



639.543
ESP

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

FACULTAD DE INGENIERÍA MARÍTIMA Y CIENCIAS DEL MAR

“Evaluación del efecto de dietas artificiales experimentales en el
rendimiento reproductivo de *Penaeus vannamei*”



Tesis de Grado



Previa a la obtención del título de:



Acuicultor

Presentada por:

Marcos A. Espin Riofrio.



CIB

D-27021

Guayaquil - Ecuador

DEDICATORIA

A mis padres, César y Rosario, gracias por estar siempre conmigo, por apoyarme en todo momento y por brindarme todo su amor.

A mis hermanos, Miryam, Silvia y César, por su cariño, por darme sus sabios consejos y por enseñarme que nada es imposible si uno tiene la voluntad y el deseo de hacerlo.

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, corresponden exclusivamente a su autor, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado corresponderá a la Escuela Superior Politécnica del Litoral”

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL)



Marcos Espin R.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar gracias a Dios, por ser luz y guía en el duro caminar de la vida..

Al Centro Nacional de **Acuacultura** e Investigaciones Marinas (CENAIM), en especial a su director Dr. Jorge Calderón e Inge Vissers, por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo. Gracias Inge por tu incondicional apoyo y por haber hecho más agradable mi estadía en el centro.

Al laboratorio Granjas Marinas-El Rosario, y en especial a su Gerente de Producción, Blgo. David Garriquez. Gracias por las facilidades prestadas, y por la confianza brindada para la realización de los ensayos de este trabajo.

A **Roeland** Wouters, mi director de tesis, mi maestro y sobre todo, un gran amigo. Gracias por haberme guiado sabiamente durante el transcurso de este trabajo. Gracias por apoyarme, por darme el ánimo suficiente para salir adelante, y no desmayar en los momentos más **difíciles** de esta tesis.

A Eduardo Reyes y Anita Gutiérrez, por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, por aguantar mis malos ratos y las malas bromas, por las trasnochadas, y lo más importante, la bonita amistad que me supieron brindar.

A Rubén Guerrero, Patricio Orellana, **Karina** Ponce, Víctor Otero, Luis Toro, Eduardo Cadena y Leonardo Bastidas, compañeros y amigos, Compartimos juntos la ilusión de sacar adelante nuestros proyectos. Mil gracias por todo. Y que viva el COFINAIK

A todos mis amigos del CENAIM, gracias por todo.

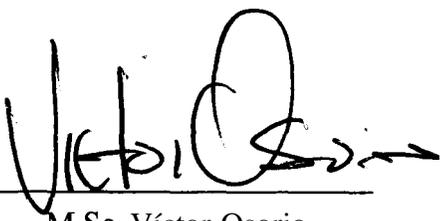
Finalmente, un sincero agradecimiento a Juan F. Valdivieso. Gracias amigo por escucharme, por compartir tu sincera amistad conmigo y por darme ánimo cuando lo necesité.



Ing. Bolívar Vaca
Presidente Tribunal



M. Sc. César Molina
Director de Tesis



M.Sc. Víctor Osorio
Primer Vocal



Ac. Henry Alvarez
Segundo Vocal

ABREVIATURAS

%	tanto por ciento
°C	grados Celsius
ANCOVA	Análisis de covarianza
ANOVA	Análisis de varianza
DI-IA	Acido docohexanoico
EDTA	Acido di etilen amino tetra acético
EPA	Acido eicosapentanoico
GEH	Hormona Estimuladora de la Gónada
GIH	Hormona Inhibidora de la Gónada
IES	Indice Espermiosomático
IGS	Indice Gonadosomático
IHS	Indice Hepatosomático
ppm	partes por millón
ppt	partes por mil
PUFA's	Acidos Grasos Poliinsaturados
PVC	Cloruro de polivinilo
r.p.m.	revoluciones por minuto
TM	Toneladas Métricas

TABLA DE CONTENIDO

ABREVIATURAS	I
TABLA DE CONTENIDO	II
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
RESUMEN	VIII
INTRODUCCIÓN	1
1. ANTECEDENTES	3
1.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS	3
1.1.1. Sistema reproductivo	5
1.1.1.1. Sistema reproductivo de la hembra	5
1.1.1.2. Sistema reproductivo del macho	7
1.1.2. Reproducción	9
1.1.3. Eclosión y desarrollo larval	9
1.1.4. Extirpación del pedúnculo ocular	10
1.2. REPRODUCCIÓN A NIVEL COMERCIAL	13
1.2.1. Generalidades	13
1.2.2. Parámetros físicos a considerar	13
1.3. ASPECTOS NUTRICIONALES	16
1.3.1. Requerimientos nutricionales	16
1.3.1.1. Proteínas y aminoácidos	17



1.3.1.2. Hidratos de carbono	18
1.3.1.3. Lípidos	18
1.3.1.4. Vitaminas y minerales	20
1.3.1.5. Carotenoides	22
1.3.2. Alimentación	24
1.3.2.1. Alimentos frescos	24
1.3.2.2. Artemia	25
1.3.3. Dietas artificiales	27
2. MATERIALES Y MÉTODOS	29
2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL	29
2.2. DIETAS EXPERIMENTALES	29
2.2.1. Tratamiento A	29
2.2.2. Tratamiento B	30
2.2.3. Tratamiento C	30
2.2.4. Régimen alimenticio	30
2.2.5. Elaboración de alimento seco	31
2.2.6. Calidad de las dietas secas	32
2.2.6.1. Humedad	32
2.2.6.2. Estabilidad	33
2.2.7. Formulación de las dietas artificiales	34
2.3. INFRAESTRUCTURA Y CONDICIONES DE OPERACIÓN	35

2.3.1. Maduración	35
2.3.2. Desove	35
2.3.3. Eclosión	36
2.3.4. Parámetros físicos	36
2.3.5. Limpieza y desinfección	37
2.4. PROTOCOLOS	37
2.4.1. Captura y transporte	37
2.4.2. Aclimatación y siembra de reproductores	38
2.4.3. Ablación	40
2.4.4. Búsqueda de la hembra copulada	40
2.4.5. Desove	40
2.4.6. Rutina diaria	41
2.5. PARÁMETROS EVALUADOS	42
2.5.1. Muestreo de huevos	42
2.5.2. Fecundidad y porcentaje de eclosión	42
2.5.3. Desarrollo larval	43
2.5.4. Calidad del espermátforo y conteo de esperma	43
2.5.5. Índice Gonadosomático y Hepatosomático	44
2.6. EVALUACIÓN DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO	45
3. RESULTADOS	47
3.1. EXPERIMENTO 1	47

3.2. EXPERIMENTO 2	52
DISCUSIÓN TÉCNICA	58
CONCLUSIONES	62
RECOMENDACIONES	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición nutricional (porcentual) de la <i>Artemia</i>	27
Tabla 2. Porcentaje diario de alimentación	32
Tabla 3. Horario de alimentación	32
Tabla 4. Supervivencia de los reproductores	49
Tabla 5. Resumen de las regresiones obtenidas entre las covariantes y los parámetros de evaluación	50
Tabla 6. Tamaño y calidad de los desoves	51
Tabla 7. Resultados de producción por hembra	52
Tabla 8. Supervivencia de los reproductores	54
Tabla 9. Resumen de las regresiones obtenidas entre las covariantes y los parámetros de evaluación por hembra productiva	56
Tabla 10. Resultados de producción por hembra productiva	57
Tabla 11. Tamaño y calidad de los desoves	58
Tabla 12. Análisis de calidad de machos	60



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema reproductivo de la hembra	6
Figura 2. Sistema reproductivo del macho	7
Figura 3. Mecanismo de desintegración del espermátóforo en el agua	8
Figura 4. Producción total por tratamiento	53
Figura 5. Producción total por tratamiento	59



RESUMEN

Dos ensayos nutricionales a escala comercial, fueron realizados para comprobar el efecto de la utilización de dietas artificiales y la sustitución parcial de los alimentos frescos, en el rendimiento reproductivo de *Penaeus vannamei*. Para este propósito, un total de 700 reproductores fueron utilizados en cada experimento. Hembras ablacionadas e identificadas fueron sembradas en seis tanques de maduración, con una relación macho: hembra de 1: 1. Tres tratamientos fueron evaluados en cada experimento. El primero se basó en la sustitución del 50% de los alimentos frescos del régimen alimenticio, con una dieta artificial. El segundo tratamiento, similar al primero incluyó una dieta artificial, a la que se incorporó un suplemento de harina de *Artemia*, y el tercer tratamiento (control) basado en el régimen alimenticio del laboratorio comercial. En la parte experimental, cada hembra fue considerada como réplica y además, un set experimental fue utilizado para realizar un control de la eclosión y la calidad de los nauplios. Los resultados estadísticos del primer experimento, no demostraron diferencias significativas en lo referente a los datos generales de producción por desove y producción por hembra, debido a las altas mortalidades presentadas en este ensayo, así como la variabilidad de los datos obtenidos. En este experimento, solo hubieron indicativos de un posible efecto de las dietas artificiales sobre los reproductores, siendo esto observado en los resultados totales de producción, donde la cantidad de huevos, nauplios y zoeas se vió incrementada en los tratamientos que sustituían los alimentos frescos con respecto al tratamiento control. Este mismo efecto se pudo observar en el segundo experimento, donde el tratamiento que incluía harina de *Artemia* en la sustitución parcial de los alimentos frescos, fue superior a los

otros tratamientos. Por otra parte, diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos B y C, fueron detectadas en cuanto a los resultados obtenidos por hembra productiva (número de huevos, eclosión y % de Zoeas). Estos resultados llevaron a concluir que la sustitución del 50% alimentos frescos con una dieta artificial, así como la total independencia de la biomasa de *Artemia* y poliqueto, es factible, y el rendimiento reproductivo de *P. vannamei* se ve mejorado con la inclusión de harina de *Artemia* en la dieta artificial.

INTRODUCCION

En el Ecuador, las camaronerías dependen de la captura de postlarvas o semillas que son recolectadas en estuarios y áreas costeras por pescadores artesanales, pero éstas desafortunadamente escasean en determinadas épocas del año (Arellano *et al.* 1984). Por esta razón, y en vista que el 13% de los laboratorios comerciales existentes están en capacidad de desovar hembras y criar larvas, y sólo en el 7% se puede inducir la gravidez de las hembras, además de criar larvas (Krauss *et al.*, 1998), es necesario optimizar las técnicas de maduración de reproductores en cautiverio con el fin de no depender del medio natural.

Un punto muy importante constituye la elaboración de dietas artificiales para maduración de reproductores, ya que ofrecen algunas ventajas sobre el uso de alimentos frescos entre las que tenemos: son de fácil uso, suministro de nutrientes necesarios para inducir la maduración, se puede manipular la constitución de la dieta cuando se requiera, etc., cosas que no se pueden lograr con los alimentos frescos cuyos principales limitantes son la disponibilidad y la contaminación que pueden ocasionar al descomponerse en el agua.

Actualmente, las dietas utilizadas para reproducción de camarones a nivel comercial son utilizadas para sustituir sólo del 5 al 20% del alimento fresco, considerándose como ideal que el porcentaje de sustitución sea elevado al 50% de la dieta, para obtener un impacto significativo. Con este valor se han obtenido buenos resultados en ensayos

preliminares dentro del **CENAIM**, con lo cual se espera que se repitan al aplicarse las dietas en pruebas dentro de un laboratorio comercial.

1. ANTECEDENTES

1.1. ASPECTOS BIOLÓGICOS

Las especies de camarones peneidos, comúnmente conocidos en aguas americanas, pertenecen al subgénero *Litopenaeus*. De estas especies, tres de ellos están limitados al océano Pacífico y son: *Penaeus occidentalis* & *Penaeus stylirostris* y *Penaeus vannamei*; y dos se encuentran en el océano Atlántico, *Penaeus schmitti* y *Penaeus setiferus*. Todos ellos pertenecen al grupo de camarones de **télico** abierto, grupo en el cual se puede resaltar, que el **télico** y el petasma son más primitivos que en especies de otros géneros, derivando así su ubicación en la escala zoológica:

Phylum: Arthropoda
Clase: Crustácea
Subclase: Malacostraca
Serie: Eumalacostraca
Superorden: Eucarida
Orden: Decápoda
Infraorden: Penaeoidea
Familia: Penaeidae
Genero: Penaeus
Subgénero: Litopenaeus
Especie: vannamei

(Pérez-Farfante, 1988, en: Wyban & Sweeney, 1991)

Recientemente, se sugiere nombrar a las especies anteriormente mencionadas con la palabra *Litopenaeus*, correspondiendo al nuevo género presentado por Farfante & Kensley en 1997 (tomado de revista Panorama Acuícola, 1998). Sin embargo, la generalización del nuevo género aún no ha sido del todo aceptada, por lo que, para efecto de este trabajo se seguirá utilizando como género al término *Penaeus*.

1.1.1. Sistema reproductivo

1.1.1.1. Sistema reproductivo de la hembra

Las hembras de camarones **peneidos** tienen un sistema reproductivo constituido por un par de ovarios, formados por cuerpos fusionados en forma bilateral y simétrica, que se extienden desde la **región** cardíaca del estómago hacia el telson. Los lóbulos abdominales que se originan de estos cuerpos, se encuentran adjuntos al intestino en la región del cefalotórax (King, 1948). Los oviductos se originan en los extremos del sexto y séptimo lóbulos laterales, y descienden hacia las aberturas genitales ubicadas en el tercer par de periópodos (Cummings, 1961). El **télico** de las hembras de camarones peneidos, está adaptado para proporcionar agarre o soporte al espermatóforo en animales de **télico** abierto (ver fig. 1), u originar un receptáculo seminal, en animales de **télico** cerrado, para almacenar y proteger el esperma hasta el tiempo del desove (Hudinaga, 1942; King, 1948; Turna, 1967; Pérez-Farfante, 1975; Bauer, 1986, *fide* Browdy *et al.*, 1992).

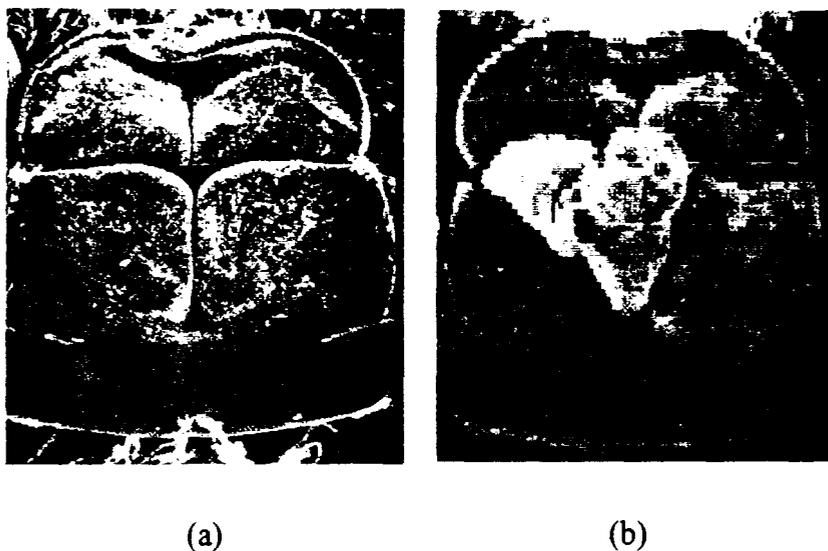


Fig. 1. Sistema reproductivo de la hembra: a) Vista de la región ventral del cefalotórax de la hembra (tercer par de periópodos). b) Vista de la región ventral del cefalotórax de la hembra con el espermatóforo adherido (<http://www.shrimp/shrimpga.html>.)

Las hembras de **télico** abierto copulan durante el periodo de intermuda, cuando su exoesqueleto se encuentra duro o consistente. El espermatóforo que ha dejado adherido al **télico** el macho, es expuesto al agua corriente o circulante, y no hay modo de que el espermatozoide quede retenido después del desove como puede suceder en otras especies. Por otro lado, las especies de **télico** cerrado, deben copular cuando su cuerpo está blando, es decir, inmediatamente después de la muda. Una vez ocurrido esto, no pueden ser copuladas antes de la siguiente muda.

Las hembras maduras liberan un significativo número de huevos por desove, pudiendo variar entre 25000 y 700000, dependiendo de la especie, así como con el peso y tamaño de la hembra reproductora (Quackenbush, 1986). El tiempo que transcurre entre desove

y desove varía entre 5 a 30 días, dependiendo de las condiciones en las que se desarrolle el animal (Primavera, 1984).

1.1.1.2. Sistema reproductivo del macho

Los machos de camarones peneidos, poseen una estructura denominada petasma, presumiblemente responsable de la transferencia del espermátóforo hacia el **télico** de la hembra. La estructura del aparato reproductor del macho, está constituida por un par de testes, acompañados por vasos deferentes que culminan en ámpulas que dan origen a los espermátóforos, los cuales se comunican con el medio externo a través de los poros genitales o gonoporos, que se **sitúan** en la base del quinto par de periópodos (Petersen, 1996).

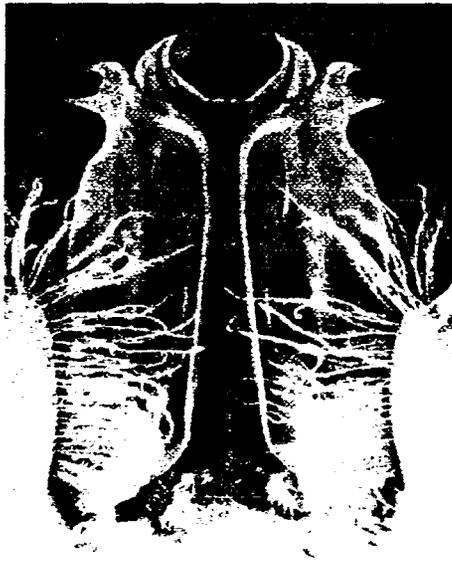


Fig. 2. Sistema reproductivo del macho: Fotografía del petasma con las terminaciones de los vasos deferentes. (<http://www.shrimp/shrimpga.html>.)

El esperma contenido dentro de los espermatóforos, se presenta como una masa viscosa y medianamente lechosa. Los espermias presentes son no móviles, de forma esférica y con una punta que se extiende desde la porción esférica (King, 1948). En *P. setiferus*, se ha encontrado que un adulto de 35 g puede llevar alrededor de 70 millones de espermatozoides en cada espermatóforo. El reconocimiento del grado de madurez en los machos de camarones peneidos, ha sido correlacionado con la estructura del petasma (Tirmizi & Javen, 1976, *fide* Bray & Lawrence, 1992), y con los cambios a nivel histológico que se producen en los testes y las ampollas terminales (Bray & Lawrence, 1992).

Aún no se conoce el mecanismo de expulsión de los espermias desde espermatóforo. En observaciones realizadas por Ogle (1994), con espermatóforos colocados en tubos con agua salada, no se pudo observar la ruptura o expulsión del esperma, incluso hasta después de cinco horas de exposición.



Fig. 3. Mecanismo de desintegración del espermatóforo en el agua. Expulsión de esperma. (<http://www.seahorse.com>)

1.1.2. Reproducción

El comportamiento precopulatorio, y la cópula en sí, han sido descritos en forma amplia para algunas especies. En 1988, **Yano et al.** describieron que los machos de *P. vannamei* nadan y copulan con hembras maduras en forma paralela, y con una posición ventral hacia éstas para poder insertar las ampollas seminales en el **télico**. Luego de la cópula, las hembras se presentan menos activas durante las últimas horas antes del desove.

La expulsión de los huevos ocurre cuando las hembras comienzan a nadar lentamente en la columna de agua, batiendo vigorosamente los pleópodos (Misamore, datos no publicados; Wyban & Sweeney, 1991), los huevos son depositados en el agua, y finalmente son mezclados con el esperma.

1.1.3. Eclosión y desarrollo larval

En un periodo de 9 a 11 horas después del desove (Primavera & Posadas, 1981), cuatro tipos de huevos han sido caracterizados o identificados en *Penaeus monodon*. Los nauplios desarrollados, realizan cinco metamorfosis durante un periodo de 58 horas antes de desarrollarse hacia zoea I. Tanto los nauplios como las zoeas recién originadas, dependen de las reservas de nutrientes proporcionadas por el saco vitelino (Browdy, 1992).

1.1.4. Extirpación del pedúnculo ocular

La extirpación del pedúnculo ocular o ablación, es considerada como método práctico para la inducción a la reproducción de hembras de camarones **peneidos** en cautiverio. Con esta técnica se logra reducir la acción inhibitoria sobre la reproducción, como resultado de la síntesis y liberación de la Hormona Inhibitoria de la **Gónada** (GIH), desde el complejo neurosecretor del pedúnculo ocular. Este complejo, está formado por un conjunto de células neurosecretoras denominado **órgano X**, que es el responsable de producir la hormona inhibidora. Por otro lado, existen algunas evidencias que células del ganglio **torácico** o cefálico, producen la Hormona Estimuladora de la Gónada (**GEH**). La acción antagónica de estas hormonas, junto con la acción de las hormonas estimuladoras e inhibitoras de la muda, rigen el ciclo reproductivo de los camarones (Petersen, 1996).

La extirpación del pedúnculo ocular consiste en realizar un corte en la base de este órgano, con el fin de extraerlo, y luego proceder a la cauterización de éste para prevenir la pérdida de hemolinfa (Caillouet, 1972), y además el apareamiento de posibles infecciones.

Otra técnica utilizada consiste, en realizar el corte del ojo, y exprimir su contenido mediante punción del pedúnculo ocular. En otros casos, se procede a ligar o amarrar con un pedazo de hilo la base del pedúnculo ocular, y se espera varios días para que el ojo caiga debido a la estrangulación que se produce (Primavera, 1984). Sin embargo,

para reducir el estrés, la ablación debe ser realizada en forma rápida y preferiblemente en agua fría, de ahí que los laboratorios de maduración se realiza la ablación temprano en la mañana cuando la temperatura aún es baja.

Como resultado de este proceso, se consigue una rápida maduración de la hembras, y una disminución en el periodo de recuperación de la misma. Los ovarios se presentan más reducidos, con un alto contenido de lípidos, y una mayor variabilidad en los **oocitos**. Estas diferencias presumiblemente, son consecuencia de la intensificación de la actividad hormonal que de las limitaciones ambientales o fisiológicas que se puedan presentar (Chamberlain, 1984)

El incremento en el potencial reproductivo, conlleva una alta demanda de energía por parte de las hembras reproductoras. Además, la remoción del pedúnculo ocular, produce efectos negativos dentro de la fisiología del animal, como el control de las hormonas de la muda, metabolismo, balance del **azúcar**, pigmentos, etc., todas ellas originadas en el pedúnculo ocular. Realizando una comparación con hembras que han madurado en el medio natural, la fecundidad y viabilidad de los desoves de las hembras ablacionadas se muestra inferior (**Browdy**, 1992). Además, aunque la preferencia de larvas silvestres aún es mayor que las producidas en sistemas comerciales, la tendencia actual está enfocada a mejorar los sistemas de maduración y reproducción, que permitan mejorar la calidad de larvas producidas en cautiverio.

En machos de camarones **peneidos** en estado de reproducción, se ha reportado que la extirpación **del** pedúnculo ocular incrementa el tamaño de la gónada, **así** como un desarrollo en la frecuencia de las cópulas. Sin embargo, con fines comerciales, la ablación en machos usualmente no es practicada, debido a que el grado de desarrollo del espermatóforo, no es considerado como un limitante en la producción de nauplios (Browdy, 1992).

En la actualidad, se están buscando alternativas para sustituir la técnica de la ablación del pedúnculo ocular, evitando así que se el animal no se vea afectado por el efecto de la manipulación al ablacionar. Estas alternativas pueden ser a través del bloqueo de la Hormona Inhibidora de la Gónada (GIH), o la identificación y el aislamiento de la Hormona Estimuladora de la Gónada (GEH), la cual sería **extraída** y suministrada posteriormente cuando se requiera que el animal madure. Además, con el uso de sustancias estimulantes, la aplicación de indicadores **bioquímicos** para determinar la calidad nutricional de reproductores, embriones y nauplios, selección genética y la criopreservación de gametos y embriones (Fingerman, 1996, Petersen, 1996), se **podría** lograr a futuro reducir los efectos negativos de la extirpación del pedúnculo ocular.

1.2. REPRODUCCION A NIVEL COMERCIAL

1.2.1. Generalidades

Para lograr la reproducción de camarones **peneidos** en cautiverio, ya sea comercialmente o en forma experimental, es necesario juntar una serie de factores o parámetros que permitan semejar el medio marino, lugar donde los camarones del género *Penaeus migran* para reproducirse, debido a que es un medio con salinidad y temperatura estables (Chamberlain, 1984). La optimización de estos factores, así como del diseño que se de al sistema, pueden ser claves en la estimulación natural que necesitan los animales durante la reproducción.

1.2.2. Parámetros físicos a considerar

Tanques

Los tanques de maduración, deben poseer un diámetro comprendido entre 3.65 – 4.5 m, y con 0.6 – 0.9 m de profundidad. Estas dimensiones se deben a que en estudios realizados, los animales durante el cortejo, necesitan recorrer una distancia aproximada de 3 m antes de copular, como reportó Magarelli Jr. (1981) con *P. stylirostris*, y Crocos & Korr (1986) con *P. esculentus*. El uso de vinil o recubrimientos de PVC, reduce los costos de construcción de los tanques, facilitando la limpieza y desinfección de los mismos (Browdy, 1992).

Una vez que han sido copuladas, las hembras son traspasadas a tanques individuales para el desove. Estos tanques deben ser de forma circular, con una capacidad de 100 a 150 L. Para evitar el estropeo de los huevos, una suave aireación es recomendada.

Posteriormente, recipientes con una capacidad de 20 a 40 L. son utilizados para la eclosión de los huevos. El tamaño y la forma de los eclosionadores permite que los nauplios eclosionados, sean fácilmente transportados hacia los tanques de larvicultura.

Color

El uso del color negro en tanques de maduración, reduce la incidencia del nado de los animales hacia las paredes del tanque (Brown et al., 1980). Además, una buena eficiencia reproductiva se ha conseguido en tanques con paredes y fondo de este color, cosa que no sucede en tanques blancos, como reportó Emmerson en 1980 (*vide* Browdy, 1992).

Nivel de agua

Para tanques de maduración, el nivel o columna de agua debe estar en un rango de 0.35 a 0.5 m, siendo lo más funcional y adecuado para el manejo de los animales.

Relación macho: hembra

En sistemas de producción, relaciones de 1 a 1.5, o de 1 a 1, entre machos y hembras respectivamente, han sido mantenidas. Esta relación debe mantenerse independiente del tamaño del tanque, así como de la cantidad de animales presentes en el mismo.

Generalmente, densidades de 3 a 5 individuos por m^2 son utilizadas.

Recambio y temperatura

El flujo de agua en los tanques, puede variar de 100 a 400% de recambio cada 24 horas, con una temperatura constante de 28°C. Estos porcentajes de renovación pueden variar de acuerdo a la densidad de animales, el tipo de alimento ‘suministrado, la frecuencia alimenticia y otros factores que se encuentran relacionados al sistema.

En sistemas de maduración dentro de nuestro medio, se manejan recambios del 200 al 300% diario, con una temperatura promedio de 29°C.

Fotoneriodo

Periodos de luz de 12 a 16 horas, han dado buenos resultados en laboratorios de maduración, ya sea que se utilice fotoperiodo natural o inverso, siendo este último, utilizado comúnmente con el fin de reducir la cantidad de trabajo durante la noche.

1.3. ASPECTOS NUTRICIONALES

1.3.1. Requerimientos nutricionales

En la actualidad, es muy aceptado que los animales acuáticos son más sensibles a la calidad del alimento que los animales terrestres. La variabilidad de la calidad de los alimentos que consumen estos organismos, depende siempre de la constitución del alimento, o de la calidad de los ingredientes que se utilicen en la preparación de los mismos (Akiyama, 1989)

Los requerimientos nutricionales del camarón **tales** como, proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas, etc, aun no se conocen con precisión, y se puede decir que el conocimiento actual está años o décadas detrás de la información disponible para otros animales de crianza. Para poder definir estos requerimientos, los investigadores nutricionales se han basado en el uso de dietas semipurificadas con la inclusión de nutrientes previamente analizados y definidos. Estimaciones iniciales de estos requerimientos pueden ser deducidos a partir de los cambios en la composición bioquímica de las gónadas y el **hepatopáncreas** en diferentes estadios de maduración (Vincent *et al.*, 1988; Castille & Lawrence, 1989).

1.3.1.1. Proteínas v aminoácidos

La presencia de las proteínas en las dietas, juegan un papel de gran importancia, ya que proporcionan al animal, aminoácidos esenciales y no esenciales para la manufactura de músculos, tejido conectivo y proteínas respiratorias de la hemolinfa. La síntesis de algunas proteínas, incluye hormonas peptídicas, enzimas y viteloproteínas, que son muy importantes para el proceso de maduración y reproducción.

Para dietas de maduración, los niveles de proteínas y aminoácidos deben ser mucho mas elevados que los utilizados para crecimiento y engorde. Esto se debe a que en la etapa de reproducción, se produce una mayor síntesis de proteínas, así como una mayor utilización de los aminoácidos para formar las proteínas de las nuevas células, hormonas, enzimas, tejido gonadal y gametos (Harrison, 1997).

El rol crítico de las proteínas en la maduración gonadal de los camarones, es reflejado en los cambios dentro de la composición del **hepatopáncreas** y los ovarios durante la vitelogénesis. Por otra parte, no se han reportado requerimientos específicos de aminoácidos que intervengan en la maduración y reproducción (Harrison, 1990).

1.3.1.2. Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono o carbohidratos, no constituyen un aporte esencial dentro de las dietas de maduración para crustáceos decápodos. Estos, pueden acumular efectivamente el glicógeno dentro del hepatopáncreas, hasta su posterior utilización durante la maduración de los testes y ovarios. Cuando esto ocurre, una disminución del glicógeno en el hepatopáncreas se produce a medida que el desarrollo gonadal se incrementa (Kulkarni & Nagabushanam, 1979; Nagabushanam & Kulkami, 1981, *fide* Harrison, 1997).

1.3.1.3. Lípidos

Dentro del proceso de maduración de camarones peneidos, los lípidos constituyen una **fuer**te importante de energía, originada desde el **hepatopáncreas**, el cual absorbe, procesa y almacena los lípidos suministrados en la dieta. Diversos estudios han demostrado que los niveles y la composición de los lípidos dentro de las dietas, afectan la maduración **ovárica**, y consecuentemente la reproducción (Harrison, 1997).

Como componentes de los lípidos, los ácidos grasos juegan un rol muy importante en la maduración. Estudios realizados con la utilización de alimentos frescos, indicaron la **Importancia** de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's), especialmente del tipo **20:5n-3** ácido eicosapentanoico, (EPA) y **22:6n-3** ácido docohexanoico (DHA) en

ovarios de hembras maduras, sugiriéndose que son esenciales durante la madurez sexual (Middleditch et al., 1979; Alava & Kanazawa, 1995).

Niveles muy altos de ácido araquidónico (20:4n-6) y 20: 5n-6, han sido detectados en los ovarios de algunas especies de camarones **peneidos** mantenidos en cautiverio, siendo esta observación de gran importancia, debido a que el ácido araquidónico es un precursor de las **prostaglandinas**, las cuales tiene un papel importante en el control de la vitelogénesis del **crayfish** (*Procambarus peninsularis*) (Harrison, 1997).

Por otra parte, Sasaki (1984) y Sasaki et *al.* (1986) examinaron la cantidad y calidad de las reservas de nutrientes en huevos, embriones y larvas de langosta (*Homarus americanus*). La investigación demostró que las reservas del saco vitelino, especialmente los ácidos grasos esenciales (EFA's) y otros nutrientes que no pueden ser sintetizados, pueden disminuir durante el desarrollo embrional y son insuficientes para el desarrollo de las larvas, demostrando así la importancia de la primera alimentación proveniente de la dieta suministrada a los reproductores (Middleditch et *al.*; 1979, **Harrison**, 1990). Lytle et al. (1990) examinaron los perfiles de PUFA's de los alimentos frescos, y sugirieron que el ácido araquidónico (20:4n-6), así como el ácido **docohexanoico** (22:6n-3) pueden ser incluido en las dietas de maduración.

Otras investigaciones han dejado clara la función del colesterol en la **endocrinología** de **los** crustáceos (Quackenbush, 1986) y en la bioquímica de la reproducción. Se considera al colesterol como precursor en la síntesis de las hormonas esteroides

(Kanazawa & Teshima, 1971), las cuales **están** implicadas en el desarrollo de las características sexuales, la **movilización** de nutrientes, el **desarrollo** gonadal, y el desarrollo de huevos y embriones. Durante la maduración, el colesterol es movilizado desde el **hepatopáncreas y/o** músculos, siendo transportados hacia los ovarios, acumulándose en niveles por encima del 22% del total de los lípidos presentes en los ovarios.

A pesar de la importancia del colesterol en la reproducción, no existen investigaciones acerca del impacto de la deficiencia del colesterol en la producción de hormonas esteroides, o en el desarrollo larval. El aparente beneficio de ciertos alimentos **frescos** como el calamar y el mejillón puede atribuirse al contenido de colesterol (Harrison, 1997).

1.3.1.4. Vitaminas y minerales

La mayor parte de información acerca de los requerimientos de vitaminas y minerales para crustáceos, no se deriva de investigaciones basadas en el metabolismo del animal, sino que constituye una adaptación de la literatura existente para peces y vertebrados superiores (Harrison, 1990).

Recientes estudios han demostrado la importancia de las vitaminas, en especial las **A, C** y **E**, dentro del proceso reproductivo y otras actividades metabólicas. Debido a que los camarones tienen una **limitada** habilidad de sintetizar los ácidos grasos poliinsaturados,

la vitamina E juega un rol muy importante en la prevención de la oxidación de los **mismos** en los alimentos (Kanazawa, 1995; He & Lawrence, 1993). Por otra parte, **Alava et al.** (1993), encontraron que la vitamina E acumulada en la cubierta de los huevos, también tienen propiedades antioxidantes. Otros estudios han demostrado una correlación entre la deficiencia de vitamina E y la cantidad de espermias anormales, **como** lo demostró Chamberlain en 1988 (Alava *et al.*, 1993).

La vitamina C o ácido ascórbico actúa sinérgicamente con la vitamina E, en el mantenimiento de los antioxidantes intracelulares y en la captura de radicales libres. **Además, la** vitamina C actúa como una **coenzima** en la formación de colágeno, mayor componente del exoesqueleto (Masumoto et al., 1991, *fide* Alava *et al.*, 1993), y como un regulador en la formación de esteroides en la glándula adrenal y gónadas (Alava et **al.**, 1993). Investigaciones realizadas en peces han sugerido la importancia de la vitamina C en el desarrollo de las gónadas, así como en la viabilidad de los huevos producidos y la supervivencia de la prole (Masumoto *et al.*, 1991, *fide* Alava et *al.*, 1993). Por otra parte, resultados obtenidos con larvas de *P. vannamei*, indicaron un mejor desarrollo y una mayor supervivencia de las mismas, al incluirse vitamina C en la dieta (**Merchie et al.**, 1995).

Se ha demostrado que la vitamina A es un nutriente esencial para el desarrollo gonadal de *P. japonicus*. La acumulación de esta vitamina en los ovarios, se produce a medida que se acentúa la madurez gonadal de la hembra, y luego es transferida a los oocitos donde interviene en el desarrollo embrionario (Alava et *al.*, 1993). Se ha determinado además, que algunos compuestos como los carotenoides que se incluyen en la dieta,

pueden servir como precursores de vitamina A, y en parte pueden satisfacer los requerimientos de esta vitamina en el animal (Harrison, 1997).

La inclusión de la vitamina D en dietas de maduración, se asume de su probable rol en el metabolismo del Calcio y el Fósforo (Harrison, 1997), componentes esenciales en la formación del exoesqueleto después de la muda. Otros minerales como el Magnesio y el Cobre decrecen considerablemente en el hepatopáncreas de hembras desgastadas por el continuo proceso reproductivo. La disminución de estos minerales, en especial el Cobre puede reflejarse por el transporte de estos componentes desde el hepatopáncreas hacia los ovarios. Otro mineral como el Hierro, se lo asocia con el mecanismo **oxidativo**, así como en la motilidad y viabilidad de los espermatozoides en los machos.

1.3.1 5. Carotenoides

LOS crustáceos acumulan carotenoides durante la madurez sexual. En los primeros estadios de madurez, ya sean formas libres o esterificadas de los carotenoides se acumulan en el hepatopáncreas. Durante la segunda fase de la vitelogénesis, los carotenoides son transportados desde el hepatopáncreas hacia los ovarios, acumulándose en los oocitos como parte de las proteínas del saco vitelino (Harrison, 1997).

LOS cambios característicos en la coloración de los ovarios durante el desarrollo gonadal, ocurren debido a la acumulación de los carotenoides. La cantidad y tipos de

carotenoides que se acumulan en los ovarios, dependen de la especie, dieta, temperatura y el proceso de extirpación del pedúnculo ocular (Harrison, 1997). Estudios realizados en ovarios de hembras de *Penaeus schmitti*, demostraron la presencia de un complejo de carotenoides dominados por la zeastaxantina y astaxantina en sus diferentes formas (Vincent *et al.*, 1988). Basándose en resultados de varios experimentos, la adición de paprika a dietas de maduración ha sido aceptada, debido a que presenta varios tipos de carotenoides dentro de su composición, y a su aporte en la maduración y producción de nauplios (Wyban *et al.*, 1997).

Aunque el rol específico de los carotenoides no está claramente determinado, su acumulación en los ovarios refleja una importante función durante la gonadogénesis, embriogénesis y desarrollo larval. Los crustáceos no son capaces de sintetizar los carotenoides para su utilización, pero poseen la habilidad de transformar un carotenoide en otro. Su inclusión dentro de las dietas, aparte de ser una fuente importante para la reproducción (Dall *et al.*, 1995), incide en la calidad de los huevos y, en la salud y supervivencia de las larvas (Vincent *et al.*, 1988)

1.3.2. Alimentación

1.3.2.1. Alimentos frescos.

En sistemas de maduración, el suministro de alimentos frescos incluye moluscos, crustáceos, peces y poliquetos, los cuales son comúnmente utilizados en forma simple o en combinación con suplementos basados en dietas secas. Investigaciones realizadas por **Galgani et al.** (1989) y **Bray & Lawrence (1990)**, demostraron que las dietas de maduración constituidas por dos o más ingredientes frescos, son mejores que aquellas basadas en un solo tipo de alimento. Cuando una combinación de alimentos es usada, cada elemento debe ser proporcionado en diferentes horarios para evitar una selección del alimento por parte del animal (Browdy, 1992). Los alimentos frescos que se utilizan, deben ser picados en pequeñas piezas, y deben ser suministrados de dos a cinco veces al día, de acuerdo al régimen alimenticio que se utilice (**Bray & Lawrence, 1992**). La cantidad de comida que se utilice en cada alimentación puede ser ajustada, de acuerdo al consumo producido por los animales en la alimentación anterior.

Dentro de la composición nutricional de los alimentos frescos, el tejido muscular del calamar, así como del camarón y ostras, son ricos en ácidos grasos altamente **insaturados (HUFA's)** del tipo n-3, ácido araquidónico, colesterol y otros esteroides, fosfolípidos y aminoácidos esenciales, que han sido reportados en análisis de los ovarios de los animales (**Harrison, 1990**). Pocos estudios han sido realizados para definir los

nutrientes específicos que intervienen en la maduración de camarones peneidos, así como el aporte energético que requieren las larvas en su estadio prealimenticio.

En 1995, **Lavens et al.**, sugirieron que un complemento alimenticio basado en adultos de *Artemia* reproductiva, puede promover la madurez sexual de los camarones peneidos. Por otra parte en 1992, **Arellano et al.** reportaron que la adición del 11% de poliqueto a dietas con calamar y ostra, en conjunto con una dieta seca, incrementa el rendimiento reproductivo de *Penaeus vannamei*, considerando que el aporte de estas dietas, debe promover la maduración gonadal, aumentar el grado de fertilidad y fecundidad, así como de la calidad y viabilidad de los huevos producidos.

Cahu et al. (1987), confirmaron que el contenido de ácidos grasos en los alimentos que se suministran, se refleja en la calidad de huevos que se obtienen (Harrison, 1997). Sin embargo, es notorio que el valor nutricional de los alimentos frescos, varía en su calidad, debido a las especies utilizadas, estación, condición nutricional y preservación.

1.3.2.2. Artemia

Artemia, por tener una amplia distribución en el mundo, y por su importancia en la acuicultura, ha sido estudiada en diferentes aspectos de su biología, comportamiento y cultivo. La importancia de *Artemia* en la acuicultura, parte del descubrimiento de **Seale** (1933) en Estados Unidos, y **Rollefsen** (1939) en Noruega, los cuales utilizaron

nauplios de *Artemia* como alimento para diversos organismos marinos, y observaron que era de alto valor nutricional (Sorgeloos et al., 1995).

Con el paso del tiempo, el uso de *Artemia* se ha ido incrementando, y los nauplios se consideran como el mejor alimento vivo para larvas de especies carnívoras en cultivo. También, es muy común la utilización de *Artemia* adulta, ya sea en forma fresca, o como componente de mezclas más complejas, mediante un tratamiento que tritura la biomasa (Botsford et al., 1974; Kelly et al., 1977; *fide* Sorgeloos et al., 1995).

Skihhouhchauer et al. (1980) determinaron los lípidos totales, así como la composición de los ácidos grasos y el contenido energético de los quistes y nauplios de varias poblaciones (Sorgeloos et al., 1995). Otros estudios como los de Watanabe et al. (1983) demostraron que la concentración de ácidos grasos, en especial la del ácido eicosapentanoico (20:5n3) en nauplios de *Artemia*, determina un alto valor nutricional para peces y crustáceos marinos, proporcionándoles un incremento en su supervivencia y desarrollo.

La *Artemia* adulta puede utilizarse en forma fresca o congelada, y los nutrientes esenciales que proporcionan, pueden ser aprovechados de igual manera por los organismos que la consumen (Sorgeloos et al., 1995).

Otros productos, como las harinas vegetales, también constituyen una buena fuente proteica, pero no proporcionan un adecuado balance de aminoácidos para el animal, de ahí que dentro de la formulación de dietas, resulta mucho mejor una equilibrada combinación de harinas vegetales y animales, para poder conseguir un adecuado balance proteico en la dieta. Asimismo, las fuentes de lípidos varían de acuerdo al tipo de materia prima que se utilice. Generalmente, los aceites vegetales son ricos en ácido linolénico y ácido linoleico, mientras que los aceites de origen animal, son ricos en ácidos grasos poliinsaturados del tipo n-3, especialmente del ácido docohexanoico (DHA).

Por otra parte, es necesario incluir en toda formulación, mezclas de vitaminas y minerales, elaboradas de acuerdo a los requerimientos del animal, con el fin de fortificarlo, ya que el aporte de estos elementos por parte de los otros compuestos de la dieta es insuficiente. Además, debido a que los camarones son lentos comedores, es necesario incluir en la formulación un aglutinante que permita compactar de manera adecuada el pellet, evitando que el alimento se desintegre rápidamente en el agua, y se convierta en poco atractivo para que el animal pueda ingerirlo.

Sin embargo, no solo de la simple mezcla de los elementos anteriormente mencionados depende la elaboración de una dieta seca, sino también de otros factores, como la uniformidad y textura que se da a la mezcla, la humedad presente en ésta, así como la temperatura y el tiempo de secado del alimento (Lim & Cuzón, 1994).

2. MATERIALES Y METODOS

El desarrollo de este trabajo se realizó en el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (Fundación CENAIM-ESPOL). Para el cumplimiento de los objetivos de esta investigación, la parte experimental fue realizada en las instalaciones del laboratorio Granjas Marinas – Pta. Barandúa, durante el período Mayo - Octubre de 1999. Durante este período, dos ensayos de similares condiciones fueron evaluados para confirmar la validez de la investigación.

2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para cada ensayo, tres tratamientos fueron evaluados. Las hembras fueron marcadas con anillos numerados para realizar un seguimiento individual de las mismas.

2.2. DIETAS EXPERIMENTALES

2.2.1. Tratamiento A

Este tratamiento consistió en suministrar un pellet experimental, elaborado en CENAIM, con 52% de proteína y 10.5% de lípidos, que sustituyó el 50% del alimento fresco (calamar) dentro del régimen alimenticio.

Tabla 2. Porcentaje diario de alimentación (25% de la biomasa en base seca)

Tratamiento	Calamar	Poliqueto	Artemia	Pellet
A	12%			1%
B	12%			1%
C	12%	6%	7%	

Tabla 3. Horario de alimentación

Tratamiento	Calamar	Poliqueto	Artemia	Pellet
A	13h30 - 21h00			08h00 - 15h00
B	13h30 - 21h00			08h00 - 15h00
C	13h30 - 21h00	11h00	08h00	

2.2.5. Elaboración del alimento seco

Las dietas secas fueron elaboradas dentro de la planta piloto del CENAIM. Para esto, la mezcla de materiales se realizó de menor a mayor, con el fin de obtener una mejor homogeneidad. Posteriormente, se paso la mezcla por un tamiz de ojo de malla de 0.2 mm, para lograr una mejor textura y uniformidad.

Luego, se colocó la mezcla en una mezcladora automática, y se procedió a agregar agua caliente, cuya cantidad había sido calculada en la formulación, conjuntamente con el attractante, para conseguir que la mezcla se cueza y se compacte. Posteriormente se paso la masa por una pelletizadora (molino de carne), a través de una matriz de 3 mm,

siendo este el diámetro que tendría el pellet. Luego se colocó el pellet sobre bandejas, hechas de malla de aluminio.

Se llevó al secador de granos, previamente calentado a 60 °C, por 1 hora y 30 minutos aproximadamente. Una vez terminado el secado, se pesaron las dietas, se las colocó en fundas selladas y se congeló a -10 °C, habiéndole agregado previamente gas Nitrógeno, para evitar la descomposición en corto plazo.

2.2.6. Calidad de las dietas secas

Para evaluar la calidad de las dietas, se midieron la humedad y estabilidad en el agua.

2.2.6.1. Humedad

Para determinar este **parámetro**, se pesaron 8 g de pellet, los cuales fueron triturados en un mortero, hasta reducirlos en un polvo fino. Luego se pasaron por un tamiz de 150 µm, y se procedió a pesar por triplicado, 2 g del alimento tamizado en una balanza analítica. Las muestras que fueron pesadas, fueron colocadas en pequeñas bandejas de aluminio, que habían sido previamente pesadas y marcadas. Se llevó a la estufa, a una temperatura de 135 °C, por espacio de dos horas. Concluido el tiempo de secado, las muestras fueron retiradas de la estufa y colocadas en un desecador con silicagel, por

2.2.7. Formulación de las dietas artificiales

	Pellet control	Pellet experimental
Materia prima	%	%
Harina de Artemia	0	20
Harina de calamar	35	28
Harina de pescado	15.91	9.79
Mezclas de harinas de origen marino	10	6
Gluten de trigo	6	6
Harina de soya	5	5
Harina de trigo	4	4
Lecitina	1	1
Colesterol	0.5	0.5
Aceite de pescado con alto nivel de n-3 HUFA's	1.16	1.06
Mezcal de vitaminas	2.28	2.28
Mezcla de minerales	2.1	2.1
Etoxiquin	0.015	0.015
Aglutinante	1	1
Atractante	1.5	1.5
Relleno (maicena)	14.54	12.20
TOTAL	100	100
Análisis de las dietas		
Proteínas	52	52
Lípidos	10.5	10.5
Humedad	2.87	4.16

2.3. INFRAESTRUCTURA Y CONDICIONES DE OPERACION

2.3.1. Maduración

Cada experimento contó con 6 tanques de fibra de vidrio, de color negro, de 4 m de diámetro, con una altura de 1.0 m. La columna de agua se mantuvo en 0.5 m, con lo que se logró un volumen de agua de 7 T. El drenaje de cada tanque consistió en un tubo ubicado en el centro del tanque, con lo que se proporcionaba un recambio de agua del 300% diario. La aireación de los tanques se proporcionó mediante una línea de aire, con piedras difusoras, que ayudaban a suministrar una aireación suave en el tanque. La temperatura del agua en los tanques, se mantuvo en 29 °C durante cada ensayo. Además, en cada tanque se sembraron inicialmente 100 animales, en una relación macho:hembra de 1: 1, con la utilización de fotoperiodo natural durante la experimentación.

2.3.2. Desove

Se dispuso de 20 tanques plásticos, cilíndricos, de color azul, con interior de color blanco y tapa azul, con capacidad de 400 L y un volumen de operación de 200 L para cada desove. Los tanques no llevaban aireación, y el agua fue tratada con EDTA en una concentración de 10 ppm antes de cada desove.

2.3.3. Eclosión

El sistema de eclosión, contó con 20 tanques cilíndricos, de color negro, con fondo cónico y un volumen de operación de 1000 L. Cada tanque contaba con aireación y luz en la parte superior, la cual aparte de atraer los nauplios hacia la superficie, proporcionaba calor al tanque, el cual se encontraba recubierto con plástico amarillo. En cada tanque, se agrupaban los huevos producidos de 3 o 4 desoves, dependiendo del número de desoves por sala.

Las muestras de cada desove fueron obtenidas antes de juntar los desoves en los tanques de eclosión. Las muestras fueron colocadas en cajones de fibra de vidrio, a los que se acondicionó un sistema de baño María, a una temperatura de 29 ± 0.5 °C, mantenida con calentadores eléctricos de barra, para determinar el porcentaje de eclosión, calidad de huevos y nauplios, así como para evaluar el desarrollo larval desde Nauplio 1 (N1) a Zoea 1 (Z1). Los huevos fueron sembrados en **tarrinas** de 250 mL, y los nauplios en botellas plásticas de 1500 mL, con fondo cónico, y aireación.

2.3.4. Parámetros físicos

Los valores promedio para los parámetros físicos durante el transcurso de cada experimento se mantuvieron constantes, siendo la temperatura 29 °C, y 35 ppt de salinidad en los tanques de proceso.

2.35 Limpieza y desinfección

La limpieza de los tanques de maduración se la realizó diariamente con un sifón, con lo que se eliminaba el alimento sobrante, así como las heces y las mudas dejadas por los animales. Los animales muertos eran retirados diariamente con ayuda de un chayo; los anillos con la identificación de **la** hembra eran desinfectados con cloro, y así dejarlos listos para su posterior utilización.

La desinfección de los tanques, antes de iniciar cada experimento, se realizó con hipoclorito de sodio (cloro granular), en una concentración de 200 ppm. Se dejó por 24 horas para que el cloro actúe, y luego se lavó con abundante agua dulce. Asimismo, el resto de materiales, como **tarrinas**, baldes y botellas fueron desinfectados con cloro granular, en una concentración de 100 ppm, el cual era neutralizado al enjuagar el material con una solución de tiosulfato, en una concentración de 50 ppm (Mendoza, 1995).

2.4. PROTOSCOLOS

2.41. Captura y transporte

Para el primer experimento, se utilizaron 700 camarones de la especie *Penaeus vannamei*, 400 hembras provenientes del **reservorio** de la camaronera Josefina, ubicada

en Sabana Grande, en la provincia del Guayas y 300 machos, que fueron capturados en la zona comprendida entre Punta Blanca y San Pablo, dentro de la misma provincia.

En el segundo ensayo, 680 reproductores de *Penaeus vannamei* fueron utilizados, de los cuales, 380 hembras fueron capturadas en la provincia de Esmeraldas, y 300 machos, capturados en la zona comprendida entre Punta Blanca y San Pablo, provincia del Guayas.

La captura de los animales por pescadores artesanales, se hizo con la ayuda de un trasmallo, y los animales antes de ser transportados fueron colocados en pequeñas bolsas de malla, y posteriormente depositados en tanques plásticos de capacidad de 1000 L, con oxígeno, donde eran transportados hasta el laboratorio.

2.4.2. Aclimatación y siembra de reproductores

La recepción y aclimatación de los reproductores se la realizó en tanques de cemento, cubiertos con azulejo, de color negro y con un volumen de 10 T. El proceso de recepción de animales, se realizó durante el transcurso de la mañana y las primeras horas de la tarde.

En el caso del primer ensayo, debido a que las hembras provenían de una zona de baja salinidad (15 ppt), la aclimatación se realizó mediante un recambio mínimo de agua

durante una semana, para evitar una reacción brusca en el metabolismo de los animales.

Una vez concluido el proceso de aclimatación, se procedió a escoger los animales que estaban listos para ser ablacionados y sembrados.

Para el segundo experimento, las hembras fueron mantenidas en los tanques de recepción durante una semana, para reducir el estrés producido por la transportación.

Una vez concluido este proceso, se escogieron los animales que estaban listos para ser ablacionados y sembrados.

En los dos experimentos realizados, un tanque de recepción fue habilitado para mantener 100 hembras, que posteriormente serían utilizadas para reemplazar aquellas que salían del sistema.

En el caso de los machos, estos fueron mantenidos en los tanques de recepción hasta su traspaso hacia los tanques de maduración. Además, los animales sembrados en los tanques de maduración, así como el de reserva, en el segundo ensayo, fueron sometidos a un periodo de aclimatación de 15 días, para que los animales se adapten a ingerir el pellet experimental, y la vez asimilen los nutrientes proporcionados por este alimento.

2.4.3. Ablación

Para los dos ensayos, la extirpación del pedúnculo ocular se realizó mediante el proceso de corte y expulsión, realizando el corte en el órgano que presentara algún defecto. En el pedúnculo restante, se colocó un anillo numerado para identificar a la hembra.

2.4.4. Búsqueda de la hembra copulada

La búsqueda de las hembras que han copulado en los tanques de maduración, se iniciaba entre las 19h00 y 21 h00. Para esto, con ayuda de una linterna y una varilla de PVC, se localizaron aquellas hembras que presentaban el espermatóforo adherido al **télico**. Esta observación se realizó ejerciendo una leve presión, con ayuda de la varilla, sobre el cefalotórax de la hembra, logrando que esta se voltee, pudiendo así determinar si se encontraba fertilizada o no. La pesca de las hembras copuladas, se realizó con la ayuda de un chayo.

2.4.5. Desove

Las hembras copuladas fueron colocadas individualmente en los tanques de desove, desde las 21 h00 hasta las 01 h00, hora en que comenzaban a ser devueltas a sus respectivos tanques de maduración.

2.4.6. Rutina diaria

Hora	Actividad
08h00	Alimentación
9h30	<p>Conteo de nauplios, huevos no viables e infértiles de las tarrinas sembradas el día anterior Revisión microscópica.</p> <p>Conteo de huevos en tubos (muestra utilizada para calcular el número de huevos por hembra)</p>
10h15	<p>Siembra de huevos en tarrinas (muestra de 100 huevos para ser revisados el día siguiente)</p> <p>Toma de temperatura del sistema experimental y tanques de proceso.</p> <p>Pesaje de camarones muertos v recuperación de anillos.</p>
11h00	Alimentación
11h15	<p>Cosecha de zoeas sembradas en botellas.</p> <p>Se agrega algas a botellas sembradas el día anterior.</p> <p>Preparación de botellas para sembrar nauplios del día (muestra general)</p>
12h00	Sifoneo de tanques
12h45	Almuerzo
13h30	<p>Alimentación</p> <p>Preparación de tanaues de desove</p>
13h45	<p>Conteo y siembra de nauplios en botellas</p> <p>Preparación de tanaues de desove</p>
14h30	Conteo de nauplios deformes (muestra de 50 nauplios fijados en lugol)
15h00	Alimentación
15h15	Limpieza de materiales y área de trabajo
18h00	Corte de flujo de agua y aire
19h00	Búsqueda de hembras copuladas
21h00	<p>Captura de hembras copuladas y registro de desoves por tanque.</p> <p>Restablecimiento de flujo de agua y aire en tanques de proceso.</p>
01h00	Devolución de hembras a los tanques de proceso.
03h00	Cosecha de huevos y traspaso a tanques de eclosión.

2.5. PARÁMETROS EVALUADOS

2.5.1. Muestreo de huevos

Los huevos fueron cosechados en baldes, con un volumen de agua de 15 L, y desinfectados con **Argentyne™** (producto comercial a base de yodo) por espacio de un minuto a una concentración de 100 ppm, con flujo continuo de agua y aireación fuerte, antes de ser colocados en los eclosionadores.

Para llevar un control de la cantidad de huevos producidos por desove, se tomaron 2 muestras de 10 mL de cada balde, donde se contó el número de huevos presente en cada muestra, para luego hacer el respectivo cálculo y determinar el total de huevos. Además, de cada desove se tomaron muestras en tarrinas de 250 mL, las cuales sirvieron posteriormente para evaluar el resto de parámetros.

2.5.2. Fecundidad y porcentaje de eclosión

Luego de aproximadamente 30 horas de ocurrido el desove, se determinó el porcentaje de eclosión, huevos infértiles y no viables. Esto se realizó de **una** alícuota de 100 huevos, tomados de la muestra general, que fueron sembrados en tarrinas de 250 mL.

2.5.3. Desarrollo larval

El porcentaje de metamorfosis, se midió tomando en cuenta la cantidad de nauplios que llegaban a zoea 1. Para esto, de la muestra general **obtenida** de cada desove, se tomó una muestra de 100 nauplios, los cuales fueron sembrados en botellas plásticas, a un volumen de 1000 mL. Estos nauplios, se dejaron en las botellas, por 48 horas para que completen su desarrollo hasta zoea, habiéndoles suministrado *Chaetóceros sp.* (150,000 cel/mL) a las 24 horas de que se sembraron las botellas. Posteriormente, las zoeas se cosecharon al pasar el contenido de las botellas por un tamiz de 150 μm , para luego tomar una muestra de 30 zoeas a las que se midió la longitud en un proyector de perfiles.

2.5.4. Calidad del espermatóforo y conteo de esperma

Una vez terminado cada experimento, se procedió a extraer manualmente los espermatóforos, de una muestra de veinte machos por tratamiento, los cuales fueron pesados previamente. Luego, los espermatóforos extraídos fueron colocados en un tubo eppendorf, con 1 mL de solución salina y se maceró. Se tomó una alícuota del macerado, y se hizo un **conteo** de los espermatozoides con el hemocitómetro. El **índice** espermatosomático (LES) se calculó mediante la fórmula:

$$\text{IES} = (\text{peso del espermatóforo} / \text{peso del animal}) * 100$$

2.5.5. Índice Gonadosomático v Hepatosomático

Luego de concluido cada ensayo, se pesaron las hembras supervivientes, y se procedió a su posterior disección, extirpándoles las gónadas y el **hepatopáncreas**, depositándose cada muestra en pequeñas bandejas de aluminio taradas previamente en una balanza analítica. Se determinó el peso de cada muestra, y se procedió a realizar los cálculos para determinar el de Índice Gonadosomático (IGS) y el Índice **Hepatosomático(IHS)**, mediante las siguientes fórmulas:

$$\text{IGS} = (\text{peso de la gónada} / \text{peso del animal}) * 100$$

$$\text{IHS} = (\text{peso del hepatopáncreas} / \text{peso del animal}) * 100$$

2.6. EVALUACION DE DATOS Y ANALISIS ESTADISTICO

Para la realización de cada ensayo, la distribución de los reproductores en cada tanque por tratamiento, se hizo en forma aleatoria, con el objeto de evitar algún efecto sobre los tratamientos debido a las variaciones presentadas en el peso de los animales.

En cada experimento, las hembras reproductoras fueron consideradas como réplicas, al evaluar los parámetros de producción individual, tales como producción de huevos, nauplios y porcentaje de nauplios que llegaban a zoea 1. Igualmente, estas hembras fueron utilizadas para calcular el tiempo de vida útil.

Por otra parte, los desoves también fueron considerados para evaluar el porcentaje de fertilidad, porcentaje de eclosión, deformidad de nauplios, porcentaje de nauplios que llegaban a zoea 1 y longitud de zoea 1.

Los datos obtenidos de cada experimento, fueron evaluados estadísticamente con ANOVA (una vía). Las diferencias significativas entre los tratamientos fueron determinadas mediante la prueba de rango múltiple de DUNCAN.

Además, en todos los casos se utilizó el análisis de regresión lineal, para detectar la influencia del peso de la hembra, orden del desove y tiempo de vida útil sobre los parámetros evaluados, y así incluir estas variables como covariantes.

Los datos relacionados con las hembras productivas (# de huevos, # nauplios y # de zoeas producidas), fueron evaluados con ANCOVA, para eliminar el efecto de los factores anteriormente mencionados en la variabilidad observada.

Para realizar las evaluaciones de los datos obtenidos, se utilizaron los programas estadísticos Data Desk y STATISTICA.

3. RESULTADOS

3.1. EXPERIMENTO 1

Para este experimento, la poca cantidad de datos obtenidos, además de no tener una distribución normal, y que no se hayan cumplido todas las **asumciones** para el análisis de **varianza (ANOVA)**, **fueron** motivos para que no se pudiera realizar una estadística confiable, que hubiera podido ayudar a detectar diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

El número de reproductores supervivientes (tabla 4), se realizó tomando en cuenta el total de reproductores reportados al inicio del ensayo, así como aquellos utilizados para repoblar, es decir, aquellos animales que reemplazaron a los que salieron del sistema de producción, ya sea por muerte o pérdida.

Tabla 4. Supervivencia de los reproductores

	Tratamientos		
	A	B	c
Hembras sembradas	236	199	197
Machos sembrados	90	80	80
Hembras supervivientes	44	44	49
Machos supervivientes	53	55	56
Hembras (%)	12 ± 1.5	12 ± 3.6	12 ± 2.6
	(44)	(44)	(49)
Machos (%)	65 ± 4.9	74 ± 3.2	81 ± 2.3
	(53)	(55)	(56)

Los números entre paréntesis representan el número de observaciones con que se realizó el análisis

Para el resto de parámetros que fueron evaluados, se calculó el tiempo de vida útil de cada hembra ((días de supervivencia post-ablación/días de duración del experimento)*100), con el objeto de reducir la variabilidad presentada por los reemplazos que fueron efectuados.

Cabe indicar que en este experimento, se estableció una correlación (ver tabla 5) entre los parámetros de evaluación y variables como el peso, orden del desove y el tiempo de vida útil, y se pudo observar, que no había relación entre estas variables y los parámetros evaluados

Tabla 5. Resumen de las regresiones obtenidas entre las covariantes y los parámetros de evaluación: existe correlación (+); no existe correlación (-)

Tipo de correlación	Tratamientos		
	A	B	C
Orden. del desove-Huevos producidos	-		
Peso-Huevos producidos	-		
Supervivencia.-Huevos producidos	-		
Orden del desove-Nauplios producidos	-		
Peso-Nauplios producidos			
Supervivencia-Nauplios producidos			
Orden del desove- %Zoeas			
Peso-% Zoeas			
Supervivencia-%Zoeas			

Como efecto de lo descrito anteriormente, y ante la poca cantidad de datos obtenidos, los resultados estadísticos presentados en las tablas 6 y 7, no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados.

Tabla 6. Tamaño y calidad de los desoves

	Tratamiento		
	A	B	c
Huevos / desove ($\times 10^3$)	146.1 \pm 82.4'' (21)	125.8 \pm 106.6'' (17)	133.9 \pm 73.2 ^a (15)
Huevos fértiles (%)	58.8 \pm 3 1.7'' (17)	53.9 \pm 28.6'' (13)	53.4 \pm 39.5'' (12)
Eclosión (%)	65.4 \pm 26.2'' (14)	62.3 \pm 18.4'' (11)	61.4 \pm 32.1'' (8)
Zoeal (%) *	77.3 \pm 19.4'' (9)	74.6 \pm 30.7'' (7)	62.7 \pm 33.7'' (4)

Los números entre paréntesis representan el número de observaciones con que se realizó el análisis

* Constituye el porcentaje de nauplios que llegaron a zoea 1

Tabla 7. Resultados de producción por hembra

	Tratamientos		
	A	B	C
Huevos ($\times 10^3$)	205.4 \pm 193.6' (15)	186.7 \pm 170.9 ^a (12)	209.9 \pm 110.7'' (10)
Nauplios ($\times 10^3$)	171.8 \pm 181.7'' (9)	113.8 \pm 78.2' (9)	102.8 \pm 86.6'' (7)
Zoeal ($\times 10^3$)*	140.1 • 181.6'' (6)	76.5 \pm 76.7'' (7)	109.8 \pm 138.9'' (3)

Los números entre paréntesis representan el número de observaciones con que se realizó el análisis

Constituye la cantidad de nauplios que llegaron a zoea 1

En cuanto a los resultados de producción total por tratamiento (figura 4), se puede observar que la producción de huevos obtenida en los tratamientos A y B, es ligeramente superior que en el tratamiento C (control). Sin embargo, la producción de nauplios y zoeas es mucho mayor en estos tratamientos que en el control (tratamiento C), denotándose así un posible efecto positivo de las dietas secas al sustituir los alimentos frescos

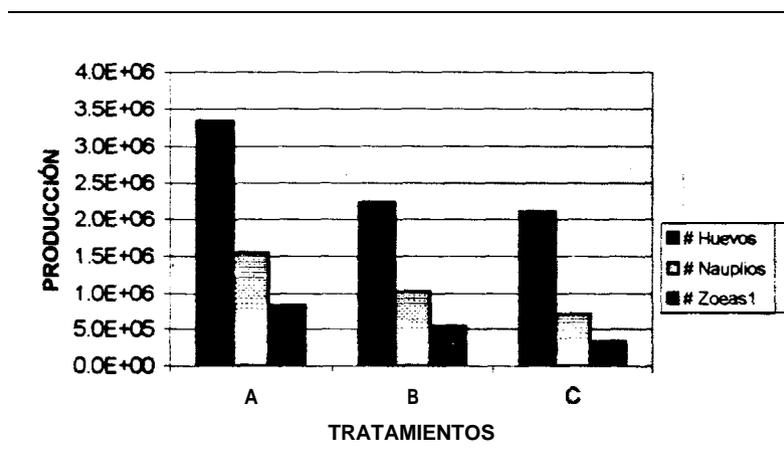


Figura 4. Producción total por tratamiento.

Sin embargo, por lo observado en los resultados de producción general, se desarrolló un segundo experimento, para verificar si existió un efecto positivo sobre los reproductores al sustituir de los alimentos frescos con dietas secas.

3.2. EXPERIMENTO 2

En este experimento podemos observar que, la supervivencia fue mayor que la presentada en el experimento anterior, originándose por una mejor calidad de los reproductores. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$).

Tabla 8. Supervivencia de los reproductores

	Tratamientos		
	A	B	C
Hembras sembradas	124	136	104
Machos sembrados	99	100	100
Hembras supervivientes	44	35	49
Machos supervivientes	73	68	66
Hembras (%)	35.5 ± 2.12	26.5 ± 12.02	43 ± 1.41
	(44)	(35)	(49)
Machos (%)	74 ± 0.00	68 ± 8.49	66 ± 5.66
	(73)	(68)	(66)

Los números entre paréntesis representan el número de observaciones con que se realizó el análisis

Para el resto de parámetros que fueron evaluados, se calculó el tiempo de vida útil de cada hembra ((días de supervivencia post-ablación / días de duración del experimento)*100), con el objeto de reducir la variabilidad presentada por los reemplazos que fueron efectuados.

Además, al igual que el experimento anterior, se utilizaron como variables independientes el orden del desove, el peso y el tiempo de vida útil de las hembras, para ser correlacionadas con el resto de parámetros (ver tabla 9), encontrándose así, una influencia del orden del desove sobre los demás parámetros evaluados, en especial sobre aquellos resultados obtenidos por hembra productiva.

Tabla 9. Resumen de las regresiones obtenidas entre las covariantes y los parámetros de evaluación por hembra productiva: si existe correlación (+); no existe correlación (-).

Tipo de correlación	TRATAMIENTOS		
	A	B	C
Orden del desove-Huevos producidos	-	+	
Peso-Huevos producidos			
Supervivencia-Huevos producidos			
Orden del desove-Nauplios producidos	-		+
Peso-Nauplios producidos			
Supervivencia-Nauplios producidos			
Orden del desove- %Zoeas		+	
Peso-% Zoeas			
Supervivencia-%Zoeas			

De acuerdo a lo observado en la tabla 9, el orden del desove se encuentra correlacionado con los **parámetros** de producción de huevos, nauplios y zoeal. Esto se determinó de acuerdo a los valores de p y r^2 calculados durante el análisis de regresión lineal (ver Anexos), con lo que se consideró al orden del desove como covariante de los

parámetros descritos anteriormente, y la utilización del análisis de covarianza (ANCOVA) para la prueba estadística correspondiente.

Tabla 10. Resultados de producción por hembra productiva

	Tratamientos		
	A	B	C
# de hembras	25	31	25
Desoves/día	0.04 ± 0.19 ^{''}	0.05 ± 0.23 ^{''}	0.06 ± 0.44 [']
Huevos (x10 ³)	239.2 ± 211.8 ^{ab}	425.2 ± 200.4 ^b	282.1 ± 187.5 ^a
Nauplios (x 10 ³)	222.4 ± 223.9 ^{ab}	341.6 ± 195.9 ^b	206.2 ± 172.5 [']
Zoea1*(x10³)	153.2 ± 201.6 ^{ab}	254.2 ± 169.9 ^b	130.6 ± 132.2 [']

Los números entre paréntesis representan el número de **observaciones** con que se realizó el análisis

Las observaciones marcadas con letras comunes dentro de una misma fila, no son **significativamente** diferentes (p-0.05)

* Constituye la cantidad de nauplios que llegaron a zoea 1

De acuerdo al análisis estadístico realizado, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos A y B ($p > 0.05$), en cuanto a la producción de huevos, nauplios y la cantidad de zoeas 1 obtenidas. Sin embargo, entre los tratamientos B y C, se pudo observar que en estos mismos parámetros, el tratamiento B fue superior ($p \leq 0.05$).

Tabla 11. Tamaño y calidad de los desoves

	Tratamiento		
	A	B.	C
Huevos / desove	192254 ± 88310" (39)	231236 ± 109628" (57)	195889 ± 89436 ^a (36)
% de huevos fértiles	75.9 ± 27.0" (39)	83.17 ± 24.15 ^a (57)	75.22 ± 30.63" (36)
% de eclosión	74.72 ± 27.50" (39)	81.14 ± 25.66 ^a (57)	72.50 ± 33.09" (36)
% Zoea1*	77.77 ± 19.42" (31)	69.19 ± 20.21" (52)	77.15 ± 20.82" (31)

Los números entre paréntesis representan el número de observaciones con que se realizó el análisis

Las observaciones marcadas con **letras** comunes dentro de una misma fila no son **significativamente** diferentes ($p > 0.05$)

* Constituye el porcentaje de nauplios que llegaron a **zoea1**

La tabla 11 no presenta diferencias significativas entre tratamientos ($p > 0.05$), en cuanto a los parámetros de calidad de los desoves (huevos fértiles, eclosión y % de nauplios que llegan zoea 1).

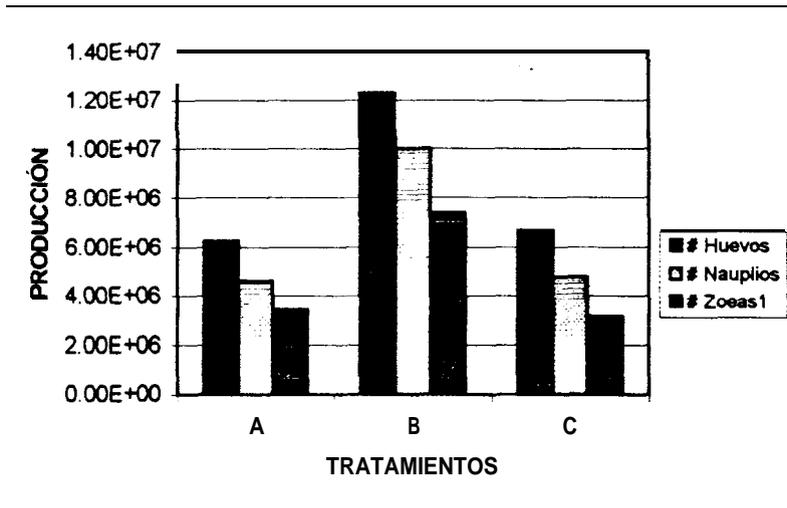


Figura 5. Producción total por tratamiento

La figura 5 demuestra que los resultados totales de producción del tratamiento B, son superiores a los del tratamiento A y C, con lo que se comprueba que si existió un efecto de las dietas secas sobre los reproductores, tal como fue observado en el anterior experimento.

Tabla 12. Análisis de calidad de machos

	Tratamientos		
	A	B	C
Número de machos	20	20	19
Conteo de esperma ($\times 10^6$)	7.72 \pm 4.16 ^a	12.02 \pm 6.24 ^b	6.23 \pm 5.69 ^a
IES *	1.13 \pm 0.48 ^a	1.67 \pm 0.53 ^b	1.01 \pm 0.33 ^a

• Índice espermiosomático (peso del espermátforo / peso del camarón)

Las observaciones marcadas con letras comunes dentro de una misma tila no son significativamente diferentes (p-0.05)

Diferencias significativas ($p \leq 0.05$), denotan que el tratamiento B es superior a los tratamientos A y C en cuanto a la cantidad de esperma presente en el espermatóforo. Sin embargo, estas diferencias entre tratamientos ($p > 0.05$), no pudieron ser observadas en lo que respecta al **índice** espermatosomático.

DISCUSION TECNICA

La implementación de dietas que permitan mejorar el rendimiento reproductivo de los camarones **peneidos** (Harrison, 1997), ha sido fuente de investigación durante las últimas dos décadas. Estudios realizados por Chamberlain y Lawrence (1981), Bray *et al.* (1990) y Nascimento *et al.* (1991), demostraron la importancia de los alimentos frescos para la maduración y reproducción de camarones. Entre estos alimentos tenemos calamar, ostra, mejillón y poliqueto, **considerándose** este último como el más importante dentro de las dietas de maduración (Bray & Lawrence, 1992) debido a su potencial nutricional que cubría la mayor parte de los requerimientos nutricionales de los camarones en estado reproductivo.

Sin embargo, debido a la inconstante disponibilidad, así como el alto costo de los alimentos frescos, se han buscado alternativas que permitan suplantar o permitan disminuir la utilización de los mismos, como lo demostraron Galgani *et al.* (1989a,b), Verstraete *et al.* (1995) y Denece *et al.* (1998), quienes lograron reemplazar de forma efectiva parte de los alimentos frescos con dietas formuladas.

Por otra parte, Naessens *et al.* (1997) sustituyeron el poliqueto con biomasa de *Artemia* congelada y observaron que el potencial reproductivo de los camarones se vio incrementado. Asimismo, investigaciones realizadas en CENAIM, por Wouters *et al.* (1997) e Hidalgo (1997) demostraron el potencial de la *Artemia* adulta en la maduración y reproducción de *Penaeus vannamei*, lo que llevó a incluir a la *Artemia* dentro de las dietas artificiales, como harina liofilizada. Recientes ensayos realizados por Wouters *et*

al. (1999) demostraron que con la inclusión de harina de *Artemia* en las dietas secas, se puede sustituir hasta el 50% de los alimentos frescos utilizados en el régimen alimenticio. En el presente estudio, realizado a nivel comercial, además de comprobar la sustitución de los alimentos frescos (biomasa de *Artemia* y poliqueto) con la dieta que incluía harina de *Artemia*, se pudo observar un efecto positivo en los animales que se encontraban bajo este tratamiento.

En los dos experimentos realizados para esta investigación, no se pudieron observar diferencias significativas en lo referente a los datos generales de producción. Esto ocurrió, debido a que las condiciones de experimentación no fueron del todo favorables, en especial para el desarrollo del primer experimento, donde la calidad de los animales y la variación de parámetros en el sistema experimental, fueron factores que impidieron que se generen resultados que permitan la deducción de conclusiones. De todos modos, si se pudo observar un efecto de las dietas secas sobre los reproductores de los tratamientos A y B, en el primer experimento, donde la producción total de huevos, nauplios y zoeas, se **vió** incrementada con respecto a la producción del tratamiento C (control).

Para el segundo experimento, se logró llevar un mejor control del sistema, y se observó que la producción total de los animales del tratamiento B (inclusión de harina de *Artemia*), fue superior a la producción **obtenida** por el tratamiento A y el tratamiento C. Estos resultados, al igual que los obtenidos por Zambrano (1999), demuestran la factibilidad de la utilización de dietas secas, como sustitutos de los alimentos **frescos** para reproductores.

Por otra parte, en las pruebas llevadas por **Denece et al. (1998)** con *P. stylirostris*, se pudo observar un aumento en el porcentaje de fertilidad y el número de huevos por desove, al realizar la sustitución del 50% de los alimentos frescos con una dieta seca. Sin embargo, en el ensayo realizado por Verstraete et al. (1995), este aumento de la cantidad de huevos producidos por desove, no **fue** observado en los animales alimentados con la dieta seca, como similarmente ocurrió en el primer ensayo de este trabajo.

En lo que respecta a los parámetros de calidad de los desoves, durante el primer ensayo, si hubieron indicativos que se puede sustituir el 50% de los alimentos frescos, con una dieta artificial, tal como ocurrió en el trabajo realizado por Zambrano (1999). Por otra parte, en el segundo experimento, se noto un efecto positivo de la dieta artificial, utilizada en el tratamiento B, sobre el rendimiento reproductivo de los animales, en lo que respecta a la cantidad de huevos, nauplios y zoeas producidas por hembra productiva. Estos resultados son un indicativo del aporte nutricional de la harina de *Artemia*, si se relaciona con las investigaciones en las que se utilizo biomasa de *Artemia* como suplemento alimenticio, y en las que se encontraron diferencias significativas similares a las encontradas en este experimento.

Diferencias significativas entre el tratamiento B, y los tratamientos A y C fueron encontradas en cuanto a la producción de esperma. Sin embargo, la cantidad de esperma no fue muy alta, en comparación con los ensayos realizados por Hidalgo

(1997), donde el conteo de espermatozoides en los tres tratamientos tuvo un rango entre 11 y 30 millones de células por mililitro.

Altas mortalidades ocurridas en las hembras silvestres, en comparación a los machos, han sido observadas en pruebas anteriores, y se han atribuido en parte al manipuleo durante la ablación, la revisión del desarrollo de los ovarios y la selección de las hembras que van a desovar. Por otra parte, Bray *et al.* (1990) indica que al menos el 25% de las hembras ingresadas a un sistema de maduración mueren antes de la copula o el desove. En los dos experimentos realizados durante este trabajo, el porcentaje de mortalidad fue mucho mayor que lo indicado anteriormente, considerándose como factor influyente en las mortalidades producidas, el manejo del sistema productivo.

CONCLUSIONES

Una vez concluidos los dos experimentos, y habiéndose finalizado la correspondiente evaluación estadística, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

El rendimiento reproductivo de *Penaeus vannamei*, sobre los parámetros por hembra productiva, se vió mejorado al incorporar dietas artificiales experimentales, que sustituyeron el **50%** de los alimentos frescos. Además, se pudo comprobar que es posible lograr una total independencia del poliqueto y biomasa de *Artemia* congelada.

La inclusión de un suplemento de harina de *Artemia*, en las dietas artificiales, se constituye en un aporte importante para la maduración y reproducción de *P. vannamei*.

RECOMENDACIONES

Es necesario proseguir con investigaciones que permitan mejorar la formulación de dietas artificiales, o adicionar nuevos ingredientes, **tales** como hormonas, que permitan a futuro eliminar los efectos de la extirpación del pedúnculo ocular.

Comprobado el efecto positivo sobre la reproducción, de las dietas artificiales que incluyen harina de *Artemia* liofilizada, se podría verificar si estas dietas son capaces de mantener un buen rendimiento reproductivo de los camarones, durante un tiempo mayor al utilizado en sistemas de maduración; es decir, tratar de evitar el agotamiento de los reproductores, en especial las hembras, que han sido sometidas a un continuo proceso de reproducción.

Es recomendable lograr en un corto plazo, la determinación los niveles óptimos de inclusión de harina de *Artemia* en dietas formuladas, además de analizar totalmente su contenido de nutrientes, y así encontrar aquellos nutrientes **y/o** factores estimulantes de la harina de *Artemia*, responsables del efecto positivo observado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIYAMA, D., 1989. Futuras consideraciones para la 'industria alimentaria acuícola. En: Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura, Universidad Autónoma de Nuevo León, México, 25 - 34.

ALAVA, V., A. KANAZAWA, S. TESI-IIMA & S. KOSHIO, 1993. **Effects** of dietary vitamins **A, E and C on the ovarian** development of *Penaeus japonicus*. Nippon Suisan Gakkaishi, Vol. 59 (7), 1235 - 1241.

ALAVA, V. & A. KANAZAWA, 1995 (**Abstract**). The effect of nutrition on crustacean gonadal development and reproduction. **Fifth** International Working Group on Crustacean Nutrition Symposium. Kagoshima, Japan..

ALVAREZ DEL CASTILLO CUETO, M. & C. CAHU, 1990. Effects of **fresh and frozen feed on reproduction** and eggs quality of shrimp. En: 21 th. Annual Meeting W.A.S. Halifax, June 10 - 14. 1-10.

ARELLANO, E., Y. AKAMINE & L. GÓMEZ, 1984. Maduración y desove en cautiverio del camarón penaeido *Penaeus vannamei*. En: Memorias de Edgar Arellano M.: Once años dedicados a la investigación y desarrollo de la Acuicultura en el Ecuador, 1993. CENAIM, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, 179 - 194.

ARELLANO, E., L. GÓMEZ & M. YAGUACHI, 1992. Dieta preliminar para maduración y evaluación en reproductores *Penaeus vannamei*. En: Memorias de Edgar Arellano M.: Once años dedicados a la investigación y desarrollo de la Acuicultura en el Ecuador, 1993. CENAIM, San Pedro de Manglaralto, Ecuador, 33 - 34.

BRAY, W. & A. LAWRENCE, 1990. Reproduction of eyestalk-ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. Journal of the World Aquaculture Society, Vol. 21, No. 1, 41 - 52.

BRAY, W. & A. LAWRENCE, 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. En: Marine Shrimp Culture: Principles and practices. A. W. Fast and J. Lester (Eds). Elsevier Science Publishers B.V., 93 - 170.

BROWDY, C., A. HADANI, T. SAMOCHA & Y. LOYA, 1989. An evaluation of frozen *Artemia* as a dietary supplement for the stimulation of reproduction in penaeid shrimp. En: Aquaculture – A biotechnology in progress. Bredene, Belgium. European Aquaculture Society. 617 - 623.

BROWN, A., J. McVEY, B. SCOTT, T. WILLIAMS, B. MIDDLEDITCH & A. LAWRENCE, 1980. The maturation and spawning of *Penaeus stylirostris* under controlled laboratory conditions. World Mariculture Society, Vol. II, 488 - 499.

CAJLOUET, CH., 1972. Ovarian maturation induced by eyestalk ablation in pink shrimp, *Penaeus duorarum* buntetuoad. En: 3th. Annual Work Society, 1972.

CASTILLE, F.L. & A.L. LAWRENCE, 1989. Relationship between maturation and biochemical composition of the **gcnads** and digestive glands of the shrimp *Penaeus aztecus* ives and *Penaeus setiferus* (L.). Journal of Crustacean Biology, Vol. **9(2)**, 201 - 211.

CHAMBERLAIN, G, 1984. Biology and control of shrimp reproduction. En: Texas shrimp farming manual, 1985. Corpus Christy, Texas, Cap. **III**, 1 - 40.

COUTTEAU, P., E. PINON & Y. BALCAZAR, 1998 (abstract). **Effect** of a commercial maturation diet **on** broodstock **performance** of *Penaeus vannamei* in a commercial hatchery. En: 1st. Latin **American** shrimp **culture** Congress & **Exhibition**. 6 - 10 October, 1998. **Panama**.

DENECE, E., D. PHAM & P. COUTTEAU, 1999 (Abstract). **Reproductive** response of *Penaeus stylirostris* to a 50% substitution of **fresh** food by a new shrimp **maturation** feed. En: Book of **Abstracts**. The Annual Intemational **Conference** and **Exposition** of the World Aquaculture Society.. 26 April - 2 may. Sydney, Australia, 601

FINGERMAN, M., 1996. Crustacean Endocrinology: A **retrospective**, **prospective** and **introspective** analysis, 257 - 269.

GALGANI, M.L., A.HADANI, T.M. SAMOCHA & Y. LOYA, 1989. Influence du Régime Alimentaire sur la Reproduction en Captivité de *Penaeus vannamei* et *Penaeus stylirostris*. *Aquaculture*, Vol. 80, 97 – 109.

HARRISON, K., 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embrionic development of **decapod** crustaceans: A review. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 9, No. 1, 1 - 28

HARRISON, K., 1997. Broodstock nutrition and maturation diets. En: **Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture**. World Aquaculture Society. Vol. 6, 397 - 400.

HE, H. & A. LAWRENCE, 1993. Vitamin E requeriment of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, Vol. 118, 245 -255.

HIDALGO, M., 1997. Efecto de la composición nutricional de *Artemia* enriquecida en la reproducción de *Penaeus vannamei*. Tesis de Grado, Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.

HOLTSCHMIT, K, 1998. Se modifica el nombre científico de los camarones (Nota Corta). *Revista Panorama Acuícola*. Septiembre '98. 30 – 31.

KANAZAWA, H., 1995. **Recent** developments **in** shrimp nutrition **and** feed industry. Presented in the Technical Session of INDAQUA'95. Exposition of **Indian** Aquaculture. 27 - 30 January.. Madras, India. 1 - 17.

KING, J., 1948. A study of the **reproductive** organs of the **common** marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). Biology Bulletin, 244 - 262.

KRAUSS, E., R. BARNIOL, P. INTRIAGO & X. SALVADOR, 1998. Panorama general de la Acuicultura en Ecuador. En: Memoria del II Symposium Internacional de Acuicultura. Mazatlán, Sinaloa, México. 1,2,3 de octubre, 175 - 176.

LAVENS, P., E. NAESSENS, L. GÓMEZ, C. BROWDY, K. MC.GOVERN-HOPKINS, A. SPENCER, D. KAWAHIGASHI, P. VERSTRAETE, M. COSTERO, B. DEVRESSE & P. SORGELOOS, 1995. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations or a formulated pellet diet. LARVI'95 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium.

LIM, CH. & G. CUZON, 1994. Water stability of shrimp pellet: A review. **Asian** Fisheries Science. Vol. 7, 125 - 127.

LÉGER PH., D.A. BENGTON, K.L. SIMPSON, P. SORGELOOS, K.L. SIMPSON & A.D. BECK, 1987. The nutritional value of *Artemia*: a review. En: P. Sorgeloos, D. Bengton, W. Decler and E. Jasper (Eds), *Artemia* research and its applications, Vol.3. Ecology culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, 357 – 372.

LYTLE, J., T. LYTLE & J. OGLE, 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus setiferus*. Aquaculture, Vol.89, 287 – 289.

MARSDEN, G.E., J. J. McGuren, S.H. HANSFORD, M. J. BURKE, 1997. A moist artificial diet for prawn broodstock: its effect on the variable reproductive performance of wild caught *Penaeus monodon*. Aquaculture, Vol. 149, 145 - 156.

MENASVETA, P., 1996 (Abstract). Recent advances on the reproductive biology of *Penaeus monodon*. En: Second international conference on the culture of penaeids prawns and shrimps. Book of abstracts. Iloilo city, Philippines, 14 - 17 May., 14 – 15.

MENDOZA, S., 1995. Uso de desinfectantes en Acuicultura. Tesis de Grado. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

MERCHIE, G., P. LAVENS, E. KONTARA, X. RAMOS, A. LEON-HING KUJAN, A. VAN HAUWAERT, A. PEDRAZZOLI, E. NAESSENS-FOUCQUAERT, H. NELIS, A. DE LEENHEER & P. SORGELOOS, 1995. Supplementation of ascorbic acid 2-phosphate during the early postlarval stages of penaeid shrimp (*Penaeus monodon* and *Penaeus vannamei*). En: Nutritional effects of vitamin C on the growth and physiological condition of the larvae of aquaculture organisms (Doctoral Thesis). University of Ghent, Belgium.

MIDDLEDITCH, B.S., S.R. MISSLER, D.G. WARD, J.B. McVEY, A. BROWN & A. LAWRENCE, 1979. Maturation of Penaeid Shrimp: Dietary fatty acids. World Mariculture Society. Vol. 10, 473 - 476.

NAESSENS, E., P. LAVENS, L. GÓMEZ, C.L. BROWDY, K. McGOVERN-HOPKINS, A.W. SPENCER, D. KAWAHIGASHI, P. SORGELOOS, 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. Aquaculture, Vol. 155, 87 - 101.

NASCIMENTO, I., W. BRAY, J. LEUNG - TRUJILLO & A. LAWRENCE, 1991. Reproduction of ablated and unablated *Penaeus schmitti* in captivity using diets consisting of fresh-frozen natural and dried formulated feeds. Aquaculture, Vol. 99, 387-398.

OGLE, J., 1994. A study of factors influencing the hatch rate of *P. vannamei* eggs. II. Presence of spermatophore. Gulf Research Reports, 1995. Vol. 9, No. 2, 127 - 130.

PALACIOS, E., C.I. PÉREZ-ROSTRO, J.L. RAMÍREZ, A.L. IBARRA, I.S. RACOTTA, 1999. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival and growth. Aquaculture, Vol. 171, 309 - 321.

PÉREZ-FARFANTE, I. & B. KENSLEY, 1997. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the world. Keys And Diagnoses for the Families and Genera. Mémoires du Muséum National D'Histoire Naturelle. Éditions du Muséum. Tome 175 (Zoologie). Paris, France. 67 – 90.

PETERSEN, R., 1996. **Reprodução** em cativeiro. En: "**Produção** de Pós-larvas de Camarão Marinho". Curso Internacional. Florianópolis, 18 - 26 de Novembro de 1996.

PRIMAVERA, J. & R. POSADAS, 1981. Studies of eggs quality of *Penaeus monodon* Fabricius, based on morphology and hatching rates. Aquaculture, Vol. 22, 269 - 277.

PRIMAVERA, J., 1984. A review of maturation and reproduction in closed thelicum penaeids. En: Proceedings of the first international conference on the culture of Penaeid prawn/shrimps, Iliolo City, Philippines. SEAFDEC Aquaculture Department, 47 - 64.

QUACKENBUSH, L.S., 1986. Crustacean Endocrinology, a review. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Vol. 43, 2271 – 2282.

ROTI-ILISBERG, P.C., P.J. CROCOS & D.M. SMITH, 1991. The effect of diet and eyestalk ablation on maturation, spawning, hatching, and larval fitness of *Penaeus esculentus*. En: LARVI'91 - Fish & Crustacean Larviculture Symposium, 257 - 250.

SORGeloos, P., P. COUTTEAU, PH. DHERT, G. MERCHIE & P. LAVENS, 1995. Use of the Brine Shrimp *Artemia* in Larval Crustacean Nutrition: A Review. Laboratory of Aquaculture & *Artemia* Reference Center, University of Gent. Gent, Belgium, 1- 18.

TACON, A. & D. AKIYAMA, 1997. Feeds ingredients. En: Crustacean Nutrition. *Advances in World Aquaculture*, Vol. 6. World Aquaculture Society, 411 - 472

VERSTRAETE, P., B. DE LA MORA & P. LAVENS, 1995. Maturation of *Penaeus vannamei* by using dry pellets as a partial substitute of the natural diet. LARVI'95 - Fish & Shellfish Larviculture Symposium, 76 - 78.

VINCENT, M., L. RAMOS & L. OLIVA, 1988. Variations qualitatives et quantitatives des pigments carotenoides dans l'ovaire et l'hépatopancréas de *Penaeus schmitti* au cours de la maturation ovarienne. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*. Vol. 96, 155 - 164.

WYBAN, J. & J. SWEENEY, 1991. The oceanic shrimp manual. Intensive shrimp production technology. Honolulu, Hawaii. 7 - 8.

WYBAN, J., G. MARTINEZ & J. SWEENEY, 1997. Adding paprika to *Penaeus vannamei* maturation diet improves nauplii quality. *World Aquaculture*, 59 -62.

WOUTERS, R., L. GÓMEZ, P. LAVENS & J. CALDERÓN, 1997. Improved reproductive performance of *Penaeus vannamei* by **co-feeding** with **frozen** (enriched) adult *Artemia*. En: Island Aquaculture and tropical **aquaculture**. Martinique, May 4 - 9. 325 - 326.

WOUTERS, R., C. MOLINA, P. LAVENS, P. SORGELOOS & J. CALDERON, 1999. Contenido de lípidos y vitaminas en reproductores silvestres durante la maduración ovárica y en nauplios de *Penaeus vannamei*. V Congreso Ecuatoriano de Acuicultura. 28, 29 y 30 de octubre. Guayaquil, Ecuador, 1999.

WOUTERS, R., L. GOMEZ, P. LAVENS & J. CALDERON, 1999. Feeding enriched *Artemia* biomass to *Penaeus vannamei* broodstock: its effect on reproductive performance and larval quality. Journal of **Shellfish** Research. 18:2, 651 - 655.

ZAMBRANO, B., 1999. Evaluación de dietas artificiales con *Artemia* adulta en la maduración y reproducción de *Penaeus vannamei*. Tesis de Grado. Escuela de Acuicultura, Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Veterinarias., Bahía de Caráquez, Ecuador.

Direcciones de internet:

<http://www.shrimp/shrimpga.html>.

<http://www.seahorse.com>