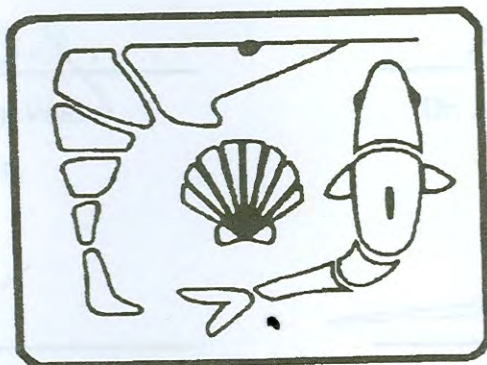




UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

PROGRAMA REGIONAL DE POSGRADO EN ACUACULTURA



**EVALUACIÓN DE *Brachionus plicatilis* COMO ALIMENTO
PARA LARVAS DE *Litopenaeus vannamei***

T E S I S

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS, con especialidad en Cultivo de Crustáceos
Presenta:

B.A. CÉSAR ORLANDO CHAVIRA ORTEGA

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
II.- OBJETIVOS	8
II.1.- Objetivo general	8
II.2.- Objetivos particulares	8
III.- MATERIALES Y MÉTODOS	9
III.1.- Descripción del laboratorio	9
III.2.- Cultivo de microalgas	9
III.2.1.- Especie	9
III.2.2.- Técnica de cultivo	10
III.3.- Cultivo de rotíferos	11
III.3.1.- Especie	11
III.3.2.- Técnica de cultivo	12
III.4.- Obtención de nauplios de <i>Artemia</i>	13
III.5.- Cultivos larvarios	14
III.5.1.- Especie y procedencia	14
III.5.2.- Técnica de cultivo	14
III.6.- Biomasa y análisis proximales	16
III.7.- Contenido energético	17
III.8.- Diseño experimental	17
III.9.- Conversión de alimento	18
III.10.- Análisis de datos	19
IV.- RESULTADOS	21
IV.1.- Producción de alimento	21
IV.2.- Definición del estadio de consumo inicial de rotíferos	25
IV.3.- Cultivos larvarios	26
IV.3.1.- Condiciones ambientales	26
IV.3.2.- Supervivencia	28
IV.3.3.- Índice de desarrollo	32
IV.3.4.- Crecimiento	37
IV.3.5.- Peso orgánico y composición	40
IV.3.6.- Consumo y conversión de alimento	46
V.- DISCUSIONES	51
VI.- CONCLUSIONES	54
VII.- LITERATURA CITADA	55
VIII.- ANEXOS	61

RESUMEN

Con el fin de verificar si es posible sustituir el uso tradicional de nauplios de *Artemia* para la alimentación de las larvas mysis de *Litopenaeus vannamei*, se llevaron a cabo dos experimentos de cultivo larvario de esta especie, utilizando *Chaetoceros muelleri* hasta zoea III y nauplios de *Artemia* complementado con la misma microalga hasta PL 1, que se usó como tratamiento control. La segunda dieta consistió en sustituir los nauplios de *Artemia* con un igual peso del rotífero *Brachionus plicatilis* a partir de mysis I y para la tercera el suministro de rotíferos inició a partir de zoea III.

Se encontró que el consumo de rotíferos inició a partir de zoea III y que además estos pueden ser suministrados en sustitución de *Artemia* sin perjuicio de los cultivos, ya que la sobrevivencia y el desarrollo larvario resultaron iguales o superiores en los tratamientos con rotíferos, sin diferencias que se puedan relacionar con la fase en la cual inicia su suministro.

En términos de crecimiento, tanto la longitud total como el peso orgánico de las postlarvas que se obtuvieron en los cultivos alimentados con rotíferos fueron significativamente mayores de los que se encontraron con la dieta control. Con esta, las tasas de incremento en talla fueron de 0.172 a 0.255 mm·día⁻¹, en comparación con los 0.258 a 0.370 mm·día⁻¹ que se calcularon para las otras dos dietas en el primero y segundo experimento, respectivamente. En peso, las tendencias fueron del mismo tipo: con *Artemia* las ganancias en peso orgánico fueron 50.40 (experimento 1) y 45.46 µg (experimento 2), comparado con entre 56.44 y 70.05 µg con los dos regímenes basados en *B. plicatilis*, ambos en el primer experimento y con ganancias intermedias y significativamente mayores que la dieta control, en la segunda prueba.

En cambio, no se encontraron diferencias en la composición proximal de las larvas y se calculó que con los rotíferos se obtiene una mayor eficiencia de transformación del alimento, tanto suministrado como ingerido, cuando este se calcula en términos de contenido orgánico de las postlarvas, mientras que en contenido energético, *Artemia* resultó ser más eficiente, debido a la menor cantidad de energía, tanto suministrada como ingerida.

ABSTRACT

Two growth experiments with larvae of *Litopenaeus vannamei* fed the traditional diet based on *Chaetoceros muelleri* for the zoea stage and on *Artemia* nauplii supplemented with the same microalgae during the following mysis stages, were carried out using as a substitute for *Artemia* the rotifer *Brachionus plicatilis*, added to the larval cultures either starting at the mysis I or at the zoea III stage.

Rotifer consumption started at the zoea III stage, without any significant improvement on intermediate or final survival and on the rate of larval development, and without significant differences with the control diet.

Growth in size and organic weight were significantly higher for the rotifer-fed larvae, again without difference related to the time of first feeding with this diet. With *Artemia*, daily growth rates from zoea III to first postlarvae were 0.172 and 0.255 mm·day⁻¹, compared to 0.258 and 0.370 mm·day⁻¹ calculated for the rotifer-based feeding regimes, for the first and the second experiment, respectively.

Organic weight gains showed similar tendencies: with *Artemia*, individual weights increased by 50.40 and 45.56 µg (experiments 1 and 2), while with rotifers the gains ranged from 56.44 to 70.05 µg·larvae⁻¹, in the first growth trial, with intermediate values for the second, which were significantly higher than in the control cultures.

There were no diet-related differences in larval proximate compositions. In terms of organic weights, the efficiencies of transformation of the available or ingested rotifer-based diets into larval biomass were higher than with *Artemia*, which in turn gave a better efficiency in terms of final caloric content of the larvae.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Sobrevivencia promedio (en porcentaje) registrada durante el primer experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	29
2	Sobrevivencia promedio (en porcentaje) registrada durante el segundo experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	31
3	Índice de desarrollo promedio registrado durante el primer experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	33
4	Índice de desarrollo promedio registrado durante el segundo experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	35
5	Longitud media (en mm) registrada durante el primer experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	37
6	Longitud media (en mm) registrada durante el segundo experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con <i>Artemia</i> (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).	39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página	
I	Cantidades de microalgas (10^3 cél. \cdot ml $^{-1}$), rotíferos (rot. \cdot larva $^{-1}$) y <i>Artemia</i> (nauplio \cdot larva $^{-1}$) suministradas dependiendo la fase de desarrollo presente cada 24 horas para cada tratamiento, (A) microalgas para zoea + microalgas y <i>Artemia</i> desde mysis a postlarva 1; (B) microalgas en zoea + microalgas y rotífero desde mysis a postlarva 1; (C) microalgas en zoea II + microalgas y rotífero desde zoea III a postlarva 1.	18
II	Cultivos de <i>Chaetoceros muelleri</i> y de <i>Brachionus plicatilis</i> . Valores promedio y desviación estándar de la temperatura ambiente ($^{\circ}$ C), del pH, de las densidades de cultivo por unidad de volumen (N, en 10^3 org. \cdot ml $^{-1}$) y peso seco total (PST) y orgánico (PO) en μ g \cdot ml $^{-1}$.	22
III	Valores promedio y desviación estándar del peso seco total (PST), peso orgánico (PO), proteínas, carbohidratos y lípidos expresados en pg \cdot cél $^{-1}$ de microalgas y en μ g \cdot organismo $^{-1}$ en el caso de rotíferos y nauplios de <i>Artemia</i> . Al final, contenido calórico medio por gramo de peso seco total (Kcal \cdot g $^{-1}$), obtenido por combustión de los organismos utilizados en los experimentos de alimentación.	24
IV	Valores promedio y desviación estándar (en porcentaje del valor a la hora 0) de las concentraciones de rotíferos en los matraces testigo y con larvas en las tres etapas de zoea, después de tres y seis horas de incubación. Los asteriscos indican diferencias significativas, con $p < 0.01$, entre testigos y tratamientos con las mismas horas de incubación (pruebas t de Student).	26
V	Valores promedio y desviación estándar de las temperaturas ($^{\circ}$ C) del agua durante los dos experimentos de alimentación de larvas de <i>L. vannamei</i> con microalgas y nauplios de <i>Artemia</i> o con microalgas y rotíferos a partir de mysis I (A y B) o con microalgas y rotíferos a partir de zoea III (C).	27
VI	Porcentajes de sobrevivencia media y desviación estándar registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> con (A) <i>Artemia</i> y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos relativos a las fechas equivalentes a la presencia de más del 50%, en por lo menos uno de los tratamientos, de las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.00) y postlarva 1 (Día 6.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.	30

- VII Porcentajes de sobrevivencia media y desviación estándar registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos relativos a las fechas equivalentes a la presencia de más del 50%, en por lo menos uno de los tratamientos, de las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 6.00) y postlarva 1 (Día 7.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 32
- VIII Índice de desarrollo promedio y desviación estándar registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 2.50-2.75), mysis III (Día 4.25-4.50) y postlarva 1 (Día 6.00-6.25). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 34
- IX Índice de desarrollo promedio y desviación estándar registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.25-5.50) y postlarva 1 (Día 6.50-6.75). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq b \leq b$ y $a < b$. 36
- X Longitud promedio y desviación estándar en mm registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.00) y postlarva 1 (Día 6.00-6.25). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 380
- XI Longitud promedio y desviación estándar en mm registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 6.00) y postlarva 1 (Día 7.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 40

- XII Pesos orgánicos unitarios medios y desviación estándar, en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, registrados durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los datos para los estadios de zoea II, mysis I, mysis III y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq b \leq c$ y $a < b$. 41
- XIII Pesos orgánicos unitarios medios y desviación estándar, en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, registrados durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los datos para los estadios de zoea II, mysis I, y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 42
- XIV Porcentajes promedio y desviación estándar de proteínas (P/PO), carbohidratos (C/PO) y lípidos (L/PO) en base al contenido orgánico registrados durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los estadios zoea II, mysis I, mysis III y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq b \leq c$ y $a < b$. 44
- XV Porcentajes promedio y desviación estándar de proteínas (P/PO), carbohidratos (C/PO) y lípidos (L/PO) en base al contenido orgánico registrados durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los estadios zoea II, mysis I, y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 45
- XVI Porcentajes promedio y desviación estándar de los consumos de microalgas (a) y de zooplankton (b) registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos de consumo en 24 horas para las etapas de mysis I (MI), mysis III (MIII) y postlarva 1 (PL 1). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos de la misma etapa (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 47

- XVII Porcentajes promedio y desviación estándar de los consumos de microalgas (a) y de zooplancton (b) registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos de consumo en 24 horas para las etapas de mysis I (MI), mysis III (MIII) y postlarva 1 (PL 1). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos de la misma etapa (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$. 48
- XVIII Porcentajes de eficiencia de conversión del alimento suministrado (FCA) e ingerido (K_1), en términos de peso seco orgánico (PO) y de contenido energético (cal) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentados con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se dan los valores calculados para los dos experimentos (1 y 2) y el valor medio global (\bar{x}). 49

I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

El crecimiento de las actividades relacionadas con el cultivo de organismos acuáticos está sustentado en su relevancia social como fuente de empleos, la demanda no satisfecha de productos pesqueros y en el valor comercial y nutritivo de las especies consideradas para tal fin (Tacon, 2000).

Por estos motivos, en los últimos años la acuicultura ha adquirido una importancia creciente a nivel mundial (Martínez-Córdova, 1999; Swick y Cremer, 2001) y se ha desarrollado hasta convertirse en el sector de más rápido crecimiento en el campo de la producción alimenticia (Jia *et al.*, 2001), tanto en términos de volúmenes de producción como de extensión de las áreas sujetas al cultivo.

Esto es debido a la generación de nuevos conocimientos en las varias disciplinas involucradas, lo que ha permitido el desarrollo de nuevas tecnologías en las áreas de mejoramiento genético, de control y prevención de enfermedades, de manejo del ambiente de cultivo y de nutrición.

Estos avances han impulsado la evolución de la acuicultura tradicional, que se llevaba a cabo en cultivos extensivos sencillos en encierros, hasta las prácticas acuiculturales modernas basadas en el uso de sistemas intensivos, los cuales permiten mantener un control de la calidad ambiental y de los demás requerimientos de la especie cultivada.

A nivel mundial, el cultivo de camarón ocupa una posición importante en la producción acuícola y su auge se debe a que el camarón es un producto de exportación, que tiene una gran demanda y un alto valor económico en el mercado internacional. Por este motivo, la camaronicultura se ha convertido en una de las principales actividades productoras de divisas, en muchos países en vía de desarrollo.

En Latinoamérica en general y en México en particular, la camaronicultura es una de las industrias más recientes y con un alto grado de desarrollo tecnológico, lo cual ha hecho que el camarón de cultivo sea considerado como uno de los recursos marinos de mayor importancia económica para el país (Lucien-Brun, 1997), principalmente para los estados de Nayarit, Sinaloa y Sonora, los cuales a lo largo de sus costas, cuentan con una gran cantidad de sitios adecuados para el cultivo de peneidos.

La tecnología del cultivo de camarón se encuentra en una fase avanzada de desarrollo, lo cual hace posible lograr producciones relativamente estables y predecibles, tanto a nivel mundial como a nivel nacional. Entre otras ventajas, esto ha permitido completar bajo condiciones controladas todo el ciclo de vida de la mayor parte de las especies de peneidos de importancia comercial (Martínez-Córdova, 1993, 1999).

Esto es de particular importancia, debido a que el aumento de las densidades de siembra y de las áreas de estanquería dedicada al cultivo de camarón ha causado un incremento en la demanda de juveniles en términos de cantidad y además con mayores exigencias de calidad y de tiempo de entrega, ya que el éxito y la rentabilidad de los cultivos dependen en gran parte de estos dos factores (Hernández-González, 1997).

Aunado a esto, el tradicional uso de juveniles silvestres es fuente de conflictos de diferente naturaleza motivo por el cual, para satisfacer sus necesidades de organismos para la siembra en sus sistemas de estanquería, los productores se han apoyado en laboratorios de producción de postlarvas a nivel comercial.

Esto ha permitido prescindir de la utilización de organismos capturados en el medio natural, los cuales además presentan una calidad inestable en lo que respecta a su sobrevivencia en estanquería, no están disponibles regularmente cuando se necesitan e inclusive pueden ser portadores de enfermedades.

En los últimos años se han logrado progresos apreciables en la obtención masiva de larvas de laboratorio, debido a la atención que se ha prestado a los diferentes factores que afectan su supervivencia y su calidad. Entre estos factores, uno de los más importantes es la disponibilidad de cantidades suficientes de alimento vivo de buena calidad nutritiva, que ha permitido que el proceso de producción de larvas sea más confiable aunque, en vista del alto costo de estos insumos, es necesario encontrar dietas alternativas que permitan economizar en este rubro (Alfonso *et al.*, 1985; Rodríguez-Rodríguez, 2002).

Por otra parte estas alternativas deben ser debidamente evaluadas, en vista de que el desarrollo y la sobrevivencia de los organismos en condiciones de cultivo se ven fuertemente influenciados por el tipo, la calidad y la cantidad del alimento proporcionado (Hasan, 2001). Esto es de particular importancia en larvicultura ya que, como se mencionó anteriormente, la

competitividad y las exigencias del mercado han encaminado a los laboratorios a tener un cuidado siempre mayor en sus técnicas de cultivo (Alfonso *et al.*, 1993).

Al iniciar su ciclo de vida, las larvas de peneidos se encuentran en el estadio de nauplio y se alimentan de sus reservas vitelinas; al término de esta fase pasan a la etapa de protozoa (más comúnmente conocida como zoea) y para su desarrollo dependen de la disponibilidad de alimento, que está principalmente compuesto de fitoplancton. A esta etapa sigue el estadio de mysis, durante el cual las larvas, además de las microalgas, incluyen en su dieta organismos más grandes correspondientes al zooplancton.

En vista de este cambio de hábitos alimenticios, es evidente que para el éxito de un cultivo de larvas es necesario contar con estos dos tipos de dieta y además seleccionar y proporcionar el alimento tomando en consideración su valor nutrimental, su tamaño y cual es la densidad más apropiada que hay que ofrecer a las larvas, para lo cual es necesario contar en forma confiable con la producción masiva de las dietas seleccionadas, en las escalas convenientes de cultivo (Alfonso y Núñez, 1984).

Como resultado de las investigaciones llevadas a cabo en diversos países y su aplicación en la práctica comercial, se han ido estableciendo criterios generalizados en cuanto a los tipos de alimento y a las dosis a utilizar para las diferentes etapas de desarrollo larvario. Así, se hizo tradicional alimentar a las protozoas con algas unicelulares y a las mysis con organismos del microzooplancton, en este caso manteniendo también en el medio densidades preestablecidas de fitoplancton.

Para obtener éxito en los cultivos larvarios el fitoplancton, que constituye el primer alimento que se proporciona a las larvas, debe estar disponible constantemente en cantidades adecuadas. Se ha ensayado con numerosas especies de microalgas y entre las que se han encontrado más adecuadas para la larvicultura destacan varias diatomeas, principalmente algunas que pertenecen al género *Chaetoceros*.

En cuanto al alimento vivo animal, se han señalado algunos organismos cuyos efectos positivos están comprobados en el caso de las larvas de diferentes especies de peces y crustáceos aunque, a pesar de que esta no es la dieta natural de los peneidos (Roberts, 1974), se siguen utilizando principalmente los nauplios del camarón de salmuera *Artemia* spp. como el alimento más idóneo para las mysis y las postlarvas (Leal *et al.*, 1985).

Aparte que por su adecuado valor dietético, esta preferencia se explica porque, en condiciones adversas, *Artemia* y varios otros microcrustáceos del mismo grupo taxonómico (Branchiopoda) producen embriones resistentes (quistes). Estos pueden ser eclosionados con técnicas sencillas, lo cual permite obtener nauplios sin la necesidad de mantener cultivos de apoyo adicionales.

El uso de nauplios de *Artemia* como alimento para cultivos larvales empezó en 1930 y a partir de 1970, con el crecimiento de la producción en acuicultura, la demanda de quistes pronto excedió a la oferta y los precios aumentaron rápidamente, convirtiendo la escasa disponibilidad de este producto en un cuello de botella para el desarrollo y el éxito económico de los centros de producción de larvas de peces y crustáceos (Van Stappen, 1996).

En particular para los países en desarrollo, los cuales difícilmente pueden importar los quistes, esto promovió la investigación para la producción de las especies locales de *Artemia* y de hecho, de acuerdo a Van Stappen (1996), para mediados de los 90s se estaban produciendo quistes y biomasa de *Artemia* en los cinco continentes.

Por otra parte esta producción no es todavía suficiente, por lo cual gran parte del mercado aún sigue siendo abastecida por las cosechas de quistes y de adultos silvestres en el Gran Lago Salado del Estado de Utah, E.U.A., lo cual coloca al mercado de los quistes de *Artemia* en una situación extremadamente vulnerable a los cambios climatológicos y ecológicos en este lago (Lavens y Sorgeloos, 2000).

Para aliviar estos problemas, se pueden utilizar algunos alimentos artificiales con la finalidad de sustituir, en parte al menos, el uso de nauplios de *Artemia*, aunque con frecuencia los sustitutos artificiales presentan bajos valores nutritivos, pobre digestibilidad e inadecuada presentación y tamaño de partículas (Lavens y Sorgeloos, 2000).

Además, por su naturaleza inerte, estas dietas están sujetas a lixiviación, por lo cual su calidad alimenticia disminuye y al mismo tiempo el aumento de compuestos orgánicos en solución favorece el desarrollo bacteriano y causa el deterioro de la calidad del agua (Mora, 1990; Hoff y Snell, 1999).

Como una dieta viva alternativa, por lo menos para los primeros estadios zooplanctófagos de las larvas de camarón, se ha propuesto al rotífero *Brachionus plicatilis*, lo cual permitiría sustituir o por lo menos reducir en parte la utilización de nauplios de *Artemia*.

B. plicatilis es una especie eurihalina, con una alta tasa de reproducción que, junto con su alta calidad nutricia, hacen de este rotífero un excelente alimento vivo para larvas de peces y de crustáceos (Dhert, 1996; Hoff y Snell, 1999). Además tiene una baja velocidad de natación y el hábito de permanecer suspendido en la columna de agua, que lo hace presa fácil para los primeros estadios zooplanctófagos de las larvas de camarón.

Por otra parte, la relativa facilidad de su cultivo y su alta adaptabilidad y resistencia a factores ambientales adversos, permiten que se puedan mantener densidades muy altas, teniéndose reportes de hasta 2,000 a 20,000 rotíferos·ml⁻¹ (Hirata, 1979; Hagiwara *et al.*, 2001), aunque por lo general se reportan como cultivos más estables los que tienen concentraciones de 100 a 200 org·ml⁻¹ (Fulks y Main, 1991).

Las dimensiones de *B. plicatilis* pueden variar desde las 130 a las 340 µm (239 µm en promedio), dependiendo de la edad y la variedad utilizada, lo que permite que esta especie sea un alimento apropiado para los primeros estadios de vida de la mayor parte de las especies acuáticas cultivadas (Dhert, 1996; Hoff y Snell, 1999).

En efecto, por lo menos con algunas especies de peneidos, se ha encontrado que es posible proporcionarlo a partir del estadio de zoea, fase en la cual la sobrevivencia final se ve fuertemente afectada por la alimentación, debido a que las larvas requieren de un alimento de tamaño apropiado y que proporcione la energía necesaria durante los cambios morfológicos y anatómicos implicados en el cambio de estadio. Por este motivo, este organismo podría cubrir el intervalo de tamaño entre los dos alimentos más comunes en larvicultura, que son las microalgas y los nauplios de *Artemia*.

Los cultivos de rotíferos se pueden mantener con relativa facilidad y utilizando técnicas relativamente sencillas, las cuales implican una alimentación basada principalmente en microalgas o en levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*), aunque es necesario considerar que el valor nutritivo de una presa está fuertemente afectado por su dieta.

En efecto se ha reportado que el valor dietético y la composición bioquímica de los rotíferos alimentados con microalgas y con levaduras son muy diferentes en lo que se refiere al contenido de ácidos grasos, en especial de los insaturados de cadena larga.

Como una consecuencia, existen varios reportes de acuerdo a los cuales los alevines alimentados con rotíferos producidos con dietas basadas en levadura y hasta con una mezcla

de levadura y *Chlorella* presentaban altas mortalidades, que se atribuyeron a un desbalance fisiológico de origen alimenticio (Fukusho *et al.*, 1976; Watanabe, 1987; Hirata *et al.*, 1980; Kitajima *et al.*, 1980a; Kitajima *et al.*, 1980b).

Por otra parte, como con otros organismos filtradores que se usan como alimento, se puede lograr una buena calidad nutricia si se proporcionan a los rotíferos, microalgas de buena calidad. En forma alternativa, estos pueden ser enriquecidos mediante la adición de emulsiones con ácidos grasos o con otras sustancias bioactivas al medio de cultivo, las cuales modifican su composición y los transforman en vectores de estas sustancias, que finalmente transfieren a las larvas (Lavens y Sorgeloos, 1996).

Un ejemplo del uso de rotíferos en camaronicultura es el trabajo de Leal *et al.* (1985), los cuales realizaron experimentos de alimentación de larvas del camarón rosado *Penaeus notialis* y del camarón blanco *P. schmitti*, con el objetivo de elaborar un método de cultivo de protozoas y mysis prescindiendo de los nauplios de *Artemia*.

Para alimentar a las protozoas, estos autores utilizaron un cultivo bialgal de *Tetraselmis chui* y *Chlorella kessleri* y para el estadio de mysis emplearon rotíferos, a razón de 10 rotíferos·ml⁻¹, adicionando también yema de huevo cocido además del propio cultivo bialgal. Como resultado obtuvieron una sobrevivencia desde nauplio V hasta la primera etapa de postlarva del 47 y del 37 % en el caso de *P. notialis* y de *P. schmitti*, respectivamente.

Yúfera *et al.* (1984) reportaron para *Penaeus kerathurus* una ingestión activa de rotíferos desde protozoa II hasta postlarva II, aunque notaron un consumo preferencial de nauplios de *Artemia* a partir del estadio de mysis II. Notaron también que, después de los primeros estadios larvales, esta especie requiere una disponibilidad de presas de mayor tamaño que *Brachionus*, ya que en ausencia de tales presas las larvas tendieron al canibalismo, probablemente debido al mayor gasto energético requerido para la captura de un número suficiente de presas de dimensiones reducidas.

Las investigaciones sobre el cultivo de *Brachionus plicatilis* han tenido muy diversos enfoques, tanto buscando métodos más eficientes de cultivo con el fin de obtener de manera confiable una cantidad suficiente de alimento, como dirigiendo los estudios hacia el conocimiento de la composición bioquímica de los rotíferos cultivados, para que estos cumplieran adecuadamente con su papel nutricional.

Por ejemplo, en varios estudios se examinó la relación que existe entre la composición de estos organismos y los diferentes tipos de alimentos que consumen, además que con los cambios ambientales que se generan en los recipientes de cultivo (Carić *et al.*, 1993; Sarma y Rao, 1991; Fielder *et al.*, 2000).

Actualmente los resultados que se tienen son alentadores (Dhert *et al.*, 2001), aunque todavía no son del todo satisfactorios, debido a que para lograr los niveles de producción de rotíferos demandados hoy en día por los centros productores de larvas de peces y de crustáceos, se necesitan técnicos preparados e infraestructuras adicionales y adecuadas que elevan los costos de producción y por lo cual la rentabilidad de estos centros disminuye.

En el presente trabajo, se pretende investigar si el rotífero *Brachionus plicatilis* puede ser utilizado para sustituir a los nauplios de *Artemia* en las dietas tradicionales de las larvas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, así como determinar a partir de que etapa larval este organismo comienza a ser aceptado como alimento.

Asimismo, con este estudio se pretende verificar si su suministro modifica, positiva o negativamente, la sobrevivencia y el crecimiento de las larvas, bajo las hipótesis de trabajo que, por su menor tamaño en comparación con *Artemia*, el rotífero *Brachionus plicatilis* es aceptado como alimento por las larvas de *L. vannamei* a partir del primer estadio de zoea y que, además su consumo no modifica la sobrevivencia y favorece el crecimiento y el desarrollo, por lo cual es posible sustituir el uso de nauplios de *Artemia* por rotíferos en los cultivos de las larvas de camarón blanco, por lo menos hasta la última etapa de mysis.

II.- OBJETIVOS.

II.1.- Objetivo general.

Determinar la etapa en la cual las larvas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* inicia el consumo del rotífero *Brachionus plicatilis* y si existen diferencias entre el crecimiento somático y la sobrevivencia de las larvas alimentadas con este tipo de presas en sustitución de la dieta tradicional, basada en nauplios de *Artemia*.

II.2.- Objetivos particulares.

Determinar si el rotífero *Brachionus plicatilis* es aceptado como alimento sustituto de los nauplios de *Artemia*, a partir de uno de los estadios de zoea.

Comparar el crecimiento, la sobrevivencia y el índice de desarrollo larval de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con el rotífero *Brachionus plicatilis* y con la dieta convencional de nauplios de *Artemia*.

Determinar el efecto de la composición proximal y del contenido energético de los alimentos utilizados, sobre la composición y el contenido de energía de las larvas de *Litopenaeus vannamei*.

III.- MATERIALES Y MÉTODOS.

III.1.- Descripción del laboratorio.

Todos los experimentos de cultivo larvario y el mantenimiento de los cultivos de apoyo requeridos se realizaron en el Laboratorio Interinstitucional de microalgas UAS-CIBNOR, el cual se encuentra ubicado en la Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Autónoma de Sinaloa, en Mazatlán.

El laboratorio cuenta con dos salas de cultivo equipadas con estantes verticales de tres niveles, líneas para la conducción de aire comprimido y filtrado hasta 1 μm , abastecimiento de agua salada y dulce e iluminación mediante lámparas fluorescentes en todos los estantes. Para el control de la temperatura ambiental se usaron de dos a tres equipos de aire acondicionado de 24,000 BTU cada uno, de acuerdo a las condiciones ambientales externas, además que al tipo de experimento en progreso.

Para el desarrollo adecuado de los cultivos experimentales se mantuvieron cultivos de alimento vivo (microalgas y rotífero) y se eclosionaron quistes de *Artemia* en cantidades suficientes para asegurar una disponibilidad constante. En todos los casos se cuidó la calidad del agua que se utilizó y además, para cada tipo de cultivo, se tomaron en cuenta las siguientes precauciones y se llevaron a cabo las actividades que se especifican a continuación.

III.2.- Cultivo de microalgas.

III.2.1.- Especie.

La microalga que se utilizó para los experimentos de cultivo larvario y para el mantenimiento y la producción de rotíferos fue la diatomea céntrica unicelular *Chaetoceros muelleri*. La cepa de esta especie se obtuvo de la colección de microalgas del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), en la cual se mantiene y distribuye con la clave CH-M-1.

A nivel internacional esta microalga se conoce también como *Chaetoceros gracilis* (cepa CH-GRA), que es el nombre específico con el cual fue depositada originalmente en la colección Guillard-Provasoli, que es la colección nacional de referencia de Estados Unidos, ubicada en los Laboratorios Bigelow, Maine, E.U.A.

III.2.2.- Técnica de cultivo.

Con el fin de poder contar diariamente con una cantidad aproximadamente constante de microalgas de calidad similar, se utilizaron cultivos semicontinuos que se mantuvieron en fase de crecimiento desacelerado (0.6 duplicaciones diarias) mediante cosechas diarias constantes, equivalentes a la tercera parte del volumen de cultivo.

Después de cada dilución se adicionó a los recipientes el mismo volumen de medio fresco y posteriormente los volúmenes cosechados se mezclaron y se mantuvieron en recipientes separados y en las mismas condiciones de los cultivos, con el fin de alimentar a rotíferos y larvas en los horarios preestablecidos usando alimento de la misma calidad.

El agua de mar utilizada para el mantenimiento de los cultivos de microalgas se pasó a través de tres filtros de cartucho en serie, capaces de retener el paso de partículas de 10, 5 y 1 μm , seguidos por dos cartuchos de carbón activado, que tenían la finalidad de eliminar las sustancias orgánicas disueltas en el agua. Después de este primer proceso de filtrado, el agua se esterilizó adicionando un $\text{ml}\cdot\text{l}^{-1}$ de hipoclorito de sodio comercial al 5%, seguido por un período de reposo de por lo menos 24 horas.

Al momento de utilizar el agua, el cloro libre se neutralizó adicionando $60 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de tiosulfato de sodio y favoreciendo el proceso de neutralización con una agitación vigorosa por burbujeo con aire filtrado a 1 μm (Hemerick, 1973). Posteriormente se verificó la efectividad del proceso de eliminación del cloro residual mediante comparación colorimétrica, usando ortotoluidina como indicador.

El medio de cultivo utilizado para el mantenimiento de las microalgas fue preparado con base en la formulación para el medio F (Guillard y Ryther, 1962), pero adicionando una doble concentración de metasilicatos. Las soluciones concentradas de nutrientes se prepararon según las recomendaciones de Voltolina *et al.* (1989).

Los cultivos se mantuvieron en garrafones de plástico transparente de 19 litros, del tipo usado para agua purificada, con 15 litros de medio y con agitación constante mediante burbujeo con aire comprimido filtrado a 1 μm y la iluminación fue continua, proveída por seis lámparas fluorescentes de luz blanca de día. La intensidad luminosa medida a la altura de la pared de los recipientes de cultivo fue de 6.5 Klux y la temperatura ambiente se mantuvo aproximadamente constante, en $22.2 \pm 1.6 \text{ }^\circ\text{C}$.

Cada 24 horas se obtuvieron muestras de cada cultivo para verificar en un espectrofotómetro su densidad óptica a una longitud de onda de 550 nm y para lecturas de pH con un potenciómetro precalibrado. Con estas dos mediciones se verificó de manera práctica la estabilidad diaria y el estado de salud de todos los cultivos.

Además, para un mayor control, a intervalos de 12 horas se realizó un análisis visual de los cultivos, considerando principalmente una excesiva presencia de espuma, la formación de agregados celulares suspendidos o adheridos a las paredes o el asentamiento del cultivo, además de cambios marcados en su coloración, con la finalidad de poder detectar tempestivamente algún problema debido a contaminación, senilidad o mal manejo.

Diariamente, ocho horas después de la operación de dilución, se regularon mediante la adición por burbujeo de CO₂, los valores de pH de los cultivos y de las mezclas de las cosechas diarias, que eran mantenidas para la alimentación de rotíferos y larvas a diferentes tiempos. Estas mezclas se desecharon después de 24 horas, ya que a este tiempo estaban disponibles las nuevas cosechas.

Los volúmenes de las mezclas de microalgas a utilizar tanto para la alimentación de los rotíferos como de las larvas, se calcularon con base en su densidad celular, la cual se verificó antes de su uso mediante conteos directos en un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad, equipado con reglilla de Neubauer.

La biomasa total y orgánica presente en las mezclas, su composición proximal y su contenido energético, se evaluaron usando muestras de volumen y concentración celular conocidos, tomadas por triplicado en por lo menos tres días seleccionados al azar, durante cada experimento de alimentación.

III.3.- Cultivo de rotíferos.

III.3.1.- Especie.

Los rotíferos que se utilizaron como alimento alternativo para las larvas de camarón pertenecen a una cepa nativa de la especie *Brachionus plicatilis*, que se obtuvo de la colección del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Esta cepa fue aislada en aguas continentales alcalinas en Baja California Sur y fue identificada por el Dr. S. S. Sarma Singaraju de la UNAM-ENEP-Iztacala.

De acuerdo a la información recabada en varios experimentos en el laboratorio UAS-CIBNOR, su tasa reproductiva no cambia en forma notoria, después de un breve período de aclimatación, en un amplio intervalo de salinidades, de entre aproximadamente 5 y 35‰ (Ramírez-Partida, 1999).

III.3.2.- Técnica de cultivo.

Para su utilización en el presente estudio, los rotíferos se cultivaron en condiciones adecuadas para mantenerlos en su fase de reproducción amíctica, lo cual permitió mantener una producción diaria adecuada y constante utilizando cultivos semicontinuos en volúmenes de 15 litros con cosechas diarias del 20%, que fue el porcentaje de reproducción con el cual se verificó que los cultivos se mantenían estables.

El agua de mar a utilizar para el cultivo de los rotíferos fue tratada como se describió en la técnica de cultivos de microalgas, pero sin esterilizar con cloro para el primer experimento. Durante las fechas previas a la realización del segundo experimento, el agua de mar de la bahía de Mazatlán contenía un factor o agente estresante que no se logró identificar y que no fue posible eliminar con el tratamiento con carbón activado.

Este problema es estacional y está probablemente relacionado con la presencia en la bahía de grandes cantidades de macroalgas en descomposición. En este caso provocó una alta mortalidad en los cultivos de rotíferos y se solucionó cultivando los rotíferos en agua salobre (50% salada:50% dulce), filtrada y esterilizada con hipoclorito de sodio al 5%, a razón de 0.5 ml·l⁻¹.

Todos los cultivos, incluyendo las mezclas de las cosechas diarias, se alimentaron cada 8 horas con raciones de 500,000 cél·ml⁻¹ de la microalga *Chaetoceros muelleri*. Diariamente, antes de realizar las cosechas, se tomó nota de los valores de pH de cada recipiente para detectar algún posible efecto estresante de este factor, ocasionado por el suministro del alimento o por la dinámica de los cultivos.

Además, para mantener en niveles adecuados la calidad del agua y las condiciones de los recipientes de cultivo de rotíferos, después de las cosechas se eliminaron las heces por sifoneo y se efectuó un recambio del agua, renovando el 80% un día y el 100% el día siguiente; en este segundo caso se cambió también el recipiente de cultivo.

Las mezclas de las cosechas diarias fueron mantenidas y alimentadas hasta el momento de su utilización como alimento para las larvas. El cálculo de los volúmenes a utilizar se realizó con base en la densidad poblacional, considerando para los conteos a rotíferos y huevecillos como organismos listos para ser consumidos; los conteos se realizaron en una cámara Sedgwick-Rafter de 1 ml de capacidad.

Los rotíferos se suministraron vivos, directamente de las mezclas, incluyendo con ellos su propio alimento, con lo cual se intentó eliminar o por lo menos reducir la competencia por alimento entre las larvas y sus presas.

Como para las microalgas, la biomasa total y orgánica de las mezclas utilizadas como alimento, además de su composición proximal y su contenido energético, se evaluaron mediante muestras tomadas por triplicado en días seleccionados al azar.

III.4.- Obtención de nauplios de *Artemia*.

Como alimento control se utilizaron nauplios de *Artemia franciscana*, los cuales se obtuvieron mediante la técnica de descapsulación con hipoclorito de sodio, usando quistes prehidratados y eclosionados en agua de mar filtrada (Van Stappen, 1996).

La eclosión se llevó a cabo en un recipiente cónico invertido, con burbujeo en el fondo para mantener los quistes en suspensión y manteniendo la temperatura del agua a 30 °C; 18 horas después de iniciada la rutina de eclosión, los nauplios se cosecharon cuidando de separar los quistes no eclosionados y las cáscaras residuo de la eclosión. Para esto se suspendió el burbujeo y se utilizó el fototropismo positivo de los nauplios, concentrándolos en el centro del recipiente mediante una fuente de luz colocada a una altura media de la columna de agua.

Una vez cosechados y concentrados en un tamiz de 120 µm de luz de malla, los nauplios se lavaron y se pasaron en un recipiente con agua a 70 °C durante 5 minutos. Posteriormente se lavaron en agua esterilizada y se resuspendieron en un volumen pequeño de agua de mar filtrada y esterilizada, en el cual se almacenaron bajo congelación a -20 °C, para utilizarlos en un lapso no mayor a las 72 horas.

Se evaluaron la biomasa total y orgánica, la composición proximal y el contenido energético de los nauplios congelados utilizados como alimento y además, para reconocer algún posible efecto de pérdida de calidad ocasionado por el tratamiento en agua caliente, se

evaluó también el contenido energético de los nauplios vivos recién eclosionados, además de los recién cocidos y liofilizados sin preservar en congelación. Los resultados indicaron cambios relativamente poco importantes y en efecto los valores promedio mayores se encontraron en las muestras cocidas: el contenido calórico de los nauplios frescos resultó ser $5.43 \pm 0.07 \text{ Kcal}\cdot\text{g}^{-1}$ un 13.8 y un 11.4% inferior de las 6.29 ± 0.07 y $6.13 \pm 0.11 \text{ Kcal}\cdot\text{g}^{-1}$ que se determinaron en los recién cocidos y en los preservados en congelación, respectivamente.

III.5.- Cultivos larvarios.

III.5.1.- Especie y procedencia.

Las larvas de camarón utilizadas en este estudio pertenecen a la especie *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Se obtuvieron de reproductores libres de patógenos y fueron proporcionadas por el laboratorio comercial Maricultura del Pacífico S.A. de C.V., en una fase de desarrollo intermedia entre nauplio III y nauplio IV para ambos experimentos.

III.5.2.- Técnica de cultivo.

El agua utilizada para los cultivos larvarios se trató de la misma manera que para las microalgas, excluyendo el proceso de esterilización con cloro con el fin de evitar posibles efectos de toxicidad debidos a la formación de cloraminas.

Al momento de su recepción, los nauplios se aclimataron a las condiciones del laboratorio, modificando paulatinamente la salinidad y la temperatura del agua contenida en el recipiente de transporte. Una vez terminado este proceso, se contaron y se transfirieron a un tanque de 400 litros con agua de mar con salinidad de 34‰ y una temperatura de 30 °C, que se mantuvo constante con un calentador con termorregulador.

Los organismos se mantuvieron en este recipiente hasta el inicio de los experimentos, realizando recambios de agua diarios del 50% y proporcionando microalgas, cuando fue necesario, como único alimento.

Para detectar la fase de desarrollo en la cual esta especie de camarón puede iniciar el consumo de rotíferos, se llevaron a cabo pruebas de alimentación en matraces de 100 ml para cada uno de los tres subestadios de zoea, suministrando cantidades conocidas de microalgas y de rotíferos y evaluando después de 3 y 6 horas las cantidades de rotíferos presentes, que

posteriormente se compararon con los valores obtenidos en un matraz testigo sin larvas, que contenía cantidades iniciales conocidas de microalgas y de rotíferos.

Tomando en cuenta los resultados de las pruebas anteriores, las cuales indicaron que las etapas de zoea I y II consumen solamente microalgas, se iniciaron los cultivos experimentales cuando las larvas alcanzaron la fase de zoea II con el fin de aclimatarlas a las nuevas condiciones de cultivo y los experimentos concluyeron cuando por lo menos el 50% alcanzó la etapa de desarrollo de postlarva 1.

Para su utilización, las larvas se cosecharon, se lavaron y se repartieron previo conteo en los respectivos acuarios seleccionados al azar para las repeticiones de cada tratamiento, utilizando recipientes con capacidad de 17 litros con volúmenes de trabajo de 10 y 15 litros para el primer y segundo experimento, respectivamente.

Durante los experimentos, los cultivos se mantuvieron con temperatura constante utilizando calentadores sumergibles. El agua se mantuvo en movimiento continuo mediante un burbujeo fino con aire comprimido desde el fondo de los recipientes, para evitar que la concentración de oxígeno disuelto disminuyera hasta niveles críticos. Además, con el fin de mantener la calidad del agua en condiciones adecuadas y eliminar las heces y el alimento sobrante, se realizaron diariamente recambios totales de agua.

A la par con estos recambios, se evaluó la sobrevivencia diaria de cada repetición y se evitaron respuestas densodependientes ajustando los volúmenes de cultivo de los respectivos acuarios, que permitió mantener constante el número inicial de organismos por unidad de volumen, que se fijó en $150 \text{ larvas} \cdot \text{l}^{-1}$.

Las larvas se alimentaron siguiendo las especificaciones descritas en el diseño experimental, suministrando las correspondientes cantidades de alimento en una sola ración, proporcionada después de los recambios diarios de agua.

Todos los cultivos fueron monitoreados a intervalos de 6 horas, para verificar la temperatura del cultivo y determinar la fase de desarrollo larvario mediante la observación en fresco de una muestra de 10 a 15 larvas, que fueron posteriormente retornadas a sus respectivos cultivos. Estos datos se usaron posteriormente para calcular los porcentajes de incidencia de cada etapa, además del índice de desarrollo larval (*I.D.*) mediante la fórmula propuesta por Villegas y Kanasawa (1979):

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

Donde A_i es el valor absoluto atribuido a cada larva, multiplicado por el número de larvas observadas en ese estadio, considerando los siguientes valores absolutos para el respectivo estadio : zoea I = 1, zoea II = 2, zoea III = 3, mysis I = 4, mysis II = 5, mysis III = 6, PL 1 = 7. N es el número de larvas examinadas en cada muestreo.

Para comparar el crecimiento de las larvas, se obtuvieron muestras de por lo menos 10 organismos a intervalos de 24 horas, que se preservaron en la solución fijadora descrita por Correa-Sandoval y Bückle-Ramírez (1993), con el fin de determinar su longitud total. A estos mismos tiempos, también se tomaron muestras que permitieron evaluar para cada tratamiento las cantidades de cada tipo de alimento consumidas por las larvas durante cada día de cultivo.

La biomasa total y orgánica, así como la composición proximal de las larvas, se determinaron para los estadios de zoea II, mysis I, mysis III, PL 1 para el primer experimento y de zoea II, mysis I y PL 1 para el segundo experimento. El contenido energético se determinó solamente para las postlarvas que se obtuvieron al final de los experimentos.

III.6.- Biomasa y análisis proximales.

La metodología utilizada para la obtención y el procesamiento de las muestras para determinar la producción de biomasa fue la misma para todos los organismos cultivados. Para la determinación de peso seco y peso de cenizas se usó el método gravimétrico descrito por Sorokin (1973); las muestras se obtuvieron mediante filtración a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF-C, prelavados y calibrados, de 47 mm de diámetro para las microalgas y de 25 mm para los rotíferos, larvas y *Artemia*.

En todos los casos los residuos de sales se eliminaron con 2-3 ml de formiato de amonio al 4% y los filtros se secaron a 60 °C y posteriormente se incineraron a 450 °C, en ambos casos hasta obtener pesos constantes. El peso orgánico total se obtuvo por diferencia entre el peso seco total (muestras secadas a 60 °C) y el peso del contenido inorgánico (después de incineración a 450 °C).

Para las muestras que se usaron para los análisis proximales se usaron filtros del mismo tipo, todos de 25 mm y no calibrados previamente. Las proteínas se determinaron con el

método de Lowry *et al.* (1951), después de extracción con hidróxido de sodio 0.1 N para microalgas y rotíferos y 1.0 N para los nauplios de *Artemia* y las larvas de camarón.

Los carbohidratos se determinaron según Dubois *et al.* (1956), después de tratamiento con ácido sulfúrico (Whyte, 1987) y finalmente los lípidos se extrajeron con la mezcla cloroformo:metanol:agua descrita por Bligh y Dyer (1959) y se cuantificaron de acuerdo al método de Pande *et al.* (1963).

En todos los casos se realizaron las curvas de calibración correspondientes, usando los estándares tradicionales de albúmina de suero de bovino para proteínas, glucosa anhidra para carbohidratos y tripalmitina para lípidos (López Elías *et al.*, 1995).

Todos estos métodos son colorimétricos y las lecturas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro, utilizando las longitudes de onda de 750, 485 y 590 para proteínas, carbohidratos y lípidos, respectivamente (Cordero Esquivel, 1998).

III.7.- Contenido energético.

Para microalgas, rotífero, *Artemia* y larvas la obtención y procesamiento de las muestras para determinar las cantidades energéticas se realizó en el siguiente orden. Se concentró la cantidad de muestra necesaria, primero separando completamente el agua de la biomasa a almacenar mediante centrifugación para microalgas y tamizado para las tres especies de zooplancton. Las muestras se almacenaron a -70 °C hasta el momento de su liofilización, para después ser pulverizadas en un mortero y compactadas con una prensa, en forma de pastillas de peso seco conocido.

Siguiendo los procedimientos descritos en el manual de operación del instrumento (Parr Instrument Company, 1991), las pastillas se quemaron en ambiente de oxígeno en una bomba calorimétrica semimicro marca Parr, modelo 1425, con el fin de determinar la cantidad de calor liberada por la combustión completa de su contenido orgánico.

III.8.- Diseño experimental.

Los experimentos consistieron en mantener 12 cultivos de larvas de camarón desde zoea II hasta postlarva I, con una densidad constante de 150 larvas·l⁻¹. Cuatro recipientes sirvieron para evaluar la dieta testigo suministrando microalgas hasta mysis I, seguido por

microalgas y *Artemia* hasta la conclusión del experimento. Estos alimentos se proporcionaron diariamente en las concentraciones indicadas en la tabla I.

Otros cuatro cultivos se alimentaron como se indicó para la técnica convencional, pero sustituyendo los nauplios de *Artemia* con rotíferos y como tercer tratamiento se alimentó a los organismos de los cultivos restantes con microalgas durante el estadio de zoea II y con microalgas y rotíferos a partir de zoea III hasta que las larvas alcanzaron la fase de postlarva 1. Las concentraciones de alimento fueron las que se especifican en la tabla I.

Para poder hacer las comparaciones pertinentes entre rotíferos y *Artemia*, evitando el posible sesgo debido a las diferencias de las cantidades de biomasa suministrada, las cantidades de rotíferos a suministrar se calcularon con base en el peso seco de *Artemia*.

Tabla I.- Cantidades de microalgas (10^3 cél. \cdot ml $^{-1}$), rotíferos (rot. \cdot larva $^{-1}$) y *Artemia* (nauplio \cdot larva $^{-1}$) suministradas dependiendo la fase de desarrollo presente cada 24 horas para cada tratamiento, (A) microalgas para zoea + microalgas y *Artemia* desde mysis a postlarva 1; (B) microalgas en zoea + microalgas y rotífero desde mysis a postlarva 1; (C) microalgas en zoea II + microalgas y rotífero desde zoea III a postlarva 1.

Estadio	Microalgas	Rotíferos	<i>Artemia</i>
Zoea II	120 (A, B, C)	-	-
Zoea III	150 (A, B, C)	40 (C)	-
Mysis I	50 (A, B, C)	180 (B, C)	30 (A)
Mysis II	50 (A, B, C)	240 (B, C)	40 (A)
Mysis III	50 (A, B, C)	300 (B, C)	50 (A)
Pl 1	50 (A, B, C)	360 (B, C)	60 (A)

III.9.- Conversión de alimento.

Utilizando los registros diarios de suministro y de consumo de los diferentes alimentos, se calcularon por separado, para cada uno de los experimentos, los porcentajes medios de la conversión del total de alimento suministrado (FCA), además que de la eficiencia de conversión del alimento ingerido por cada larva (K_1), a partir de la fecha inicial de suministro de las tres dietas hasta la fecha de corte de las dos pruebas.

Estos cálculos se realizaron por separado en tres formas diversas, considerando en primer lugar el desempeño individual, en términos de mg de peso orgánico o de la cantidad de

calorías suministradas o ingeridas, en comparación con la ganancia en peso y en contenido energético de una postlarva al final de las pruebas (Anexo 3).

Posteriormente, los datos se utilizaron para calcular los mismos factores, considerando la productividad real media, calculada como diferencia entre biomasa total final e inicial que se obtuvo en los dos experimentos, la cual fue obviamente muy baja o negativa, debido a las mortalidades elevadas que se registraron en la mayoría de los cultivos (Anexo 4).

Finalmente, con los mismos valores se calculó la eficiencia teórica de un sistema de producción de postlarvas, utilizando como representativo de los porcentajes de sobrevivencia de los laboratorios comerciales de producción de postlarvas, el dato medio que reporta Arellano-Moncayo (1990), el cual calculó un valor de 60% de sobrevivencia entre las fases de zoea II y PL 1 (Anexo 5).

III.10.- Análisis de datos.

Para verificar el estadio de desarrollo en el cual las larvas inician a consumir rotíferos, las concentraciones medias de estos organismos que se encontraron en el experimento respectivo, después de tres y de seis horas de incubación con las larvas, se compararon mediante una prueba de t con las que se encontraron en los testigos sin larvas.

Aunque el índice de desarrollo puede considerarse indicativo del porcentaje de la etapa dominante, en algunos casos su valor medio pudiera verse modificado por la presencia de más de dos etapas de desarrollo en los cultivos larvarios (Burgueño-Loaiza, 2002).

Por este motivo, para seleccionar los muestreos adecuados para los análisis estadísticos correspondientes, se verificaron los porcentajes de cada uno de los estadios que se encontraron en los muestreos llevados a cabo cada seis horas, utilizando los datos que se presentan en los anexos 1 y 2 (primer y segundo experimento, respectivamente).

Una vez identificadas las fechas en las cuales tuvieron lugar los cambios más importantes (>50% de mysis I, de mysis III y de PL 1), las medias de las variables de respuesta de esas fechas que se utilizaron en este trabajo, se compararon mediante pruebas de análisis de varianza de una vía, considerando el tipo de dieta como única fuente de variación.

Para todas las pruebas, incluyendo las utilizadas para la verificación de las hipótesis que fundamentan el análisis estadístico paramétrico (pruebas de normalidad y de igualdad de

varianzas de Lilliefors y de Bartlett, respectivamente: Conover, 1980), se usó un nivel de significancia del 5%.

De acuerdo a los resultados de las pruebas de hipótesis ya mencionados, los datos se compararon con los métodos paramétricos convencionales o utilizando pruebas de Kruskal-Wallis de una vía (Zar, 1996), seguidas por pruebas de comparaciones múltiples mediante los métodos de Tukey, de Dunn, o de Student-Newman-Keuls, de acuerdo a las características de los datos analizados.

IV.- RESULTADOS.

IV.1.- Producción de alimento.

Las temperaturas ambientales que se registraron diariamente en el cuarto destinado al cultivo de las microalgas se mantuvieron sin cambios notorios durante toda la fase experimental, con un valor medio de 22.2 ± 1.6 °C.

Por otra parte, las lecturas de la temperatura del medio que se tomaron ocasionalmente en algunos cultivos, en fechas seleccionadas al azar, dieron valores de aproximadamente 1 °C superiores a la temperatura ambiental. Esto se explica por la escasa distancia (0.5-1.0 cm) que se mantuvo entre los recipientes y las fuentes de luz, la cual se consideró necesaria para maximizar la iluminación y por ende la producción.

El pH se registró solamente antes de las diluciones y dio un valor medio de 9.84 ± 0.59 , a pesar de las adiciones de CO₂ que se efectuaron regularmente en las tardes. Por otra parte este valor, que representa el máximo diario después de 24 horas de iluminación, se puede considerar todavía adecuado en el caso de esta especie.

Guevara-Ponce (2002) mantuvo la misma especie en cultivos semicontinuos con una tasa de crecimiento equivalente a una duplicación celular diaria, que es la que se registra en cultivos estáticos en la parte final de la fase exponencial (Peraza-Contreras, 2002), con valores de pH similares a los que se obtuvieron en este trabajo.

En este caso, en vista de la baja tasa de dilución, la concentración celular de las cosechas fue elevada, con un promedio de 4.6×10^6 cél·ml⁻¹, la cual redituó 397.6 y 201.7 µg·ml⁻¹ de biomasa seca total y orgánica, respectivamente.

En el caso de los rotíferos, la temperatura media del cuarto de cultivo fue de 26.0 ± 1.4 °C y no resultó diferente de los registros ocasionales de la temperatura del agua, lo cual es debido a que estos cultivos se mantuvieron en penumbra con el fin de evitar, o por lo menos minimizar, la actividad fotosintética de las microalgas usadas como alimento y la consiguiente posibilidad de un efecto estresante, derivado de la elevación del pH del medio.

Como consecuencia, el valor medio del pH se mantuvo en 7.6 unidades, ligeramente inferior al normal para el agua de la bahía de Mazatlán, el cual varía entre 8.0 y 8.2 y que no fue modificado sensiblemente por la adición de agua dulce en el segundo experimento.

Por otra parte, este valor se encuentra en la parte central del intervalo óptimo que se menciona en la literatura para el cultivo de esta especie de rotífero, el cual es de entre 7.0 y 8.0 (Fulks y Main, 1991; Dhert, 1996). En efecto, las cosechas diarias se mantuvieron relativamente constantes y dieron en promedio concentraciones de $188 \text{ org}\cdot\text{ml}^{-1}$, con pesos secos totales y orgánicos de 136.95 y $65.35 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, respectivamente (Tabla II).

Tabla II.-Cultivos de *Chaetoceros muelleri* y de *Brachionus plicatilis*. Valores promedio y desviación estándar de la temperatura ambiente ($^{\circ}\text{C}$), del pH, de las densidades de cultivo por unidad de volumen (N, en $10^3 \text{ org}\cdot\text{ml}^{-1}$) y peso seco total (PST) y orgánico (PO) en $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$.

	Microalgas	Rotíferos
$^{\circ}\text{C}$	22.2 ± 1.6	26.0 ± 1.4
pH	9.84 ± 0.59	7.58 ± 0.19
N	4600 ± 687	0.188 ± 0.052
PST	397.63 ± 125.95	136.95 ± 40.35
PO	201.72 ± 32.26	65.35 ± 11.73

Con estos datos, se puede calcular que cada recipiente de cultivo de microalgas con 15 litros de medio, mantenido con la técnica semicontinua con una tasa de dilución diaria del 30%, redituó diariamente una cosecha media equivalente a 2.3×10^{10} células de *Chaetoceros muelleri* y a 1.009 gramos de biomasa orgánica seca, mientras que en el caso de los rotíferos las cosechas diarias dieron un promedio de 0.94×10^6 organismos por recipiente, con un peso seco total contenido orgánico total de 0.327 gramos.

Por consecuencia, cada uno de los garrafones de cultivo de rotíferos, que recibió cada día 2.25×10^{10} células de *Chaetoceros muelleri*, con 0.987 g de contenido orgánico, redituó diariamente 0.327 g de biomasa orgánica. Estos datos de suministro y de cosecha resultan en un factor de conversión alimenticia de 3.02, el cual indica que la cosecha de rotíferos fue equivalente al 33.1% de la cantidad de alimento suministrado.

Los pesos secos total y orgánico individuales de *C. muelleri*, los cuales dieron valores medios cercanos a 91.8 y a 45.4 pg·cél⁻¹, respectivamente, quedaron en la parte superior del intervalo de los valores que se reportan normalmente en la literatura para esta especie y para esta cepa en particular.

En efecto, de acuerdo a Sánchez-Saavedra (1994) y López-Elías (2002), estos pueden variar, de acuerdo a las condiciones de cultivo, desde aproximadamente 50 a 100 pg·cél⁻¹ para el peso seco total y entre 25 y 60 pg·cél⁻¹ de contenido orgánico celular.

En este caso, los valores elevados que se registraron son el resultado más probable de la baja tasa de dilución y de la consiguiente tasa de reproducción desacelerada, la cual además podría explicar el alto contenido de lípidos que se encontró en estos cultivos. Estos compuestos representaron aproximadamente el 64.5% del total de la biomasa orgánica, en comparación con un 25% de proteínas y un 10.5% de carbohidratos.

Con base en estos datos y considerando que un gramo de biomasa seca total de esta microalga equivale a 1.09×10^{10} células, las cuales tienen un contenido inorgánico del 50.55%, la cantidad de los compuestos calorigénicos principales, a saber de las proteínas, carbohidratos y lípidos presentes en una muestra con ese mismo peso seco total, sería de 123.7, 51.8 y 318.4 mg, respectivamente.

Transformando estos datos en unidades energéticas, usando los coeficientes 5.65, 4.10 y 9.45 Kcal·g⁻¹, que son los que se utilizan tradicionalmente como equivalentes calóricos para proteínas, carbohidratos y lípidos, respectivamente (Parsons *et al.*, 1984a; Tacon, 1990), se puede calcular que el contenido energético de un gramo de biomasa seca de *C. muelleri* debería ser de 3.921 Kcal.

Evidentemente, uno o más de estos coeficientes no es aplicable a este tipo de material biológico, ya que el valor calculado es aproximadamente un 70% mayor del dato que se obtuvo en promedio en las muestras que se utilizaron para determinar el contenido energético de esta microalga por calorimetría directa, que fue de 2.26 Kcal·g⁻¹.

En el caso de *Brachionus plicatilis*, un gramo de biomasa seca total de este organismo es equivalente a 1.21×10^6 rotíferos, los cuales contienen el 52.71% de sustancias inorgánicas no calorigénicas. Con base en estos datos y en la composición proximal, las cantidades de

proteínas, carbohidratos y lípidos presentes en un gramo de peso seco de *B. plicatilis* resultan ser 170.2, 57.6 y 244.9 mg, respectivamente.

Transformando estos valores con los coeficientes usados en el caso anterior, el contenido calórico calculado para un gramo de rotíferos secos sería de 3.513 Kcal, el cual no difiere de mucho del dato real, ya que es equivalente a un 72% de las 4.85 Kcal·g⁻¹ que se obtuvieron en promedio por combustión en la bomba calorimétrica.

Finalmente, para obtener un gramo de biomasa seca total de los nauplios de *Artemia franciscana* que se usaron en este trabajo se necesitaron 0.39×10^6 organismos, con un contenido de 0.809 g de sustancias orgánicas, las cuales consisten en 329.4, 84.9 y 394.3 mg de proteínas, carbohidratos y lípidos, respectivamente.

Transformando estos valores mediante los equivalentes calóricos ya mencionados, se calculó que un gramo de nauplios secos de *Artemia* tiene un contenido energético equivalente a 5.935 Kcal, el cual representa el 96.8% del valor que se verificó por calorimetría directa, que resultó ser de 6.13 Kcal·g⁻¹ (Tabla III).

Tabla III.-Valores promedio y desviación estándar del peso seco total (PST), peso orgánico (PO), proteínas, carbohidratos y lípidos expresados en pg·cél⁻¹ de microalgas y en µg·organismo⁻¹ en el caso de rotíferos y nauplios de *Artemia*. Al final, contenido calórico medio por gramo de peso seco total (Kcal·g⁻¹), obtenido por combustión de los organismos utilizados en los experimentos de alimentación.

	Microalga (pg·cél ⁻¹)	Rotíferos (µg·rotífero ⁻¹)	<i>Artemia</i> (µg·nauplio ⁻¹)
PST	91.839 ± 27.691	0.829 ± 0.294	2.574 ± 0.676
PO	45.366 ± 8.641	0.392 ± 0.085	2.081 ± 0.391
Proteínas	11.362 ± 2.253	0.141 ± 0.031	0.848 ± 0.092
Carbohidratos	4.761 ± 1.478	0.048 ± 0.010	0.218 ± 0.096
Lípidos	29.242 ± 2.866	0.203 ± 0.041	1.015 ± 0.081
Kcal·g ⁻¹	2.26 ± 0.14	4.85 ± 0.25	6.13 ± 0.11

IV.2. Definición del estadio de consumo inicial de rotíferos.

De acuerdo a las observaciones microscópicas directas realizadas durante las pruebas preliminares, que se llevaron a cabo con el fin de determinar la etapa en la cual las larvas inician a demostrar un hábito carnívoro, el tamaño de esta particular especie de rotífero es igual o mayor que la cavidad oral de los dos primeros estadios de zoea de las larvas de *L. vannamei*.

Por consecuencia, estas conservaron su hábito de organismos fitófagos filtradores, aunque se notaron varios intentos de captación de las presas por lo menos durante la fase de zoea II. Por este motivo, no se excluye que el cambio de hábito alimenticio anteceda la etapa de zoea III, durante la cual este tipo de cambio pudo ser comprobado experimentalmente.

En efecto, como se puede observar en la tabla IV, en la cual se reportan las concentraciones de rotíferos observadas en los recipientes que contenían las dos primeras etapas larvarias, en términos de porcentaje con respecto al valor inicial, estas permanecieron prácticamente sin cambios, después de tres y de seis horas de incubación.

Esto no sucedió en el caso de los recipientes con larvas en la fase de zoea III, en los cuales la densidad de las presas disminuyó notablemente con respecto a los testigos después de solamente tres horas, hasta alcanzar aproximadamente el 26% del valor inicial. Por otra parte, este consumo disminuyó en las tres horas siguientes, que es probablemente debido a esta importante disminución de la probabilidad de encuentro entre rotíferos y larvas las cuales, de acuerdo a Yúfera y Lubián (1990), durante esta etapa se pueden alimentar con zooplancton pero no buscan activamente a sus presas.

Las concentraciones de rotíferos que se verificaron después de cada intervalo de tiempo de incubación en los recipientes testigo y las encontradas en los adicionados con larvas, se normalizaron en términos de porcentajes de la concentración inicial y se contrastaron mediante pruebas de comparación de las dos medias que se calcularon para cada período de observación.

En efecto, estas pruebas demostraron que no existían diferencias significativas entre tratamiento y testigo en el caso de las dos primeras etapas, mientras que fueron altamente significativas, indicando un consumo efectivo, en el experimento de alimentación que se llevó a cabo con la fase de zoea III (Tabla IV).

Tabla IV.- Valores promedio y desviación estándar (en porcentaje del valor a la hora 0) de las concentraciones de rotíferos en los matraces testigo y con larvas en las tres etapas de zoea, después de tres y seis horas de incubación. Los asteriscos indican diferencias significativas, con $p < 0.01$, entre testigos y tratamientos con las mismas horas de incubación (pruebas t de Student).

	Hora	Testigo	Larva
Zoea I	0	100.00±00.00	100.00 ± 00.00
	3	118.27±23.27	123.75 ± 19.86
	6	92.83±25.86	109.37 ± 16.42
Zoea II	0	100.00±00.00	100.00 ± 00.00
	3	89.17±27.30	84.83 ± 31.76
	6	113.46±23.36	94.50 ± 11.61
Zoea III	0	100.00±00.00	100.00 ± 00.00
	3	126.28±21.45	25.82 ± 11.39*
	6	155.44±12.06	16.76 ± 06.76*

IV.3.-Cultivos larvarios.

Aparte de las condiciones ambientales, las cuales fueron muy similares en las dos pruebas, los resultados que se obtuvieron en los dos experimentos resultaron diferentes en varios aspectos, relacionados principalmente con el peso inicial de las larvas, además que con la tasa de crecimiento y con la velocidad de desarrollo larvario.

Esto obligó a analizar y a presentar por separado los datos de las dos pruebas, en vista de que estos fueron obtenidos después de diferentes intervalos de tiempo, en dependencia de la presencia de los porcentajes preestablecidos de las etapas de desarrollo larvario, que se consideraron importantes para los fines de este trabajo.

IV.3.1.-Condiciones ambientales.

Las temperaturas que se registraron cada seis horas en los recipientes de cultivo se mantuvieron dentro del intervalo que se considera apropiado para el cultivo larvario de *L. vannamei* (Arellano-Moncayo, 1990; Alfonso *et al.*, 1993), entre aproximadamente 28 y 31 °C en ambos experimentos y sin diferencias que puedan considerarse importantes, tanto entre tratamientos como entre experimentos.

Considerando los dos experimentos en forma conjunta, el intervalo global de los valores medios fue de entre 29.6 y 30.1 °C, con desviaciones similares en la mayoría de los casos y con bajos valores de los coeficientes de variación, los cuales se mantuvieron entre el 3.0 hasta un máximo del 6.0%.

Esto indica que este factor ambiental fue similar en todos los casos, por lo cual la temperatura no puede ser considerada como una fuente adicional de variación o como una explicación de las diferencias que se mencionaron, en lo que se refiere a la velocidad de crecimiento y de desarrollo larvario (Tabla V).

Tabla V.- Valores promedio y desviación estándar de las temperaturas (°C) del agua durante los dos experimentos de alimentación de larvas de *L. vannamei* con microalgas y nauplios de *Artemia* o con microalgas y rotíferos a partir de mysis I (A y B) o con microalgas y rotíferos a partir de zoea III (C).

	A	B	C
Exp 1	30.0 ± 1.8	29.5 ± 1.5	29.6 ± 1.5
Exp 2	30.1 ± 1.3	29.9 ± 0.9	29.9 ± 1.3

En vista de que los cultivos se mantuvieron con aereación continua y profusa y que además se efectuaron diariamente recambios totales de agua, no se consideró necesario verificar con la misma regularidad las demás variables ambientales.

Por otra parte, antes de los recambios se tomaron lecturas ocasionales de la concentración del oxígeno disuelto en algunos de los cultivos, las cuales dieron constantemente valores cercanos a los 5 mg·l⁻¹. Esta concentración es equivalente a un porcentaje de saturación de aproximadamente el 80% (Strickland y Parsons, 1972), lo cual confirma los resultados reportados en pruebas similares por Guevara-Ponce (2002), Reyes-Zamorano (2002) y Burgueño-Loaiza (2002), entre otros.

La salinidad se mantuvo constantemente entre 34 y 35‰ en la primera prueba y alrededor de 30‰ en parte de la siguiente. En el segundo caso, esta menor salinidad se encontró en los acuarios que recibieron las dos dietas basadas en rotíferos y se registró a partir de la fecha de suministro de estos organismos.

Esta diferencia fue evidentemente causada por la menor salinidad del agua usada para el cultivo de estos organismos y por otra parte no se consideró necesario corregir la salinidad en los acuarios que recibieron la dieta testigo en vista de que, por lo menos en este intervalo de salinidad, una diferencia de 4-5‰ es poco importante para las larvas de los peneidos en general, las cuales demuestran la mayor sobrevivencia y el mejor crecimiento en intervalos muy similares para la mayoría de las especies estudiadas, que se ubican en todos los casos entre 30 y 35‰, que se amplían además en paralelo con el desarrollo larvario (Lester y Pante, 1992).

IV.3.2.- Sobrevivencia.

Los porcentajes de sobrevivencia final resultaron bajos en la mayoría de los casos, lo cual fue probablemente debido a la excesiva manipulación de los organismos causada por los recambios diarios totales de agua, que se llevaron a cabo con el fin de remover las heces y en especial el alimento sobrante.

Por otra parte, se consideró que estos recambios eran necesarios ya que de esta manera se evitó el deterioro de la calidad dietética del microzooplancton, cuya evaluación era la finalidad de este trabajo y que hubiera sido modificada por descomposición de los nauplios de *Artemia* o por escasez de alimento en los tratamientos con rotíferos.

En la primera prueba, se registró un episodio importante de mortalidad al final del segundo día de cultivo, cuando la mayoría de las larvas se encontraban en la fase de zoea III ya que, desde un 85-90% de sobrevivencia a las 24 horas, el día siguiente este porcentaje disminuyó a entre el 53 y el 60%.

Durante los siguientes días de este experimento la mortalidad continuó aumentando, aunque con tasas menores y aproximadamente similares para todos los tratamientos. En efecto, aunque en el caso de los recipientes adicionados con rotíferos a partir de zoea III se registró una sobrevivencia mayor al final del tercer día, la mortalidad volvió a aumentar en el transcurso del día siguiente.

Por este motivo, los resultados finales fueron similares con las tres dietas; los porcentajes de sobrevivencia se acercaron o fueron inferiores al 20% en todos los casos y no se notaron diferencias importantes tanto entre tendencias, como en las sobrevivencias medias que se registraron con los tres tratamientos (Figura 1).

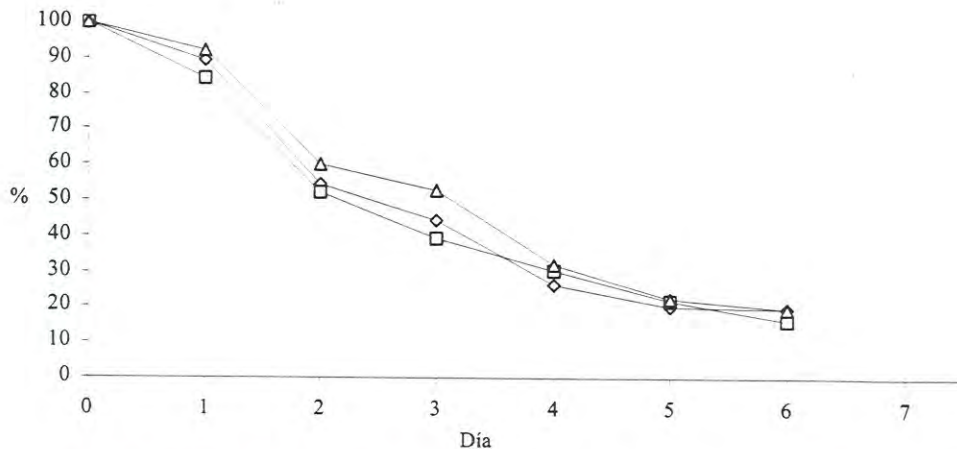


Figura 1.-. Supervivencia promedio (en porcentaje) registrada durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).

En efecto, los resultados de las pruebas de análisis de varianza que se utilizaron para comparar los datos que se recabaron en las fechas que se definieron de acuerdo a la dominancia de las varias etapas de desarrollo larvario, las cuales en el caso de este primer experimento resultaron ser los días 3 (> 50% de mysis I), 5 (> 50% de mysis III) y 6 (> 50% de PL1), demostraron la existencia de una diferencia significativa solamente al final del tercer día de cultivo.

En esta fecha, se registraron porcentajes de supervivencia media del 52.89 y del 44.34% para las larvas alimentadas con rotíferos a partir de zoea III y con la dieta testigo, respectivamente. Estos valores no resultaron ser diferentes entre sí, y ambos fueron significativamente mayores del 39.45% registrado en los acuarios que recibieron *B. plicatilis* a partir de mysis I.

Por otra parte, esta diferencia no puede ser considerada importante para los fines prácticos de un cultivo larvario, ya que no se volvió a verificar en las dos fechas siguientes. Los valores medios finales de supervivencia porcentual variaron entre el 16.1 y 19.5% y no se notó relación con el alimento suministrado, ya que ambos valores fueron encontrados con las dietas experimentales B y C, respectivamente (Tabla VI).

Tabla VI.- Porcentajes de sobrevivencia media y desviación estándar registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos relativos a las fechas equivalentes a la presencia de más del 50%, en por lo menos uno de los tratamientos, de las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.00) y postlarva 1 (Día 6.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

Día	A	B	C
*3.00	44.34 \pm 3.34 ^b	39.45 \pm 3.06 ^a	52.89 \pm 8.23 ^b
*5.00	20.12 \pm 6.36 ^a	22.05 \pm 1.41 ^a	22.62 \pm 3.13 ^a
6.00	19.77 \pm 3.22 ^a	16.10 \pm 4.90 ^a	19.66 \pm 4.13 ^a

* Prueba no paramétrica.

En el transcurso del segundo experimento, la velocidad del desarrollo larvario resultó ser inferior que en la prueba anterior, motivo por el cual se contó con un día más de muestreo. En la parte inicial de esta prueba, los porcentajes de sobrevivencia se mantuvieron elevados y en efecto, al final del cuarto día, se registraron valores promedio cercanos al 72-73%, que implican una tasa de mortalidad diaria de aproximadamente el 7%, independientemente del tipo de dieta.

Entre esta fecha y la siguiente, periodo que correspondió a la fase de cambio de dominancia entre mysis I y mysis II, la mortalidad aumentó abruptamente en los acuarios alimentados con nauplios de *Artemia*, de tal manera que al final del quinto día de cultivo la sobrevivencia media de estos cultivos resultó ser inferior al 50% de la registrada en el muestreo llevado a cabo el día anterior.

Después de este episodio importante de mortalidad, ésta continuó en las dos fechas siguientes con una tasa más lenta y regular, de aproximadamente un 10% diario, que dio como resultado un 16% de larvas sobrevivientes en el muestreo del séptimo día, correspondiente a la fecha de corte de este experimento.

En el caso de las larvas alimentadas con rotíferos, la sobrevivencia disminuyó entre el día 4 y el día 5 a poco más del 60%, que indica un aumento de la tasa de mortalidad diaria hasta valores cercanos al 10%, los cuales volvieron a disminuir en los dos días siguientes en los acuarios que recibieron esta dieta a partir de mysis I.

Por otra parte, la tasa de mortalidad diaria se mantuvo sin cambios en los cultivos que se alimentaron con rotíferos desde zoea III hasta el final de la prueba, lo cual dio como

resultado diferencias relativamente importantes en los porcentajes de sobrevivencia media final, que fueron cercanos al 55 y al 40% para las dietas B y C, respectivamente (Figura 2).

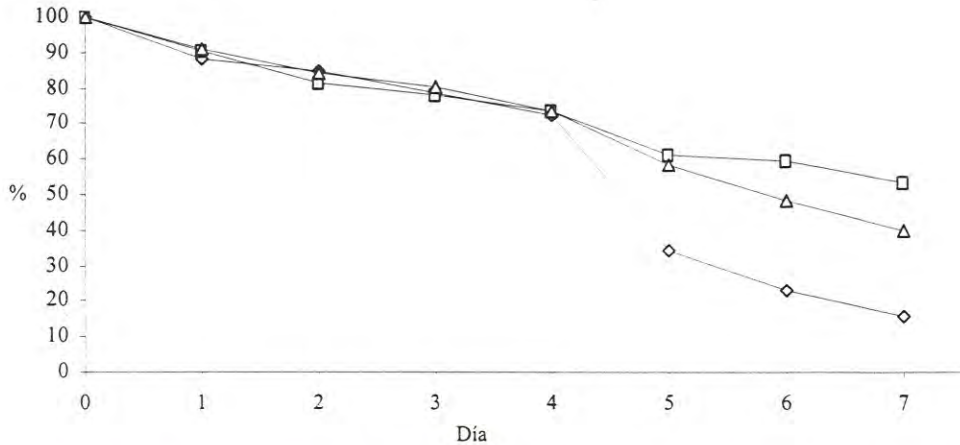


Figura 2.- Sobrevivencia promedio (en porcentaje) registrada durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (Δ).

Contrariamente a lo que se encontró en la prueba anterior, el análisis estadístico de los resultados no detectó diferencias significativas entre los valores medios de los porcentajes de sobrevivencia que se registraron con las tres dietas en el muestreo del día 3, correspondiente a la fecha de cambio de dominancia de zoea III a mysis I.

Esto implica que el cambio anticipado del tipo de dieta no constituye una ventaja real, ya que no se traduce en un mayor vigor de las larvas al momento crítico del cambio de fase, entre zoea III y mysis I y confirma además que la menor salinidad de los acuarios que recibieron rotíferos a partir del final del primer día de cultivo, no modificó la sobrevivencia en los cultivos larvarios.

Por otra parte, tanto al final del día 6 que del día 7, en los cuales dominaron las etapas de mysis III y de postlarva I, respectivamente, los valores promedio de los porcentajes de sobrevivencia fueron significativamente menores en los cultivos control, que con las dos dietas basadas en el suministro de rotíferos.

Esta misma prueba no detectó diferencias significativas entre las dos dietas experimentales, lo cual confirma que, por lo menos en términos de sobrevivencia, el consumo

anticipado de organismos del microzooplancton no es susceptible de modificar los resultados de un cultivo larvario, en comparación con el protocolo tradicional de alimentación de las fases de zoea, que consiste en el suministro exclusivo de microalgas (Tabla VII).

Tabla VII.- Porcentajes de sobrevivencia media y desviación estándar registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos relativos a las fechas equivalentes a la presencia de más del 50%, en por lo menos uno de los tratamientos, de las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 6.00) y postlarva 1 (Día 7.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

Día	A	B	C
3.00	78.56 \pm 10.19 ^a	78.30 \pm 12.95 ^a	80.25 \pm 5.19 ^a
6.00	22.96 \pm 11.46 ^a	59.43 \pm 8.62 ^b	48.42 \pm 10.34 ^b
7.00	15.98 \pm 7.60 ^a	53.33 \pm 13.63 ^b	39.74 \pm 15.58 ^b

Pruebas paramétricas en los tres casos.

IV.3.3.- Índice de desarrollo.

De acuerdo al resultado de los muestreos llevados a cabo al final de las primeras 18 horas de cultivo del primer experimento, un porcentaje elevado de larvas había ya alcanzado la etapa de zoea III, lo cual se hizo evidente examinando los valores medios de los índices de desarrollo, que variaron entre 2.6 y 2.8.

Por otra parte, el cambio entre esta fase y la siguiente fue lento ya que, aunque los primeros ejemplares de mysis I aparecieron al final del segundo día, solamente después de 12 horas adicionales de cultivo se alcanzaron porcentajes de esta etapa cercanos o superiores al 50% que, suponiendo la presencia exclusiva de estas dos fases, es equivalente a un valor medio de 3.5 del índice de desarrollo.

Aunque con algunas diferencias transitorias y de poca importancia, la velocidad de incremento del índice de desarrollo se mantuvo aproximadamente constante hasta el cuarto día, durante el cual se registraron valores medios de I.D. cercanos a 5, los cuales corresponden a una elevada dominancia de larvas en la etapa de mysis II.

Los dos muestreos que se llevaron a cabo en las 12 horas siguientes, indicaron que en ese intervalo de tiempo la velocidad del cambio a mysis III aumentó abruptamente, mientras

que durante la parte final de la prueba el índice incrementó más regularmente y con tasas más reducidas, alcanzando valores de aproximadamente 6.5 (50% de PL1) en el último muestreo de este primer experimento, el cual se llevó a cabo seis horas después del final del sexto día de cultivo (Figura 3).

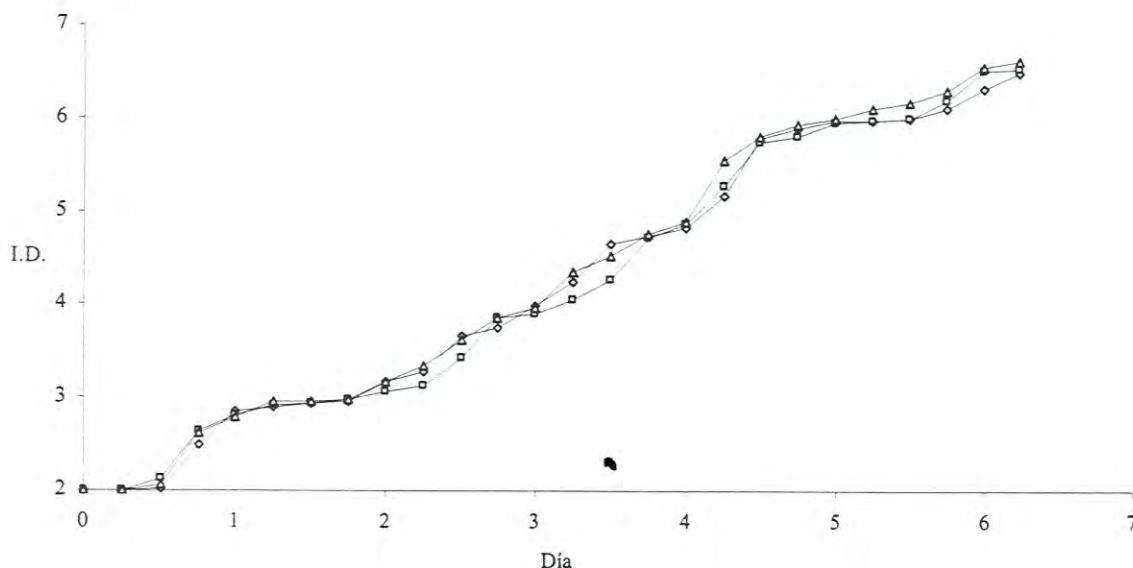


Figura 3.- Índice de desarrollo promedio registrado durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).

Con base en los porcentajes de las etapas de desarrollo presentes en los cultivos, que se ilustran para cada intervalo de seis horas en el Anexo 1, se compararon los resultados de los muestreos de los días 2.5, 4.25 y 6.0, los cuales resultaron ser los representativos de la presencia de más del 50% de las etapas de mysis I, mysis III y PL1, respectivamente, en por lo menos uno de los tratamientos.

En cada caso, se analizaron también las medias de los valores recabados seis horas más tarde, con la finalidad de verificar si las eventuales diferencias encontradas entre los tres tratamientos en los muestreos anteriores eran susceptibles de modificar los resultados de los cultivos solamente a corto plazo, pero sin que las dietas suministradas causaran cambios importantes en los resultados intermedios o finales.

En efecto, el único caso de diferencias significativas que se encontró fue con los muestreos del día 2.5, el cual además no implica un efecto directo del tipo de alimento suministrado sobre la velocidad del desarrollo larvario, en vista de que las larvas que recibieron las dietas A y B fueron alimentadas con microalgas hasta esta fecha. A pesar de esto, el índice medio de desarrollo de estos cultivos resultó ser diferente, y por otra parte no se encontraron diferencias entre las dietas A y C, las cuales consistieron de microalgas y de rotíferos, respectivamente.

Confirmando este resultado, a partir de seis horas más tarde y durante el resto de este experimento no se encontraron diferencias entre dietas, en lo que se refiere a la velocidad de desarrollo larvario, lo cual implicaría que los rotíferos pueden ser utilizados en sustitución de la tradicional dieta de *Artemia*, por lo menos en el caso de *L. vannamei*, sin que esto afecte el éxito de los cultivos de larvas de esta especie (Tabla VIII).

Tabla VIII.- Índice de desarrollo promedio y desviación estándar registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 2.50-2.75), mysis III (Día 4.25-4.50) y postlarva 1 (Día 6.00-6.25). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

Día	A	B	C
2.50	3.66 ± 0.04 ^b	3.44 ± 0.14 ^a	3.63 ± 0.11 ^b
2.75	3.76 ± 0.05 ^a	3.85 ± 0.06 ^a	3.87 ± 0.10 ^a
4.25	5.17 ± 0.20 ^a	5.27 ± 0.15 ^a	5.55 ± 0.28 ^a
4.50	5.79 ± 0.15 ^a	5.74 ± 0.11 ^a	5.80 ± 0.16 ^a
6.00	6.31 ± 0.10 ^a	6.51 ± 0.09 ^a	6.54 ± 0.19 ^a
6.25	6.48 ± 0.13 ^a	6.53 ± 0.12 ^a	6.61 ± 0.16 ^a

Pruebas paramétricas en todos los casos.

Como se mencionó, el desarrollo fue más lento durante el segundo experimento, en el cual además se notó un mayor sincronismo de los cambios entre una etapa larvaria y la siguiente, que se evidenció por la ciclicidad de las variaciones del valor medio del índice de

desarrollo. Esto no resultó tan evidente en el caso de la prueba anterior, con la excepción de los cambios entre zoea II y zoea III y de mysis II a mysis III.

Por otra parte, en este caso la velocidad de aumento del índice de desarrollo fue similar para los tres tipos de dieta, por lo menos hasta el final del quinto día de cultivo, confirmando con esto que el suministro anticipado de zooplancton no es susceptible de modificar la velocidad del desarrollo larvario.

En efecto, para esa fecha todas, o por lo menos la mayoría de las larvas, se encontraban en la fase de cambio entre mysis II a mysis III, sin diferencias evidentes que se pudieran relacionar con el tipo de alimento que recibieron o con el tiempo de inicio de su suministro.

En el muestreo sucesivo y en el siguiente la dieta C pareció dar mejores resultados, pero para el día 6 los índices de desarrollo eran de nueva cuenta muy similares. Finalmente, en los dos últimos muestreos la dieta consistente en nauplios de *Artemia* dio la menor tasa de desarrollo por lo cual, al final de esta prueba, solo el uso de rotíferos (en las dos modalidades de suministro) redituó una dominancia de larvas en el estadio de PL1 (Figura 4).

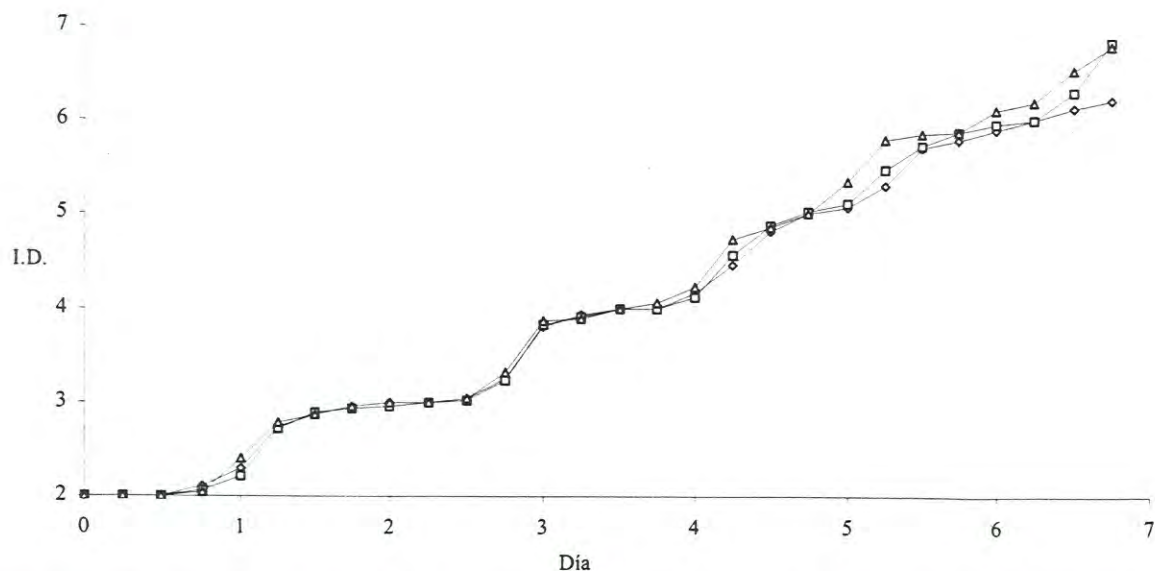


Figura 4.- Índice de desarrollo promedio registrado durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).

El análisis estadístico de los datos recabados en los períodos de muestreo que se determinaron mediante el examen de los porcentajes de presencia de cada etapa larvaria, los cuales se presentan en el Anexo 2, confirmaron la falta de diferencias en la fecha en las cuales se encontró una dominancia de mysis I.

Por otra parte, se encontró que seis horas después del final del quinto día de cultivo las larvas alimentadas con rotíferos a partir de zoea III tenían porcentajes de larvas en la etapa de mysis III que resultaron ser significativamente mayores de las que recibieron las dos dietas restantes, aunque la duración de esta ventaja resultó ser efímera, ya que la diferencia desapareció en el transcurso de las seis horas siguientes.

Doce horas después del sexto día de cultivo, los acuarios del tratamiento basado en el suministro anticipado de microzooplancton dieron el mejor resultado, con un promedio de más del 50% de postlarvas 1, en comparación con aproximadamente un 30 y un 15% con las dos otras dietas.

Finalmente, en el muestreo sucesivo, los dos tratamientos con *B. plicatilis* redituaron cerca del 80% de organismos en esta etapa de desarrollo, porcentajes que en ambos casos fueron significativamente mayores que con la dieta basada en nauplios de *Artemia*, la cual redituó solamente un 20% de larvas en la etapa de PL1 (Tabla IX).

Tabla IX.- Índice de desarrollo promedio y desviación estándar registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.25-5.50) y postlarva 1 (Día 6.50-6.75). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq a \leq b$ y $a < b$.

Día	A	B	C
3.00	3.80 ± 0.06 ^a	3.82 ± 0.10 ^a	3.87 ± 0.09 ^a
5.25	5.31 ± 0.08 ^a	5.47 ± 0.29 ^a	5.80 ± 0.13 ^b
5.50	5.70 ± 0.14 ^a	5.72 ± 0.06 ^a	5.86 ± 0.12 ^a
6.50	6.14 ± 0.11 ^a	6.30 ± 0.19 ^{ab}	6.53 ± 0.13 ^b
6.75	6.21 ± 0.13 ^a	6.84 ± 0.09 ^b	6.79 ± 0.08 ^b

Pruebas paramétricas en todos los casos.

IV.3.4.- Crecimiento.

Durante el primer experimento, el incremento de la longitud total de las larvas procedió en forma paralela para todas las dietas durante los primeros cuatro días, al final de los cuales las tallas que se registraron en promedio en todos los tratamientos resultaron ser muy similares y fueron de poco superiores a los 3.0 mm en todos los casos, sin una evidente superioridad para una o más de las dietas.

Después de esta fecha, al final de la cual la mayoría de las larvas se encontraban en la etapa de mysis II (Anexo 1), la tasa de crecimiento en longitud se mantuvo aproximadamente lineal y similar en el caso de los cultivos alimentados con rotíferos, mientras que disminuyó notablemente en los acuarios que recibieron la dieta control, lo cual pudiera indicar una menor efectividad de esta dieta, posiblemente relacionada con su tamaño o, más probablemente, con su menor calidad (Figura 5).

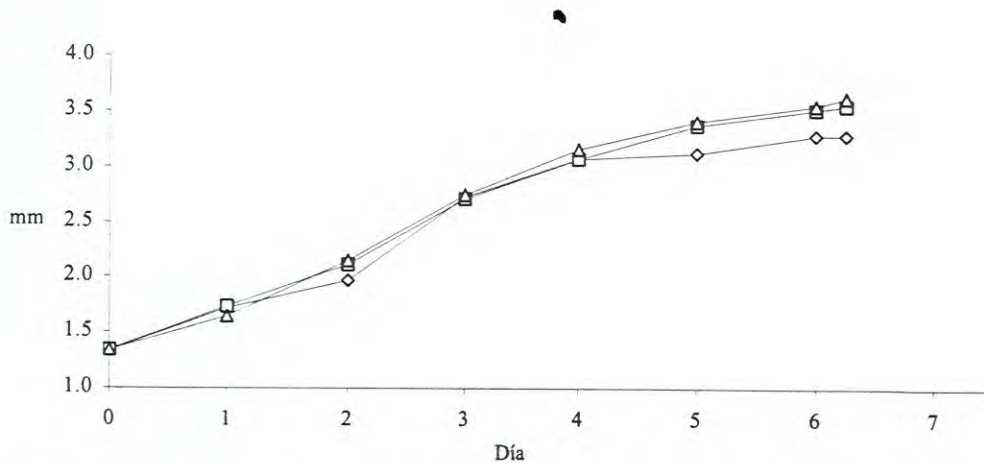


Figura 5.- Longitud media (en mm) registrada durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).

En efecto, las pruebas estadísticas con las cuales se compararon los valores medios de los datos recabados al final del tercero, del quinto y del sexto día de este experimento (> 50% de mysis I, mysis III y PL 1, respectivamente), al igual que los del último muestreo, seis horas después del final del sexto día de cultivo, confirmaron que al final del día tres las tallas medias

variaron en un intervalo muy reducido, entre 2.71 y 2.75 mm y sin diferencias significativas entre los tres tratamientos.

Por otra parte, los datos que se obtuvieron en todos los muestreos sucesivos demostraron que las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* tenían una longitud media significativamente y constantemente inferior de las calculadas para los cultivos que se mantuvieron con rotíferos, independientemente de la fecha en la cual estas iniciaron a alimentarse con estos organismos, en vista de la constante falta de diferencias entre la longitud de las larvas que se mantuvieron con estos dos regímenes de alimentación (Tabla X).

Tabla X.- Longitud promedio y desviación estándar en mm registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 5.00) y postlarva I (Día 6.00-6.25). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

Día	A	B	C
*3.00	2.72 ± 0.20 ^a	2.71 ± 0.33 ^a	2.75 ± 0.31 ^a
5.00	3.13 ± 0.18 ^a	3.36 ± 0.20 ^b	3.40 ± 0.29 ^b
*6.00	3.29 ± 0.22 ^a	3.51 ± 0.22 ^b	3.55 ± 0.24 ^b
6.25	3.28 ± 0.25 ^a	3.55 ± 0.27 ^b	3.63 ± 0.27 ^b

* Prueba no paramétrica.

En promedio, el régimen tradicional de alimentación, que está basado en el suministro de microalgas y de nauplios de *Artemia*, resultó en una tasa diaria de incremento en longitud de 0.172 mm·día⁻¹, por un total de 0.56 mm en las últimas 78 horas de cultivo, valores que son aproximadamente un 35% inferiores, en comparación con los 0.84 y 0.88 mm (0.258 y 0.271 mm·día⁻¹, respectivamente), que se calcularon entre el día 3 y el día 6.25, que correspondió al último muestreo, en el caso de los otros dos regímenes de alimentación.

Como en el caso del primer experimento, durante el segundo la velocidad de incremento en longitud fue lineal y además fue similar en todos los tratamientos hasta el muestreo final del cuarto día de cultivo cuando, como en la prueba anterior, se registró una dominancia de larvas en la fase de mysis II, con tallas medias de entre 2.7 y 2.8 mm y sin diferencias evidentes entre los tres tipos de dieta.

Durante los días siguientes la tasa de aumento de la longitud de las larvas se mantuvo sin variaciones importantes solamente con las dietas B y C y además, coincidiendo con los resultados de la primera prueba de alimentación, las larvas de los acuarios que se alimentaron con nauplios de *Artemia* mantuvieron un crecimiento notablemente menor durante los dos últimos días.

Como resultado de estas diferentes velocidades de crecimiento, se registró una diferencia de aproximadamente 0.5 mm entre las tallas medias finales de las larvas alimentadas con las dos dietas basadas en rotíferos y las que se verificaron en los cultivos que recibieron nauplios de *Artemia* a partir de mysis I (Figura 6).

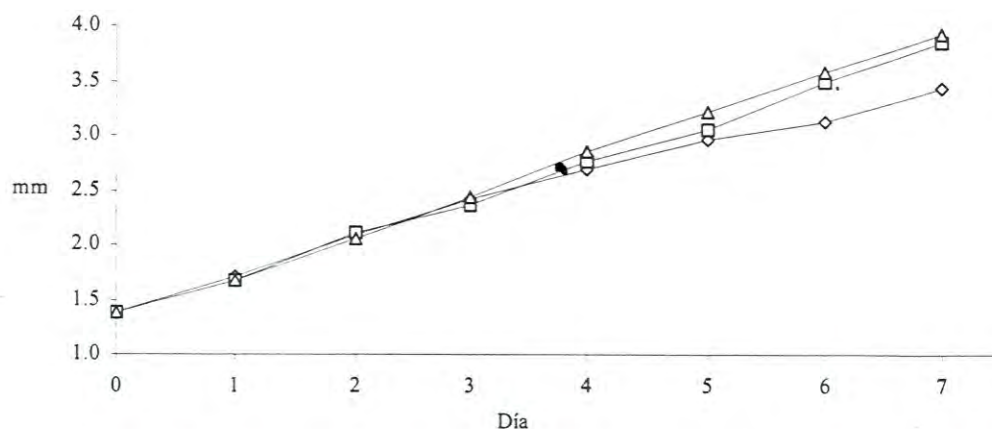


Figura 6.- Longitud media (en mm) registrada durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con *Artemia* (◇), rotíferos a partir de mysis I (□) y con rotíferos a partir de zoea III (△).

Las pruebas de análisis de varianza, que se llevaron a cabo para comparar las medias de los datos recabados en las fechas correspondientes a la dominancia de larvas en las etapas de mysis I, mysis III y PL 1, dieron resultados similares a los que se encontraron en el experimento anterior.

En el caso de la primera de estas etapas no se verificaron diferencias significativas entre dietas, mientras que para las fases de mysis III y de PL 1, las tallas de los organismos alimentados con rotíferos resultaron significativamente mayores de los que recibieron la dieta control (Tabla XI).

Tabla XI.- Longitud promedio y desviación estándar en mm registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan para los tres casos las fechas en la que se detectó un 50% de dominancia para las etapas de mysis I (Día 3.00), mysis III (Día 6.00) y postlarva 1 (Día 7.00). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

Día	A	B	C
*3.00	2.42 ± 0.28 ^a	2.37 ± 0.27 ^a	2.44 ± 0.29 ^a
*6.00	3.13 ± 0.20 ^a	3.49 ± 0.22 ^b	3.58 ± 0.20 ^b
*7.00	3.44 ± 0.19 ^a	3.85 ± 0.23 ^b	3.92 ± 0.21 ^b

* Prueba no paramétrica.

A pesar de la menor velocidad de desarrollo larvario y de crecimiento de los primeros tres días, la tasa de crecimiento en talla que se calculó para la parte final de este segundo experimento fue notablemente mayor, con 0.71 mm en 72 horas (días 3 a 6), que equivale a 0.237 mm·día⁻¹ en el caso de los acuarios alimentados con nauplios de *Artemia*, en comparación con un incremento de 1.12 y 1.14 mm para las larvas que recibieron las dietas B y C (0.373 y 0.380 mm·día⁻¹, respectivamente).

Además, esta tasa se mantuvo constante también durante el último día de este experimento, lo cual dio como resultado un incremento global de 1.02 mm para el caso de la dieta control. Esto se traduce en un promedio de la tasa de aumento diario de 0.255 mm·día⁻¹, la cual fue notablemente inferior a los 0.370 mm·día⁻¹ que se calcularon para las larvas alimentadas con las dos dietas restantes.

IV.3.5.- Peso orgánico y composición.

A partir de un peso seco orgánico individual de 12.98 µg de las larvas en el estadio de zoea II, las muestras que se recabaron durante el primer experimento en la fecha correspondiente a la dominancia de la etapa de mysis I, demostraron una ganancia en peso significativamente mayor en el caso del tratamiento que recibió rotíferos a partir de la fase de zoea III.

En los tratamientos que consistieron en alimentar las larvas con *Artemia* y con rotíferos, suministrados desde el muestreo en el cual aparecieron los primeros ejemplares de la etapa de mysis I, el aumento en peso orgánico fue de 31.84 y 29.57 µg, en comparación con

los 48.58 μg del tratamiento alimentado con microzooplancton, a partir de la fase de desarrollo anterior.

Las muestras de mysis III mostraron una tendencia a valores mayores para los dos tratamientos con rotíferos, con un mayor valor para la dieta C, aunque en este caso el análisis estadístico no detectó diferencias significativas entre dietas y finalmente, para la etapa de primera postlarva, se notó una pérdida de biomasa orgánica de entre aproximadamente 4.7 y 6.9 μg , la cual probablemente refleja el gasto energético implicado en los cambios metamórficos entre un estadio de desarrollo y el siguiente.

En estas últimas muestras, el régimen de alimentación basado en nauplios de *Artemia* redituó postlarvas con un peso orgánico seco de 63.38 μg , en promedio, el cual se traduce en un incremento de 50.40 μg a partir del valor inicial.

Este peso final fue significativamente inferior a los valores que se registraron en el caso de los organismos que se alimentaron con rotíferos a partir de zoea III, los cuales aumentaron su contenido orgánico hasta 83.03 μg . En este caso, la ganancia media fue de 70.05 μg , mientras que los que recibieron esta misma dieta a partir de mysis I tuvieron un incremento notablemente inferior del mencionado y más cercano a la dieta control, aunque sin diferencias en comparación con las demás dietas (Tabla XII).

Tabla XII.- Pesos orgánicos unitarios medios y desviación estándar, en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, registrados durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los datos para los estadios de zoea II, mysis I, mysis III y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq b \leq c$ y $a < b$.

	A	B	C
Zoea II	12.98 \pm 2.53	12.98 \pm 2.53	12.98 \pm 2.53
Mysis I	44.82 \pm 5.70 ^a	42.55 \pm 4.26 ^a	61.56 \pm 3.57 ^b
Mysis III	68.14 \pm 5.73 ^a	76.32 \pm 2.09 ^a	87.70 \pm 11.43 ^a
*PL1	63.38 \pm 7.39 ^a	69.42 \pm 9.62 ^{ab}	83.03 \pm 10.04 ^b

* Prueba no paramétrica.

Los ejemplares de zoea II que se usaron en el segundo experimento tuvieron un peso orgánico de $8.5 \mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, el cual representa el 65.5% el peso de los organismos usados en la primera prueba. En efecto, este bajo peso inicial es la explicación más probable de la diferencia en el tiempo que tardaron las larvas para alcanzar la etapa de primera postlarva.

A diferencia que en el primer experimento, las mysis alimentadas con rotíferos, tanto a partir de zoea III como desde la aparición de los primeros ejemplares de mysis I, tuvieron un peso orgánico significativamente mayor de las que recibieron nauplios de *Artemia*. En los dos primeros casos los incrementos fueron de 18.97 y 19.55 $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, más de 2 μg mayores en comparación con los 16.96 μg que se verificaron para la dieta control.

Esta diferencia entre dietas se mantuvo hasta el final de la prueba, con postlarvas de 53.96 μg de contenido orgánico seco en los acuarios que se alimentaron con nauplios de *Artemia*, el cual en este caso, a diferencia del primer experimento, fue significativamente menor de los dos tratamientos con la dieta experimental, independientemente de la fecha en la cual se inició a suministrarla.

Por su parte, la alimentación con rotíferos dio como resultado PL 1 con pesos medios orgánicos unitarios de 73.51 y 69.97 $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$ para las dietas B y C, respectivamente, y no se encontraron diferencias significativas relacionadas con el inicio del suministro de rotíferos en los cultivos larvarios (Tabla XIII).

Tabla XIII.- Pesos orgánicos unitarios medios y desviación estándar, en $\mu\text{g}\cdot\text{larva}^{-1}$, registrados durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los datos para los estadios de zoea II, mysis I, y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

	A	B	C
Zoea II	8.50	8.50	8.50
Mysis I	25.46 \pm 1.40 ^a	28.05 \pm 0.74 ^b	27.47 \pm 0.46 ^b
PL1	53.96 \pm 8.34 ^a	73.51 \pm 10.46 ^b	69.97 \pm 4.91 ^b

Pruebas paramétricas en todos los casos.

En lo que se refiere a la composición proximal, en primer lugar parece importante hacer notar que, por lo menos durante estas primeras fases de desarrollo planctónico de las larvas, el contenido de carbohidratos representó constantemente un porcentaje muy limitado del total de la biomasa orgánica de estos organismos, variando entre menos del 0.2% hasta un máximo de 2.5% en el primer experimento y entre 1.1 y 3.2% durante el segundo.

Esto coincide en general con la composición básica del zooplankton y con su acumulación preferencial de compuestos lipídicos como sustancias de reserva la cual, en el caso de estos organismos, sería justificada por el mayor contenido energético y por la menor densidad de estos compuestos, que resulta en una consiguiente disminución del costo energético representado por la actividad de natación, que es necesaria para mantenerse suspendidos en el agua (Parsons *et al.*, 1984b).

Aparte de esta observación general, la única diferencia relativamente importante que se notó en el primer experimento, la cual pudiera tener una relación con el tipo de dieta, fueron los altos contenidos de lípidos y la menor cantidad de proteínas de la etapa de mysis I, en el caso de las larvas que iniciaron a consumir rotíferos a partir de la fase de desarrollo anterior.

Por otra parte, las diferencias resultaron significativas solamente en comparación con las larvas que recibieron la misma dieta a partir de la primera aparición de especímenes en la fase de mysis I, que en este caso en particular aparecieron 24 horas antes de la toma de las muestras para el análisis de la biomasa, por lo cual ambos tipos de tratamiento estaban usando la misma dieta.

Además, estas diferencias desaparecieron en las muestras de las siguientes fases de mysis III y PL 1, aunque cabe hacer notar que se conservó la tendencia a un mayor contenido de proteínas, y a un paralelo menor porcentaje de lípidos para la dieta B, con un comportamiento opuesto para las otras dos dietas (Tabla XIV).

Estas diferentes tendencias de la composición de organismos alimentados con la misma dieta, sugieren que es dudoso que las diferencias que se encontraron en el primer muestreo después del inicio del experimento, tengan una relación con el tipo de dieta y con el tiempo de inicio de su suministro.

Tabla XIV.- Porcentajes promedio y desviación estándar de proteínas (P/PO), carbohidratos (C/PO) y lípidos (L/PO) en base al contenido orgánico registrados durante el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los estadios zoea II, mysis I, mysis III y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a \leq b \leq b$ y $a < b$.

		P/PO	C/PO	L/PO
Zoea II		41.39 ± 4.29	1.73 ± 0.08	56.87 ± 4.36
Mysis I	A	51.32 ± 6.38 ^{ab}	2.42 ± 0.11 ^b	46.25 ± 6.28 ^{ab}
	B	57.94 ± 7.95 ^b	2.36 ± 0.17 ^b	39.70 ± 8.11 ^a
	C	40.83 ± 3.31 ^a	1.00 ± 0.06 ^a	58.17 ± 3.29 ^b
Mysis III	A	42.55 ± 7.55 ^a	0.54	56.91 ± 7.55 ^a
	B	47.17 ± 5.54 ^a	2.52	50.31 ± 5.54 ^a
	C	40.58 ± 3.10 ^a	0.18	59.24 ± 3.10 ^a
PL1	A	42.75 ± 4.29 ^a	1.44 ± 0.42 ^a	55.81 ± 4.14 ^a
	B	51.56 ± 4.57 ^a	0.79 ± 0.30 ^a	47.65 ± 4.40 ^a
	C	41.45 ± 4.14 ^a	1.56 ± 0.28 ^a	56.99 ± 4.01 ^a

Pruebas paramétricas en todos los casos; Mysis III: datos de una sola muestra de carbohidratos para cada dieta

Confirmando esta suposición sobre la falta de una relación entre la composición de las larvas y la de las dietas con las cuales fueron alimentadas, las muestras de mysis I y PL 1 que se analizaron en el caso del experimento siguiente demostraron una tendencia inversa que en la prueba anterior.

En el caso de la fase de mysis I, aunque las diferencias no resultaron significativas, los menores contenidos de lípidos, con un correspondiente mayor porcentaje de proteínas, fueron los que se encontraron para las dos dietas experimentales, en ambos casos con diferencias relativamente elevadas en comparación con los porcentajes de estos compuestos que se determinaron analizando las larvas que consumieron la dieta control.

Por otra parte, los datos recabados con las muestras finales indicaron que el menor contenido de proteínas, acompañado por una elevación del porcentaje de lípidos, fue el que se obtuvo con las larvas alimentadas con rotíferos a partir de mysis I y cabe recalcar que en este caso los resultados de las pruebas estadísticas demostraron que la composición de estos organismos fue significativamente diferente de la que se determinó para las otras dos dietas.

Además, hay que hacer notar que, aunque resultaron significativas, las diferencias entre los tres tratamientos fueron en realidad cuantitativamente poco importantes; los valores medios de los porcentajes de proteínas variaron solamente entre el 50.1 y el 53.5% y el intervalo fue similar en el caso de los compuestos lipídicos.

Estos dieron valores medios que variaron entre 44.6 hasta un máximo de 47.2%, y cabe nuevamente hacer notar que como en el caso del experimento anterior, los valores extremos y significativamente diferentes de ambas clases de compuestos se refieren a postlarvas cultivadas con el mismo alimento (Tabla XV).

Tabla XV.- Porcentajes promedio y desviación estándar de proteínas (P/PO), carbohidratos (C/PO) y lípidos (L/PO) en base al contenido orgánico registrados durante el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se presentan los estadios zoea II, mysis I, y PL1. Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

		P/PO	C/PO	L/PO
Zoea II		39.02 ± 0.95	1.08 ± 0.30	59.89 ± 0.81
Mysis I	A	48.46 ± 2.45 ^a	2.21 ± 0.68 ^a	49.33 ± 1.78 ^a
	B	52.39 ± 2.09 ^a	3.18 ± 0.29 ^a	44.43 ± 2.35 ^a
	C	54.89 ± 3.98 ^a	2.24 ± 0.34 ^a	42.87 ± 3.98 ^a
PL1	A	53.45 ± 1.31 ^b	1.42 ± 0.78 ^a	45.14 ± 0.53 ^a
	B	50.11 ± 0.93 ^a	2.73 ± 0.73 ^a	47.16 ± 0.47 ^b
	C	53.26 ± 0.25 ^b	2.14 ± 0.56 ^a	44.61 ± 0.81 ^a

IV.3.6.- Consumo y conversión de alimento.

Los datos medios de consumo de alimento que se registraron en las fechas correspondientes a la dominancia de las fases de mysis I, mysis III y PL 1, se refieren a 24 horas después de la aparición de los primeros especímenes de cada fase, que fue cuando se inició el suministro de las dietas correspondientes.

En el caso del primer experimento, estas fechas corresponden respectivamente a los datos de consumo registrado en los días 3, 5 y 6, con un retardo de un día para cada una de las etapas, en el transcurso del experimento siguiente (días 4, 6 y 7, respectivamente).

En lo que se refiere al consumo de microalgas, durante el primer experimento se notó una tendencia a una ingestión progresivamente mayor en paralelo con la edad de los cultivos, en el caso de la dieta control, mientras que en los tratamientos con rotíferos los porcentajes de desaparición de microalgas fueron más altos y permanecieron prácticamente sin cambios.

En estas tres fechas, las larvas que recibieron *Artemia* complementada con microalgas consumieron en 24 horas entre el 66 y el 77% de las microalgas suministradas, y en todos los casos este consumo resultó significativamente inferior del que se registró en los cultivos alimentados con las dos demás dietas, con las cuales los porcentajes variaron entre el 92.5 y el 97.5% (Tabla XVI a).

Por otra parte, cabe mencionar que estas diferencias no implican una diferente ingestión de las larvas y quedan más bien explicadas por la utilización de microalgas de parte de los rotíferos en el caso de las dietas experimentales, en vista de que en los cultivos testigo las larvas de *L. vannamei* fueron los únicos consumidores.

En efecto, por lo menos en las fases de mysis I y mysis III, el consumo de *Artemia* en esos cultivos se acercó al 100% de los nauplios suministrados, que fue en ambos casos significativamente mayor de los porcentajes de rotíferos ingeridos, los cuales variaron entre el 92 y el 94%.

En todos los casos, el consumo porcentual de microzooplancton disminuyó en la fecha en la cual más del 50% de las larvas se encontraba en la fase de PL. En ese día, los porcentajes de rotíferos utilizados variaron entre el 87.4 y el 88.4% en promedio, que no resultaron diferentes del 93.6% que se registró en el caso de la dieta testigo, y que pudieran indicar una

disminución del consumo de alimento durante esta fase de cambio de la etapa de desarrollo (Tabla XVI b).

Tabla XVI.- Porcentajes promedio y desviación estándar de los consumos de microalgas (a) y de zooplancton (b) registrados en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos de consumo en 24 horas para las etapas de mysis I (MI), mysis III (MIII) y postlarva 1 (PL 1). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos de la misma etapa (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

	Etapa	A	B	C
	*MI	65.67 ± 10.65 ^a	95.17 ± 1.37 ^b	94.67 ± 2.67 ^b
a	MIII	71.50 ± 5.97 ^a	97.50 ± 1.91 ^b	95.50 ± 3.42 ^b
	PL 1	77.00 ± 4.24 ^a	92.50 ± 5.26 ^b	95.00 ± 3.83 ^b
	Etapa	A	B	C
	MI	99.22 ± 0.29 ^b	94.32 ± 2.57 ^a	93.55 ± 1.79 ^a
b	*MIII	99.42 ± 0.48 ^b	93.88 ± 2.54 ^a	91.75 ± 3.76 ^a
	PL 1	93.56 ± 2.69 ^a	87.43 ± 3.41 ^a	88.42 ± 3.96 ^a

* prueba no paramétrica.

Durante la segunda prueba, el consumo de microalgas en los acuarios con la dieta testigo resultó ser notablemente menor del registrado en el experimento anterior, y además no se notó la misma tendencia a incrementarse en el transcurso del tiempo.

Los porcentajes de microalgas ingeridas variaron entre el 36.0 y el 47.5% del total suministrado y, como en el caso anterior, los acuarios en los cuales coexistían rotíferos y larvas presentaron consumos significativamente mayores, entre el 86.5 y el 89.0% para la fase de mysis I y de entre 95.5 y 97.0% para las dos fases siguientes (Tabla XVII a).

En el caso del microzooplancton, las dos etapas de mysis consumieron prácticamente la totalidad del alimento suministrado, con porcentajes superiores al 97% en todos los casos y, por consiguiente, sin diferencias significativas entre medias.

Como en la prueba anterior, el consumo de rotíferos disminuyó en la fecha correspondiente al cambio de fase larvaria entre mysis y postlarva, mientras que permaneció invariado en los cultivos que recibieron nauplios de *Artemia*, que es muy probablemente debido al porcentaje significativamente menor de postlarvas que se registró en los acuarios en los cuales se suministró este tipo de dieta (Tabla XVII b).

Tabla XVII.- Porcentajes promedio y desviación estándar de los consumos de microalgas (a) y de zooplancton (b) registrados en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Datos de consumo en 24 horas para las etapas de mysis I (MI), mysis III (MIII) y postlarva 1 (PL 1). Letras iguales o comunes indican falta de diferencias significativas entre datos de la misma etapa (ANAVA de una vía, $\alpha = 0.05$). $a < b$.

	Etapa	A	B	C
	MI	47.50 \pm 5.26 ^a	89.00 \pm 3.83 ^b	86.50 \pm 5.51 ^b
a	*MIII	36.00 \pm 7.12 ^a	97.00 \pm 3.46 ^b	96.50 \pm 4.43 ^b
	*PL 1	37.33 \pm 8.08 ^a	96.00 \pm 4.32 ^b	95.50 \pm 1.91 ^b
	Etapa	A	B	C
	MI	97.72 \pm 0.90 ^a	97.58 \pm 1.33 ^a	97.51 \pm 0.91 ^a
b	MIII	97.46 \pm 1.23 ^a	97.76 \pm 0.84 ^a	97.57 \pm 0.35 ^a
	PL 1	97.57 \pm 1.88 ^b	86.58 \pm 5.34 ^a	89.07 \pm 2.20 ^a

* prueba no paramétrica.

La ganancia individual en peso orgánico, en comparación con el alimento suministrado o ingerido, mostró una tendencia a valores mayores para las dos dietas experimentales, que era de esperar en vista del mayor peso final de las postlarvas alimentadas con estas dietas.

El aumento del contenido orgánico de una postlarva representó entre el 9.75 y el 11.85% del peso orgánico del alimento suministrado y desde el 11.87 hasta el 13.49% de la cantidad ingerida, para las dietas A y C, en ambos casos.

A pesar del mayor contenido energético unitario de las postlarvas alimentadas con las dos dietas experimentales (Anexo 3), tanto la cantidad de energía que se suministró como la que fue ingerida con el alimento fue mayor, por lo cual la eficiencia de conversión que se calculó en términos de calorías fue menor con estas dos dietas (Tabla XVIII).

Tabla XVIII.- Porcentajes de eficiencia de conversión del alimento suministrado (FCA) e ingerido (K_1), en términos de peso seco orgánico (PO) y de contenido energético (cal) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentados con (A) *Artemia* y (B) rotíferos, a partir de mysis I y (C) con rotíferos a partir de zoea III. Se dan los valores calculados para los dos experimentos (1 y 2) y el valor medio global (\bar{x}).

		A	B	C
FCA (PO)	1	10.40	10.75	12.95
	2	9.10	12.03	10.75
	\bar{x}	9.75	11.39	11.85
FCA (cal)	1	8.25	6.29	7.97
	2	6.81	7.10	6.18
	\bar{x}	7.53	6.70	7.07
K_1 (PO)	1	12.07	12.22	14.51
	2	11.66	14.40	12.46
	\bar{x}	11.87	13.31	13.48
K_1 (cal)	1	9.22	7.00	8.80
	2	8.15	8.04	6.84
	\bar{x}	8.68	7.52	7.82

De acuerdo a los datos que se acaban de comentar, la sustancia orgánica contenida en una postlarva representa poco más del 10% del alimento que tuvo a disposición. Esto corresponde a lo que se menciona en general en la literatura relacionada con la cantidad de biomasa presente en los sucesivos eslabones de la cadena trófica, de acuerdo a la cual cada nivel equivale aproximadamente al 10% de la que representa al eslabón anterior (Ivleva, 1970; Parsons *et al.*, 1984b).

Por otra parte, considerando la producción real media que se obtuvo al final de estos experimentos, las eficiencias de transformación se reducen notablemente, debido a los altos porcentajes de mortalidad.

De acuerdo a los cálculos, la producción global fue negativa para el primer experimento, tanto para la dieta control como en el caso de los acuarios alimentados con rotíferos a partir de mysis I, y fue cercana o poco superior al 1% para el caso de la dieta C. En el segundo, no se registró una ganancia real en biomasa o en energía con la dieta control, mientras que osciló entre el 4.8 y el 7.9% en la que se refiere al factor de conversión del alimento suministrado (2.8 y 4.8% de la energía), el cual es entre 1 y 2% menor de los valores de K_1 , que se calcularon con base a los consumos medidos en los cultivos larvarios (Anexo 4).

Estos valores mejoraron notablemente, considerando una sobrevivencia media del 60%. En este caso, entre el 6.6 y el 7.0% del alimento suministrado sería transformado en nueva biomasa, con una eficiencia de conversión del alimento ingerido de 8.2 a 8.6%, en el caso de la dieta control, con medias generales del 6.8 y del 8.4%, respectivamente.

Confirmando los datos calculados para las eficiencias individuales de conversión de biomasa, estos valores medios aumentarían hasta el 8.3 y 9.75%, para la dieta basada en el suministro de rotíferos a partir de mysis I y a 8.6 y 10.2% cuando estos se inician a proporcionar en la fase de zoea III.

Por otra parte, en términos de contenido energético, las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* serían marginalmente más eficientes, con el 5.3 y el 6.1% de las calorías disponibles y consumidas transformadas en nueva biomasa, en comparación con porcentajes del 4.9 y 5.2% de las suministradas con las dietas B y C, que aumentarían al 5.6 y al 5.8%, considerando el consumo de estas dos dietas (Anexo 5).

V.- DISCUSIONES.

De acuerdo a la hipótesis que fundamentó este trabajo, el tradicional régimen de alimentación de las tres etapas de mysis de *L. vannamei* con nauplios de *Artemia*, cuyo costo puede ser elevado y que en especial pudiera presentar problemas de disponibilidad en el mercado, puede ser sustituido por el suministro del rotífero *Brachionus plicatilis*, sin perjuicio del éxito de los cultivos larvarios.

Esta hipótesis quedó comprobada y en efecto el uso de este tipo de dieta pudiera presentar algunas ventajas: en la sección de resultados, se comentó por ejemplo sobre las elevadas mortalidades que se registraron en los dos experimentos. Por otra parte, los mejores porcentajes de sobrevivencia, que en un caso resultaron cercanos al 60% que menciona Arellano-Moncayo (1990), se obtuvieron en la segunda prueba, solamente en los acuarios alimentados con las dietas experimentales.

Aún cuando el exceso de manipulación pudiera haber contribuido a esta alta mortalidad, cabe recordar los resultados de consumo de alimento, los cuales indican que en la mayoría de los casos el alimento sobrante se acercaba al 10% o menos del total suministrado. Esto parece indicar que las cantidades de microalgas y de zooplancton previstas en la tabla de alimentación que se utilizó para estos experimentos no fueron adecuadas, aunque esa tabla corresponde sustancialmente a las raciones diarias que se mencionan en diferentes manuales de cría de larvas de camarón, como Arellano-Moncayo (1990) y Alfonso *et al.* (1993).

Por otra parte una sola observación diaria no es suficiente para evaluar los cambios de disponibilidad de alimento la cual, de acuerdo a las pruebas preliminares que se llevaron a cabo para verificar el estadio de desarrollo en el cual las larvas podían ser alimentadas con rotíferos, pudiera disminuir rápidamente y contribuir por este motivo a la mortalidad, bien sea por inanición, o posiblemente por el canibalismo debido a la falta de alimento disponible (Yúfera *et al.*, 1984).

Desde el punto de vista de efectividad de las dietas experimentales, en comparación con el suministro tradicional de nauplios de *Artemia*, cabe en primer lugar mencionar que aún cuando las larvas pueden alimentarse con presas animales ya a partir de la fase de zoea III y posiblemente en una fase todavía anterior si se proporcionaran organismos presa de menores

dimensiones, los datos que se recabaron no indican una ventaja real debida al cambio anticipado de dieta.

Por otra parte, esto implicaría una ampliación del área de cultivos de apoyo, la cual causaría además un costo mayor de operación del área de microalgas. Por este motivo esta solución no sería redituable, ya que no es susceptible de causar un aumento de la tasa normal de desarrollo de las larvas en cultivo.

Por este motivo y considerando además que el periodo de suministro de microalimento vivo no se vería modificado por el tiempo del cambio de dieta, el uso tradicional de microalgas para la fase zoea parece ser el más conveniente.

La sustitución de los nauplios de *Artemia* redituó indudablemente larvas de mayor peso y de mayor longitud total, que indica una superioridad dietética de los rotíferos, por lo menos hasta el período de cambio entre mysis III y postlarva, quedando por otra parte por evaluar económicamente la sustitución de los nauplios, comparando el costo de los insumos y de operación del área de *Artemia* con el involucrado en la ampliación del área de microalgas y en la construcción de un área adicional de cultivos de apoyo, la cual se haría necesaria para la producción de la dieta sustitutiva de los nauplios tradicionales.

Finalmente, los datos de ingestión de alimento pueden ser comentados bajo un punto de vista diverso, el cual se refiere al consumo de microalgas aún durante la última fase de mysis y de primera postlarva.

Este consumo se registró también en los cultivos control, en los cuales el microzooplancton suministrado como la principal fuente de alimento no era viable, por lo cual los únicos consumidores de fitoplancton eran las larvas de camarón.

Este dato indica que, como lo comentan Yúfera y Lubián (1990), la adquisición del hábito de carnívoro depredador y cazador que adquieren las larvas de peneidos en alguna de sus fases de desarrollo, es un proceso paulatino que no implica la pérdida de la capacidad de utilizar otras fuentes de alimento, preservando en este caso la característica de filtroalimentador por lo menos hasta la etapa de primera postlarva.

Este punto es merecedor de estudios adicionales con larvas de *L. vannamei*, similares a los que se llevaron a cabo con larvas de *Penaes indicus* por Emmerson (1980), los cuales indicaron que en el caso de esta especie es posible obtener un desarrollo y un crecimiento

normales, tanto con el régimen mixto tradicional como suministrando exclusivamente fitoplancton.

Cabe además recordar que la mayoría de los protocolos de alimentación de cultivos larvarios que se utilizan en la actualidad, no fueron elaborados para cada especie en particular y que su aplicación generalizada se basa más bien en la observación empírica que los tipos de alimento y las cantidades suministradas son adecuados para los fines de un laboratorio comercial.

Por otra parte, un régimen de alimentación adecuado no es necesariamente sinónimo de eficiente, ya que en este contexto la eficiencia depende, entre otros factores, también de los hábitos alimenticios de la especie que se está cultivando.

Voltolina y Voltolina (1976) aplicaron por ejemplo el protocolo de alimentación tradicional a un cultivo larvario de *Penaeus duorarum notialis* y notaron que, aún cuando las larvas crecían normalmente, los nauplios de *Artemia* adicionados en la fase de mysis I y por lo menos en el período inicial de la siguiente fase de mysis II, no solamente no eran consumidos, sino que causaban una reacción de escape en las larvas y finalmente se transformaban en competidores por el fitoplancton suministrado a los cultivos larvarios, que era en realidad la única fuente de alimento para las larvas de esa especie.

De igual manera, y contrariamente a lo que indica la literatura, que aún para esa misma especie sugiere que la fuente de alimento más apropiada para las fases de zoea es la diatomea *Chaetoceros* spp. (Alfonso *et al.*, 1993), esos mismos autores encontraron que el mejor crecimiento era con una diatomea que en general se considera poco apropiada (*Nitzschia closterium* = *Cylindrotheca closterium*), complementada para zoea III con *Tetraselmis* sp., la cual generalmente se considera apropiada solo como dieta complementaria para las fases de desarrollo más avanzadas.

Considerando lo anterior y en vista de que la dieta alternativa que se propuso en este trabajo, a pesar de ser tan eficiente y posiblemente superior a la tradicional, implicaría un notable aumento de la inversión inicial en infraestructura y que además se ha demostrado que las fases de mysis conservan un eficiente hábito de filtroalimentador, parece conveniente sugerir que se explore la posibilidad de otras fuentes de alimento, que pudieran resultar tan eficientes como los regímenes que se estudiaron en este trabajo.

VI.- CONCLUSIONES.

Las larvas de *L. vannamei* pueden iniciar la ingestión de un alimento distinto al fitoplancton durante los estadios de zoea: en la fase de zoea II se notaron indicios de comportamiento raptorio hacia *B. plicatilis*, el cual fue consumido a partir del estadio zoea III.

Las mysis alimentadas con nauplios de *Artemia* no presentan sobrevivencias superiores a las que se logran con el rotífero *B. plicatilis* como un alimento alternativo. Esta no se vio favorecida al adelantar el suministro de rotíferos en el estadio de zoea III, ya que la sobrevivencia final no resultó diferente al utilizar rotíferos para zoea III o cuando estos se proporcionaron a partir de la etapa de mysis I.

Las tendencias del índice de desarrollo de las larvas dieron resultados similares, ya que las larvas alimentadas con la dieta tradicional no presentaron una velocidad de desarrollo diferente a las obtenidas con las dos modalidades de suministro de rotíferos.

Por otro lado, la talla promedio de las larvas alimentadas con rotíferos y microalgas fue superior a la que se obtuvo con nauplios y microalgas, pero no resultó diferente en el caso del suministro anticipado de microzooplancton.

El contenido orgánico individual de las postlarvas de *L. vannamei* resultó mayor cuando estas fueron alimentadas con rotíferos, y más aún cuando el suministro se inició en la etapa de zoea III, pero esto no se reflejó en su composición, ya que los porcentajes de proteínas, carbohidratos y lípidos no presentaron diferencias que pudieran relacionarse con el tipo de alimento o con el tiempo de su suministro.

Los rotíferos son consumidores muy activos, lo cual los coloca como competidores por alimento. Por este motivo el suministro de microalgas en conjunto con rotíferos debe contemplar las necesidades de ambos organismos.

El consumo de *Artemia* es elevado en todas las fases, mientras que el consumo de rotíferos disminuye para la etapa de postlarva I, posiblemente debido a su menor tamaño.

Finalmente, la eficiencia de conversión del alimento, tanto suministrado como ingerido, resultó superior con las dietas alternativas, cuando se consideró el incremento del peso orgánico individual, mientras que en términos de energía, las eficiencias fueron mayores con la dieta basada en nauplios de *Artemia*.

VII.- LITERATURA CITADA.

- Alfonso, E. y C. Núñez. 1984. Efecto de la harina de lombriz de tierra sobre el crecimiento y desarrollo de protozoos de camarón en cultivo. *Revista de Investigaciones Marinas*. 5(3):99-105.
- Alfonso, E., L. Ramos, E. Díaz-Iglesia, T. García, y C. Rosas. 1993. Manual del II curso internacional de producción de postlarvas de camarones peneidos del Atlántico de América. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., México. 132 pp.
- Alfonso, E., S. Leal y B. Guitart. 1985. Ensayos sobre la alimentación de *P. notialis* en el laboratorio. *Revista de Investigaciones Marinas*. 6(1):79-86.
- Arellano-Moncayo, E. 1990. Guías técnicas en el cultivo de larvas de camarones. ESPOL, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. Guayaquil, Ecuador. 41 pp.
- Bligh, E. y W. Dyer. 1959. Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37:911-917.
- Burgueño-Loaiza, R. 2002. Efecto de la temperatura y de la luz sobre la composición y el valor dietético de la microalga *Isochrysis* "Tahiti" para el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 55 pp.
- Carić, M., J. Sanko-Njire y B. Skaramuca. 1993. Dietary effects of different feeds on the biochemical composition of the rotifer (*Brachionus plicatilis* Müller). *Aquaculture*. 110:141-150.
- Conover, W.J. 1980. *Practical nonparametric statistics*. 2ª ed. John Wiley & Sons, New York. 493 pp.
- Cordero-Esquivel, B. 1998. Notas del curso: Principios sobre el cultivo de microalgas. Evaluación de la calidad de la biomasa producida. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B.C., México. 11 pp.
- Correa-Sandoval, F. y L.F. Bückle-Ramírez. 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista de Biología Tropical*. 41(1):103-110.
- Dhert, P. 1996. Rotifers. pp. 49-78. En: Lavens, P. y P. Sorgeloos. (Eds.). *Manual on the production and use of live food for aquaculture*. FAO Fisheries Technical Papers No. 361. 295 pp.

- Dhert, P., G. Rombaut, G. Suantika y P. Sorgeloos. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. *Aquaculture*. 200:129-146.
- Dubois, M., K.A. Guilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28:350-356.
- Emmerson, W.D. 1980. Ingestion, growth and development of *Penaeus indicus* larvae as a function of *Thalassiosira weissflogii* cell concentrations. *Marine Biology*. 58:65-73.
- Fielder, D.S., G.J. Purser y S.C. Battaglione. 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*. 189:85-99.
- Fukusho, K., O. Hara, y J. Yoshino. 1976. Mass production of rotifer fed *Chlorella* and yeast in the 40 ton tank. *Aquaculture*. 2:96-101.
- Fulks, W. y K.L. Main. 1991. Rotifer and microalgae culture systems. Argent Press, Redmond, Washington. 364 pp.
- Guevara-Ponce, E.Y. 2002. Evaluación del efecto de la temperatura y de la iluminación en cultivos semicontinuos de la diatomea *Chaetoceros muelleri* utilizada como alimento para larvas de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 57 pp.
- Guillard, R.R.L. y J.H. Rhyther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms 1.- *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*. 8:229-239.
- Hagiwara, A., W.G. Gallardo, M. Assavaaree, T. Kotani y A.B. de Araujo. 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. *Aquaculture*. 200:111-127.
- Hasan, M.R. 2001. Nutrition and feeding for sustainable aquaculture development in the third millennium. pp.193-219. En Subasinghe R.P., P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery y J.R. Arthur. (Eds.) *Aquaculture in the Third Millennium*. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000.
- Hemerick, G. 1973. Mass culture. pp. 255-273. En: *Handbook of phycological methods*. Stein, J.R. (Eds.). Cambridge University Press. London.
- Hernández-González, C. 1997. Determinación de la calidad de las postlarvas de *Penaeus vannamei* de diferente edad producidas en un laboratorio comercial. Tesis de

Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa, México. 62 pp.

- Hirata, H. 1979. Marine zooplankton culture in a feeding system. Special Report. European Mariculture Society. (4):377-388.
- Hirata, H., S. Yamasaki, I. Hirata, y K. Mae. 1980. Marine zooplankton culture in batch system. Proceedings of the Szymberk Conference on Aquaculture.
- Hoff, F.H. y T.W. Snell. 1999. Plankton Culture Manual. Fifth edition. Florida Aquafarms Inc. Dade City, Florida. 160 pp.
- Ivleva, I.V. 1970. The influence of temperature on the transformation of matter in marine invertebrates. pp. 96-112. En: Marine Food Chains. Steele, J.H. (Ed.). Oliver y Boyd. Edinburgh.
- Jia, J., U. Wijkstrom, R.P. Subasinghe, y U. Barg. 2001. Aquaculture development beyond 2000: global prospects, Keynote Address II. pp.9-12. En Subasinghe R.P., P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery y J.R. Arthur. (Eds.) Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000.
- Kitajima, C., T. Arakawa, F. Cowa, S. Fujita, O. Imada, T. Watanabe, y Y. Yone. 1980a. Dietary value for red sea bream larvae of rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with a new type of yeast. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 46: 43-46.
- Kitajima, C., T. Arakawa, F. Cowa, S. Fujita, O. Imada, T. Watanabe, y Y. Yone.. 1980b. Dietary value for ayu *P. altivelis* of rotifer *Brachionus plicatilis* cultured with baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 46: 47-50.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Papers. 361, 295 pp.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos. 2000. The history, present status and prospects of availability of *Artemia* cysts for aquaculture. Aquaculture. 181:397-403.
- Leal, S., E. Alfonso y A. Gainza. 1985. Recomendaciones sobre la alimentación de larvas de *Penaeus notialis* y *P. schmitti* en cultivo. Revista de Investigaciones Marinas. 6(1):87-93.
- Lester, L.J. y Pante, M.J.R. 1992. Penaeid temperature and salinity responses. 515-534. En: Marine Shrimp culture: principles and practices. Fasto, A.W. y Lester, L.J. (Eds.). Elsevier Science Publishers. B.V. Amsterdam. 862 pp.

- López-Elías, J.A., M.C. Baéz-Dueñas, y N. Huerta-Aldaz. 1995. Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México. Publicación académica Serie Ciencias Marinas. 5:47 pp.
- López-Elías, J.A. 2002. Evaluación cuantitativa y cualitativa de los sistemas de producción de microalgas de seis laboratorios comerciales del noroeste de México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Universidad de Colima. Colima, Colima, México. 118 pp.
- Lowry, H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr y R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193:256-275.
- Lucien-Brun, O.H. 1997. Evolution of world shrimp production: fisheries and aquaculture. *World Aquaculture*. 28(4):21-33.
- Martínez-Córdova, L.R. 1993. Camaronicultura. Bases técnicas y científicas para el cultivo de camarones peneidos. A.G.T. editor S.A., México. 233 pp.
- Martínez-Córdova, L.R. 1999. Cultivo de camarones peneidos. Principios y prácticas. A.G.T. editor S.A., México. 283 pp.
- Mora, P. 1990. La optimización en el cultivo de las microalgas. *Acuicultura Internacional*. 1:18-20.
- Pande, S., R. Khan y T. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Analytical Biochemistry*. 6:415-423.
- Parr Instrument Company. 1991. 1425 Semimicro bomb calorimeter operating instruction manual No. 280MM.
- Parsons, T.R., Y. Maita, y C.M. Lalli. 1984a. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Ltd., Oxford. 173 pp.
- Parsons, T.R., M. Takahashi, y B. Hargrave. 1984b. Biological oceanographic processes. 3rd Ed., Pergamon Press, Oxford. 330 pp.
- Peraza Contreras, P.Y. 2002. Efecto de la luz y de la temperatura sobre la composición bioquímica y la velocidad de crecimiento de la microalga *Chaetoceros muelleri*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 51 pp.
- Ramírez-Partida, J. 1999. Efectos del producto de naturaleza zeolítica ZESEP 56 sobre el crecimiento y la calidad dietética de microalgas de agua dulce y marina. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, México. 57 pp.

- Reyes-Zamorano, D.I. 2002. Influencia de la temperatura y de la intensidad de luz sobre la composición y el valor dietético de la diatomea *Chaetoceros calcitrans* para la cría de larvas de *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 59 pp.
- Roberts, Jr. M.H. 1974. Larval development of *Pagurus longicarpus* Say reared in the laboratory. V. Effect of diet on survival and molting. *Biological Bulletin*. 146:67-77.
- Rodríguez-Rodríguez, B.B. 2002. Análisis económico de un laboratorio comercial de producción de larvas de camarón en la región central del estado de Sonora, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora, México. 89 pp.
- Sánchez Saavedra, M.P. 1994. Efecto de la luz sobre el crecimiento, la composición bioquímica y el valor alimenticio de *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae). Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, Baja California, México. 90 pp.
- Sarma, S.S.S. y T.R. Rao. 1991. The combined effects of food and temperature on life history parameters of *Brachionus patulus* Müller (Rotifera). *Internationale Revue des gesamten Hydrobiologie*. 76(2):225-239.
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. pp.321-343. En: Stein, J. (Eds.). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurement*. Cambridge University Press, Cambridge and New York.
- Strickland, J.D. y J.R. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis* (2nd ed.) Fisheries Research Board of Canada Bulletin. 169:1-310.
- Swick, R.A. y M.C. Cremer. 2001. Livestock production: a model for aquaculture?, Guest Lecture. pp. 49-60. En Subasinghe R.P., P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery y J.R. Arthur. (Eds.) *Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000*.
- Tacon, A.G.J. 1990. *Standard methods for the nutrition and feeding of fish and shrimp*. Vol. I. Argent Laboratories Press. Redmond, Washington. 117 pp.
- Tacon, A.G.J. 2000. Increasing the contribution of acuaculture for food security and poverty alleviation. pp. 101-106. En: *Conference on aquaculture in the third millenium. Network of Aquaculture Centers in Asia Pacific and Food and Agriculture Organization of the United Nations (NACAP-FAO)*. Bangkok, Thailand.

- Van Stappen, G. 1996. Introduction, biology and ecology of *Artemia*. pp. 79-106. En: Lavens, P. y P. Sorgeloos. (Eds.). Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Papers. 361. FAO, Roma.
- Villegas, C.T. y A. Kanasawa. 1979. Relationship between diet composition and growth of zoeal and mysis stages of *Penaeus japonicus* (Bate). Fisheries Research Journal of the Philippines. 4(2):32-40.
- Voltolina, A.L. y Voltolina, D. 1976. Osservazioni sul regime alimentare delle larve di *Penaeus dourarum notialis* Pérez Farfante in condizioni de laboratorie. Biologia contemporanes. 3:166-168.
- Voltolina, D., F.L. Bückle-Ramírez y E.L. Morales-Guerrero. 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas (2da. Ed.). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B. C., México. Informe Especial OC-89-01, 67 pp.
- Watanabe, T. 1987. Nutritive value of plankton for fish larvae in the view point of lipids. Fisheries Series. 22:93-111.
- Whyte, J.N.C. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture. 60:231-241.
- Yúfera, M., A. Rodríguez y L.M. Lubián. 1984. Zooplankton ingestion and feeding behavior of *Penaeus kerathurus* larvae reared in the laboratory. Aquaculture. 42: 217-224.
- Yúfera, M. y L.M. Lubián. 1990. Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. pp. 209-227. En: Introduction to applied phycology. Akatsuka, I. (Eds.). SPB Academic Publishing bv. The Hague. 683 pp.
- Zar, J.H. 1996. Biostatistical analysis. (3a ed.). Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N. J. 662 pp.

VIII.- ANEXOS.

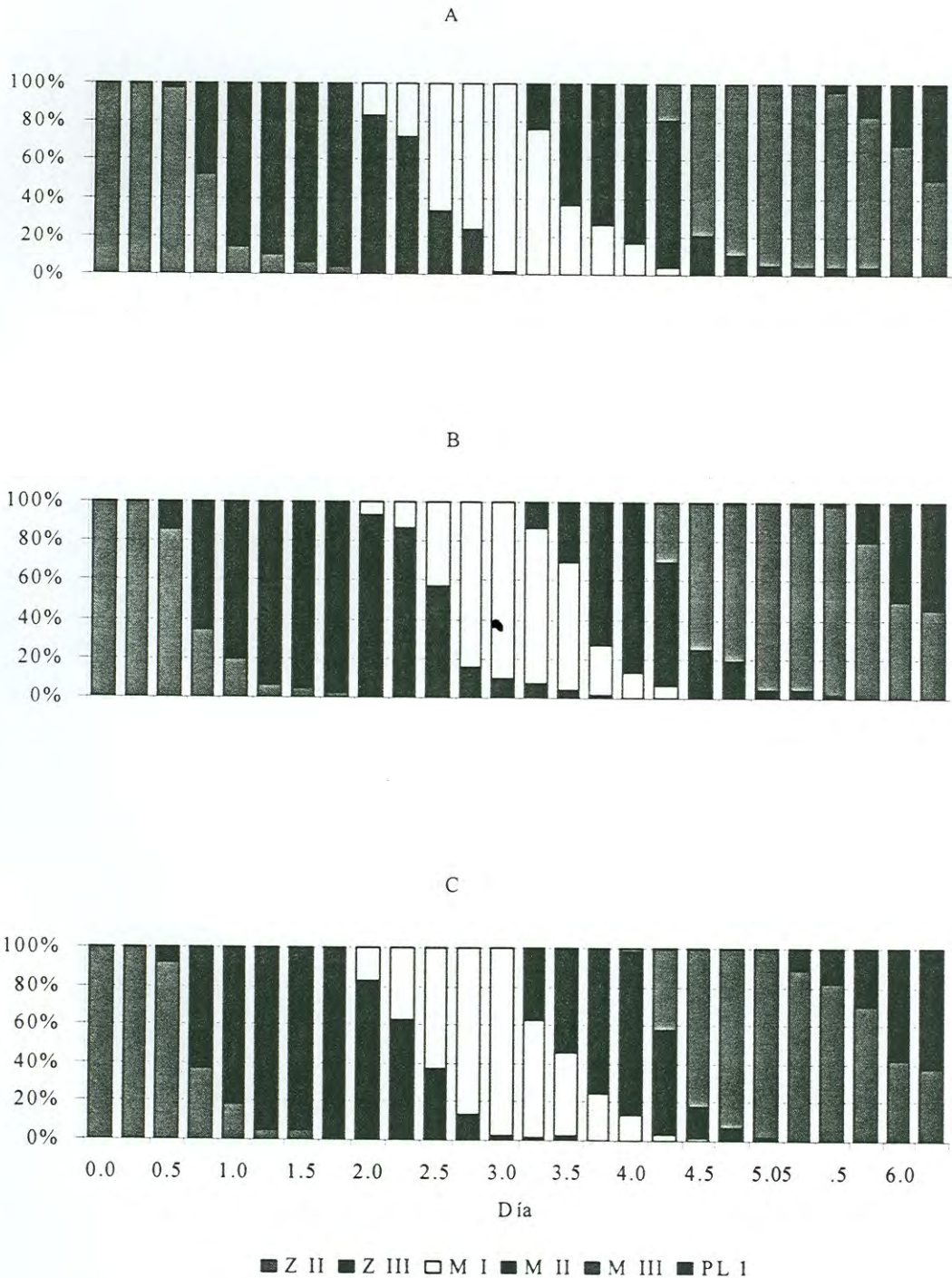
Anexo 1.- Porcentaje de presencia de las etapas de desarrollo larval registradas en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia*, (B) rotíferos a partir de mysis I y (C) rotíferos a partir de zoea III.

Anexo 2.- Porcentaje de presencia de las etapas de desarrollo larval registradas en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia*, (B) rotíferos a partir de mysis I y (C) rotíferos a partir de zoea III.

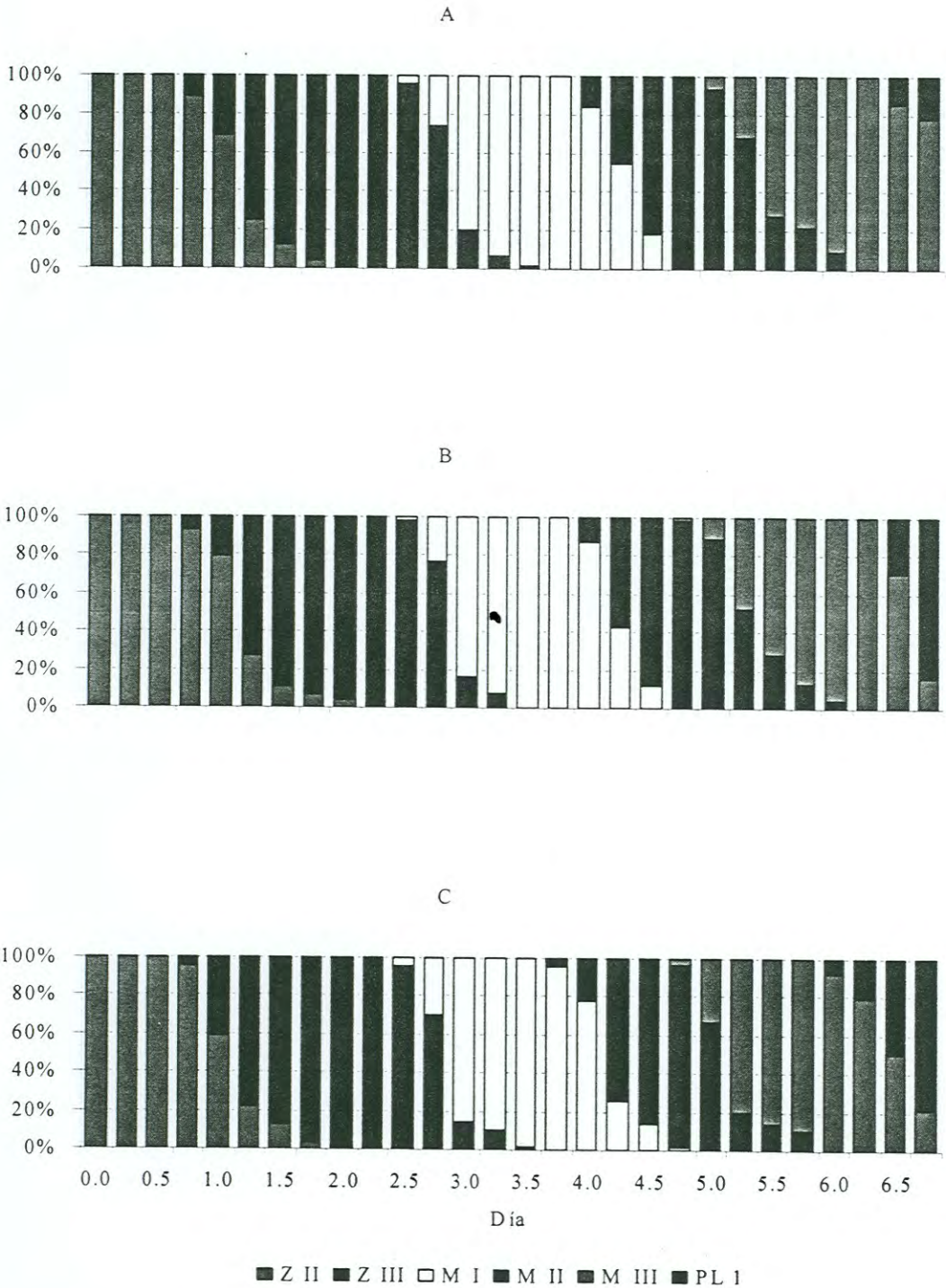
Anexo 3.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (K_1) en mg de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en calorías (cal). Valores calculados como FCA y $K_1 \cdot \text{larva}^{-1} \cdot \text{Células} \times 10^6$. (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.

Anexo 4.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (K_1) en g de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en kilocalorías (Kcal). Valores calculados como FCA y $K_1 \cdot 1500 \text{ larvas}^{-1}$ con base en la sobrevivencia real media. * $\text{Células} \times 10^9$, • $\text{Organismos} \times 10^6$. (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.

Anexo 5.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (K_1) en g de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en kilocalorías (Kcal). Valores calculados como FCA y $K_1 \cdot 1500 \text{ larvas}^{-1}$ con base en una sobrevivencia media del 60% (Arellano-Moncayo, 1990). * $\text{Células} \times 10^9$, • $\text{Organismos} \times 10^6$. (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.



Anexo 1.- Porcentaje de presencia de las etapas de desarrollo larval registradas en el primer experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia*, (B) rotíferos a partir de mysis I y (C) rotíferos a partir de zoea III.



Anexo 2.- Porcentaje de presencia de las etapas de desarrollo larval registradas en el segundo experimento de alimentación de larvas de *Litopenaeus vannamei* con (A) *Artemia*, (B) rotíferos a partir de mysis I y (C) rotíferos a partir de zoea III.

	Fitoplancton			Zooplancton			Σ			Larvas			Eficiencia %	
	S	C		S	C		S	C		I	F	Δ	FCA	KI
EXP 1	No. Organismos	*3.800	*2.495	150	146					I	I			
	PST (mg)	0.349	0.229	0.386	0.376	0.735	0.606	0.024	0.077	0.053	0.077	0.053	7.18%	8.72%
	PO (mg)	0.172	0.113	0.312	0.304	0.485	0.418	0.013	0.063	0.050	0.063	0.050	10.40%	12.07%
	cal	0.790	0.519	2.365	2.306	3.155	2.825	0.067	0.328	0.260	0.328	0.260	8.25%	9.22%
EXP 2	No. Organismos	*4.133	*1.889	150	146					I	I			
	PST (mg)	0.380	0.174	0.386	0.376	0.766	0.550	0.009	0.058	0.049	0.058	0.049	6.39%	8.91%
	PO (mg)	0.188	0.086	0.312	0.304	0.500	0.390	0.008	0.054	0.045	0.054	0.045	9.10%	11.66%
	cal	0.860	0.393	2.365	2.303	3.224	2.696	0.045	0.265	0.220	0.265	0.220	6.81%	8.15%
EXP 1	No. Organismos	*3.800	*3.002	900	831					I	I			
	PST (mg)	0.349	0.276	0.746	0.689	1.095	0.965	0.024	0.093	0.069	0.093	0.069	6.30%	7.15%
	PO (mg)	0.172	0.136	0.353	0.326	0.525	0.462	0.013	0.069	0.056	0.069	0.056	10.75%	12.22%
	cal	0.790	0.624	3.622	3.344	4.413	3.968	0.067	0.345	0.278	0.345	0.278	6.29%	7.00%
EXP 2	No. Organismos	*4.133	*2.63	900	848					I	I			
	PST (mg)	0.380	0.242	0.746	0.703	1.126	0.944	0.009	0.077	0.068	0.077	0.068	6.03%	7.18%
	PO (mg)	0.188	0.119	0.353	0.332	0.540	0.452	0.008	0.074	0.065	0.074	0.065	12.03%	14.40%
	cal	0.860	0.547	3.622	3.411	4.482	3.958	0.045	0.363	0.318	0.363	0.318	7.10%	8.04%
EXP 1	No. Organismos	*3.800	*3.163	940	866					I	I			
	PST (mg)	0.349	0.291	0.779	0.718	1.128	1.008	0.024	0.134	0.110	0.134	0.110	9.71%	10.86%
	PO (mg)	0.172	0.144	0.368	0.339	0.541	0.483	0.013	0.083	0.070	0.083	0.070	12.95%	14.51%
	cal	0.790	0.658	3.783	3.485	4.574	4.142	0.067	0.432	0.364	0.432	0.364	7.97%	8.80%
EXP 2	No. Organismos	*4.133	*2.822	980	932					I	I			
	PST (mg)	0.380	0.259	0.813	0.773	1.192	1.032	0.009	0.075	0.066	0.075	0.066	5.52%	6.37%
	PO (mg)	0.188	0.128	0.384	0.365	0.572	0.493	0.008	0.070	0.061	0.070	0.061	10.75%	12.46%
	cal	0.860	0.587	3.944	3.752	4.804	4.339	0.045	0.342	0.297	0.342	0.297	6.18%	6.84%

Anexo 3.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (KI) en mg de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en calorías (cal). Valores calculados como FCA y $K_1 \cdot \text{larva}^{-1}$. * Células $\times 10^6$. (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.

	Fitoplankton			Zooplankton			Σ			Larvas			Eficiencia %		
	S	C	S	S	C	•	S	C	•	I	F	Δ	FCA	KI	
A	No. Organismos	*3.807	*2.396	•0.075	•0.074		1500			1500	297				
	PST (g)	0.350	0.220	0.194	0.191	0.544	0.411	0.411	0.037	0.037	0.023	-0.014	-2.51%	-3.32%	
	PO (g)	0.173	0.109	0.157	0.154	0.330	0.263	0.263	0.019	0.019	0.019	-0.001	-0.19%	-0.24%	
	Kcal	0.792	0.498	1.189	1.169	1.981	1.667	1.667	0.101	0.101	0.097	-0.004	-0.19%	-0.23%	
B	No. Organismos	*4.838	*2.256	•0.106	•0.103		1500			1500	240				
	PST (g)	0.444	0.207	0.273	0.265	0.717	0.472	0.472	0.014	0.014	0.014	0.000	0.00%	0.00%	
	PO (g)	0.219	0.102	0.220	0.214	0.440	0.317	0.317	0.013	0.013	0.013	0.000	0.05%	0.07%	
	Kcal	1.006	0.469	1.669	1.625	2.675	2.094	2.094	0.067	0.067	0.063	-0.004	-0.14%	-0.18%	
C	No. Organismos	*3.698	*2.682	•0.455	•0.424		1500			1500	241				
	PST (g)	0.340	0.246	0.377	0.351	0.717	0.598	0.598	0.037	0.037	0.023	-0.014	-1.96%	-2.35%	
	PO (g)	0.168	0.122	0.178	0.166	0.346	0.288	0.288	0.019	0.019	0.017	-0.003	-0.79%	-0.95%	
	Kcal	0.769	0.558	1.830	1.705	2.599	2.263	2.263	0.101	0.101	0.083	-0.018	-0.69%	-0.79%	
D	No. Organismos	*5.147	*3.009	•0.898	•0.849		1500			1500	800				
	PST (g)	0.473	0.285	0.744	0.704	1.217	0.989	0.989	0.014	0.014	0.062	0.048	3.92%	4.83%	
	PO (g)	0.233	0.141	0.352	0.333	0.585	0.473	0.473	0.013	0.013	0.059	0.046	7.87%	9.73%	
	Kcal	1.070	0.645	3.614	3.418	4.684	4.062	4.062	0.067	0.067	0.290	0.223	4.77%	5.49%	
E	No. Organismos	*4.017	*3.172	•0.577	•0.538		1500			1500	295				
	PST (g)	0.369	0.291	0.478	0.446	0.847	0.737	0.737	0.037	0.037	0.040	0.003	0.35%	0.40%	
	PO (g)	0.182	0.144	0.226	0.211	0.408	0.355	0.355	0.019	0.019	0.024	0.005	1.23%	1.42%	
	Kcal	0.835	0.660	2.320	2.166	3.156	2.825	2.825	0.101	0.101	0.127	0.026	0.83%	0.93%	
F	No. Organismos	*5.132	*3.335	•0.949	•0.909		1500			1500	596				
	PST (g)	0.471	0.306	0.787	0.754	1.258	1.060	1.060	0.014	0.014	0.045	0.031	2.45%	2.90%	
	PO (g)	0.233	0.151	0.372	0.356	0.605	0.508	0.508	0.013	0.013	0.042	0.029	4.79%	5.70%	
	Kcal	1.067	0.694	3.818	3.659	4.886	4.352	4.352	0.067	0.067	0.204	0.136	2.79%	3.13%	

Anexo 4.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (K₁) en g de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en kilocalorías (Kcal). Valores calculados como FCA y K₁·1500 larvas⁻¹ con base en la sobrevivencia real media. * Células x 10⁹, • Organismos x 10⁶. (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.

	Fitoplancton				Zooplancton				Σ				Larvas				Eficiencia %	
	S	C	S	C	S	C	S	C	S	C	I	F	A	FCA	KI			
A	No. Organismos	*4.410	*2.881	*0.162	*0.158						1500	900						
	PST (g)	0.405	0.265	0.417	0.407	0.822	0.671	0.037	0.069	0.033	0.037	0.069	0.033	4.00%	4.90%			
	PO (g)	0.200	0.131	0.337	0.329	0.537	0.460	0.019	0.057	0.038	0.019	0.057	0.038	7.00%	8.18%			
	Kcal	0.917	0.599	2.554	2.492	3.471	3.091	0.101	0.295	0.194	0.101	0.295	0.194	5.59%	6.27%			
B	No. Organismos	*4.760	*2.187	*0.158	*0.153						1500	900						
	PST (g)	0.437	0.201	0.405	0.395	0.843	0.596	0.014	0.052	0.038	0.014	0.052	0.038	4.56%	6.46%			
	PO (g)	0.216	0.099	0.328	0.319	0.544	0.418	0.013	0.049	0.036	0.013	0.049	0.036	6.59%	8.56%			
	Kcal	0.990	0.455	2.483	2.418	3.473	2.873	0.067	0.238	0.171	0.067	0.238	0.171	4.92%	5.94%			
C	No. Organismos	*4.410	*3.462	*0.972	*0.898						1500	900						
	PST (g)	0.405	0.318	0.806	0.744	1.211	1.062	0.037	0.084	0.047	0.037	0.084	0.047	3.92%	4.47%			
	PO (g)	0.200	0.157	0.381	0.352	0.581	0.509	0.019	0.062	0.043	0.019	0.062	0.043	7.40%	8.45%			
	Kcal	0.917	0.720	3.912	3.614	4.829	4.334	0.101	0.311	0.210	0.101	0.311	0.210	4.34%	4.83%			
D	No. Organismos	*4.760	*2.187	*0.945	*0.890						1500	900						
	PST (g)	0.437	0.201	0.783	0.738	1.221	0.939	0.014	0.069	0.055	0.014	0.069	0.055	4.54%	5.91%			
	PO (g)	0.216	0.135	0.370	0.349	0.586	0.483	0.013	0.066	0.053	0.013	0.066	0.053	9.11%	11.05%			
	Kcal	0.990	0.455	3.803	3.582	4.793	4.037	0.067	0.327	0.260	0.067	0.327	0.260	5.41%	6.43%			
E	No. Organismos	*4.410	*3.656	*1.020	*0.940						1500	900						
	PST (g)	0.405	0.336	0.846	0.780	1.251	1.115	0.037	0.121	0.084	0.037	0.121	0.084	6.71%	7.53%			
	PO (g)	0.200	0.166	0.400	0.369	0.600	0.534	0.019	0.075	0.055	0.019	0.075	0.055	9.21%	10.34%			
	Kcal	0.917	0.760	4.105	3.784	5.022	4.545	0.101	0.389	0.288	0.101	0.389	0.288	5.73%	6.33%			
F	No. Organismos	*4.760	*3.201	*1.041	*0.991						1500	900						
	PST (g)	0.437	0.294	0.863	0.821	1.300	1.115	0.014	0.068	0.054	0.014	0.068	0.054	4.12%	4.80%			
	PO (g)	0.216	0.145	0.408	0.388	0.624	0.533	0.013	0.063	0.050	0.013	0.063	0.050	8.05%	9.41%			
	Kcal	0.990	0.666	4.190	3.987	5.180	4.653	0.067	0.307	0.240	0.067	0.307	0.240	4.64%	5.16%			

Anexo 5.- Cálculos del factor de conversión del alimento suministrado (FCA) y consumido (K_i) en g de peso seco total (PST) y orgánico (PO) y en kilocalorías (Kcal). Valores calculados como FCA y K_i·1500 larvas⁻¹ con base en una sobrevivencia media del 60% (Arellano-Moncayo, 1990). * Células x 10⁶, • Organismos x 10⁹, • Células x 10⁶, (S) alimento suministrado, (C) alimento consumido, (I) inicial, (F) final.