser más recomendable, si se implementaran ciertas estrategias para mejorar la calidad del agua, como aumento considerable de la aireación mediante desproteinizadores (skimmers), filtros biológicos, co-cultivo con micro y macroalgas, aumento de recambio, entre otras.

En relación a la respuesta productiva de los camarones alimentados con diferentes niveles de sustitución de alimento formulado experimental (AAE) por alimento natural exógeno (ANE), el mayor crecimiento promedio total (talla final) se obtuvo en el tratamiento con 100 % de alimento formulado (100/0) que fue similar al reportado por Rosas *et al.* (2001) con camarones juveniles de la misma especie. Ellos encontraron que camarones crecen más cuando se nutren con alimento rico en proteína y pobre en carbohidratos, pero a diferencia del alimento que utilizaron ellos, el que se elaboró y evaluó en el presente estudio, tuvo un alto contenido de estos últimos nutrimentos (>35%). Es necesario considerar también que este tratamiento tuvo una baja supervivencia (59.09%), y normalmente esto se asocia a mayores crecimientos, aún cuando se cubren por igual los requerimientos nutrimentales de los organismos (Fraga *et al.* 2002). El mismo comportamiento se observó en el tratamiento con baja sustitución de AAE por ANE (75/25), que tuvo una talla final superior a los tratamientos con mayor sustitución de AAE, pero la supervivencia también fue baja (51.51%) similar al de 100% AAE. El menor crecimiento fue encontrado en los tratamientos con mayor sustitución de AAE por ANE

(100 % ANE y 25/75), y fue similar a lo reportado por Rosas *et al.* (2001), atribuyéndolo a que alimentos con bajo nivel de carbohidratos (como en los tratamientos con mayor contenido de ANE) presentaron menor crecimiento en altas salinidades (40 ppmil), condiciones similares a las que prevalecieron en el presente estudio. Es de suponer que los camarones que solo tuvieron insectos acuáticos como alimento, no alcanzaron a cubrir todos sus requerimientos nutrimentales, sobre todo los de carbohidratos, ya que los insectos aunque son ricos en proteínas, lípidos, cenizas y quitina, son deficientes en aquellos.

Los mejores crecimientos del camarón en el presente estudio, se presentaron en los tratamientos con mayor contenido de AAE (75/25 y 100/0) mismo que tuvo 35% de proteína. Contrariamente, Ezquerria-Brauer *et al.* (2003) no encontraron diferencias de crecimiento entre camarones de la misma especie alimentados con 25% y 40% p. c.

Aunque la talla promedio final es importante, en el caso de una pre-engorda o engorda temprana la biomasa, supervivencia y el factor de conversión alimenticia (FCA) son parámetros de producción más relevantes. El presente bioensayo se realizó en la etapa de inicio de cultivo o engorda arriba mencionada y aunque el crecimiento no fue mejor al sustituir AAE por ANE, la supervivencia y el FCA sí lo fueron. Es plausible pensar que el crecimiento puede mejorar significativamente cuando los camarones son transferidos a los estanques de engorda, con mayor área, disponibilidad y variedad de alimento, esto es lo que se conoce como crecimiento compensatorio (Delgado-Vidal *et al.* 2009). Los mejores resultados de biomasa, supervivencia y FCA se observaron en el tratamiento 50/50, lo que parece indicar que los dos tipos de alimento son importantes en esta etapa del cultivo y los

camarones los aprovechan más. Estos parámetros de producción son similares a los reportados por Brito *et al.* (2002) para post larvas de camarón de la misma especie alimentadas con una mezcla de alimento formulado, nauplios de *Artemia* y microalgas, los cuales tuvieron una mejor respuesta productiva comparado a larvas alimentadas únicamente con un solo tipo de los alimentos arriba mencionados. Al igual que en los experimentos de la fase 1, tampoco se encontraron trabajos que refirieran producciones extrapoladas bajo las condiciones de cultivo similares al presente estudio, aunque es evidente un gran aumento de la biomasa, es necesario considerar que en cultivos comerciales, la fase de pre-engorda sirve principalmente para maternizar los juveniles para cuando mejoren las condiciones ambientales (principalmente la temperatura), se transfirieran a estanques de engorda donde se daría un crecimiento más rápido y menos costoso, hasta llegar a la talla de cosecha deseada.

En relación a la respuesta fisiológica evaluada en base a parámetros en la hemolinfa, de los camarones alimentados con diferentes proporciones de sustitución de AAE por ANE, se encontró que el contenido de proteínas (mg L^{-1}) en todos los casos fue inferior a lo encontrado por Sánchez *et al.* (2001) en *L. setiferus* de origen silvestre mantenido a 27°C y similar a los mismos camarones cultivados que fueron mantenidos a 31°C , temperatura similar a la registrada en el presente estudio (30.26°C). El contenido de proteínas también fue similar al reportado por Pascual *et al.* (2004) con *L. vannamei* silvestre, mismo que se le suministró un alimento formulado con un alto contenido de carbohidratos. Sin embargo los resultados del presente estudio en cuanto al contenido proteico, fueron considerablemente mayores a los encontrados por los mismos autores en camarones

silvestres y cultivados (7^a generación), alimentados con dos dietas, una con bajo contenido de carbohidratos y la otra con alto. Los camarones del tratamiento con sustitución total de AAE por ANE (0/100 ó 100% ANE) tuvieron mayor contenido de proteínas en la hemolinfa, lo cual se puede explicar por el hecho de que los insectos acuáticos contienen un elevado porcentaje de este nutrimento (17.96% en base húmeda y 70% en base seca) y posiblemente este nutrimento sea más digerible que el proveniente del AAE. La concentración de proteínas en los camarones de los tratamientos de proporciones iguales de AAE y ANE (50/50) y el de 100% de AFE también fue relativamente alta, lo que parece indicar que los camarones en esta fase son capaces de aprovechar eficientemente las proteínas tanto del alimento formulado como del natural. El mayor contenido de proteína que se obtuvo en los camarones del tratamiento con sustitución total de AAE por ANE (0/100) fue similar al reportado por Rosas *et al.* (2001) también para juveniles de *L. vannamei*, a los que se les suministró un alimento formulado con alto contenido proteico. En el presente estudio la concentración de proteínas en la hemolinfa, fue menor en los camarones de los tratamientos con menos AAE (alimento artificial experimental) con lo que se deduce que el uso de insectos acuáticos como ANE aumenta este nutrimento.

El mayor contenido de glucosa en la hemolinfa, se evidenció en los tratamientos con alta proporción de AFE, el cual tuvo un elevado contenido de carbohidratos y por lo tanto estos nutrimentos fueron incorporados a la hemolinfa en mayor proporción por el camarón, al consumir dicho alimento, que los únicamente se les suministró insectos vivos.

La concentración de glucosa de los camarones en todos los tratamientos, fue inferior a lo reportado por Sánchez *et al.* (2001) para *L. setiferus* silvestre y cultivado, debido a que

ellos usaron camarones adultos bien alimentados, que se sometieron a un proceso de aclimatación y se les evaluó el efecto de este factor de estrés.

En los camarones alimentados con mayor proporción de ANE, el contenido de glucosa fue bajo probablemente debido al bajo contenido de carbohidratos en los insectos acuáticos, además este provino principalmente del exoesqueleto (mayormente quitina), por lo que que estos nutrimentos fueron menos biodisponibles y/o digeribles que los contenidos en el AAE (que fue principalmente almidón de origen vegetal).

Por otra parte es necesario considerar que los camarones alimentados con mayor proporción de alimento formulado, tuvieron menos dificultad para alimentarse que los alimentados con sustitución parcial y total de AAE por ANE (tratamientos 25/75 y 0/100 ó 100% ANE) que gastaron más energía en desplazarse para capturar a los insectos acuáticos; esta energía gastada pudo provenir mayormente de la glucosa y otros nutrimentos que aportan energía. El contenido de glucosa encontrado en los camarones del presente estudio concuerda a lo reportado por Mercier *et al.* (2006), con *L. vannamei*, también mantenidos en condiciones similares (en tanques de concreto y plástico alimentados con una dieta formulada). Si bien, estos autores no recomiendan el uso de estos tanques, en condiciones de cultivo se pueden usar otras instalaciones de mayor tamaño y porcentaje diario de recambio. El uso de insectos acuáticos como alimento natural exógeno vivo para juveniles de camarón blanco no aumenta el contenido de glucosa en la hemolinfa, aunque sí mejora otros nutrimentos de gran importancia como las proteínas. Se puede considerar el uso posterior de insectos acuáticos (*Trichocorixa* sp.) como ingrediente importante para la elaboración de alimentos formulados para camarones,

ya que como se mostró anteriormente, son una fuente rica en proteínas, lípidos y posiblemente pigmentos como astaxantinas, nutrimentos importantes para el crecimiento y reproducción de estos organismos.

La concentración de colesterol en la hemolinfa de los camarones evaluados en todos los tratamientos del presente estudio fue inferior a la encontrada por Sánchez *et al.* (op. cit) para adultos de *L. setiferus* esto debido a que los adultos tienen un metabolismo más lento (poco crecimiento) y tienden a acumularlo, mientras los juveniles lo tienen acelerado y por ende el disponible en la hemolinfa es usado para obtención de energía y crecimiento, así como para mejorar la supervivencia (Teshima *et al.* 1983) . Similarmente Pascual *et al.* (op. cit) reportan también para *L. vannamei* silvestre (0.32 mg mL^{-1}) y cultivado (0.24 mg mL^{-1}) una concentración de colesterol mucho mayor a la encontrada en el presente estudio. Esto quizá se debió al tipo de alimentación que tuvieron los camarones (unicamente el alimento formulado y/o los insectos acuáticos), ya que estos autores usaron camarones silvestres y cultivados provenientes de estanques acuícolas, lugares en los que abunda gran variedad de alimento natural de origen animal (copépodos, insectos acuáticos, poliquetos etc.) que son una rica fuente lípidos y de este esterol (Pedrazzoli *et al.* 1995).

Los valores más altos de colesterol se encontraron en el tratamiento en que la contribución del AAE y ANE fue similar (50/50). Esto pudiera sugerir una mejor condición nutricional de los camarones que combinan ambas fuentes de alimentos, ya que de acuerdo a Lucas *et al.* (1996), camarones con una mejor condición nutrimental, contienen mayores niveles de colesterol, proteína y triglicéridos en la hemolinfa. Es probable que los camarones alimentados con mayor proporción de insectos acuáticos emplearan también el colesterol

como fuente de energía (al carecer de carbohidratos suficientes en la dieta), para capturar su alimento, mientras que los que tuvieron mayores proporciones de AAE, no requirieron desplazarse ni gastar energía con ese propósito.

Las concentraciones de triglicéridos, fueron en todos los casos, superiores a las reportados por Sánchez *et al.* (op. cit.), para camarones machos adultos silvestres y cultivados de *L. setiferus*; pero inferiores a lo reportado por Pascual *et al.* (op. cit.) en juveniles de *L. vannamei* silvestres ($>0.32 \text{ mg mL}^{-1}$) y cultivados ($>0.38 \text{ mg mL}^{-1}$), a los que se les suministraron alimentos con alto y bajo contenido de carbohidratos. Las bajas concentraciones de estos lípidos, también pudieran estar relacionados a los costos de energía para mantener la osmoregulación y tolerancia a las altas concentraciones de los metabolitos tóxicos (amonio y nitritos) (Sánchez *et al.* 2001). Las menores concentraciones de colesterol y triglicéridos se encontraron en los camarones alimentados con mayor proporción de ANE, lo que pudiera sugerir que también los lípidos son empleados como fuente de energía en la captura de presas.

El contenido promedio de triglicéridos también fue superior al reportado por Mercier *et al.* (op. cit.) para juveniles de *L. vannamei* mantenidos bajo condiciones con bajo recambio, pero expuestos a la interperie en tanques de concreto, y similares en camarones mantenidos en tanques de plástico ambos pequeños, lo que nos indica que aunque los camarones del presente estudio se mantuvieron en tanques de tamaño reducido, pero este factor no les provocó estrés.

En relación a la respuesta inmune, el número total de hemocitos en los camarones de los cinco tratamientos fue inferior a lo reportado en machos silvestres de *L. stylirostris*,

mantenidos a 27°C y similares a los que se mantuvieron a 31 °C (Sánchez *et al.* op. cit.). También fue menor al que reportan para juveniles de *L. vannamei* por Pascual *et al.* (op. cit.), esto podría deberse a que ellos no consideraron el conteo de células hialinas que pueden representar del 15 al 23% del conteo total de hemocitos (Sánchez *et al.* 2001). Por otra parte se ha reportado que el número total de hemocitos puede variar debido a condiciones fisiológicas como la muda (Le Moullac *et al.* 1997, Magglioni *et al.* 2004), y/o cambios ambientales (Le Moullac y Haffner, 2000; Perazzolo *et al.* 2002). En trabajos previos Montesdeoca *et al.* (2002) reportan que la respuesta del sistema inmune del camarón ante la presencia de una enfermedad infecciosa en su organismo, es incrementar la presencia de hemocitos en el sistema circulatorio, mientras más aguda sea la infección, mayor será la producción de hemocitos.

Aunque los camarones de los tratamientos alimentados con más sustitución de AAE por ANE (75 y 100% ANE) presentaron el mayor número de hemocitos, el no haber hecho un conteo diferencial impide concluir que este parámetro indique una menor salud de estos peneidos. De haberlo hecho y encontrado un mayor número de hemocitos granulares, nos indicaría un bajo estado de salud de los camarones por la presencia de alguna enfermedad o factor de estrés.

La concentración de profenol oxidasa (PFO) nos puede indicar el estado de salud de los camarones experimentales. En todos los tratamientos del presente estudio la concentración de PFO fue de 0.009 a 0.022 $\mu\text{g mg}^{-1}$ de proteína, misma que fue inferior a la encontrada por Sánchez *et al.* (op.cit.) de 0.54 $\mu\text{g mg}^{-1}$ en camarones recién capturados del medio marino y de 0.72 $\mu\text{g mg}^{-1}$, en camarones mantenidos en cautiverio a 31°C. En el presente

trabajo, los camarones alimentados con mayor proporción de alimento formulado presentaron valores más altos de PFO que los alimentados con mayor proporción de ANE. Similarmente Pascual *et al.* (op. cit) encontraron que juveniles silvestres de camarón blanco presentaron menos PFO que los cultivados. El hecho de que tanto *L. setiferus* silvestre como cultivado ambos alimentados con una alta proporción de alimento natural, tuvieran menores valores de PFO, puede ser indicativo de una mejor salud de los alimentados unicamente con alimentos formulados. Los valores más altos de PFO del presente estudio (los de nula o baja sustitución de AAE por ANE) en relación a lo reportado por Sánchez *et al* y Pascual *et al.* (op. cit.), pueden estar asociados a las condiciones adversas como alta concentración de amonio, nitritos y la salinidad, ya que los camarones no se sometieron a enfermedad alguna. En un estudio realizado por Lari-Lamela *et al.* (2005) encontraron que juveniles de *L. schmitti* presentaron menor contenido de PFO a bajas salinidades (8 y 18 ppmil) que los del control (35 ppmil), por lo que esta variable también pudo manifestarse en un aumento en la concentración de este compuesto bioquímico ya que en el presente estudio fue superior 39 ppmil, pero cabe recalcar que todos los tratamientos se sometieron a esta alta salinidad.

Las concentraciones de fenol oxidasa (FO) registradas en todos los tratamientos experimentales, fueron mucho menores a las reportadas por Pascual *et al.* (op. cit) para juveniles de camarón blanco de la misma especie. Debido a la alta variabilidad de los datos obtenidos no se presentaron diferencias significativas entre los cinco tratamientos Al igual que con PFO, la concentración de FO fue visiblemente más alta en los camarones alimentados con AAE, si bien no fueron significativamente diferentes, los altos valores

nos indican que estos tuvieron una menor salud, lo que se reflejó en una baja supervivencia.

En cuanto a la calidad postcosecha, específicamente en el contenido químico proximal, el menor contenido de humedad en los camarones del presente estudio, se obtuvo en los del tratamiento 50/50 (76.90 ± 1.25) que fue muy similar al encontrado por Martínez-Córdoba *et al.* (2002) con camarones de la misma especie alimentados con proporciones variables de proteína (74.8%). Resultados similares reportaron Ezquerria-Brauer *et al.* (2003), también en *L. vannamei* (75%); los demás tratamientos presentaron mayor contenido de humedad, sobre todo los camarones usados como testigo externo de comparación (silvestre). Los resultados del presente estudio son semejantes a los reportados por Göcer *et al.* (2006) para *Penaeus semisulcatus*. Aunque ellos en otro tipo de evaluación encontraron porcentajes de alrededor de 75% de humedad, muy cercano al encontrado para el tratamiento 50/50 (76.90%), pero también fue inferior a los demás tratamientos del presente estudio. Esto demuestra que con una proporción de cantidades iguales de AAE y ANE se obtienen menores resultados de humedad.

El contenido de cenizas reportado por Ezquerria-Brauer *et al.* (2003) y Martínez-Córdoba *et al.* (2003), fue menor al detectado en el presente trabajo, lo que se debe a que ellos evaluaron únicamente utilizando muestra de músculo del abdomen, mientras que en el presente estudio se evaluó el abdomen con exoesqueleto. Entre menor sea el contenido de ceniza, mejor será la biodisponibilidad del nutrimentos para los organismos alimentados, pues un mayor contenido de estas indican alto contenido de fibra cruda y minerales, que

aceleran el tránsito del bolo alimenticio por el intestino, lo que disminuye la absorción de los nutrimentos Grocer *et al.* (op. cit.). Estos últimos autores reportaron que *P. semisulcatus* tuvo un contenido de cenizas entre 1.61 y 1.77 % en base húmeda. En este estudio se encontró que el camarón silvestre tuvo el menor porcentaje de cenizas (1.63 % en base húmeda), lo que se debió a su alimentación 100% de origen natural. Re-Araujo y Acosta-Ruiz (2003), reportaron un contenido similar de cenizas en base seca, (entre 13.00 y 14.01%), al registrado en el presente estudio, siendo mayor en camarones alimentados con un alimento con lecitina seca, que otras con fuentes de lecitina con valores similares a lo encontrado en los tratamientos 25/75 y 0/100. Uno de los factores que pudo contribuir al aumento de cenizas de los camarones experimentales, sobretodo los que se alimentaron con altas concentraciones de ANE (insectos acuáticos), es porque estos fueron consumidos enteros y contuvieron también altos porcentajes de cenizas.

El mayor contenido de proteína en base seca de los camarones evaluados en este estudio fueron los del tratamiento con 100 % ANE (76.91%) el cual fue similar al reportado por Ezquerria-Brauer *et al.* (2004) (74%) y por Martínez Córdova *et al.* (2003) (73.7%), en camarones de la misma especie alimentados con porcentajes variables de proteína, es decir considerando el aporte de proteínas del alimento natural del estanque y la cantidad de proteína del alimento comercial empleado. En esta evaluación se encontró que solamente los camarones alimentados con 100% de ANE y los silvestres, tuvieron mayor contenido de proteína que lo reportado por los autores antes citados, lo que posiblemente se deba a la contribución del ANE, ya que los insectos acuáticos presentaron mayor contenido de proteínas que el alimento formulado que se empleó. El mayor porcentaje de proteínas en

materia húmeda obtenido en el presente estudio se presentó en el tratamiento 50/50 que implica que una combinación de ambas fuentes alimenticias resulta en una mejor condición nutricional de los camarones. Esto concuerda con lo reportado por Brito *et al.* (2002), que encontraron que postlarvas de camarón de la misma especie, tuvieron un mayor contenido de proteínas al ser alimentadas con una mezcla de *Artemia*, algas y un alimento artificial.

El contenido lipídico de los camarones evaluados en el presente estudio también fue similar al reportado por Ezquerro-Brauer *et al.* (2003), solo el camarón silvestre tuvo un porcentaje menor. Aun así, los camarones alimentados con mayor proporción de alimento natural (insectos acuáticos) también presentaron mayores porcentajes de lípidos. Göcer *et al.* (2006) para *P. semisulcatus*, reportaron niveles de lípidos mayores a los aquí encontrados. Re-Araujo y Acosta-Ruiz (2003), reportaron para *L. vannamei*, un contenido lipídico mayor (5.85% en camarones a los que se les suministró alimento con lecitina líquida) que el encontrado en el presente estudio 2.58 % en camarones de los tratamientos con mayor sustitución de AAE por ANE (25/75 y 100% ANE), ya que los insectos acuáticos empleados como ANE también tuvieron un elevado porcentaje de lípidos y proteínas, mismos que posiblemente sean mas digeribles que los contenidos en el AAE).

Los resultados aquí obtenidos con *L. vannamei* silvestre fueron menores (21.7%) a lo que reportaron Wouters *et al.* (2001) con la misma especie, esto se debió principalmente a que ellos evaluaron el contenido de este nutrimento en hembras en diferentes estadios de madurez sexual, mismas que almacenan lípidos en la gónada y huevos.

El contenido de carbohidratos en el abdomen de los camarones fue mayor en los con las mayores proporciones de AAE. Esto se debe por un lado a que este alimento presentó un nivel alto de estos nutrientes, y por otra parte al menor gasto energético para capturar los insectos en los tratamientos con mayor proporción de éstos, lo que provocó que se consumieran tanto los lípidos como los carbohidratos de las reservas del camarón. El uso de insectos acuáticos como ANE tuvo un efecto positivo en el contenido químico proximal de los camarones alimentados con ellos, ya que se encontró que los camarones alimentados con mayor sustitución de alimento formulado por natural tuvieron un mayor contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos que los que fueron alimentados con baja sustitución de ANE. En la mayoría de los casos estos altos porcentajes de nutrimentos no fueron mayores al control, lo que prueba que el AAE se hizo con los mejores ingredientes que nutren efectivamente al camarón.

La firmeza o resistencia al corte medida en forma instrumental encontrada en el músculo abdominal sin exoesqueleto de los camarones de los diferentes tratamientos, fue mayor en los organismos alimentados con la mayor proporción de alimento formulado. Esto concuerda con lo obtenido por Rivas Vega *et al.* (2003) y Ezquerro-Brauer *et al.* (2004) quienes reportaron que camarones *L. stylirostris* a los que se les dio un alimento comercial de 40% p.c. (contenido similar de proteína del AAE del presente estudio), presentaron mayor firmeza que los alimentados con menor porcentaje de proteínas. Esto se debió a que el alimento comercial por ellos empleado proveyó a los camarones no solo las proteínas necesarias para el crecimiento, sino además otros nutrimentos como carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales, que mejoran la firmeza en el músculo. Los camarones alimentados

con mayores proporciones de ANE, presentaron reducción de firmeza medida en forma instrumental, lo que prueba que los insectos acuáticos usados como único alimento, carecen de algunos nutrimentos que podrían limitar sus requerimientos nutrimentales, afectando entre otras cosas la firmeza del músculo. A diferencia de lo que Rivas Vega *et al.* (2003) y Ezquerria-Brauer *et al.* (2004) reportaron, el camarón *L. vannamei* silvestre evaluado en el presente estudio, presentó la mayor firmeza medida de manera instrumental, lo cual pudo deberse a que se alimentan con diversas fuentes naturales (detritus orgánico, diatomeas, macroalgas, poliquetos y otras animales del zooplancton y zoobentos), que les proporcionan los nutrimentos necesarios para mantener más unidas las proteínas del músculo (colágeno, miofibrilares, sarcoplasmáticas y estromales), lo que incrementa su firmeza muscular (Ezquerria-Brauer *et al.* 2003a y 2004). Es importante resaltar que los camarones que presentaron los menores porcentajes de lípidos (los tratamientos con nula o baja sustitución de AAE por ANE y los de origen silvestre), presentaron mayor firmeza instrumental que los que registraron mayores porcentajes de este nutrimento, lo que concuerda a lo reportado por Ezquerria *et al.* (2003a) y Rivas-Vega *et al.* (2001) en donde menciona que porcentajes elevados de lípidos, reducen la firmeza.

La firmeza evaluada sensorialmente a diferencia de la instrumental, no presentó diferencias significativas entre los camarones de los diferentes tratamientos ni los silvestres. En este caso todos los camarones presentaron una firmeza media, muy similar a la reportada por Tamarit-Pino (2008) para camarones conservados en hielo con diferentes días de conservación.

El color sensorial mejor calificado se presentó los camarones alimentados con mayor porcentaje de ANE (50/50, 25/75 y 0/100) y el camarón silvestre. Resultados similares fueron obtenidos por Arredondo-Figueroa *et al.* (2003), para camarones de la misma especie a los que se les suministraron alimentos conteniendo carotenoides esterificados y saponificados naturales provenientes del chile rojo (*Capsicum annuum*) y astaxantina sintética, los cuales presentaron mayor colorido o pigmentación que los alimentados con un alimentos sin pigmentos añadidos. Aunque los objetivos del presente estudio no incluyeron evaluar el contenido de pigmentos carotenoides ni su efecto en los camarones, se pudo observar que los insectos acuáticos usados como ANE presentaron grandes cantidades de pigmentos, en comparación con los camarones y el alimento, mismas características que se presentaron al hacer la extracción de lípidos con éter de petróleo.

En el caso del olor, los panelistas no pudieron apreciar diferencias entre los camarones de los diferentes tratamientos y los silvestres. Respecto al sabor, los panelistas calificaron como más bajo el de los camarones alimentados con 75/25 que los demás tratamientos y la mayor calificación fue para el camarón silvestre seguido del alimentado con 100% ANE. En otros trabajos ya se había reportado que los camarones silvestres resultan con mayor aceptación que los cultivados, lo que se ha atribuido al tipo de alimentación que tienen los primeros (100% alimento de origen natural) (Rivas-Vega 2000; Torres-Mendoza 2003 y Ezquerro-Brauer *et al.* 2004).

8. CONCLUSIONES

El uso de los rotíferos, copépodos, *Artemia* adulta e insectos acuáticos como alimento natural exógeno (ANE), tiene efectos positivos en la respuesta productiva del camarón blanco.

La adición de algunos zooplancteres utilizados como ANE, bajo las condiciones de cultivo en el presente estudio, afectan negativamente algunos parámetros de la calidad del agua tales como el pH y la concentración de nitratos, nitritos, amonio y fosfatos. Sin embargo los niveles registrados, no representaron riesgo de mortandad del camarón, aunque pudieron haber afectado el crecimiento.

El uso del fertilizante acuícola comercial Nutrilake con fósforo (NLK) y el agrícola fosfato mono amónico (FMA), así como la fuente de vitaminas de bajo costo Bedoyecta, usados como medios alternativos de cultivo, resultaron efectivos para la producción de las microalgas (*N. oculata* y *C. muelleri*), y en la calidad nutrimental de éstas.

Las microalgas producidas con fertilizantes acuícola y agrícola, fueron tan adecuadas o mejores, usadas como alimento para *B. rotundiformis* y *Acartia* sp. y *C. pacificus*, que las producidas en el medio Guillar F/2. Así también, mejoraron algunos componentes nutricionales (proteínas, carbohidratos y lípidos) de los zooplancteres alimentados con ellas.

El uso del insecto acuático (*Trichocorixa* sp.) en diferentes grados de sustitución por el alimento artificial experimental, presentó mejoras importantes en algunos parámetros de producción como la supervivencia, la biomasa y el FCA, pero no en la talla promedio final.

El uso de estos insectos, sobre todo el tratamiento del 50% de sustitución de AAE por 50% de ANE, tuvo efectos positivos en la respuesta fisiológica e inmune del camarón en el contenido de PFO y FO, al igual que en el contenido químico proximal (proteínas, carbohidratos y lípidos) del abdomen de los camarones.

La sustitución de AAE por ANE no tuvo efectos positivos en la firmeza medida de manera instrumental, ni en la mayoría de las características sensoriales de los camarones experimentales solo el color tuvo la mayor calificación de los panelistas en el tratamiento 50/50.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda identificar a nivel especie los copépodos e insectos acuáticos empleados en el presente estudio.

En estudios posteriores es recomendable usar los otros tres zooplanteres en combinación o solos como ANE, lo que podría mejorar la producción, respuesta fisiológica, inmune, calidad post-cosecha de los camarones experimentales.

Aumentar el recambio diario hasta del 100% o más.

Se recomienda que para experimentos posteriores, se usen micro y macroalgas que puedan asimilar efectivamente los desechos nitrogenados, producidos por los camarones cultivados y por los zoopláncteres usados como ANE en las unidades experimentales.

Se recomienda el uso de filtros biológicos (en cultivos bajo techo), cuyas bacterias pueden transformar los desechos nitrogenados tóxicos (amonía y nitritos) a nitrógeno no tóxico (nitratos), sin representar estos filtros demasiada inversión.

El uso de filtros químicos y/o espumadores para remover desechos nitrogenados o proteínicos.

Evaluar concentraciones de los organismos usados como ANE junto con prebióticos y/o pro bióticos que han demostrado reducir considerablemente el amonio en el cultivo de camarón.

Se recomienda el uso de concentraciones medianas y altas de las cuatro especies de ANE como alimento de juveniles *L. vannamei*, ya que en éstas se encontraron los mejores resultados en los parámetros de producción.

Es necesario hacer un estudio para determinar la concentración óptima de estos organismos del zooplancton para juveniles de *L. vannamei* y otros peneidos.

Es recomendable el uso de Nutrilake[®] con fósforo (NLK), así como el fosfato mono amónico[®] (FMA) y la mezcla de vitaminas y minerales Bedoyecta[®], para la producción de microalgas, por su bajo costo, proceso de elaboración y almacenaje, estos fertilizantes representan una gran reducción de mano de obra y mejoran la composición de las microalgas producidas con estos, misma que es apropiada para el cultivo de rotíferos y copépodos.

Se puede recomendar el uso del insecto acuático *Trichocorixa* sp. como alimento natural exógeno (ANE), pues mejoraron algunos parámetros como la producción, composición química y el color de *L. vannamei*. Es sin embargo, necesario buscar alternativas para producir estos insectos y no depender de su disponibilidad en los estanques camaronícolas o en del medio silvestre.

El uso de insectos acuáticos *Trichocorixa* sp. como ingrediente para elaborar alimentos artificiales para camarones y peces, por su alto contenido de lípidos y proteínas. En este sentido, debido al alto contenido de ceniza proveniente del exoesqueleto de estos

organismos, se pueden utilizar hidrolizados para extraer las proteínas, lípidos y otros nutrimentos o pigmentos de mayor importancia para la nutrición de estos animales,

Se recomienda evaluar la digestibilidad *in vitro* de los organismos del zooplancton evaluados en el presente estudio, así como su contenido químico completo (cenizas, fibra cruda, etc.). También un estudio económico más fino o profundo de los costos de producción a fin de implementar los cultivos de ANE y su uso comercial.

10. LITERATURA CITADA.

- Akiyama D.M., Dominy W.G. and Lawrence A.L. (1992). Penaeid shrimp nutrition. In: *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*, 1st edn (Fast, A.W. & Lester, L. J. eds), Elseviere, New York, NY, USA. 535-568 pp.
- Akiyama D.M., Dominy W.G. y Lawrence A.L. (1993). Nutrición de camarones peneidos para la industria de alimentos comerciales. In: *Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura* (Cruz L. E., Riquie D. & Mendoza R. eds). Monterrey, N.L., México. 43-79 p.
- Alcaráz G., Espinoza V., Venegas C. and Chiappa-Carrara X. (2007). Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* larvae under different oxygen levels. *Journal of the World Aquaculture Society* 30, 98-100.
- Álvarez-Lajonchère L., Hernández Molejón O.G., Comas González A., Martínez Almeida V. y Lozano Leon B. (1996). Efecto de la reducción de la salinidad sobre la tolerancia a altas temperaturas en la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, 1981. *Hidrobiológica* (1-2): 39-42 pp.
- Alfonso, E. (1993). Larvicultura. En: *Manual del II curso internacional de producción de postlarvas de camarones peneidos del Atlántico de América*. (Alfonso E., Ramos L., Díaz Iglesia E., García T. y Rosas C. (Eds.), *Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.* 37-79 p.
- Alvarado, G. (2003). Los laboratorios productores de postlarvas en México se organizan. *Panorama Acuícola* 9(1):60, 74-75.

- Anderson, R.K., Parker P.L. and Lawrence A. A. (1987). A $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ tracer study of the utilization of presented feed by a commercially important shrimp *Penaeus vannamei* in a pond growth out system. *Journal of World Aquaculture Society* 18(3): 148-155 pp.
- Andrews J.W.L.V. and Sick B.G.J. (1972). The influence of dietary proteins and energy levels on growth and survival of penaeid shrimp. *Aquaculture*. (1):341-347 pp.
- A.O.A.C. 1995. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis. 16th. Ed. Washington, D. C., USA. 935 p.
- Arredondo-Figueroa J.L., Pedrosa-Islas P., Ponce-Palafox J.T. and Vernon Carter E.J. (2003). Pigmentation of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone 1931), with Esterified and Saponified Carotenoids from Red Chili (*Capsicum annum*), in comparison to Astaxanthin. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 2 (002):101-108 pp.
- Barg, U.C. (1991). Orientación para la promoción de la ordenación medioambiental del desarrollo de la acuicultura costera. *FAO*, Documento Técnico de Pesca 328. Roma, Italia.
- Barraza-Guardado, R. H. (1996). Tesis de maestría. Estudios de los principales componentes de la productividad natural en estanques durante la preengorda de *Penaeus vannamei* Boone, 1931. Universidad de Sonora. 124 p.
- Bindu R., Paillai A. and Diwan D. (2002). Effects of acute salinity stress on oxygen consumption and ammonia excretion rates of the marine prawn *Metapenaeus monoceros*. *Journal of Crustacean Biology* 22, 45-52.

- Bray W.A., Lawrence A. L., and Leung-Trujillo J.R. (1994). The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei* with observations in the interaction of IHHN virus and salinity. *Aquaculture* 122: 137-146 pp.
- Brito R., Rosas C., Chimal M. E. and Gaxiola G. (2002). Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) early post-larvae. *Aquaculture research* 32 (4) 257-266 pp.
- Buttle L.G., Uglow R.F. and Cowx I.G. (1995). The effect of diet and photoperiod on ammonia efflux rate of the African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Aquaculture Research*, 26, 895-900 pp.
- Cabrera T., Rosas J., Velásquez A. y Millán J. (2002). Cultivo de copépodos en Venezuela. *Panorama Acuícola* 7(5):16-19 p.
- Castille F.L. and Lawrence A.L. (1989). The effect of deleting dietary constituents from pelleted feed on the growth of shrimp on the presence of natural food in ponds. *Abstracts Journal of the World Aquaculture society* 20(1):22A.
- Cauchie H-M (2002). Chitin production by arthropods in the hydrosphere. *Hydrobiologia* 470:63-96 pp.
- Cerón Ortiz A. N., Cordero Esquivel B. and Arredondo Vega B. O. (2009). Effect of algal diet and temperature on survival, growth and biochemical composition of spat of the lions paw scallop *Nodipecten subnodosus*. *Aquaculture*. (298):1-2 pp.
- Chen J.C., Liu P.C. and Lei S. C. (1990b). Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture*, 89:127-137 pp.

- Chinchayán M. (1996). Cultivo de la microalga *Nannochloropsis oculata* (línea S). Tesis (Biólogo). Lima, Perú. Universidad Nacional Agraria La Colina. Facultad de Ciencias. 104 p.
- Chiu I. L. and. Chien H. Y (1992). Juvenile *Penaeus monodon* as an Effective Zooplankton predator. *Aquaculture*. 103:35-44 pp.
- Cisneros Burga R.E. (1994). Producción semi-intensiva de biomasa de *Artemia franciscana* (Kellog 1906) (cepa Virrilá, Perú) utilizando diferentes dietas. Tesis (Mg.)-- Mención: Ecología Acuática. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela de Post-Grado. 67 pags.
- Clifford III H.C. (1992). Marine shrimp pond management: a review. pp. 110-137. In: Wyban J. (editor). 1992. Proceedings of the Special Session on *Shrimp Farming*. *World Aquaculture Society*, Baton Rouge, LA. U.S.A.
- Clifford H.C. (1994). Semi-intensive sensation: a case of study in marine shrimp management. *World Aquaculture*, 25, 6-12, 98-104 pp.
- Colvin P.M. and Brand C.W. (1977). The protein requirement of penaeid shrimp at various life cycle stages in controlled environment system. *Journal of the World Mariculture Society*. 8, 821-840 pp.
- Cordero-Esquivel B. and Voltolina-Lobina D. F. (1997). Viability of mass algal cultures preserved by freezing and freeze-drying. *Aquacultural Engineering*. Vol. 16. (PA: CPACA9703-97).

- Cordero-Esquivel B. Otero A. and Patiño Barragán M. (1996). Astaxanthin production from the green alga *Haematococcus pluvialis* with different stress conditions. *Biotechnology Letters*. (18): 2 pp. (PA: CEACA9602).
- Cortés-Jacinto E., Villarreal-Colmenares H., Civera-Cerecedo R. and Martínez-Córdova L. (2003) Effect of dietary protein level on growth and survival of juvenile freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture Nutritión*, 9, 207–213 pp.
- Costa A.M., Buglione C.C., Bezerra F.L., Martins P.C.C. and Barraco M.A. (2009). Immune assessment of farm-reared *Penaeus vannamei* shrimp naturally infected by IMNV in NE Brazil. *Aquaculture* 291: 141-146 pp.
- Cuzon G., Cahu C., Aldrin J.F., Messenger J.L., Sthepan G. and Mevel M. (1980). Starvation effect on metabolism of *Penaeus japonicus*. *Proc. Of the World Mariculture Society* 11: 410-423
- D'Abramo L.R.D. and Conklin D.E. (1995). New developments in the understanding of the nutrition of penaeid and caridean species of shrimp. In: *Swimming Through Troubled Water* (Browdy C.L. and Hopkins J.S. eds), pp. 95-107. *The World Aquaculture Society*. Baton Rouge Luisiana, USA. 253 pp.
- D'Abramo L. R., Douglas E. Conklin, and Dean M. Akiyama, (1997). Crustacean Nutrition. Ed. USA. 356 pp.
- De La Lanza E.G. y Hernández P.S. (1998). Capitulo 2 en: Martínez C.L., Ecología de los sistemas acuícolas. Ed. AGT. México. 227 p.

- Delgado-Vidal F.K., Gallardo-Collí A., Cuevas-Pérez L. y García-Ulloa M. (2009). Crecimiento compensatorio en tilapia (*Oreochromis niloticus*) posterior a su alimentación con harina de plátano. *Avances en Investigación Agropecuaria* 13(2): 55-70 pp.
- Desvileters C. Bourdier G. Amblard C. and Barth B. (1997). Use of fatty acids for the assessment of zooplankton grazing on bacteria, protozoans and microalgae. *Freshwater Biology*. 38:629-637 pp.
- Díaz-Tenorio L.M., García-Carreño F.L. and Pacheco-Aguilar R. (2007). Comparison of Freezing and Thawing Treatments on Muscle Properties of Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Journal of Food Chemistry*. 31, 563-576 pp.
- Drach P., et Tchernigovtzeff C. (1967). Sur le méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux crustacés. *Biologie Marine* 8, 595-610 p.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J.K., Rebers P.A. and Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356 pp.
- Esclapés M. (1999). Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas y terrestres. Versión 2.0. PDVSA. INTEVEP. 213pp. FAO. 1981. Manual de métodos de investigación del medio ambiente acuático. Parte 4^a. Bases para la elección de ensayos biológicos para evaluar la contaminación marina. FAO, Doc. Tec. Pesca. (164): 34 p.
- Ezquerro-Brauer J.M, Parra-Vergara N.V. y Carrillo-Pérez C.C. (2003). Efecto postcosecha de la concentración de proteína en la dieta sobre la calidad química,

- microbiológica y textura de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado. *Biocencia* 5(1):25-33 pp.
- Equerra-Brauer J.M., Bringas-Alvarado L., Burgos-Hernández A. y Rouzaud-Sández O. (2004). Control de la Composición Química de los Atributos de Calidad de Camarones Cultivados. In: Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D., Nieto-López M.G., Villarreal D., Scholz U. y González M. (2004). Avances en Nutrición Acuícola VII.
- Fenggi L. (2003). Production and Application of Rotifers in Aquaculture. *Aquaculture Magazine* 1996 22(3):16-22 pp.
- Fenucci J.L., Casals A., Lawrence A. and Zein-Eldin Z. (1982). The assimilation of protein and carbohydrates from prepared diets by the shrimp, *Penaeus stylirostris*. *Journal of the World Mariculture Society*, **13**, 134-145 pp.
- Ferraris R. P., Parado-Esteva F., Ladja J. M. and De Jesus E. G. (1986). Effect of Salinity on the Osmotic, Chloride, Total Protein and Calcium Concentrations in the Hemolymph of the Prawn *Peneaus monodon* (Fabricius). *Comparative Biochememistry and Physiology*, 83A, (4):701-708 pp.
- Flores M., Díaz F., Medina R., Re A. D. and Licea A. (2007). Physiological, metabolic and haematological responses in white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles fed diets supplemented with astaxanthin acclimated to low-salinity water. *Aquaculture Research* (38), 740-747 pp.
- Fraga, I., Galindo J., Arazoza M., Sánchez A., Bárbaro J. y Álvarez S. (2002). Evaluación de niveles de proteína y densidades de siembra en el crecimiento del camarón

- blanco (*Litopenaeus schmitti*). *Revista de Investigaciones Marinas*. 23(2):141-147 pp.
- Fukusho K. (1989). Biology and Mass production of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. *International Journal of Aquaculture Fisheries Technology*. 1:232-240 pp.
- Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 140(1):29-39 pp.
- Göcer M., Yanar M., Kumlu M. and Yanar Y. (2006). The Effects of Red Pepper, Marigold Flower, and Synthetic Astaxanthin on Pigmentation, Growth, and Proximate Composition of *Penaeus semisulcatus*. *Turkey Journal of veterinary Animal Science* (30):359-365 pp.
- Gollas-Galvan T., Sotelo-Mundo R., Yepiz-Plascencia G., Vargas-Requena C., and Vargas-Albores F. (2003), Purification and characterization of $\alpha 2$ -macroglobulin from the white shrimp (*Penaeus vannamei*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* (134): 431–438 pp.
- Gorokhova E. and Kile M. (2002). Analysis of nucleic acids in *Daphnia*; development of methods and ontogenic variations in RNA-DNA content. *Journal of the Plankton Research*. 24: 513-522 pp.
- Gross A., Abutbul S. and Zilberg D. 2004. Acute and chronic effect of nitrite to shrimps, *Litopenaeus vannamei*, at low salinity water. *Journal of the World Aquaculture Society*. 35:315-321.
- Guerra Aznay M., Romero Lopez T. y Valdivia Lázaro A. (2006). Evaluación del crecimiento de *Thalassiosira fluviatilis* frente a diferentes concentraciones de

- Nutrilake (Evaluation of the growth of *Thalassiosira fluviatilis* as oppsed to different concentrations fro Nutrilake). *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET* (ISSN 1695-7504). <http://www.veterninaria.org/revistas/redvet>, Vol. VII, No. 11, noviembre/2006-,<http://www.veterninaria.org/revistas/redvet/n1111106.html>
- Guillard R.R.L. and Ryther J.H. (1962). Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* Cleve. *Canadian Journal of Microbiology*. 8: 229-239 pp.
- Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. pp 26-60. In: *Smith W.L. and Chanley M.H. (eds.) Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA.
- Guisande C. and Serrano L. (1989). Analysis of protein, carbohidrate and lipid in rotifers. *Hidrobiologica*, 186/187: 339-346 pp.
- Guisande C., Maneiro I. and Riveiro I. (1999). Homeostasis en the Essential Amino Acid Composition of the Marine Copepod *Euterpina acutifrons*. *Limnology and Oceanography* 44:691-696 pp.
- Guisande C. Riveiro I. and Maneiro I. (2000). Comparisons among the amino acid composition of females, eggs and food to determine the relative importance of food quantity and food quality to copepod reproduction. *Marine Ecology Progress Series*. 202:135-142 pp.

- Hagiwara A., Gallardo W.G. Assavaaree M., Kotani T. and Araujo A.B. (2001). Live food production in Japan: Recent progress and future aspects. *Aquaculture*, Amsterdam. (200):111-127 pp.
- Hernández-López J, Soto-Hernández J, y Vargas-Albores F. (1999). Estandarización de un Micrométodo para la Cuantificación de Glucosa, Lactato, Colesterol, Acilglicerol y Proteínas en Plasma de Camarón. Memorias del Tercer Congreso del Noroeste en Ciencias Alimentarias y Biotecnología, 119-124 p.
- Hopkins J.S., Browdy C.L Samdifer P.A. and Stokes A.D. (1994). Effect of two fed protein level and two fed rate, stocking density combination on water quality and production in intensive shrimp ponds which do not utilize water exchange. *Abstract of the World Aquaculture Society Meeting*, January 1994, 30 pp.
- Houde S. and Roman M.R. (1987). Effects of food quality on the functional ingestion response of the copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series* 40:69-77 pp.
- Huntley M. E., Sykes P., Rohan S. and Marin Z.V. (1986). Chemically mediated rejection of dinoflagellate prey by the copepods *Calanus pacificus* and *Paracalanus parvus*: mechanisms, occurrence, significance, *Marine Ecology Progress Series* 28:105-120 pp.
- Huntley M.R. (1981). Nonselective, nonsaturated feeding by three calanid copepod species in the Labrador Sea. *Limnology and Oceanography*. 26:831-842 pp.

- Jory D.E. (1995). Feed management practices for a healthy pond environment. In: *Swimming Through Troubled Water* (Browdy, C.L. & Hopkins, J.S. eds), pp. 118-134. *The World Aquaculture Society*. Baton Rouge Luisiana, USA.
- Jory D.E. (1996). Management of natural productivity in marine shrimp semi-intensive ponds. *Aquaculture Magazine* 21, 90-100 pp.
- Jory D.E. (2000). General concerns for managements of biota in progress shrimp ponds. *Aquaculture Magazine* 26(4):76-80 pp.
- Kleppel G.S. (1993). On the diets of calanoids copepods. *Marine Ecology Progress Series*. 99:183-195 pp.
- Kureshy N and Davis D.A. (2002). Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 204: 125-143 pp.
- Laria-Lamela R.E., Silveira-Coffigny R., Cruz-Quintana Y. and Martínez M. (2005). Phenoloxidase and peroxidase activity in the shrimp *Litopenaeus schmiti*, Pérez-Farfante and Kensley (1997) exposed to low salinity. *Aquaculture Research*, 36: 1293 – 1297 pp.
- Lawrence A.D. (2003). Requerimientos de proteínas y aminoácidos esenciales para el camarón marino. *Panorama Acuícola* 8(5):30-33 p.
- Leal S., Delgado G. y Almaguer Y. (2004). Efecto de cinco tipos de productos zeolíticos sobre el crecimiento de la microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Revista de investigaciones Marinas*. 25(3):241-244 p.

- Lee D.O'C. and Wickins J.F. (1992). *Crustaceans Farming*. Halsted Press, Wiley, new York, 392 pp.
- Le Moullac G., Le Groumellec M., Ansquer D., Prosissard S., Levy P. and AQUACOP. (1997). Haematological and phenoloxidase activity changes in the *shrimp Penaeus stylirostris* in relation with the moult cycle: protection against vibriosis. *Fish and Shellfish Immunology*. 7:227-234 pp.
- Le Moullac G. and P. Haffner. (2000). Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture* 191, 121-131 pp.
- Lemus N., Urbano T., Arredondo Vega B., Guevara M., Vázquez A., Carreón Palau L. y Vallejo N. (2006). Crecimiento y Perfil bioquímico de *Chaetoceros muelleri* cultivada en sistemas discontinuos y semicontinuos. *Ciencias Marinas* 32, 597-603 p.
- Lignot J.H., Cochart J.C., Soyez C., Lemaire P. and Chamantier G. (1999). Osmoregulatory capacity according to nutritional atatus, molt stage and body weight in *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture* (170):79-92 pp.
- Lignot J.L., Spaning-Perrot C. and Charmantier G. (2000). Osmoregulatory capacity as tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustacean. *Aquaculture*. (191):209-245 pp.
- López-Elías, J.A., Baéz-Dueñas M.C. y Huerta-Aldaz N. (1995). Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas. *Publicaciones académicas CICTUS* No. 5, 47 p.

- López-Elías J. A., Voltolina D., Nieves-Soto M. y Figueroa-Ortiz L. (2004). Producción y Composición de Microalgas en Laboratorios Comerciales del Noroeste de México. In: Cruz Suárez L.E., Ricque Marie D., Nieto López M.G., Villarrea, D., Schol, U. y González M. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México.
- López Elías J.A. (2002). Evaluación cuantitativa y cualitativa de los sistemas de producción de microalgas de 6 laboratorios comerciales del Noroeste de México. Posgrado Interinstitucional de Ciencias Pecuarias. Universidad de Colima, Tecomán Colima, México. Tesis de Doctorado en Ciencias, 117 p.
- López Elías J.A., Voltolina D., Chavira Ortega C.O., Rodríguez Rodríguez B.B., Sáenz Gaxiola L.M., Cordero Esquivel B. and Nieves M. (2003). Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. *Aquaculture Engineering*. 29:155-164 pp.
- López Elías J.L., Voltolina D., Enríquez Ocaña F. and Gallegos Simental G. (2005). Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a Mexican commercial hatchery. *Aquaculture Engineering* 33 (3): 181-191pp.
- López Elías J. A., Voltolina Lobina D. F. and Avial Mercado I. S. (2005). Growth, composition and biomass yields of *Chaetoceros muelleri* mass cultures with different routines and tank depths. *Investigaciones Marinas*. Vol. 26, 1 pp.

- Lora Vilchis M. C., Cordero Esquivel B. and Voltolina Lobina D. F. (2004). Growth of *Artemia franciscana* fed with *Isochrysis* sp. and *Chaetoceros muelleri* during its early life stages. *Aquaculture Research*. Vol.1, 35 p. (PA: 13939).
- Lorenz R.T. and Cysewski G.R. (2000). Commercial potential for *Haematococcus* sp. microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnology*. 18(4):160-167 pp.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J. Farr A.L. and Randall R.J. (1951), Protein measurement with the foling phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193: 265-275 pp.
- Lucas A. (1996). Physical concepts of bioenergetics. In: Lucas A. (ed). Bioenergetics of aquatic animals. English edition, Taylor & Francis, France.
- Maggioni D.S., Andreatta E.R. and Barroco M.A. (2004). Evaluation of so me hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid ad a form immunoestimulation. *Aquaculture* 242, 501-515 pp.
- Martínez C.L.R., Barraza G.R. and Pasten N. (1997). Abundance composition and nutritional contribution of zooplankton in fertilized and unfertilized shrimp aquaculture ponds with different feeding rates. *Journal of Aquaculture In the Tropics*. 25-34 pp.
- Martínez-Córdoba L.R., Pasten-Miranda N. and Barraza-Guardado R. (1998a). Effect of fertilization on growth, survival, food conversion ratio, and production of pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in earthen ponds in Sonora, Mexico. *Prog. Fish-Cult.* 60: 101–108 pp.

- Martínez-Córdova L., Pastén N. and Barraza R. (1998b). Effect of fertilization on growth survival, food conversion ratio and production of Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* in earthen ponds in Sonora, Mexico. *The Progressive Fish Culturist*, 60: 101-108 pp.
- Martínez-Córdova L., Villarreal-Colmenares H. and Porchas-Cornejo M. (1998c). Response of biota to aeration rate in low water exchange ponds farming white shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, *Aquaculture Research*, 29, 587-593 pp.
- Martínez Córdova L.R. (1999). Cultivo de Camarones Peneidos, Principios y Prácticas. AGT Editor. México, D.F. 298 p.
- Martínez Córdova L. (2002a). Camaronicultura: Avances y Tendencias. AGT Editor . México, D.F. 167 p.
- Martínez-Córdova L.R., Ezquerro-Brauer J.M., Bringas-Alvarado L., Aguirre-Hinojosa E. Garza-Aguirre (2002). Optimización de alimentos y prácticas de alimentación en el cultivo de camarón en el Noroeste de México. In: Cruz-Suárez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes N. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Del 3 al 6 de septiembre de 2002. Cancún, Quintana Roo, México.
- Martínez-Córdova L., Campaña-Torres A., and Porchas-Cornejo M. (2002b). Promotion and contribution of biota in low water exchange ponds farming blue shrimp, *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson). *Aquaculture Research*, 33:27-32 pp.
- Martínez-Córdova L. Campaña-Torres A. and Porchas-Cornejo M. (2003a). Dietary protein level and food management in the culture of blue (*Litopenaeus*

- stylirostris* and white shrimp (*L. vannamei*) in microcosms. *Aquaculture Nutrition* 9:155-160 pp.
- Martínez-Córdova L. and Campaña-Torres A. (2003b). Yuca extract reduces ammonia concentrations in México shrimp tiral. *Global Aquaculture Advocate* 6(3): 26.
- Martínez-Córdova L.R., Martínez-Porchas M.y Cortés-Jacinto E. (2009). Camaronicultura Mexicana y Mundial ¿Actividad Sustentable o Industria Contaminante? *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 25 (3) 181-196.
- Mayzaud P., Boutoute M. and Alonzo F. (2003). Lipid composition of the *Euphausia vallentini* and *Thyzaniessa macrura* during summer in the *Southern Indian Ocean*. *Antarctic Science* 15:463-475 pp.
- McClelland J. W. and Montoya J. P. (2002) .Trophic Relationships and the Nitrogen Isotopic Composition of Amino Acids in Plankton. *Ecology*: 83(8): 2173-2180 pp.
- Medina Reyna C. y Cordero Esquivel B. (1998). Crecimiento y composicion bioquimica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estatico con un medio comercial. *Ciencia y Mar*. Vol. II, No. 6, p. (PA: CPACA9908-98).
- Medina Reyna C. y Cordero Esquivel B. (1998.) Crecimiento y composicion bioquimica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estatico con un medio comercial. *Ciencia y Mar*. (2) 6 p. (PA: CPACA9908-98).
- Millamena O. M. (1990). Organic pollution resulting from excess feed and metabolites build-up: Effect on *Penaeus monodon* postlarvae, *Aquaculture Engineering*, 9, 143-150 pp.

- Miranda Baeza A., Voltolina Lobina D.F. and Cordero Esquivel B. 2006. Filtration and clearance rates of *Anadara grandis* juveniles (Pelecypoda: Arcidae) with different temperatures and suspended matter concentrations. *Revista de Biología Tropical*. (54) 3 p. (PA: 45975).
- Molina-Poveda C. (1998). Disminución de la proteína en el alimento del camarón, como una estrategia para reducir el impacto ambiental. In: *Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola* (Cruz-Suárez E., Riquie-Marie D. & Mendoza-Alfaro R. eds), pp. 183-203. La Paz, B.C.S., México, 309 p.
- Montesdeoca M., Amano Y., Echeverría F., Betancourt I., Panchana F. y Sotomayor M. (2002). La respuesta inmunitaria celular del camarón *Litopenaeus vannamei* al WSSV y su utilidad en el control de la enfermedad en los estanques. *El Mundo Acuicola*, 8: 38 – 42 pp.
- Moren M., Naess T. and Hamre K. (2002). Conversion of β -carotene, canthaxanthin and astaxanthin to vitamin A in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* 27:71-80 pp.
- Morris M.J. and Hopkins T.L. (1983). Biochemical composition of crustacean zooplankton from the eastern gulf of México. *Journal of Experimental Biological Ecology* 69:1-19 pp.
- Morris S. and Taylor C. (1988). L-Lactate affects CO₂ transport in crustacean hemolymph. *Compilation of Biochemical Physiology*. 91(3):523-527 pp.

- Nieves M., Voltolina D. and Piña P. (2005). Growth and biomass production of *Tetraselmis suecica* and *Dunaliella tertiolecta* in a standar medium added with three products of zeolitic nature. *Aquaculture Engineering*. 32:40-410 pp.
- Nieves M. y Vega-Pérez C. (1994). Tasa de crecimiento, biomasa y costo de producción de *Tetraselmis suecica* (Chlorophyceae) y *Chaetoceros* sp. (Bacilariophyceae) cultivadas con el medio f y tres medios alternativos. *Revista de Ciencias del Mar. UAS* 13:39-53 p.
- Nieves M., Voltolina D., Sapién M.T., Gerhardus H., Robles A.L. and. Villa M.A. (1996). Culturing microalgae with agricultural fertilizers. *Rivista Italiana di Acquacoltora* 31:81-84.
- Øie, G and Olsen Y. (1997). Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. *Hidrobiología*. 358(1-3) 251-258 pp.
- Ostrowki A.C. and Divakaban S. (1990). Survival and bioconversion of n-3 fatty acids during early development of dolphin (*Coryphaena hippurus*) larvae fed oil-enriched rotifers. *Aquaculture* 89: 273-285 pp.
- Paniagua-Michel J., Farfán B.C. and Bückle-Ramírez L.F. (1987), Culture of marine microalgae with natural biodigested resources. *Aquaculture* 64:249-256 pp.
- Pande S.V., Khan R.P. and Venkitasubramanian T.A. (1963). Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analytical Biochemical* 6:415-423 pp.

- Pascual C., Arena L., Cuzon G., Gaxiola G., Taboada G., Valenzuela M. and Rosas C. (2004). Effect of a size-based selection program on blood metabolites and immune response of different dietary carbohydrate levels. *Aquaculture* (230) 405-416 pp.
- Pedrero D.L. y Pangborn R.M. (1989). Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Ed. Alamba, Madrid, España.
- Peña-Mesina E. (1999). Comparación del consumo de alimenticio de *Litopenaeus vannamei* y *Litopenaeus stylirostris* durante la engorda, bajo condiciones de bicultivo y monocultivo semi-intensivos, en estanques de bajo recambio. Tesis de maestría. Universidad de Sonora. 91 pags.
- Pedrazzoli A., Molina C., Montoya N., Townsend S., León-Hing A., Paredes Y., and Calderón J. (1998). Recent advances on nutrition research of *Penaeus vannamei* in Ecuador. *Reviews in Fisheries Science*. 61: 143-151.
- Perazzolo L.M., Gargioni R., Ogliari P. and Barroco M.A.A. (2002). Evaluation of some hemato immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture* 214, 19-33 pp.
- Puello A., González Rodríguez B. y García A. (2008). Centro de Investigación en Producción y Uso de Copépodos en Larvicultura. 90-107 pp. En: *Editores: L. Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Marta G. Nieto López, David A. Villarreal Cavazos, Juan Pablo Lazo y María Teresa Viana*. Avances en Nutrición Acuícola. IX Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 24-27 de noviembre de 2008. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.

- Racotta I.S. and Palacios E. (1998). Haemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *Journal of the World Aquaculture Society* 29: 351-356.
- Racotta I.S. and Hernandez-Herrera R. (2000). Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 125(4):437-443 pp.
- Re-Araujo A.D. y Acosta-Ruiz M. J. (2003). Ensayo de diferentes lecitinas en la dieta de juveniles de *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Revista de Biología Tropical* 51(3):743-748 pp.
- Reboloso-Fuentes M.M., Camacho F., Navarro García A. and Guil-Guerrero J.L. (2001a). Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis* sp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.49, p.2966-2972 pp.
- Reid B. and Arnold C.R. (1992). The intensive culture of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a recirculating raceway system. *Journal of the World Aquaculture Society* 23: 146-153 pp.
- Riccardi N. and Magnoni M. (1999). Considerations on the biochemical composition of some freshwater zooplankton species. *Journal of Limnology*. 58:58-65 pp.
- Rivas-Vega M. (2000). Efecto del contenido de proteína en el alimento del camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*), cultivado, sobre la actividad proteolítica y parámetros calorimétricos y su relación con la pérdida de textura durante su almacenamiento y

congelación. Tesis de maestría. Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México.

- Rivas-Vega M., Rouzaud-Sandez O., Martínez-Cordova L. and Ezquerro Brauer M. (2001). Effect of feed protein level on digestive proteolytic activity, texture and thermal denaturation of muscle protein in reared blue shrimp. *Aquatic Food Products Technology*, 10(4):25-38 pp.
- Rodríguez J. y Esclapés M. (1995). Protocolos estándares para bioensayos de toxicidad con especies acuáticas. Versión 1.0. Gerencia General de Tecnología. Departamento de Ecología y Ambiente. INTEVEP. PDVSA. Venezuela. 109pp.
- Rodríguez J. and Le Moullac G. (2000) State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture* **191**, 109–119 pp.
- Rosas C., López N., Mercado P. and Martínez. E. (2001). Effect of salinity acclimation on oxygen consumption of White shrimp *Litopenaeus vannamei* Juveniles. *Journal Crustacean Biology* 21(4):279-292 pp.
- Rosas C., Cuzon G., Gaxiola G., Le Priol Y., Pascual C. and Rossignol J. (2001). Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 259 (1) 1-22 pp.
- Rosas C., Cuzon G., Gaxiola G., Pascual C., Taboada G., Arena L. and Van Wormhoudt A. (2001b). An energetic and conceptual model of the physiological role of dietary carbohydrates and salinity on *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 268 (1) 47-67 pp.

- Rosas C., Pascual C., López N., y Sánchez A. (2002). Metabolitos sanguíneos como herramientas para evaluar el estado nutricional de camarones peneidos. In: *Cruz-Suárez L. E., Ricque-Marie D., Tapia-Salaza, M., Gaxiola-Cortés M.G., Simoe, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 3 al 6 de septiembre de 2002. Cancún, Quintana Roo, México.*
- Rosas J., Cabrera G. y Velazquéz A. (2007). Crecimiento poblacional y valor nutricional del copépodo *Oithona ovalis*, Herbst 1955 (Copepoda: Cyclopoida) alimentado con cuatro especies de microalgas. *Ciencia*.15, (2):141-149 p.
- Rubright J. S.; Harrel J. L., Holcomb H. W. and Parker J. C.(1981). Response of planktonic and benthic communities to fertilizer and feed applications in shrimp mariculture ponds. *Journal of the World Mariculture Society*. 12(1):281-299 pp.
- Rueda Jaso R. A. (1996). Efecto nutricional de tres microalgas y una cianobacteria en el cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis* Müller: 1786. *Ciencias Marinas* 22 (3): 313-328 pp.
- Sánchez A., Pascual C., Sánchez A., Vargas-Albores F., Le Moullac G. and Rosas C. (2001). Haemolymph metabolic variables and immune response in *Litopenaeus setiferus* adults males: the effect of acclimation. *Aquaculture* (198), 13-28 pp.
- Sánchez-Torres H., Juscamaita-Morales J., Vargas-Cárdenas J. y Oliveros-Ramos R. (2008). Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd, en medios enriquecidos con ensilado biológico de pescado. *Revista de Ecología Aplicada* (7):149-158 p.

- Santos A.E. and Keller R. (1993) Crustacean hyperglycemic hormone (CHH) and the regulation of carbohydrate metabolism: current perspectives. *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A: 405-411 pp.
- Schmitt A.S.C. and Santos E.A. (1993a). Behaviour and haemolymphatic ionic composition of the intertidal crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea: Decapoda) during emersion. *Comparative and Biochemistry Physiology*, 106A(2): 337-342 pp.
- Schmitt A.S.C. and Santos E.A. (1993b). Lipid and carbohydrate metabolism of the intertidal crab *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Crustacea: Decapoda) during emersion. *Comparative and Biochemistry Physiology* 106A(2): 329-336 pp.
- Seneriches-Abiera M. L., Parado-Esteba F. and Gonzales G. A. (2007) Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsskål) larvae. *Aquaculture Research*. 38 (14), 1495-1499 pp.
- Simental-Trinidad J.A., Sánchez-Saavedra M.P. and Correa-Reyes J.G. (2001). Biochemical composition of benthic marine diatoms using as culture medium a common agricultural fertilizer. *Journal of Shellfish Research*, 20 (2): 611-617 pp.
- Shin H.C., Nicol S. and King R.A. (2003). Nucleic acid content as a potential growth rate estimator of Antarctic krill; Results from field-caught krill from the Indian sector of the southern Ocean. *Mar. Freshwater Behavior Physiology* 36:295-305 pp.

- Stevens C.J., Deibel D. and Parrish C.C. (2004). Species-specific differences in lipid composition and omnivory indices in Arctic copepods collected in deep water during autumn (North Water Polynya). *Marine Biology*. 144:905-915 pp.
- Sokal R. R. and Rohlf F.J. (1981). Biometry. The principles and practices of statistics in biological research, 2nd ed. Freeman, New York, 859 pp.
- Sokal R. R. and Rohlf F.J. (1995). Biometry. The principles and practices of statistics in biological research, 2nd ed. Freeman Co., San Francisco U.S.A., 859 pp.
- Soorgelos P., Leger P., Vanhaecke P. and Versichele D. (1983). The use of brine shrimp *Artemia* in crustacean hatcheries and nurseries. Pages 71-96 In: J. P. MacVey (ed.). Vol. 1 CRC Handbook of Mariculture CRC Press, Florida.
- Sorgeloos P. and Lavens P. (1996). Manual on the production and use of live food for aquaculture. Fisheries Technical Paper, vol. 361, *Food and Agriculture Organization of the United Nation*, Rome Italy, 9-100 pp.
- Sorgeloos P. and Lavens P. (1996). Manual on the production and use of Live Food for Aquaculture. *FAO Fisheries Technical FAO*, Rome Italy, Paper 361:252-282 pp.
- Soorgelos P., Bossuyt E. Laviña E. Baeza M. and Persoone G. (1997). Descapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*. 12: 311-315 pp.
- Srivastava A., Hamre K., Stoss, J., Chakrabarti R. and Tonheim K. (2006). Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on water soluble fraction. *Aquaculture* 254:534-543 pp.

- Stuck K. C., Watts S. A. and Wang S. Y. (1996). Biochemical responses during starvation and subsequent recovery in postlarval white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Marine Biology*. 125, 33 -45 pp.
- Tacon A.G.J. (1990). Standar methods for the nutrition and feeding of fish and shrimp *vol. 2. Agent laboratories Press. Redmond, WA*, 129 pp.
- Tacon A. (2002). Thematic review of feed and feed management practices in shrimp aquaculture. A Report for FAO, World Bank, WWF, and NACA. Kanehoe, HI, USA. 69 pp.
- Tamarit Pino Y. (2008). Caracterización de la textura sensorial e instrumental del camarón de cultivo *Litopenaeus vannamei* en la camaronera de Tunas de Zaza. Tesis presentada en opción al Título Académico de Máster en Ciencia y tecnología de Alimentos. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana. La Habana Cuba. 73 p.
- Taylor D.M, Fraser H, McConnell I, Brown D.A, Brown K.L, Lamza K.A. and Smith G.R.A. (1994) Decontamination studies with the agents of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. *Archives of Virology*, **139**, 313-326 pp.
- Teshima S-I, A. Kanazawa and H. Sasada. (1983). Nutritional value of dietary cholesterol and other sterol to larval prawn *Penaeus japonicus* Bate. *Aquaculture* 31:159-167.
- Teichert-Coddington D. (1994) La Calidad del Agua y su Manejo en Estanques de Camarón. In: *Memorias del Seminario Internacional de Camaronicultura, Camaron 94* (Zendejas-Hernández, J. ed.) pp. 12-29. Mazatlán, Sinaloa, México.

- Torrentera-Blanco L. y A.G.J. Tacon (1989), La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura, una diagnosis, FAO.
<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB473S/AB473S00.htm>
- Torres-Mendoza F. (2003). Calidad de la Proteína Durante el Cultivo de Camarón Blanco (*Litopenaeus vannamei*): Efecto sobre la Textura y Actividad Colagenasa Durante el Almacenamiento en Hielo. Tesis de Licenciatura. Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México.
- Tsai S.J. and Chen, J.C. (2002). Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 213, 163-170 pp.
- Usha Rani G., Chandra Redi T. and Ravindranath K. (1993). Economic of Brackishwater Prawn Farming in Nellore District of Andhra Pradesh State, India. *Journal of the Aquaculture Tropics*, 8, 221-230 pp.
- Valenzuela Espinosa E., Gendrop Funes V., Pérez Castañeda R y Wilburn González J.G. (1999). Supervivencia de larvas de *Litopenaeus vannamei* (Boone) alimentadas con (*Chaetoceros muelleri*) producidas con fertilizantes agrícolas. *Ciencias Marinas* 25 (3):423-437 pp.
- Vargas-Albores F., Gúzman M. A., and Ochoa J.L., (1993). An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comp. Biochemical Physiology* 106A, 299-303.
- Vargas-Albores G., M. guzmán and J. Ochoa. (1993). An anticoagulant solution for hemolymph collection and prophenoloxidase system. *Aquaculture Research*. 29:549-553 pp.

- Vargas-Albores F. (1995) The defense systems of brown shrimp (*Penaeus californiensis*): Humoral recognition and cellular responses. *Journal of Marine Biotechnology* (3):153-156 pp.
- Voltolina D., Nieves M. y López Ruiz J. (1996). Aumento del rendimiento en cultivos de diatomeas marinas mediante aditivos zeolíticos. Reúmenes del II Congreso Mexicano de Ficología, U.A.B.C. Ensenada, México.
- Voltolina D., M. Nieves and López-Ruiz J. (1997). Zeolitic products as enrichment for cultures of a marine microalgae. *Aquacultural Engineering* 16:1-5 pp.
- Voltolina D., Nieves M., Navarro G., Oliva T. and Peraza D. (1998). The importance of acclimation for the evaluation of alternative media for microalgae growth. *Aquacultural Engineering* 19:7-15 pp.
- Voltolina Lobina D.F., Nieves Soto M. and Soto L. P. (1998). Growth of *Scenedesmus* sp. in artificial wastewater. *Bioresource Technology*. Vol. 68 (PA: CPACA9813-98).
- Voltolina D. y López Elías J.A. (2002). Cultivos de apoyo: tendencias e innovaciones. *En Avances y Tendencias en Camaronicultura* (Martínez-Córdova, L.R. Ed.) AG´ Editores, México, D.F. 147 p.
- Watanabe T., Kiajima C. and Fujita, S. (1983). Nutritional values of lieve organisms used in Japan for mas propagation of fish: a review. *Aquaculture* 34:115-143 pp.

- White D. (1986). Biological principles of pond culture: Sediment and Benthos. Pages 15-19 In: *E. Lannan, O'Neal and G. Tchobanoglous (eds)*. Principles and Practices of Pond Aquaculture. Oregon State University Press. Corvallis, Oregon, USA.
- Wouters R., Molina C., Lavens P. and Calderón J. (2001). Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. *Aquaculture*, 198 (3-4) 307-323 pp.
- Xia W., Bai S., Lu X., Li Q., Zhang X. and Yu I. (2007). Ecological risk assessment of eutrophication in Songhua Lake, China. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*. 22:477-486
- Yufera M., Rodriguez A. and Lubian L. (1984). Zooplankton ingestión and feeding behavior of *Penaeus kerathurus* larvae reared in the laboratory. *Aquaculture* 42, 217-224 pp.
- Zar J.H. (1996). *Biostatistical analysis*, 3rd ed. Editorial Prentice-hall, Englewood Cliffs, N. J. 662 pp.
- Zar J.H. (1999). *Biostatistical Analysis*. 4th Edition. New Jersey, Editorial Prentice-Hall, 931 pp.
- Zendejas-Hernández J. (1994) La Camaronicultura en México. In: *Memorias del Seminario Internacional de Camaronicultura, Camarón 94'* (Zendejas-Hernández, J. ed.), pp. 1-12. Mazatlán, Sinaloa, México.

NOMBRE: _____ EDAD _____

SEXO _____ FECHA _____ INSTITUCIÓN _____

LA SIGUIENTE ENCUESTA, SE REALIZA CON EL OBJETIVO DE REALIZAR UN ANÁLISIS SENSORIAL DE CAMARÓN COCIDO.

INSTRUCCIONES: EN PRIMER LUGAR POR FAVOR EVALÚE EL COLOR, SEGUIDO DE LA TEXTURA, DESPÉS EL OLOR Y POR ÚLTIMO EL SABOR.

EL COLOR SE CALIFICA COMPARÁNDOLO CON LA PALETA DE COLORES ABAJO PRESENTADA. LA TEXTURA SE DEBE EVALUAR CON LA MORDIDA DE LOS DIENTES FRONTALES, POR FAVOR CALIFIQUELA DE ACUERDO A LA PRIMERA ESCALA. EL OLOR Y SABOR SE CALIFICARÁN DE ACUERDO A LA SEGUNDA ESCALA.

AL MOMENTO DE EVALUAR EL **OLOR** SE RECOMIENDA OLER VAINILLA ENTRE MUESTRAS CON EL FIN DE EVITAR INTERFERENCIA DEBIDO A LA ADAPTACIÓN OLFATIVA. EN EL CASO DEL **SABOR**, SE RECOMIENDA ENJUAGARSE LA BOCA CON UN SORBO DE CAFÉ, ENTRE CADA MUESTRA, PARA EVITAR CANSANCIO O INTERFERENCIA EN LAS PAPÍLAS GUSTATIVAS.

COLOR EXTERNO:

DE ACUERDO A LA PALETA DE COLORES, POR FAVOR OBSERVE CON DETENIMIENTO Y CALIFIQUE A CADA UNO DE LOS CAMARONES DE ACUERDO AL COLOR QUE MÁS LE PARESCA:



1^{ERA} ESCALA PARA TEXTURA

1.- MUY BLANDO

2.- BLANDO

3.- POCO FIRME

4.- FIRME

5.- MUY FIRME

2^{DA} ESCALA PARA OLOR Y SABOR

1.- NO ME GUSTA

2.- NI ME GUSTA NI ME DISGUSTA

3.- ME GUSTA POCO

4.- ME GUSTA

5.- ME GUSTA MUCHO

CALIFICACIÓN

CAMARONES:	COLOR	TEXTURA	OLOR	SABOR
A				
B				
C				
D				

OBSERVACIONES: _____