



Escuela Superior Politécnica del Litoral
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

“Optimización de la Ingestión de Dietas Artificiales
por Reproductores *Penaeus vannamei*”

Sylvia Beatriz Alvarez Rodriguez

Previa obtención del título de
Acuicultor

Guayaquil-Ecuador 1999

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)

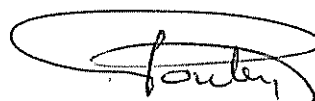


BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

Sylvia B. Alvarez

Sylvia Beatriz Alvarez Rodriguez

Ing. Bolívar Vaca
Presidente del Tribunal



M.Sc. Roeland Wouters
Director de Tesis



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MAKIIIMA

Ac. Henry Alvarez
Miembro Principal



M.Sc. César Molina
Miembro Principal

Agradecimientos

Agradezco a mi familia por haber sido un apoyo para mí en los momentos difíciles y por saber mejor que yo, que podría alcanzar la meta.

A mis profesores, quienes lejos de poner obstáculos supieron infundirme aliento para levantarme y seguir adelante.

A mi director de tesis, Roeland Wouters, quien compartió conmigo sus conocimientos, su tiempo y su amistad.

Al Dr. Jorge Calderón, director del CENAIM, quien me brindó apoyo y me permitió realizar este trabajo en las instalaciones de la Fundación.

A mis compañeros con quienes avancé paso a paso por el camino académico y me extendieron la mano oportunamente.

A mis amigos de CENAIM quienes con su experiencia me aconsejaron y de quienes aprendí, y supieron sembrar en mí la semilla de la amistad, amistad que no se olvida.

Y por sobre todo a mi Dios, por darme las herramientas para lograrlo y por haberme permitido compartir con mis amigos antes mencionados, de quienes no hace falta dar nombres ni apellidos pues ellos ya se saben aludidos.



BIBLIOTECA
FAC. ING.
MARITIMA

RESUMEN.-

Se realizaron 5 experimentos de ingestión en tanques rectangulares de una tonelada con reproductores *P. vannamei* de 40-70g de peso. Se alimentó con dieta artificial al 3% de su biomasa en peso seco. La temperatura fue la del ambiente, el fotoperíodo usado fue el natural y se aplicó una tasa de recambio diario del 100%. En el primer experimento se compararon diferentes aclimataciones, tales como: el sometimiento al ayuno durante 2 días, aclimatación con alimento fresco y pellet durante mes y medio y por último ninguna aclimatación ni ayuno. Los resultados de este experimento indicaron que estas aclimataciones no afectan la ingestión

En el segundo experimento se utilizó diferentes productos de *Artemia* en el pellet en un 33% de inclusión, sin encontrar diferencias significativas. En el experimento 3 se varió el nivel de lípidos (Bajo, Mediano y Alto) indicando que un porcentaje bajo de lípidos puede estimular la ingestión. El experimento 4 fue usado para poner a prueba extractos de animales marinos, mostrando que el extracto de mejillón logra un incremento en la ingestión del pellet, mientras que con el extracto de calamar se obtuvo una baja ingestión. El experimento 5 fue una prueba en la que se reunió todas las mejores características de los experimentos anteriores en un pellet para compararlo con otros alimentos comerciales del mercado. Aquí la dieta resultante obtuvo una mayor ingestión por parte de los animales. Las características de esta dieta fueron:

- Sin *Artemia*.
- Con un nivel bajo de lípidos.
- Con extracto de mejillón.

CONTENIDO.-

Introducción	
1.- Antecedentes	10
1.a.- Características Biológicas	10
1.a.1.- Taxonomía	10
1.a.2.- Morfología	11
1.a.3.- Ciclo de Vida	11
1.a.4.- Edad y Tamaño de Reproductores	12
1.a.5.- Sistema Sensorial	12
1.a.6.- Sistema Digestivo	16
1.b.- Aspectos Nutricionales	19
1.b.1.-Requerimientos Nutricionales	20
1.b.2.- Materias Primas	321
1.b.2.b.- Aditivos	34
2.- Materiales y Métodos	37
2.a.- Formulación	37
2.b.- Preparación de Dietas	37
2.c.- Origen y Aclimatación de los Reproductores	38
2.d.- Pruebas Preliminares	38
2.d.1.- Experimento Preliminar #1 “Frecuencias de Alimentación”	38
2.d.2.- Experimento Preliminar #2 “Pruebas de Estabilidad”	39
2.d.3.- Experimento Preliminar #3 “Funcionalidad del Sistema Experimental”	43
2.e.- Experimentos de Ingestión	46
2.e.1.- Experimento #1 “Aclimatación”	46

2.e.2.- Experimento #2 “ <i>Artemia</i> ”	47
2.e.3.- Experimento #3 “Lípidos”	48
2.e.4.- Experimento #4 “Quimioatracción”	50
2.e.5.- Experimento #5 “Prueba Final”	51
2.f.- Análisis de Datos	51
3.- Resultados y Discusión	53
3.a.- Pruebas Preliminares	53
3.a.1.- Experimento Preliminar #1 “Frecuencias de Alimentación”	53
3.a.2.- Experimento Preliminar #2 “Pruebas de Estabilidad”	55
3.a.3.- Experimento Preliminar #3 “Funcionalidad del Sistema Experimental”	55
3.b.- Experimentos de Ingestión	59
3.b.1.- Experimento #1 “Aclimatación”	59
3.b.2.- Experimento #2 “ <i>Artemia</i> ”	60
3.b.3.- Experimento #3 “Lípidos”	63
3.b.4.- Experimento #4 “Quimioatracción”	66
3.b.5.- Experimento #5 “Prueba Final”	68
3.b.6.- Observaciones Adicionales	70
4.- Conclusiones	71
5.- Recomendaciones	72
6.- Bibliografía	73

INTRODUCCION.-

Muchos son los esfuerzos que se hacen por asegurar una mayor producción y mejor calidad de larvas hoy en día con el fin de seguir creciendo en la industria acuícola a nivel mundial. La práctica más comúnmente aplicada para lograr que los reproductores alcancen la madurez es la ablación unilateral del pedúnculo ocular y actualmente la mayor parte de la producción se basa en esta técnica con la cual pueden coordinar y regular la producción a un itinerario de trabajo (Mendoza *et al.*, 1997). Sin embargo este procedimiento trae consigo algunas consecuencias descritas por Browdy (1997) como son anomalías fisiológicas a consecuencia de remover un órgano importante y que produce las hormonas que intervienen en la muda, metabolismo de los carbohidratos, frecuencias cardíacas, pigmentación, además de producirse un deterioro de los desoves con el pasar del tiempo (Mendoza *et al.*, 1997). Estos cambios fisiológicos representan una gran demanda de energía que debe ser cubierta ya sea con un alimento que cubra sus nuevos requerimientos nutricionales o con las pocas reservas que le quedan ya sea en los músculos o el hepatopáncreas y es debido a esto que surge la necesidad de encontrar una alternativa diferente a la ablación unilateral del pedúnculo ocular que pueda estimular la madurez sexual de los reproductores sin someterlos a ese tipo de estrés (Mendoza *et al.*, 1997).

Por otro lado hay reportes de la Aquacop (1979) e investigaciones hechas por Emerson (1980) y Primavera *et al.*(1995) donde se ha podido ver que el control de varios aspectos como temperatura, salinidad, pH, luz, densidades de siembra, y nutrición ha traído como resultado en algunos casos la madurez, cortejo y desove sin ablación en algunas especies (I. A. Nascimento *et al.*, 1991) pero en todo caso la nutrición sigue siendo considerada uno de los factores más importantes y de directa

relevancia sobre la reproducción y, el desarrollar un alimento artificial que elimine el estrés de la ablación, representa una buena alternativa.

Los aspectos nutricionales son de especial interés y son muchos los trabajos investigativos que se formulan para poder despejar muchas dudas. La nutrición es básicamente lo que permite que el aspecto químico y fisiológico de un ser viviente trabaje en armonía de tal manera que el cuerpo se provea de nutrientes y éstos permitan su buen funcionamiento, mantenimiento y crecimiento (Akiyama *et al.*, 1989). Actualmente existen muchas limitaciones en cuanto al conocimiento de los requerimientos nutricionales de los peneidos y sobre todo de los reproductores pero a pesar de esto se ha logrado el desove y la madurez de aproximadamente 20 especies diferentes en cautiverio mediante el uso de alimentos frescos (Bray & Lawrence, 1990).

Algunas dietas se han desarrollado para la investigación de los requerimientos nutricionales de los peneidos y también, en el caso de los reproductores, se investiga el desarrollo ovárico, transferencia de nutrientes a la descendencia, producción naupliar etc. Pero nada se logra formulando diferentes dietas si estas no llegan a ser ingeridas para lograr los resultados esperados (Bray & Lawrence, 1990). Para los reproductores *P. vannamei* les es muy difícil aceptar un balanceado o dieta artificial eligiendo siempre consumir alimento fresco si lo tienen a disposición. De acuerdo a pruebas realizadas en el departamento de maduración del CENAIM en 1997, se obtuvieron valores muy bajos de ingestión, valores menores al 1% de la biomasa del animal, sin embargo creemos que por medio de alguna manipulación de las características del alimento podríamos lograr un aumento en el interés y aceptación del pellet mejorando y optimizando la ingestión por parte de los reproductores.

La falta de requerimientos nutricionales claramente definidos para los reproductores ha sido un gran obstáculo para el desarrollo de fórmulas de balanceados

satisfactorias que logren una producción constante y consistente de nauplios (Bray & Lawrence, 1990). El consumo y aceptación de un balanceado por parte de los reproductores representaría grandes ventajas pues con ello se lograría suplir o substituir la dieta fresca garantizando así una alimentación optimizada, sin variaciones nutricionales y con una alta disponibilidad en el mercado e inclusive se convertiría en una herramienta útil que daría la oportunidad de suministrar hormonas, suplementos vitamínicos, medicamentos, etc., para futuras investigaciones además de ofrecer ventajas como la disponibilidad constante, un claro conocimiento de los nutrientes ofrecidos y una disminución en el deterioro del agua (Marsden *et al.*, 1997). La dependencia constante hacia el alimento fresco trae consigo una serie de desventajas e inconvenientes (Bray & Lawrence, 1990) como por ejemplo:

1. La variación en la disponibilidad de alimento fresco en el mercado, debido a que existen épocas de escasez en las que ciertos productos del mar no están disponibles.
2. Costos elevados, por causa muchas veces a la escasez o por la especulación.
3. Posible deterioro del agua por causa de los restos no consumidos.
4. Contenido nutricional incierto debido a la variación de la especie, edad, temporada, grado de madurez y zona de captura de los mismos.

A pesar de estos inconvenientes hoy en día los departamentos de maduración en los laboratorios dependen aún del alimento fresco troceado tales como calamar, almeja, ostras, artemias, poliquetos, etc., para alimentar a sus reproductores pues es la única manera en que pueden asegurar una buena calidad de sus nauplios (Bray & Lawrence, 1990). También se ha visto una combinación de alimento fresco con alimento artificial, pero se recomienda que el alimento artificial sea suministrado en una proporción menor al 50% del alimento total diario pues una proporción mayor traería como consecuencia un bajo rendimiento reproductivo (Primavera *et al.*, 1979 *fide* Marsden *et al.*, 1997). Lo

que aún no está claro es si el rendimiento reproductivo baja debido a que los nutrientes contenidos en el alimento artificial no son suficientes o los adecuados o porque no es consumido y en consecuencia estos nutrientes nunca llegan a cumplir con sus funciones (Marsden *et al.*, 1997). La atractabilidad y la palatabilidad de las dietas artificiales son aspectos críticos y de gran importancia para determinar exactamente los requerimientos nutricionales tales como proteínas necesarias, lípidos adecuados y la relación proteína:energía adecuada para los peneidos. Si no se puede obtener una ingestión máxima de un alimento artificial, entonces el nivel del nutrientes que se requiere para obtener una respuesta esperada será mucho mayor que el nivel mínimo requerido (Aranyakanada & Lawrence, 1994).

1.- ANTECEDENTES.-

1.a. CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS.-

1.a.1. Taxonomía.-

Filo.- Artrópoda

Subfilo.- Mandibulata

Clase.- Crustacea

Subclase.- Malacostraca

Orden.- Decápoda

Superfamilia.- Penaeida

Familia.- Penaeidae

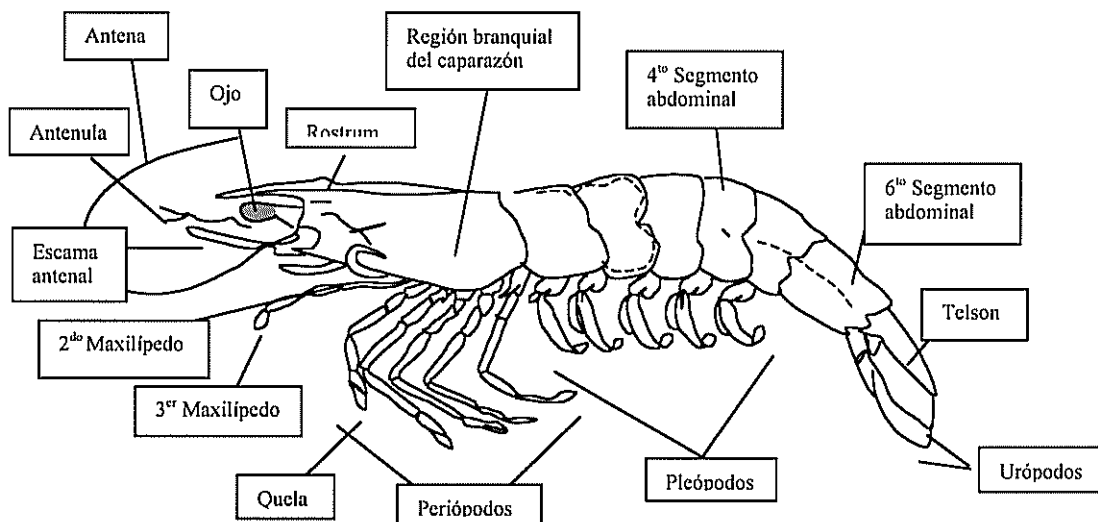
Género.- Penaeus

Especie.- vannamei

Holthuis, 1980

1.a.2. Morfología.-

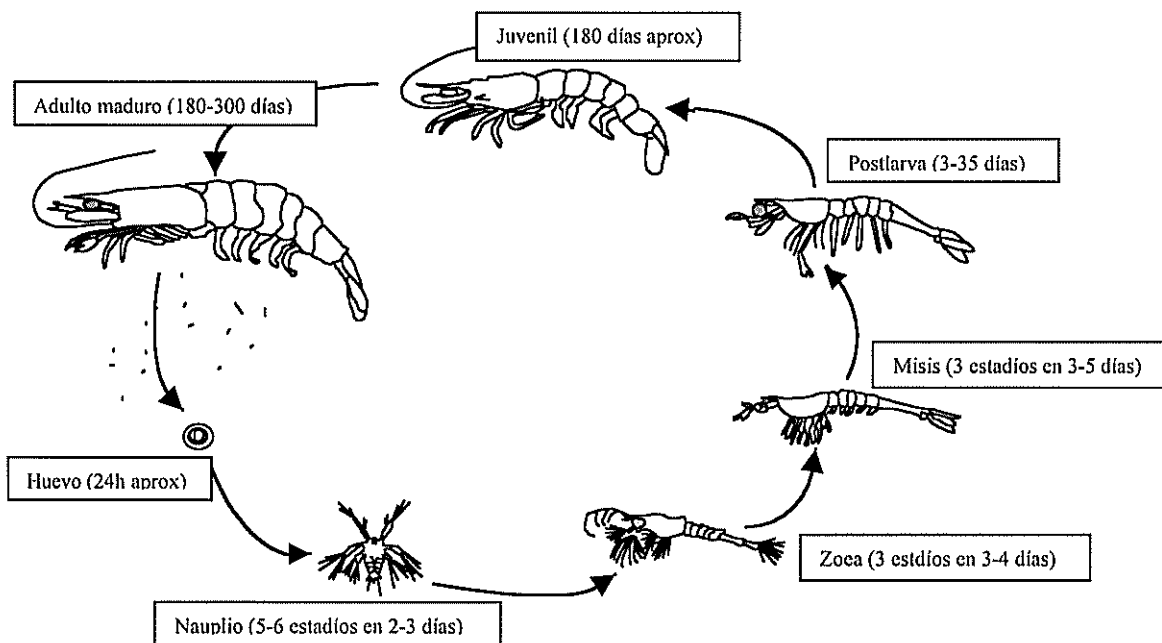
La morfología general externa de los penaeidos se muestran en la figura 1.



Morfología del camarón, vista lateral (Lee & Wickins, 1992),

1.a.3. Ciclo de vida.-

El ciclo de vida de los penaeidos se muestra en la figura 2.



Cambios típicos en la forma del cuerpo durante el desarrollo. La duración y número de mudas varía con la especie y la temperatura (after Lee & Wickins, 1992)

1.a.4. Edad y Tamaño de los reproductores.-

Aún no se ha definido con exactitud la edad exacta en la que el peneus alcanza la capacidad reproductora, pero se suele tomar como referencia el peso del animal. En el ambiente silvestre así como en las piscinas el potencial de madurez sexual es alcanzado alrededor del octavo y décimo mes (Bray & Lawrence, 1992), sin embargo han demostrado tener buenos rendimientos reproductivos cuando su peso es superior a los 50g en las hembras y 40g en los machos (Ogle, 1992).

1.a.5. Sistema Sensorial.-

Los animales acuáticos utilizan signos o estímulos para identificar y orientarse hacia una presa potencial es por eso que las dietas artificiales, para los crustáceos sobre todo, deben ser químicamente atractivas para inducir a la localización y a la alimentación mejorando de esta manera la tasa de ingestión y con ello obtener mejores resultados que los esperados (Heinen, 1980; Lee & Meyers, 1997).

A pesar de la complejidad del medio acuático y su variación química permanente, los estímulos y signos químicos específicos son reconocidos por parte de los decápodos (Lee & Meyers, 1997). Todos los sentidos como visión, audición, olfato, gusto, tacto, geomagnetismo, electromagnetismo, reciben estímulos para luego en el sistema nervioso central conjugarse y dar como resultado una respuesta específica. Las vibraciones y el sentido del tacto son importantes, sobre todo cuando entra en contacto animal-presa, en el caso de la visión, ésta provee de una información más real para la selección de la presa pero el sentido de la quimioatracción es útil para distancias mayores al límite visual muy comunes en ambientes acuáticos.

De acuerdo con Derhier *et al.* (1960) y Lindsten (1971) existen 5 fases en las que se puede describir las respuestas del animal al estímulo químico que son:

1. Detección .- Cuando el animal se percata de la presencia de un estímulo químico, llamado también excitación.
2. Orientación.- Cuando el animal se prepara para moverse ya sea por causa de un atractante, repelente, o arrestante.
3. Locomoción.- Cuando ocurre un movimiento en busca de un atractante o huyendo de un repelente.
4. Inicio de la alimentación.- Cuando el animal comienza a manipular y consumir el alimento a consecuencia de un incitante. Este deseo puede verse inhibido debido a un supresante.
5. Continuación o terminación de la alimentación es decir que el animal come a saciedad por causa de un estimulante o termina a causa de un deterrante.

Los efectores químicos alimenticios han sido clasificados como atractantes, o que atrae hacia la fuente, repelentes, o que aleja de la fuente, arrestantes, o que se detiene en la fuente, incitantes, o que lo induce a comer, supresantes, o que inhibe el deseo inicial de comer o inhibe el deseo de seguir comiendo, estimulantes, o que induce a seguir y seguir comiendo, deterrantes, o que provoca el detenerse de continuar comiendo (Heinen, 1980).

De acuerdo con Laverack (1968) los atractantes, repelentes y arrestantes actúan típicamente sobre quimiorreceptores de distancia, algo muy similar al olfato y se detectan a bajas concentraciones, en contraste con los incitantes, supresantes, estimulantes y deterrantes que actúan cuando entra en contacto la fuente con el quimiorreceptor de corta distancia, algo similar al tacto y gusto (Heinen, 1980).

Fuzessery y Childress (1975) establecieron que los dactiles, que tienen una quimiosensibilidad baja probablemente funcionen como receptores de contacto mientras que las anténulas con una sensibilidad química mayor sean usadas como receptores de distancia pero esto no se puede afirmar completamente pues Atema (1977,1979) señala que las antenulas, dactiles y maxilípedos tienden a tener similares alcances electrofisiológicos y que incluso otros quimiorreceptores además de las antenulas podrían servir como receptores de distancia, incluso en casos de reconocimiento sexual las antenulas resultan funcionar como receptores de contacto (Heinen, 1980).

Existen 4 comportamientos básicos relacionados con cada estímulo y estos pueden ser divididos en 21 comportamientos específicos que se pueden encasillar en las 5 fases del modelo alimentario, y estos son:

1. El movimiento de las antenas puede ser un indicador de alta sensibilidad, el camarón es capaz de detectar soluciones muy diluidas de compuestos orgánicos, sobre todo aminoácidos, azúcares, nucleótidos.
2. Movimientos de las partes de la boca indican estímulos alimenticios que pueden funcionar a distancia y en contacto.
3. Movimiento de los periópodos que usualmente son para buscar en el área inmediata.
4. Locomoción que indicaría claramente si son atraídos o repelidos.

La diversidad química del entorno acuoso es un factor muy importante relacionado a la quimiorrecepción de animales acuáticos, miles de iones se encuentran presentes en concentraciones que varían en el tiempo y estas concentraciones cambiantes producen unos niveles de “sonidos” por llamarlos de alguna manera, y así los quimiorreceptores de los crustáceos tendrían un amplio espectro de las señales para detectar un compuesto químico específico (Lee & Meyers, 1997). Para el caso de los animales marinos la

situación se pone más compleja debido a que los iones de sal aumentan la complejidad del medio afectando tal vez la estructura y función del quimioattractante y estimulante por medio de reacciones de asociación y disociación, de todas formas el agua de mar resulta ser un buen buffer minimizando los posibles cambios de pH relacionados con los cambios estructurales.

Según Lee y Meyers (1997) existen 2 teorías para explicar la forma de actuar de los quimiorreceptores:

- El primero dice que el animal ya tiene de antemano compuestos conocidos y que producen un estímulo o un acto también de antemano establecido.
- El segundo indica que los quimiorreceptores se encuentran acostumbrados a un nivel conocido o a concentraciones normales de los químicos de su entorno y que los quimiorreceptores se encuentran sensibles a grandes cambios.

El hecho de que animales se orienten hacia la corriente y que usualmente se muevan con la corriente ha sido bien documentado. El reotropismo parece ser el comportamiento que determina la dirección hacia donde busca alimento y en ese caso, la pregunta es: El animal sigue directamente un estímulo químico hasta su fuente o cuando está expuesto a un attractante inicia una búsqueda al azar orientado en la corriente?

La dinámica del agua apoya la hipótesis de que el reotaxismo es el principal estímulo en conjunto con las interacciones químicas. En una corriente la transportación es unidireccional de tal manera que cualquier estímulo químico sea arrastrado hasta que el animal lo recepte y sea guiado por la corriente hasta la fuente del estímulo. Si esta relación entre reotaxis y quimiotaxis existe, entonces podemos predecir que la respuesta de un crustáceo a un attractante ocurre en 3 pasos según Meyers y Lee (1997):

1. Detección del attractante con sus antenulas, maxilípedos o dáciles.

2. Incrementa el estado de alerta junto con la información sensorial, visual, auditiva y mecánica.
3. Inicia la locomoción debido al reotaxis primeramente y luego debido a la quimioatracción.

La edad o etapa de la vida animal también tiene un efecto en la clase de estímulos químicos que provocarán en ellos una reacción determinada. Los patrones alimenticios no son la excepción. Tal es así que los crustáceos en su estado larval pueden responder a estímulos químicos de presas que se encuentran en el plancton ya sea en estado larval o adulta. Por otra parte cuando entran a la etapa adulta, los estímulos a los que reaccionan son las de presas consumidas por adultos y se cree que se ha perdido el interés hacia las presas planctónicas (Weissgurg *et al.*, 1991 *fide* Lee & Meyers, 1997).

1.a.6. Sistema Digestivo.-

En el proceso de ingestión de los decápodos participan los apéndices más delanteros y de una manera más específica mientras estén más próximos a la boca. Las mandíbulas, maxílulas y maxílas rodean la boca, desgarran y trituran los alimentos antes de que estos sean introducidos en el esófago, los 3 pares anteriores de apéndices torácicos están transformados en patas maxilas o maxilípedos y por eso contribuyen a la manipulación y dilaceración de los alimentos. Los restantes apéndices torácicos han conservado su función locomotora. Los alimentos desgarrados o dilacerados llegan de esta manera al estómago donde son reducidos a una papilla muy finamente triturada. Los dos pares de antenas, juegan un papel importante en la quimiorrecepción y por tanto en la búsqueda y reconocimiento del alimento (Alliot *et al.*, 1987).

El tracto digestivo es responsable de las funciones nutricionales las cuales parten de la ingestión para continuar con el tránsito de nutrientes, los mecanismos de digestión como hidrólisis, absorción celular y transferencia de excreta. Como estructura general tenemos que el tubo digestivo de un decápodo adulto está dividido en 3 partes: tracto anterior, tracto medio, tracto posterior.

El tracto anterior está compuesto por el esófago y gran parte del estómago, el tracto medio consiste en la glándula digestiva y un conducto recto que parte del cefalotórax hasta llegar al tracto posterior el cual consiste en el recto y el ano.

La boca está asociada con varios apéndices que sirven para sostener o coger como la maxílula, maxila, mandíbula y maxilípedos.

El esófago en los decápodos es usualmente corto y recto ubicado verticalmente y sirve de conexión entre el estómago y la boca. Sus paredes están recubiertas con células epiteliales basales de forma cilíndrica cubiertos por una fina capa hialina de un compuesto que contiene principalmente quitina. En el tejido conectivo encontramos 3 tipos diferentes de fibras musculares, envolviendo el epitelio. Las fibras más internas son las de dilatación, las fibras medias son circulares y las superficiales son longitudinales y alrededor se encuentran también algunos elementos glandulares.

El estómago de los penaeidos es el más elongado de todos los decápodos. Se encuentra dividido en 2 secciones, la cámara anterior es elástica o dilatada y es llamado algunas veces el saco de comida. La cámara posterior es más angosta, es llamada también el área pilórica, está bien desarrollado y la mitad anteroventral es gruesa y calcificada, la sección pilórica está dirigida hacia atrás y el estómago está cubierto en sus paredes internas por una cubierta proteínica de quitina.

La glándula digestiva es un órgano compacto bilobular que contienen muchos túbulos. Cada túbulo tiene una pared epitelial simple y un lumen con microvellosidad.

Su función principal es de segregar enzimas digestivas, absorción de alimentos digeridos, producción de reservas minerales, metabolismo de los lípidos y rol en la distribución de reservas alimenticias almacenadas durante la intermuda. Esta glándula ocupa un gran volumen en el cefalotorax. Representa del 2-6% del total del peso húmedo. El hepatopáncreas o glándula digestiva se conecta al tracto digestivo a través de conductos principales, cada conducto se divide en conductos secundarios y terciarios hasta llegar a pequeños túbulos que constituyen la masa glandular (Ceccaldi, 1989).

Cada túbulo tiene una pared epitelial simple y un lumen con microvellosidades, el ápice de cada túbulo está compuesto por células embriónicas o células E las cuales a lo largo del túbulo se van diferenciando en varios tipos, las células fibrilares o células F ligeramente teñidas, las células R densamente teñidas, más adelante las células F se desarrollan y se convierten en células B que se caracterizan por tener grandes vacuolas que contiene enzimas digestivas que son liberadas al tracto digestivo. El lumen de los túbulos contiene un material granular y las células que cubre las paredes están provistas de microvellosidades.

El intestino medio se extiende a lo largo del abdomen desde la parte posterior del estómago y termina generalmente en el sexto segmento abdominal. El intestino está conformado por células secretoras que produce una sustancia mucosa que envuelve el producto no digerido del estómago, la síntesis de esta mucosa provoca un gran consumo de energía. El tracto final es corto y muscular, forrado por arrugas acojinadas cuya función aparentemente es la de formar el pellet fecal, está ubicado en la mitad posterior del sexto segmento abdominal.

1.b. ASPECTOS NUTRICIONALES.-

Evidentemente se conoce que una buena alimentación favorece completamente el buen funcionamiento de todos los procesos metabólicos como crecimiento, digestión, reproducción, cualquiera que sea la especie en cuestión (Akiyama, 1991). En el caso de reproductores *P. vannamei*, las dietas frescas son las más comúnmente utilizadas en su régimen diario de alimentación, encontrando entre ellas ostras, calamar, mejillón, almeja, cangrejo, poliqueto y otros, debido a que se cree, brindan al reproductor los nutrientes que necesita para entregarnos resultados favorables. Sin embargo, el uso constante de alimento fresco presenta una serie de desventajas que de una u otra forma afectan a la producción comercial de larvas, que son: costos elevados, disponibilidad impredecible, su capacidad para deteriorar el agua, variación en la calidad nutricional con; la especie, edad, época, estado de madurez y localización (Bray, 1990).

Todos estos factores impulsan al desarrollo de nuevas alternativas que eviten la dependencia total hacia el alimento fresco, pero la falta de una definición clara de los requerimientos nutricionales durante la maduración dificulta la formulación de un alimento artificial (Bray, 1990).

Existe un creciente interés en las dietas artificiales debido a las ventajas que ella ofrece como: el conocimiento exacto de los nutrientes que se está suministrando, disponibilidad constante en el mercado e incluso permite el suministro oral de medicamento, vitaminas suplementarias u hormonas (Marsden, 1997).

Un alimento artificial consiste en una conjugación de varios ingredientes de distinto origen los cuales aportan con nutrientes de gran importancia (New, 1987), sin embargo se deben conocer las proporciones de los ingredientes a usarse para lograr un aporte apropiado y aunque los estudios nutricionales del camarón empezaron alrededor de 1970, existen todavía muchas interrogantes que empujan a continuar con la investigación (Akiyama, 1991).

1.b.1. Requerimientos Nutricionales.-

1.b.1.a. Proteínas y aminoácidos.-

Importantes componentes estructurales y funcionales de todos los organismos vivos, son moléculas de cadena larga y compleja compuesta por la combinación de pequeñas moléculas especiales llamadas aminoácidos. El tejido corporal de los animales esta compuesta en su mayoría de proteínas, constituyendo alrededor del 65 - 75 % del total del peso seco (Akiyama, 1991). Una dieta con proteínas será, para los reproductores, una fuente constante de aminoácidos favoreciendo así la síntesis proteica incluyendo hormonas peptídicas, enzimas y VPs (viteloproteínas), importante en el caso de las hembras (Harrison, 1990).

Las proteínas también son fuentes de energía (5.65 Kcal/g) y nitrógeno, elemento útil en la síntesis de coenzimas, material genético como ácidos nucleicos y nucleótidos, sustancias imprescindibles en la reproducción y que durante la maduración de los machos son sintetizados en grandes cantidades (Pillay, 1973 *fide* Harrison, 1990)

En el caso de juveniles y postlarvas muchos recomiendan un alto nivel proteico en la dieta con le fin de alcanzar el objetivo de un crecimiento rápido, pero en reproductores aún no han sido reportados niveles óptimos de proteínas ni la relación proteína/energía. (Harrison, 1990)

Actualmente existen dietas para adultos que contienen de un 33 a 40% de proteínas comparadas con el 40 a 45% recomendado para postlarvas y juveniles. Akiyama & Dominy (1991) recomiendan para adultos una concentración de proteínas del 36 al 38% (Harrison, 1990).

Debido a que la fase de maduración es una fase de biosíntesis, es de esperarse que la demanda de proteínas sea relativamente alto y debido al importante papel que juegan las proteínas en la síntesis de nuevo material y la formación de nuevos individuos, se necesita investigar para establecer estos niveles en reproductores.

Hay 10 aminoácidos que han sido reconocidos como esenciales en el camarón que son: Arginina, Histidina, Isoleusina, Leusina, Lysina, Metionina, Phenilalanina, Treonina, Tripsina, Valina.

Las fuentes proteicas utilizadas en las dietas comerciales son muy discutidas, un ingrediente de mayor uso es el pescado y sus derivados en cantidades que están alrededor del 10 al 40%, pues se considera altamente palatable para el camarón juvenil y también es utilizado esperando que sirva como attractante (Akiyama, 1991).

El calamar puede resultar ser el mejor ingrediente alimenticio para el camarón pues al parecer tiene un factor el cual se cree que es un pequeño péptido que aumenta la eficiencia digestiva del camarón además de ser un excelente attractante, tiene además una alta

concentración de colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos 20:5n3 y 22:6n3 como ninguna otra fuente natural (Cobo, 1997). En las dietas comerciales encontramos al calamar alrededor del 2 al 10% (Akiyama, 1991) y es que el uso de calamar se ve un poco limitado debido a su alto costo y la dificultad para conseguirlo pero su contenido nutricional es de alta calidad, sus vísceras proveen de fósforo en una forma más digerible para el camarón y aumenta la palatabilidad y atractabilidad de la dieta (Dominy & Chhorn, 1991).

1.b.1.b. Lípidos y ácidos grasos.-

De gran importancia en la actividad reproductiva, son una fuente de energía altamente digestible (9.5 Kcal/g). Los lípidos neutros y en especial los triglicéridos son la mayor fuente de energía y son la mejor forma de almacenaje de energía tanto para adultos como huevos y vitelo de larvas (Kanazawa & Teshima, 1983 *fide* Harrison, 1990) además de proveerle ácidos grasos de cadena larga, componente predominante en los ovarios durante la maduración.

Existen evidencias de que a pesar de que el hepatopancreas es el principal centro de almacenamiento de lípidos en el crustáceo también es la fuente de lípidos para los ovarios en desarrollo y éstos junto con los carbohidratos proveen de energía para la biosíntesis de la ovogénesis y vitelogénesis e incluso, parecen ser tomados y acumulados por los huevos en desarrollo.

Los lípidos también tienen una función transportadora la cual es cumplida por el grupo de lípidos polares como los fosfolípidos llamados también fosfoglicéridos quienes pueden llevar a través de la hemolinfa nutrientes liposolubles de importancia tales como

vitaminas liposolubles. Además, éstos junto con los esteroides tienen mucha importancia como constituyentes de las células y citoplasma afectando sus propiedades estructurales y fisiológicas (Teshima, 1997).

Los esteroides incluso intervienen en la síntesis de hormonas esteroides y hormonas como las prostaglandinas, sin embargo ellos no pueden ser sintetizados por el camarón lo cual los hacen dependientes de su consumo en sus fuentes alimenticias. Los podemos encontrar en gran cantidad en los ovarios (Teshima & Kanazawa; 1983), y van en aumento durante la maduración encontrando también altas proporciones de 20:5n3 y 22:6n3 que se cree intervienen también en la síntesis de prostaglandinas, de ahí la importancia de los ácidos grasos altamente insaturados. La prostaglandina es una hormona de “acción local” que tiene algunas funciones en el proceso reproductivo sin embargo hay mucho que estudiar sobre los ácidos grasos linoleicos y linolenicos.

Por el momento se puede decir que los ácidos grasos altamente insaturados no son sintetizados de novo por crustáceos, lo cual los hace dependientes de su consumo en la dieta. Esto se supo primero cuando Kanazawa & Teshima en 1977 inyectaron un acetato ^{14}C al *P. japonicus* en estado juvenil y encontraron radioactividad asociada casi exclusivamente con los ácidos grasos saturados 16:0; 18:0 y monoinsaturados 16:1; 18:1n9 y 20:1n9. La actividad con 18:2n6; 18:3n3; 20:5n3; y 22:6n3 fue encontrada al 2% y hasta menos. Después se determinó que el *P. japonicus* era capaz de convertir el ácido palmítico 16:0 a otro ácido graso saturado o monoinsaturado pero poca o ninguna actividad se encontró con 22:6n3. Así se demuestra con este estudio la necesidad de fuentes dietéticas de HUFAS y PUFAS para los peneidos debido a la falta de habilidad de biosíntesis.

En algunas investigaciones (Kanazawa *et al.*, (1977b, 1979ad) *fide* Cobo, 1997) se encontró que el proveer el 1% de 18:2n6 y 18:3n3 mejora el crecimiento del *P. japonicus*. Se ha documentado que alimentando larvas de peneidos con artemia enriquecida con HUFAS n-3 ha resultado en un incremento de la supervivencia, crecimiento (Leger & Sorgeloos, 1992) al igual que incrementa la resistencia al estrés (Wouters *et al.*, 1997).

Se sugiere que ácidos grasos n-3 son precursores de cadenas largas de ácidos grasos polyinsaturados que se incorporan al tejido, mientras que los ácidos grasos n-6 son usados como fuente de energía, sin embargo hace falta más investigación sobre el tema.

1.b.1.c. Carbohidratos.-

Metabólicamente importantes ya que sirven como almacenaje de glucógeno para la síntesis de quitina, la formación de esteroides y ácidos grasos.

No hay evidencia de una necesidad nutricional de los carbohidratos ya que ellos están incluidos en la dieta como parte de la fuente de energía barata y así se evita que las proteínas y los lípidos sean catabolizados a energía pero también sirven como intermediarios para la síntesis de otros compuestos importantes (Cobo, 1997).

La asimilación de los carbohidratos resulta más sencilla si se utilizan carbohidratos complejos en lugar de azúcares simples, por ejemplo: los peneidos son capaces de usar más eficientemente los disacáridos como sucrosa, maltosa, trealosa y polysacáridos como dextrina, glicógeno y almidón que monosacáridos como glucosa, galactosa y fructuosa (Andrew *et al.*, 1972, *fide* Babtista,1997), e incluso algunas investigaciones recomiendan incluir en la dieta del 30 al 40% de polysacáridos del total de carbohidratos debido a su

mejor asimilación (Akiyama, 1992). Los monosacáridos son absorbidos rápidamente pero son pobremente utilizados a niveles mayores del 10% e incluso podrían inhibir el crecimiento (Harrison, 1990).

Los carbohidratos son almacenados en el hepatopáncreas y en los músculos como glucógeno para luego ser movilizados y ser utilizados en el metabolismo como precursores de intermediarios metabólicos en la producción de energía y aminoácidos no esenciales además de participar en la producción de glucosamina, precursor en la síntesis de quitina, principal constituyente del exoesqueleto. También tienen un rol en la producción de ácidos nucleicos y en la composición de pigmentos ováricos interviniendo en la maduración en los procesos de ovogénesis, vitelogénesis y embriogénesis, destacando con ello su importancia nutricional.

1.b.1.d. Energía.-

Para los animales acuáticos el consumo de energía resulta menor que para los animales de sangre caliente por varias razones:

- No necesitan mantener la temperatura corporal.
- Utilizan menos energía para mantenerse en una posición o moverse.
- La excreción de amonio usa poca energía en el rompimiento de las proteínas y en la excreción.

Sin embargo un exceso de energía o por el contrario, un nivel insuficiente de energía disminuiría la tasa de crecimiento y hasta podría provocar un decrecimiento en el animal

dado que utilizaría esa energía principalmente para mantenerse vivo y moverse dejando el crecimiento y biosíntesis a un lado hasta tener suficiente energía para ello. Incluso es importante mantener una buena relación proteína/energía con el fin de evitar que las proteínas sean usadas como fuente de energía y se utilice para el crecimiento (New, 1987).

El consumo de un alimento se da hasta el momento en que el requerimiento de energía sea satisfecho, de tal manera que si un alimento se excede en su contenido de energía podría inhibir la ingestión del mismo y por consecuencia no consumiría toda la proteína presente en la dieta para el crecimiento.

El consumo de energía en conjunto con la reserva corporal deberá ser suficiente para cubrir la necesidad de movimiento y mantenimiento dando lugar de esa manera que la proteína sea utilizada en su totalidad para el crecimiento, biosíntesis, reproducción y muda (Harrison, 1990)

Algunos animales al entrar en la etapa de la madurez sexual pueden mantener simultáneamente una tasa de crecimiento y muda como en el caso del *P. indicus*, siempre y cuando sus requerimientos nutricionales sean satisfechos y las condiciones ambientales sean las adecuadas (Emerson, 1983 *fide* Harrison, 1990). Por otra parte existen otros que sacrifican su crecimiento por la reproducción como es el caso de los carídeos *Macrobrachium* donde claramente se ve como el crecimiento de la hembra declina al entrar a la madurez sexual (Emerson, 1983 *fide* Harrison, 1990)

Los crustáceos pueden obtener energía a partir de los carbohidratos, lípidos y proteínas sin embargo su uso eficiente a partir de estos substratos y en especial los carbohidratos

incluyendo el balance óptimo entre ellos parece variar a través de las especies de crustáceos (Harrison, 1990).

La etapa reproductiva es una fase de alto consumo energético debido al trabajo constante durante la biosíntesis y manufactura de lípidos, proteínas y carbohidratos, ácidos nucleicos para la producción de gónadas, oocitos, material genético y vitelo pero se hace necesaria la investigación en esta área para poder conocer estos niveles y las fuentes preferidas de energía para camarones adultos (Harrison, 1990).

1.b.1.e. Vitaminas.-

Las vitaminas son compuestos orgánicos complejos requeridos en mínimas cantidades para un crecimiento, metabolismo y reproducción normal. Su requerimiento en el camarón depende del tamaño, edad, tasa de crecimiento, condiciones ambientales y las interrelaciones de los nutrientes.

El alimento comercial para camarónicas está normalmente sobre dosificada con vitaminas, las cuales son costosas. Las vitaminas están alrededor del 15% del costo total de los ingredientes pero esta sobredosificación se debe a varias razones, primeramente se sabe poco sobre requerimientos para el camarón y ya que este genera muchos ingresos el sobredosificarla es una forma de asegurar y mantener la reputación del alimento. Segundo, los camarones se alimentan lento dejando el pellet expuesto al agua durante horas, lo que causa la lixiviación de las vitaminas y sobre todo las solubles en agua. Una sobredosificación asegura un nivel aceptable de vitaminas en el pellet. Tercero, las vitaminas se destruyen durante el proceso de alimentación y almacenamiento. La oxidación de las vitaminas se debe

al calor, humedad, pH, presencia de algunos minerales y por la oxidación de los lípidos. Cuarto, el contenido de vitaminas en los ingredientes varia y es muy costoso analizar cada ingrediente o cada batch de ingredientes, por ello es mucho más simple sobredosificar. Por ultimo los ingredientes deben contener factores antinutricionales los cuales reducirán o interferirán con las funciones de las vitaminas e incluso la oxidación lipídica incrementa el requerimiento de vitamina E. (Akiyama, 1991). Existen 11 vitaminas hidrosolubles y 4 liposolubles que se cree son requeridos por los camarones.

1.b.1.f. Minerales.-

Los minerales en crustáceos han recibido muy poca atención comparado con otros nutrientes debido especialmente al hecho de que ellos pueden alcanzar a cubrir sus necesidades de minerales tomándolos directamente del agua, en consecuencia se hace difícil determinar cuantitativamente los requerimientos de minerales. Además los ingredientes tienen cantidades suficientes de estos iones y no necesitan de un suplemento adicional. Tal vez sería potencialmente necesario suplir fósforo, Magnesio, Zinc y Cobre. (Davis & Laurence, 1992).

Una deficiencia o desbalance de minerales puede afectar a los reproductores de dos formas:

El estrés fisiológico podría causar una reabsorción de los oositos o en su defecto podría disminuir la capacidad reproductiva del animal causado por un desbalance electrolítico induciendo a un estrés osmoregulatorio concomitante con una fuerte deshidratación,

perdida del apetito, metabolismo alterado y funciones respiratorias y excretorias descoordinadas.

Otro efecto de la malnutrición mineral puede ser una alterada composición y calidad de huevos lo que indirectamente podría resultar en desordenes en la embriogénesis, eclosión y viabilidad larval (Harrison, 1990).

Deficiencias de minerales traza podrían provocar desordenes metabólicos debido especialmente a sus roles como coenzimas afectando particularmente a la proliferación rápida de material durante la gonadogénesis, gametogénesis y embriogénesis. Es posible que ciertos minerales sean requeridos en mayor cantidad durante la maduración con el fin de soportar el incremento de la actividad metabólica y para ser utilizados en el desarrollo de los oositos o talvez ser almacenados en su vitelo para su posterior uso por parte de los embriones y larvas (Harrison, 1990).

1.b.1.g. Carotenoides.-

Son pigmentos que están acumulados en los crustáceos de diferentes maneras, podemos encontrarlos como pigmentos libres, como ácidos grasos esterificados, unidos a macromoléculas covalentemente como por ejemplo, la quitina o asociados no covalentemente con proteínas y carbohidratos en complejos como carotenoglicoproteinas.

Los crustáceos no son capaces de sintetizar de novo los carotenoides (Harrison, 1990). Los carotenoides al ser absorbidos de su alimento son directamente almacenados o

metabolizados a otras formas, son originarios del material vegetal. El valor nutricional de los carotenoides en los crustáceos esta por ser determinado (Harrison, 1990) pero mucho se ha especulado sobre la importancia de estos durante la maduración sexual debido a su acumulación en los ovarios y la pigmentación de los huevos denotando que existe un rol significativo durante la reproducción, desarrollo embrionario y desarrollo larval. (Harrison, 1990).

Durante el proceso de maduración los carotenoides libres y esterificados deben acumularse en el hepatopancreas. La cantidad y calidad de los carotenoides dependen de varios factores incluyendo cambios estacionales y la disponibilidad de ellos en su alimentación y temperatura. La selectividad de la absorción intestinal y la capacidad de metabolizar diferentes carotenoides debe variar en cada especie.

Durante la vitelogenénesis secundaria parece que los carotenoides se movilizan del hepatopancreas hacia los ovarios. Son transportados en la hemolinfa y los carotenoglicoproteínas son tomados aparentemente por los oocitos por medio de la pinocitosis. (Gilchrist & Lee, 1972, *vide* Harrison, 1990).

El color de los ovarios es utilizado como indicador del grado de madurez y los colores varían de acuerdo al carotenoide acumulado y las glicoproteínas o lipoproteínas con quien esta asociado. La astaxantina es el pigmento predominante en los huevos y ovarios de los crustáceos decápodos (Harrison, 1990).

Se han postulado algunas funciones para los carotenoides en los crustáceos como el de antioxidante durante el transporte en la hemolinfa y en los huevos, o como ligeros protectores de los nutrientes en las reservas del embrión y de su tejido protegiéndolos de la

oxidación o radiación solar. Los carotenoides en huevos pueden incluso servir como reserva de pigmentos que serán usados por el embrión y larva para la formación de cromatóforos y pigmentos del ojo o como precursores de la vitamina A (Harrison, 1990).

1.b.2. Materias Primas.-

1.b.2.a. Fuentes proteicas de origen vegetal.-

Los productos vegetales son incorporados al alimento balanceado como un aporte energético y hasta cierta medida también como aporte proteico. La harina más investigada es la harina de soya pero éstas indican que tiene varias deficiencias como por ejemplo, la metionina (Hardy, 1989). La soya tiene el mejor perfil de aminoácidos que compagina con los requerimientos de aminoácidos del pez, pero los peces encuentran la soya inpalatable, es decir sin palatabilidad a excepción del salmón, sobretodo adulto entre quienes es bien aceptada. Según investigaciones canadienses se puede substituir gran parte de la harina de pescado con soya y se puede obtener buenos crecimientos o tasas de crecimiento satisfactorios pero también tiene factores antinutricionales que inhiben la tripsina en peces. (Hardy, 1989). Por lo general la soya se encuentra en alimentos balanceados en un rango del 10 al 25% y no debe exceder del 40%, esta harina es generalmente limitada por restricciones de procesado para producir alimentos estables en el agua. Otros productos de la soya son la harina de soya integral, pasta de soya y concentrados de proteínas de soya (Akiyama, 1991). El Trigo y sus productos son usados mayormente como aglutinantes o relleno del alimento de camarones ya que el gluten es un excelente aglutinante y buena fuente de

proteínas, sus niveles en dietas comerciales están alrededor del 0 al 5%. El gluten debe tener un mínimo de 60% de proteína y la harina de trigo debe tener mínimo 14 % de proteína. Los niveles de gluten de trigo y harina de trigo en las dietas comerciales van desde 0-5% y 15-30% respectivamente, otros productos del trigo como el salvado de trigo, cascarilla de trigo y trigo tierno, comúnmente no se usan debido a su alto contenido de fibra (Akiyama, 1991).

1.b.2.b. Proteínas de origen animal.-

Una de las fuentes mayormente utilizada es la harina de pescado blanco, aunque también la harina obscura puede adquirir un papel importante en un balanceado pues según investigaciones estas tienen una composición nutricional suficientemente buena. La harina de krill es una fuente importante de proteínas con un valor más allá del 50%, además tiene una buena composición de aminoácidos esenciales y es fuente de ácidos grasos linolénicos (n-3), sin embargo la calidad de la harina puede variar según su origen, época de recolección y métodos usados en su procesamiento (Hardy, 1989).

El calamar tal vez es el mejor ingrediente para el camarón. Se ha encontrado un factor de crecimiento el cual se cree es un pequeño péptido que incrementa la eficiencia digestiva del camarón así como mejora la tasa de crecimiento. El factor crítico del calamar es el tipo y cantidad de lípidos ya que contiene altas cantidades de colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos del tipo altamente insaturados (20:5n3 y 22:6n3). El calamar deberá contener mínimo un 40% de proteínas y un 5% de lípidos. Otros productos de calamar observados en alimentos comerciales incluyen harina de hígado de calamar, harina de vísceras de calamar, harina de manto de calamar y solubles de calamar. No hay limitaciones nutricionales en

cuanto a la harina de calamar sin embargo su uso es limitado debido a su precio y disponibilidad (Akiyama *et al.*, 1991).

La harina de camarón es otro producto utilizado en la alimentación acuícola, resulta del desecho seco del camarón incluyendo cabeza, exoesqueleto y/o el camarón entero, generalmente es secado con vapor o al sol. Esta harina es un excelente fuente de minerales, quitina, colesterol, fosfolípidos y ácidos grasos altamente insaturados, también es usado como un attractante. Debe contener un mínimo de 32 % de proteína, 4% de lípidos y un máximo de 14 % de fibra. Los niveles de esta harina en alimentos comerciales varían entre el 5 y 15% y su uso es generalmente limitado por la cantidad de fibra. Otros productos del camarón se han visto como harina de cáscara de camarón, harina de desechos de camarón, harina de misidáceos, extracto de solubles de cabeza de camarón y harina de krill (Akiyama *et al.*, 1991).

La *Artemia* es un crustáceo branquiópodo que viene usándose de un modo regular desde hace 30 años como alimento de peces y crustáceos siendo aún hoy el medio más fiable para asegurar una adecuada supervivencia y desarrollo larval, es un alimento vivo ideal por su fácil manejo, almacenamiento y cultivo, los nauplios pueden ser fácilmente desinfectados, resultando en un alimento libre de contaminantes, pero sobre todo, la *Artemia* adulta tiene un alto valor nutritivo sin dejar de mencionar su composición bioquímica asociada a su atracción organoléptica (Sorgeloos *et al.*, 1987). Estas características mencionadas pueden encontrarse también en otros organismos marinos, sin embargo la *Artemia* tiene una propiedad especial que no puede reemplazarse fácilmente y es la capacidad de sobrevivir en ambientes extremos como ecosistemas hipersalinos donde generalmente es encontrada. La

Artemia puede vivir en ambientes de variaciones extremas pues tiene la capacidad de protegerse a sí misma con quistes. Esta característica en particular es la que permite trabajar con un producto aparentemente inerte, es decir un quiste en estado de latencia. En la actualidad se enfoca el interés en la suplementación de dietas para reproductores con la *Artemia* adulta la cual juega un rol en la maduración del camarón (Neassens *et al.*, 1997). Altos niveles de hormonas reproductivas presentes en la *Artemia* adulta, la presencia de ácidos grasos esenciales, carotenoides y otros factores importantes son causantes potenciales del efecto inductor en la maduración ovárica en los camarones.

Experiencias con *Artemia* adulta como componente de la dieta en la maduración de camarones ha sido documentado por Bray & Lawrence (1990), las cuales indican que la administración de una dieta fresca congelada de calamar, poliquetos, camarón y *Artemia* adulta en una proporción de 4:2:2:1 para *Penaeus stylirostris* arrojaron buenos rendimientos reproductivos. Browdy (1997) encontró un aumento reproductivo cuando usó *Artemia* congelada como suplemento en la dieta para *Penaeus semisulcatus*.

1.b.3 Aditivos.-

1.b.3.a. Atractantes.-

Son componentes críticos de la dieta debido a que para especies especialmente como el camarón, la ubicación del alimento es por medio del olfato o quimiorreceptores de distancia. Algunos compuestos atractantes son aminoácidos libres y posiblemente pequeños

péptidos compuestos de amonio cuaternario, nucleósidos y nucleótidos (Chamberlain, 1997). Se encuentran de forma natural en los productos marinos y en altas concentraciones en los solubles o hidrolizados de los animales pero sus concentraciones difieren grandemente entre cada ingrediente. Los solubles de los animales marinos son comúnmente usados y por lo general a niveles del 1 al 5%. También se usan mezclas de aminoácidos sintéticos como: glicina, alanina, betaina, glutamato, en caso de que los costos lo permitan. (Akiyama *et al.*, 1991).

1.b.3.b. Aglutinantes.-

Los aglutinantes, también llamados auxiliares de peletización son utilizados en la producción de balanceados y piensos. Un pienso más compacto tiene una mayor estabilidad en el agua y durante la elaboración se logra reducir el frotamiento de los gránulos que causan pérdidas debido a la formación de finos. Existen otros factores que influyen en la estabilidad de la dieta como por ejemplo el tamaño de las partículas a peletizar, el tiempo de acondicionamiento y temperatura, abertura del dado y su grosor, tiempo de secado.

Los aglutinantes comúnmente usados para los animales terrestres como Carboximetilcelulosa, los ligninsulfonatos y bentonitas, no son suficientes para producir alimentos de camarón estables en el agua, los comúnmente usados para este fin son: gluten de trigo, harina con alto contenido de gluten, almidón, gelatina, colágeno, ácido algínico y agar. La harina de gluten es el aglutinante más utilizado debido a lo conveniente de sus costos.

1.b.3.c. Antioxidantes.-

Durante la producción y almacenamiento del alimento balanceado y las materias primas existe el peligro de que se oxiden importantes componentes y sustancias debido al oxígeno del aire. Las primeras sustancias afectadas son las grasas, así como los carotenoides y las vitaminas liposolubles. El deterioro se lo reconoce fácilmente debido al olor penetrante que despiden las grasas en descomposición. El peligro de la oxidación es mayor para las grasas con alto contenido de ácidos grasos insaturados.

Los factores que intervienen en la oxidación son las temperaturas elevadas, la acción de la luz y sobre todo la presencia de determinados minerales. Una vez iniciado el proceso de descomposición por oxidación, la degradación se desarrolla como una reacción en cadena y con una velocidad cada vez mayor, es por eso que siempre es necesario impedir esta reacción añadiendo pequeñas dosis de antioxidantes.

Según la legislación alemana, se permite el empleo de los siguientes antioxidantes: Etoxiquina (ETQ), Butilhidroxitoluol (BHT), Butilhidroxianisol (BHA), compuestos de ácido ascórbico vitamina C, Galatos, Tocoferoles (vitamina E). Con dosis de solo 0.1-0.15g por kg. los antioxidantes constituyen un grupo de aditivos de considerable eficacia en dosis muy pequeñas sin embargo es muy importante que éstos estén bien distribuidos en la dieta.

2. MATERIALES Y METODOS.-

2.a. FORMULACION.-

Se partió con una dieta que fue formulada de tal forma que contenga 10.5% de lípidos y 52% de proteína manejando ingredientes cuya composición nutricional era conocida. La dieta estuvo compuesta de 60% de harinas de origen animal como calamar, pescado y krill, 15% de harinas vegetales como trigo y soya además de 3% de lípidos ricos en ácidos grasos polinsaturados, fosfolípidos y colesterol. Como ingrediente de relleno se utilizó la maicena. A partir de esa base se cambiaron y modificaron algunos factores para realizar los experimentos.

2.b. PREPARACION DE LAS DIETAS.-

Las dietas que fueron utilizadas en los experimentos fueron preparadas en las instalaciones del Cenaim exceptuando las dietas comerciales utilizadas en el experimento 5. Para la preparación del balanceado se procedió primeramente a pesar cada uno de los ingredientes a utilizarse de acuerdo con la formulación ya establecida para el experimento. Una vez pesado cada ingrediente, se procede a mezclarlos uno por uno en un recipiente grande y de forma ascendente, es decir que se comienza a mezclar los ingredientes de menor peso hacia los de mayor peso, con el objetivo de conseguir una mezcla lo más homogénea posible. Una vez obtenida la mezcla se procede a agregarle agua, 45 g de agua por cada 100 g de mezcla, de una manera muy lenta a la vez que se va mezclando. La mezcla resultante es pasada inmediatamente por un molino Oster Heavy Duty Food Grinder

o Lieme para la formación del pellet y luego de obtener las tiras de pellet se las coloca en un secador de granos Isuzu Constant Temperature Oven model 2-2132 durante 2 horas para eliminar el exceso de agua y después es colocado en funda plástica, sellado y colocado en la nevera para mantenerlo almacenado a -20°C .

2.c. ORIGEN Y ACLIMATACION DE LOS REPRODUCTORES.-

Los reproductores *Penaeus vannamei* para cada experimento, se obtuvieron por medio de la pesca en alta mar con un peso de 40 - 70 g, los cuales fueron recibidos directamente en el tanque experimental previamente seleccionados basándonos en su morfología y estado físico, estado de estrés, peso y sexo. Al día siguiente se les daba de comer con el régimen experimental y a cada cual con el alimento experimental que le correspondía con la intención de aclimatarlos al nuevo hábitat y no es si no hasta el cuarto día que se inició con la toma de datos del experimento.

2.d. PRUEBAS PRELIMINARES

2.d.1. Experimento preliminar No.1 “Frecuencias de Alimentación”.-

El objetivo de esta prueba fue el observar el momento exacto cuando los animales están dispuestos a alimentarse de acuerdo con el fotoperíodo normal, es decir las horas naturales de alimentación. Para ello se utilizó 12 tanques de 1 tonelada con fondo oscuro y de forma rectangular, con un recambio del 200% de agua de mar en el que se colocó 2

reproductores, un macho y una hembra a los que se les daba calamar picado. Se les proporcionó alimento 2 veces al día, la primera vez a las 07h00 y la segunda a las 18h00 durante 6 días. Las observaciones se realizaron cada hora con una linterna a pilas y un filtro rojo para evitar la inhibición de las actividades normales en el *P. vannamei* (Primavera, 1995). Durante los 3 primeros días se realizaron monitoreos diurnos y durante los siguientes 3 días se realizaron monitoreos nocturnos en los que se observaba la actividad que el animal estaba llevando a cabo en el momento del monitoreo. Los resultados fueron luego graficados en un histograma de frecuencias.

2.d.2. Experimento preliminar No. 2 “Pruebas de Estabilidad ”.-

Primeramente se procedió a establecer el porcentaje de humedad de la dieta y para ello tomamos 2g de muestra molida y pasada por una malla de 100 μ , la colocamos en una cápsula de peso conocido y lo colocamos en la estufa durante 24 horas a 60° C, luego de dejarlo enfriar en el desecador por 15 minutos se procedía a pesar.

Con estos valores se obtuvo el porcentaje de humedad por medio del siguiente procedimiento (P = peso):

$$P_{\text{restante}} = P_{\text{total}} - P_{\text{cápsula}}$$

$$P_{\text{perdido}} = 2\text{g} - P_{\text{restante}}$$

$$\% \text{Humedad} = (P_{\text{perdido}} / 2\text{g}) \times 100$$

Con esta prueba se deseaba establecer una forma de cuantificar la estabilidad de un alimento balanceado en el agua; medir de alguna manera la cantidad de alimento que se pierde en el agua y que no es aprovechado por el animal. Para ello se tomó 1g de alimento y fue colocado en frascos de vidrio de 100ml con agua salada, luego se los sometía a movimiento constante con un rotor Eyla uni thermo shaker NTS 1300 a unas 70 a 75 rpm (Foto 1) con el objeto de simular el movimiento del agua en el tanque y la manipulación del pellet por parte del animal, durante 5, 15, 30 minutos, 1, 2, 4, 6 horas con 4 réplicas cada una. Luego de eso se vertió sobre una malla con aberturas de 0.6mm o 2mm de diámetro, el contenido de los frascos con el fin de que las partículas desprendidas se filtren a través de ella, eliminándose el alimento que no sería consumido por el animal después de cierto tiempo debido al tamaño de las mismas. Después de ser filtrados los pellets y colectados en la malla metálica, se sometían a calor en la estufa Isuzu Drying Oven Model 2-2040 a una temperatura de 60° C durante 24 horas para luego ser pesadas y determinar la fracción de alimento estable en el agua (Figura 1). Debido a múltiples observaciones se decidió probar la malla gruesa pues las partículas que quedaban retenidas en la malla fina no reflejaban lo que realmente podía ser consumido. Esta fracción (f) se calculó de la siguiente manera:

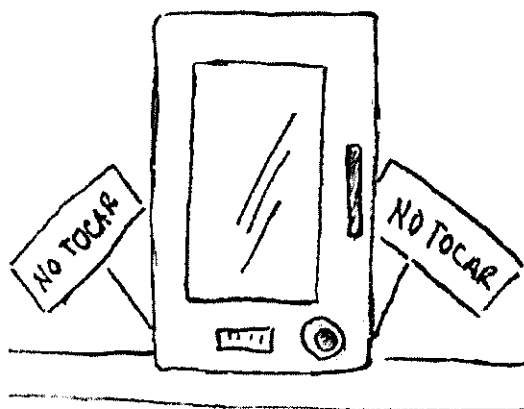
$$f_{\text{estable}} = 1 - [(P_{\text{inicial}} - P_{\text{final}}) / P_{\text{inicial}}]$$



a.- Movimiento en el rotor



b.- Colección del alimento en la malla



c.- Secado para luego ser sometido al pesaje.

Figura 1: Esquema general del procedimiento para la determinación de la estabilidad de los alimentos a usarse.

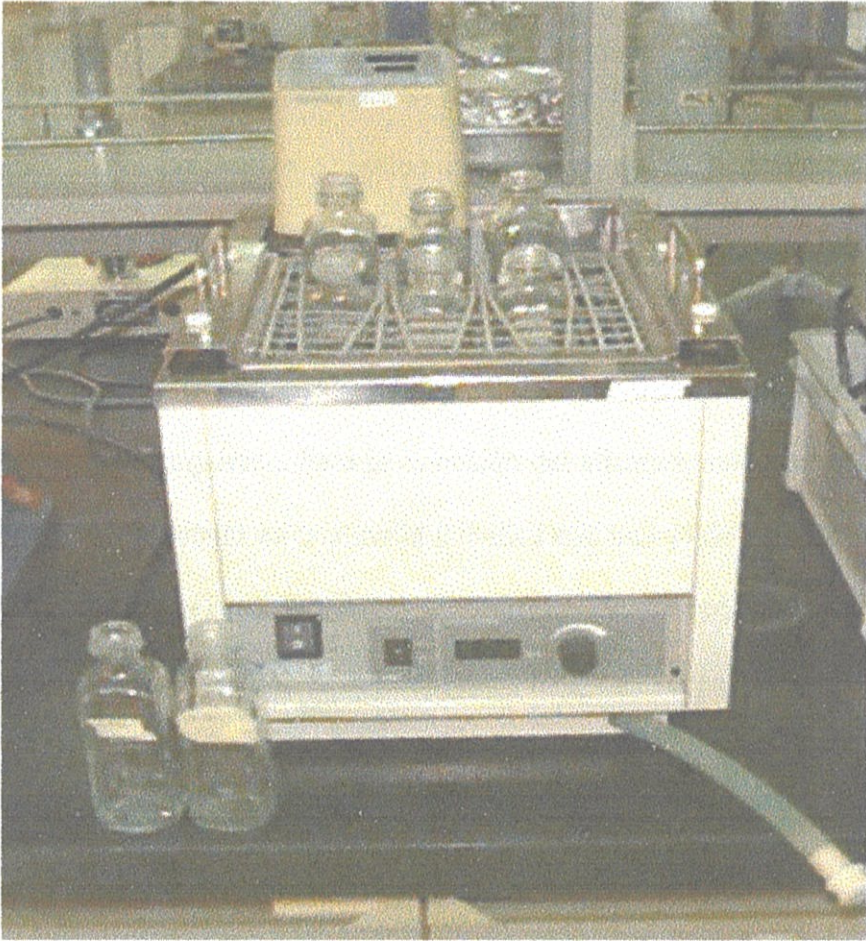


Foto 1: Frascos de vidrio colocados en el rotor Eyela uni thermo shaker NTS 1300

2.d.3. Experimento preliminar No. 3 “ Funcionalidad del sistema experimental”.-

El protocolo experimental utilizado fue el siguiente: Se utilizó 12 tanques de 1 tonelada divididos en 2 compartimentos de iguales dimensiones con un marco de madera y una malla plástica (Foto 2 y 3), un reproductor en cada compartimento. Los tratamientos fueron distribuidos aleatoriamente a cada tanque. La columna de agua fue de 50 cm, para la aireación se usaron piedras difusoras y se aplicó un 100 % de recambio diario con agua de mar filtrada a 10 u. Fueron alimentados una vez al día, a las 24h00 con el 3% de la biomasa con un excedente de acuerdo a la estabilidad de la dieta.

Fueron sometidos a temperatura ambiente y fotoperíodo natural. El alimento sobrante se colectó a las 06h00 del día siguiente. Para la colección del alimento sobrante se utilizó un sifón el cual depositó lo colectado en una malla metálica con un ojo de malla de 2 mm de diámetro. Esta malla, una vez trasladada al laboratorio, se procedió a la separación minuciosa entre los desechos y el alimento sobrante. Una vez separado el alimento, se procedió a enjuagarlo con agua potable. Luego el alimento fue secado a 60 ° Celcius durante 24 horas. Después se procedió a pesar y a calcular cuanto alimento ha consumido durante esa noche cada animal individualmente.

Este experimento tuvo 3 tratamientos que fueron:

- Alimentación con Calamar al 100%.
- Alimentación con 50% pellet y 50% calamar.
- Alimentación con 100% pellet.



Foto 2



Foto 3

Foto 2 y 3: Tanques utilizados para los experimentos vistos desde diferentes perspectivas.

El resultado que se esperaba obtener es que aquel grupo alimentado con alimento fresco, en este caso Calamar, sea el grupo que mayor consumo de alimento manifieste por encima del grupo alimentado con 100% pellet y encontrar diferencias significativas entre los tratamientos.

Para los cálculos se consideraron, al igual que en todos los experimentos, los siguientes factores:

- Peso del alimento dado.
- Peso del alimento ya seco.
- Factor de estabilidad (f).
- Peso de las mallas.
- Peso del animal.

Los cálculos se hicieron siempre en base seca y de la siguiente manera:

Se restó el peso de las mallas del peso total que obtenemos al secar el alimento recolectado para obtener el peso del alimento que sobró.:

$$W_{\text{sobran}} = W_{\text{total}} - W_{\text{malla}}$$

Para conocer la cantidad de alimento disponible para que el animal consuma multiplicamos la fracción de estabilidad por el monto de alimento dado:

$$W_{\text{disponible}} = W_{\text{dado}} \times f_{\text{estable}}$$

Con esta información se obtuvo la cantidad de alimento ingerido siendo:

$$W_{\text{ingerido}} = W_{\text{disponible}} - W_{\text{sobrante}}$$

Una vez obtenida la cantidad de alimento ingerido (en base seca), calculamos el porcentaje ingerido de acuerdo a la biomasa del animal (en base húmeda):

$$\% \text{Ingestión} = (W_{\text{ingerido}} / W_{\text{animal}}) \times 100$$

2.e. EXPERIMENTOS DE INGESTION.-

2.e.1. Experimento 1 “Aclimatación”.-

En este experimento se utilizó alimento seco en un 100%, se utilizó una dieta balanceada producida en el CENAIM para reproductores con 15 % de humedad, 10.5% de lípidos, 52% de proteínas. Los tratamientos fueron los diferentes tipos de aclimatación a los que fueron sometidos los animales, con el fin de conocer si en realidad la forma de aclimatación influye en el grado de ingestión de alimento balanceado. La metodología usada fue similar a la que se explicó en el experimento preliminar 3. Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Animales silvestres que fueron aclimatados durante mes y medio con 50% de calamar y 50% de dieta de engorde. (Ala)
2. Animales silvestres que han sido sometidos a dos días de ayuno. (Ayu)
3. Animales silvestres que no han sido sometidos a ningún ayuno ni aclimatación. (Nor)

2.e.2. Experimento 2 “Artemia ”.-

En el experimento 2 se hicieron pruebas con dietas que contengan 33% de *Artemia* pero con diferentes presentaciones. Una dieta se preparó con 20% de *Artemia* decapsulada para mantener dietas isolipídicas ya que estos embriones tienen un alto nivel de lípidos. Con esta prueba se desea conocer si niveles altos de *Artemia* en la dieta mejoraría la ingestión del balanceado ya que se conoce que la *Artemia* puede utilizarse como un attractante alimenticio para dietas que están siendo utilizadas además para la evaluación de requerimientos nutricionales en peneidos (Aranyakananda & Lawrence, 1994). Los tratamientos en este caso son dietas balanceadas en base de:

- 1.- Harina de *Artemia* adulta liofilizada. (Ali)
- 2.- Embriones de *Artemia*, para lo cual se procedió a decapsular cistos de *Artemia* y una vez decapsulados eran almacenados a -20° C hasta ser usados. (Qui)
- 3.- Se utilizó *Artemia* adulta fresca en base seca y secada al sol, incluyéndola seca y entera en la dieta. (Afr)
- 4.- Dieta control o la formulación base sin *Artemia* alguna, misma formulación que se utilizó en el experimento anterior. (Con)

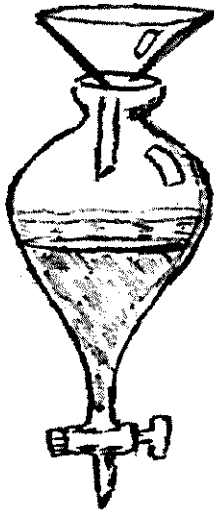
2.e.3. Experimento 3 “Lípidos”.-

En este experimento se probaron diferentes niveles de lípidos en la dieta, [bajo(B), mediano (M), alto (A)], para de esta forma conocer que nivel lipídico resultaría mejor para la ingestión de alimento balanceado. De igual manera se deseaba verificar la eficacia de un atrayente para dietas de maduración. Para este experimento se formularon 4 dietas diferentes, tres con 7, 10 y 13% de lípidos respectivamente y un porcentaje de atrayente comercial y una dieta con 10% de lípidos pero sin atrayente siendo los tratamientos los siguientes:

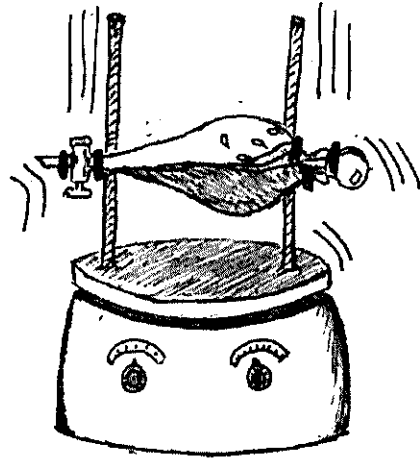
1. Pellet con 7% de lípidos. (B)
2. Pellet con 10% de lípidos. (M)
3. Pellet con 13% de lípidos. (A)
4. Pellet con 10% de lípidos sin atrayente comercial. (M sa)

Para lograr disminuir el porcentaje de lípidos en la dieta se procedió a extraer grasa de la harina de calamar y pescado de la siguiente manera (Figura 2):

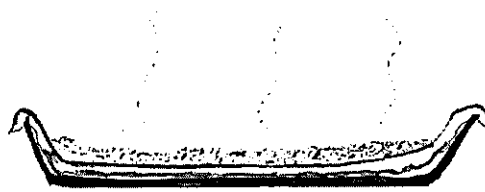
- Se colocó en una ampolla de vidrio la harina de calamar y una solución de solventes cloroformo:metanol 1:2, en una proporción de 1:3 (50g de harina: 150 ml de solución)
- Esta ampolla fue sometida a agitación en un agitador de tamices Sieve Shaker RB-8 durante 2 h.
- Se extrae el solvente sobrenadante.
- Se colocó la harina en una bandeja para secar al ambiente y eliminar de esta manera los residuos de solvente mediante volatilización durante 48 h.



a.- Ampolla con harina y solventes.



b.- Agitación durante 2 horas.



c.- Secado y volatilización de solventes.

Figura 2: Esquema general del procedimiento descrito para la disminución de la cantidad de grasa en la harina.

Para alcanzar el porcentaje de lípidos deseado en las dietas se formuló utilizando aceite de soya.

Para saber el porcentaje de lípidos totales que contenía la harina desgrasada se le aplicó la técnica de Folch (Christie, 1982) para lípidos totales. También se utilizó esta misma técnica para determinar la cantidad de lípido total que tenía cada dieta una vez preparada.

2.e.4. Experimento 4 “Quimioatracción”.-

En este experimento se hizo una prueba con el extracto acuoso de animales marinos como: calamar (*Lolliguncula panamensis*), mejillón (*Mytillus edulis*) y ostra (*Ostrea iridicens*) procedentes de las costas ecuatorianas, utilizando los aminoácidos presentes en el extracto como atractante ya que se conoce que éstos podrían mejorar así la ingestión del alimento (Deshimaru & Yone, 1978 *fide* Aranyakanada & Lawrence, 1994). Los extractos se obtuvieron tomando 50 g del animal picado y sometido a homogeneización bajo una cámara de hielo y en una proporción de 1:2 de animal picado:agua desionizada. La homogeneización duró 5 minutos a 150000 rpm.

Luego se lo centrifugó a 10.000g a 4° C durante 20 minutos, se tomó el sobrenadante y se lo almacenó a -20° C hasta el momento de su uso. En la dieta se utilizaron 93 g base húmeda del extracto por cada 100g de dieta. Los tratamientos fueron los siguientes:

1. Pellet con extracto de mejillón (emejill).
2. Pellet con extracto de Ostra (eostra).
3. Pellet con extracto de calamar (ecalamar).
4. Pellet sin extracto (con-).

2.e.5. Experimento 5 “Prueba Final”.-

En este experimento se esperaba ver cual de las dietas comerciales o experimentales tenía una mayor ingestión por parte de los reproductores. Se realizó una comparación entre 2 dietas comerciales, una adaptación de la dieta experimental utilizada por Mendoza *et al.* (1997) en reproductores *P. vannamei* y una dieta que reúna las mejores características de los experimentos anteriores a la cual denominamos dieta VLIR siendo los tratamientos los siguientes:

1. Dieta comercial 1 (LB).
2. Dieta comercial 2 (MF).
3. Dieta experimental 1 (AM).
4. Dieta experimental 2 (VLIR).

2.f. ANÁLISIS DE DATOS.-

Los tratamientos fueron distribuidos aleatoriamente a cada tanque experimental y los reproductores fueron distribuidos en pareja en cada tanque de una forma aleatoria con el fin de obtener 3 réplicas macho y 3 réplicas hembras en caso de existir diferencias significativas entre sexos, caso contrario tendríamos 6 réplicas por cada tratamiento.

Los valores diarios obtenidos se sometieron al cálculo de promedios de los siete días de experimento para cada animal de cada tratamiento. Estos datos obtenidos fueron sometidos a una ANOVA de doble vía para ver el efecto que tenían cada tratamiento y el sexo sobre la ingestión del alimento dado en los diferentes experimentos. El margen de probabilidad utilizado fue de $p \leq 0.05$ para determinar las posibles diferencias significativas utilizando Duncan para el análisis de doble rango. Se eliminaron del conjunto de datos los valores correspondientes a los días en que el animal atravesó el proceso de muda debido a que durante este evento su ingestión es casi nula.

3. RESULTADOS Y DISCUSION.-

3.a. PRUEBAS PRELIMINARES.-

3.a.1. Experimento Preliminar 1 "Frecuencias de Alimentación".-

En este experimento se deseaba conocer las horas naturales de alimentación del camarón con el fin de establecer el horario más adecuado para los experimentos de ingestión. Según las observaciones obtenidas se notó que en los reproductores *P. vannamei* existe una mayor actividad a partir del ocaso.

De acuerdo con otras investigaciones se conoce que muchos peneidos, aun en su etapa juvenil, esperan el anochecer para desarrollar normalmente sus actividades (Primavera *et al.*, 1995) y aunque en el caso del *P. vannamei*, su etapa juvenil es de mucha actividad durante el día, existe una tendencia natural a disminuirla a medida que éste va creciendo hasta hacerse un animal nocturno en su adultez (Moctezuma y Blake, 1981, *fide* Primavera *et al.*, 1995).

En lo concerniente a la alimentación, en el caso de los reproductores *P. vannamei*, estos buscan su comida y se alimentan en los momentos de suministro del alimento fresco (gráfico #1), y es a partir de la medianoche hasta el amanecer, como lo podemos ver en el gráfico #2, donde a esas horas encontramos con mayor frecuencia animales comiendo. Aparentemente existe un horario adecuado o preferido para las diferentes especies pues en el caso del *P. esculentus*, éste prefiere alimentarse antes de la medianoche y aunque le proporcionen alimento nuevo y fresco después de esa hora, no le dedica tiempo a la alimentación. (Hill y Wassenberg, 1987 *fide* Dall *et al.*, 1990).

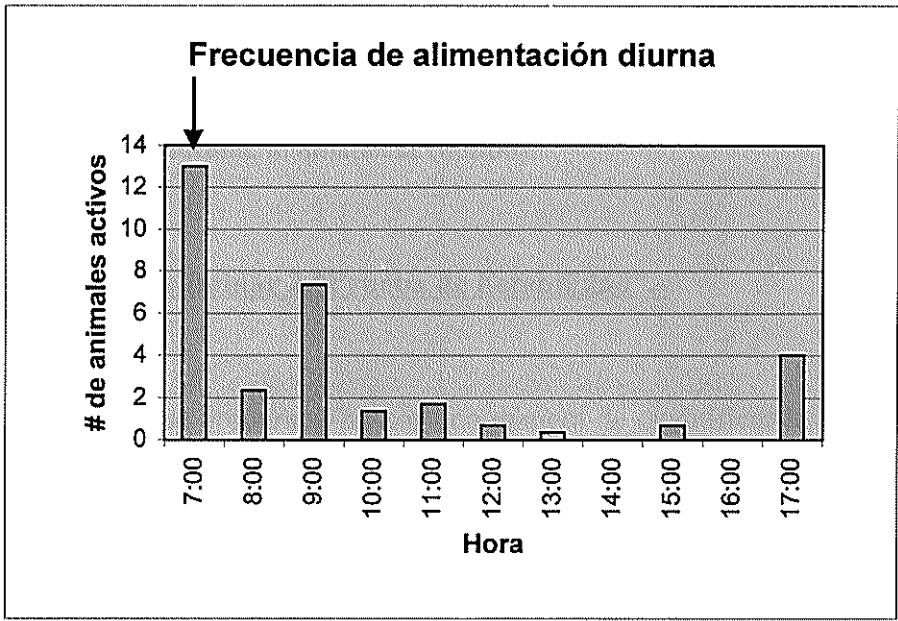


Gráfico #1: Animales comiendo durante el día.

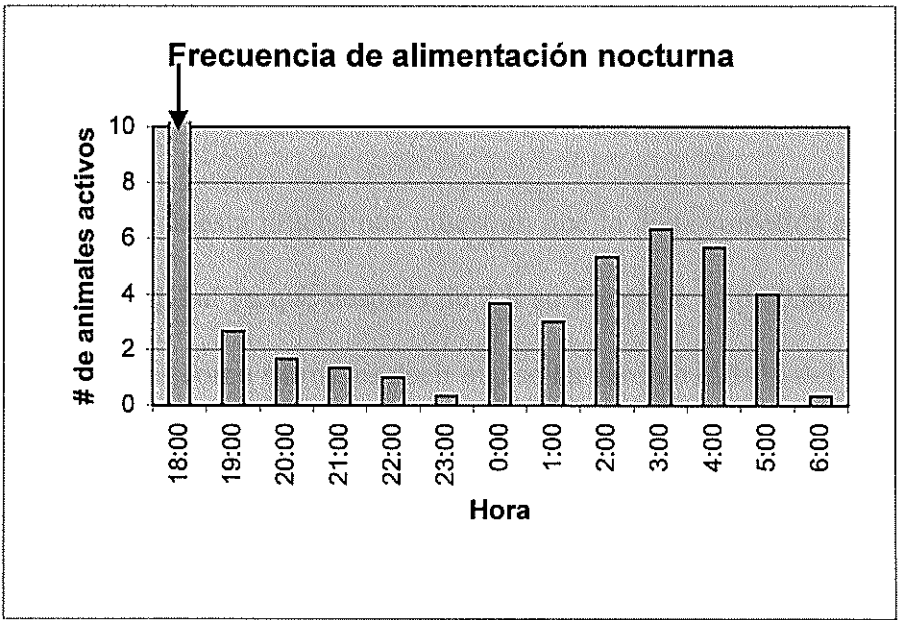


Gráfico #2: Animales comiendo durante la noche hasta el amanecer.

Basándonos en esto se decidió alimentar a los animales a la medianoche (24h00) de tal forma que el alimento estuviera disponible a las horas de su alimentación para luego recolectar el alimento sobrante al amanecer (06h00).

3.a.2. Experimento Preliminar 2 “Prueba de Estabilidad”.-

En esta prueba se procuraba buscar una manera de cuantificar la estabilidad de una dieta. La metodología descrita muestra que el tiempo es un factor de gran influencia sobre la estabilidad, pues mientras mayor tiempo de contacto tenga el alimento con el agua, mayor será la pérdida como lo indican los gráficos # 3 y # 4. De acuerdo a observaciones posteriores se puede decir que si el alimento contiene un alto porcentaje de humedad combinado con una pobre compactación, la estabilidad resultante de esa dieta será muy baja.

Los resultados de esta prueba nos muestran que la dieta sometida a evaluación tiene una buena estabilidad ya que después de 2 h su f estable es de 0.86 (gráfico #4) utilizando ambas mallas como filtros, es decir que se ha perdido el 14% del peso inicial. La pelletización de esta dieta se realizó en las instalaciones del CENAIM con el molino casero Oster antes descrito.

3.a.3. Experimento Preliminar 3 “Sistema Experimental”.-

Esta prueba nos ayudó a visualizar las etapas que tendrían los experimentos de ingestión y saber si el sistema reflejaría lo que sucede en los tanques de reproducción del departamento de maduración. En experimentos anteriores realizados en dicho departamento se observó que al suministrar al camarón, calamar y pellet al mismo

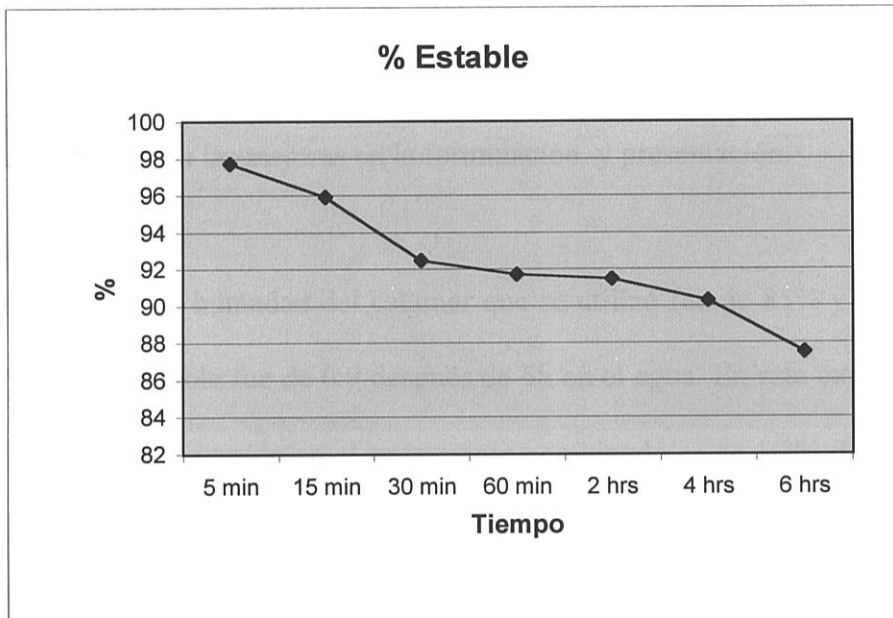


Gráfico #3: Pérdida progresiva de alimento en el agua.

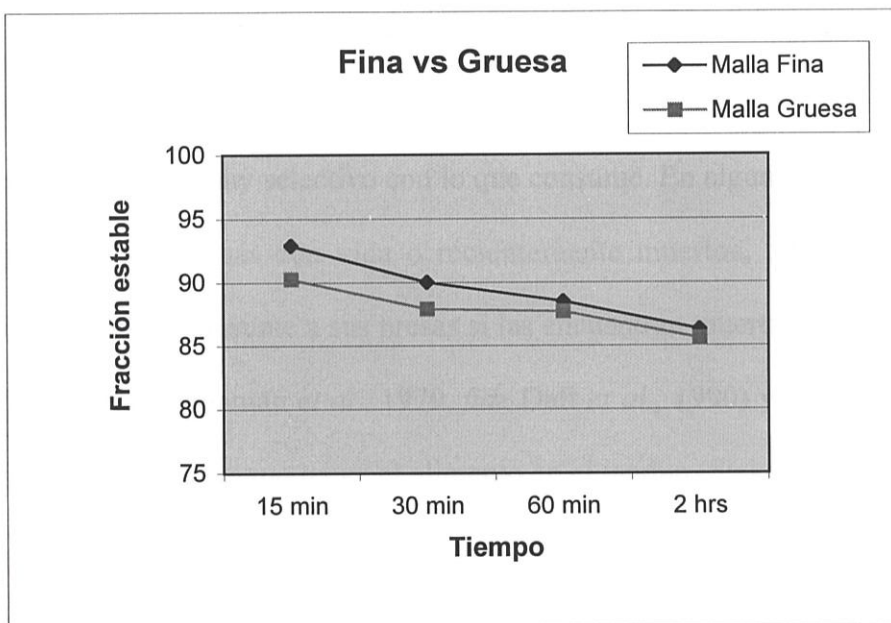


Gráfico #4: Pérdida progresiva de alimento usando malla fina y gruesa.

tiempo la ingestión de este último era relativamente bajo. En este experimento la ingestión del alimento artificial ha sido menos crítico como lo podemos ver en el gráfico # 5, esto puede deberse a las mejoras en la formulación y presentación.

El porcentaje de humedad del calamar que se utilizó fue de 85% y la del pellet fue del 11% y su ϵ estable fue de 0.9 después de 6h en el agua. En este experimento la cantidad de calamar consumido en el tratamiento combinado es de 1.2% de la biomasa del animal mientras que el pellet que consumió fue de un 0.8% de la biomasa. En los tanques del tratamiento solo con calamar, la ingestión promedio fue de un 2.4% de la biomasa y en aquellos del tratamiento solo con pellet, la ingestión promedio fue de un 2.1% de la biomasa. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$).

A pesar de que se piensa que el camarón es un animal carroñero y detritívoro, también puede resultar ser muy selectivo con lo que consume. En algunos trabajos se ha visto que prefieren sus presas con vida o recientemente muertos, tal es así que el *Metapenaeus dobsoni* no consume a sus presas si las encuentran muertas y con el tejido ya deteriorado (Balasubramanian *et al.*, 1979, *fide* Dall *et al.*, 1990) y el *P. duorarum* come menos mientras más tiempo tenga el alimento en el tanque (Sick & Baptist, 1973; Sick *et al.*, 1973 *fide* Dall *et al.*, 1990). Seguramente el calamar no fue altamente ingerido debido al largo período de tiempo que los trozos se mantuvieron en el agua, lo que naturalmente lleva a un pronto deterioro de la carne de este animal cambiando su textura y seguramente su sabor provocando una disminución de su consumo hasta el rechazo. Se ha visto que el *P. esculentus* come mientras el alimento aún esté fresco pero a medida que las horas pasan y el alimento se deteriora, deja de comer (Hill y Wasseberg, 1987, *fide* Dall *et al.*, 1990).

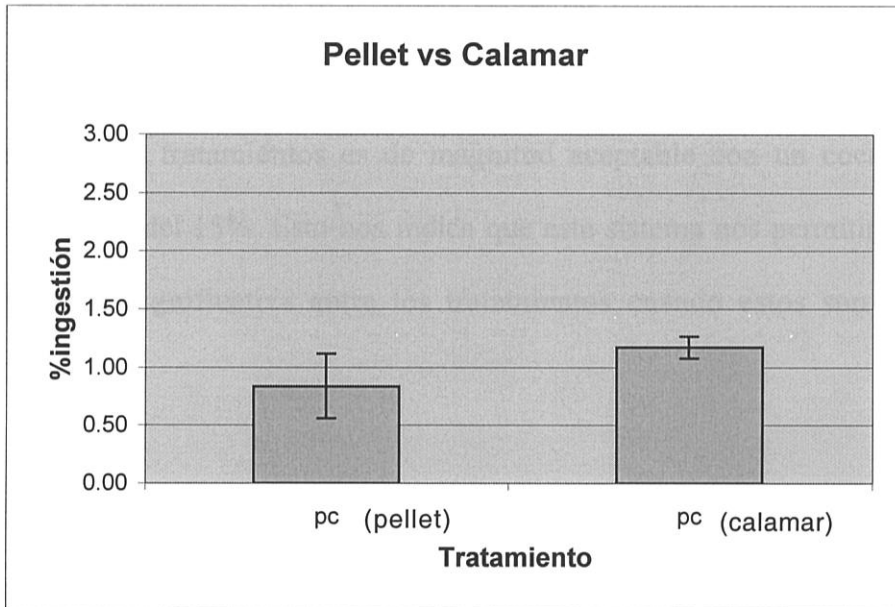


Gráfico #5: Comparación entre las tasa de ingestión del pellet y el calamar en el tratamiento combinado

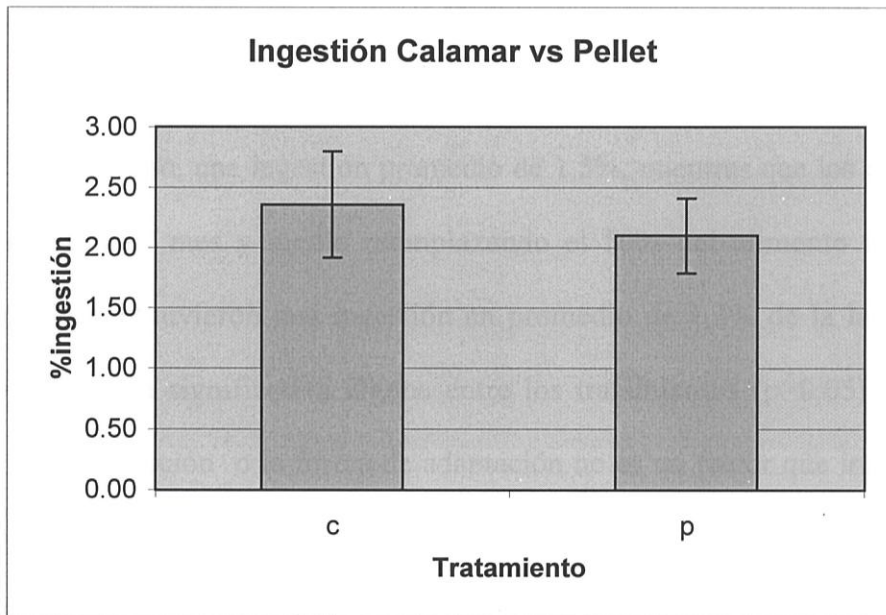


Gráfico #6: Tasa de ingestión del calamar y el pellet en sus respectivos tratamientos

En este experimento no se esperaba encontrar valores similares de ingestión entre el pellet y el calamar como muestran los gráficos # 5 y # 6, pero la variación observada entre los tratamientos es de magnitud aceptable con un coeficiente de variación alrededor del 15%. Esto nos indica que este sistema nos permitiría detectar alguna diferencia significativa entre los tratamientos cuando estos son realmente distintos.

3.b. EXPERIMENTOS DE INGESTION.-

3.b.1. Experimento 1 “Aclimatación”.-

De acuerdo al gráfico #7, el grupo de animales que no recibieron ningún trato especial obtuvo una ingestión en promedio del 1.7% de la biomasa y al grupo que recibió 2 días de ayuno, una ingestión promedio de 1.5%, mientras que los que fueron aclimatados durante mes y medio reemplazando el 50% del alimento fresco con alimento artificial obtuvieron una ingestión en promedio de 1.3% de la biomasa sin encontrarse diferencia significativa alguna entre los tratamientos ($p > 0.05$). Esto nos indica que la aclimatación o la forma de adaptación no es un factor que influye en la ingestión de forma significativa.

A pesar de que la aclimatación de mes y medio no es usada frecuentemente, la intención fue ver si las aclimataciones de larga duración terminaban por acostumbrar al animal al pellet pero de acuerdo a los resultados eso no fue así, más bien al parecer el animal esperaba recibir su porción de alimento fresco como siempre.

Tabla 1: Características del pellet en el experimento 1

<i>Características</i>	
% humedad	15
% lípidos	10.5
% proteínas	52
f estable	0.87

3.b.2. Experimento 2 “Artemia”.-

Existe un gran interés en el uso de la *Artemia* adulta como suplemento para la alimentación de los reproductores ya que al parecer la *Artemia* adulta tiene ciertos constituyentes que favorecen la madurez sexual e incluso mejoran la calidad de los desoves (Browdy *et al.*, 1980, Naessens *et al.*, 1997, Wouters *et al.*, 1999).

De acuerdo con las investigaciones de Sick y Andrews (1973) la *Artemia* resultaba ser un gran promotor de crecimiento para los juveniles *P. duorarum* e incluso en el mismo año Sick y Baptist demostraron que la tasa de ingestión de pellets para postlarvas de *P. duorarum* se incrementó notablemente con el aumento del nivel de *Artemia* seca congelada de un 10 a un 30% en la dieta y lo mismo sucedió con juveniles *P. vannamei* al incluir 2% de *Artemia* seca congelada (Aranyakananda y Lawrence, 1994). Esto nos sugiere que el atractivo que tiene la *Artemia* logra una ingestión elevada del alimento formulado y así se obtiene un mejor aprovechamiento de los nutrientes ofrecidos en la dieta obteniendo de esta forma los resultados esperados, en este caso un mayor crecimiento en menor tiempo.

Para el caso de reproductores se opta por incluir la *Artemia* en la dieta balanceada en un 33% en base seca para probar si ejerce un efecto attractante y logra aumentar la tasa de ingestión ya que se planificaba realizar un experimento de reproducción con este pellet para ver su efecto en la inducción a la madurez. En este caso la variante entre los tratamientos fue la materia prima utilizada en cada una de las dietas, donde se usó harina de *Artemia* liofilizada, *Artemia* entera descongelada y embriones de *Artemia* o *Artemia* decapsulada, las mismas que fueron incluidas en un 20% en base seca debido a su alto nivel de lípidos, y una dieta control que no contenía *Artemia*.

La dieta control obtuvo el mayor porcentaje promedio de ingestión, 1.9%, seguido por la dieta con *Artemia* decapsulada cuyo porcentaje promedio de ingestión fue de 1.7%, luego 1.4% y 1.1% para la dieta con *Artemia* entera y harina de *Artemia* respectivamente como se aprecia en el gráfico # 8. Esto sugiere que tal vez la *Artemia* en grandes cantidades es mejor apetecida durante la etapa juvenil y al igual que el horario de sus actividades normales, sus hábitos y preferencias alimenticias van cambiando a medida que va creciendo.

De acuerdo a los resultados obtenidos vemos que la ingestión no ha sido muy favorecida con estos niveles de *Artemia*. Al parecer el nivel de *Artemia* incluido en la dieta pudo ser demasiado elevado y tal vez la palatabilidad se vio afectada por ello o quizá el equilibrio nutricional se vio de alguna manera afectado. En los tratamientos se observaron muchas variaciones y por lo tanto no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$). Cabe mencionar que mediante observaciones eventuales en un experimento posterior del departamento de maduración se pudo notar

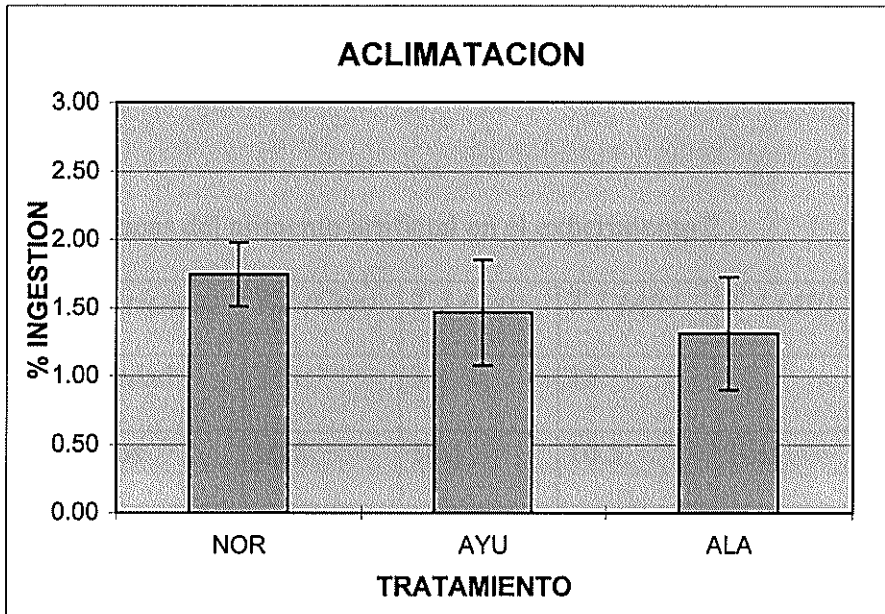


Gráfico #7: Tasa de ingestión de acuerdo a la aclimatación

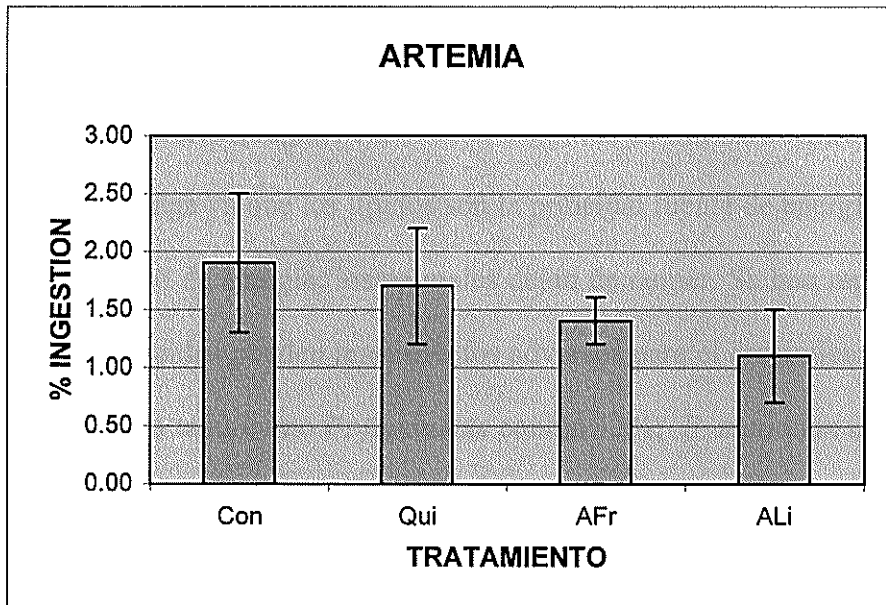


Gráfico #8: Tasa de ingestión de acuerdo al tipo de artemia usada.

que la ingestión de pellets con 20% de harina de *Artemia* liofilizada fue muy alto e incluso rápido, por tanto se puede decir que los resultados obtenidos son contradictorios.

Tabla 2: Características del alimento artificial en el experimento 2

Características	T 2 (Con)	T 3 (Aqi)	T 1 (Afr)	T 4 (Ali)
% humedad	2	3	15	15
% lípidos	10.5	10.5	10.5	10.5
% proteínas	52	52	52	52
f estable	0.86	0.87	0.67	0.68

3.b.3. Experimento 3 “Lípidos”.-

Otro de los factores que puede afectar la ingestión de alimento es la cantidad de lípidos que éste contenga ya que los lípidos son la principal fuente de energía y una vez satisfecha la necesidad de energía, los animales dejan de comer. Se han reportado que niveles elevados de lípidos pueden tener efectos adversos para el crecimiento y normal desarrollo de juveniles tales como *P. japonicus* con un 12%; *P. monodon* con 15%, *P. vannamei* y *P. setiferus* con 9.6% y 12% respectivamente, (Deshimaru *et al.*, 1979; Bautista, 1986; Dokken, 1987 *fide* Aranyakananda y Lawrence, 1994) sin embargo se tiene que tomar en cuenta que la composición de los lípidos también puede afectar la ingestión.

El promedio de ingestión en este experimento va disminuyendo a medida que aumenta el nivel de lípidos tal como se puede apreciar en el gráfico #9, siendo que la dieta con

10% de lípidos alcanzó un 0.36% de ingestión y la que contenía 13% alcanzó solo 0.11% en este experimento y bajo estas condiciones. En el gráfico # 9 y 10 vemos que las dietas con nivel Medio de lípidos y nivel Bajo de lípidos son las que fueron relativamente más ingeridas pero entre ellas no hay diferencias significativas ($P > 0.5$). Esto tal vez nos indique que una dieta con suficientes lípidos o con los lípidos adecuados tal vez podrían prescindir de un attractante, mientras que en un alimento bajo en lípidos, el attractante podría ser una herramienta de mayor utilidad. Estos resultados se corroboran con los obtenidos por Bray (1990), donde los niveles de lípidos del 11% mostraron mejores resultados a nivel fisiológico con respecto a la reproducción, obteniendo con ello las mejores tasas de eclosión, mayor número de nauplios por desove, etc. Al parecer estos niveles de lípidos podrían ser los adecuados para los peneidos.

La harina de pescado contenía inicialmente un 9.5% de lípidos y la harina de calamar contenía un 10.8% de lípidos, una vez sometidos al proceso de desgrase se obtuvo una harina de pescado y de calamar con un contenido lipídico de 4.3% y 5.3% respectivamente. Es posible que al someter las harinas al proceso de desgrase, muchos de los componentes liposolubles que en circunstancias normales funcionarían como attractantes a los reproductores hayan sido extraídos, sustancias como carotenoides, esteroides, etc. El aceite de soya usado para alcanzar el nivel de lípido deseado es menos atractivo que los aceites propios del pescado y calamar que pudiesen encontrarse en la harina antes del proceso siendo esto una causa por la que se han obtenidos valores bajos de ingestión en todos los tratamientos de este experimento.

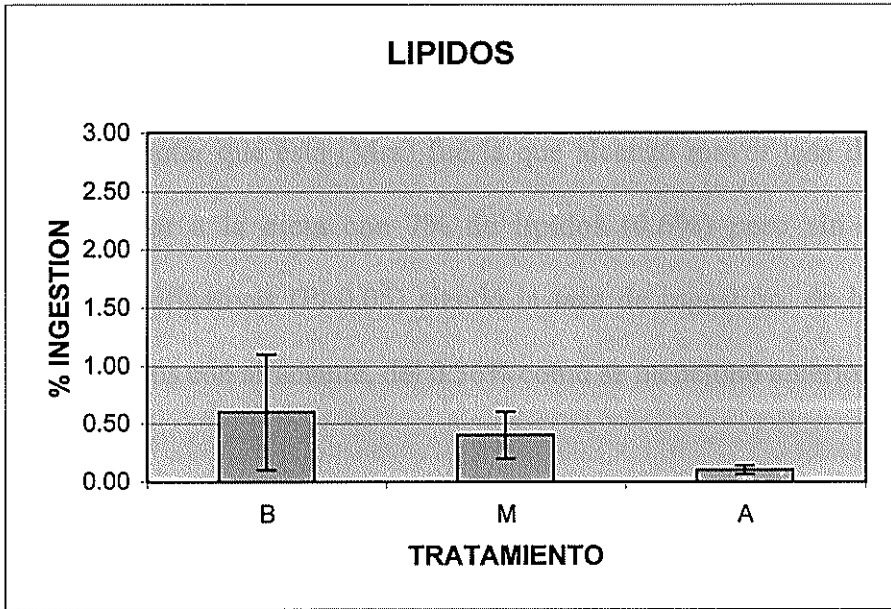


Gráfico #9: Tasa de ingestión de acuerdo al porcentaje de lípidos.

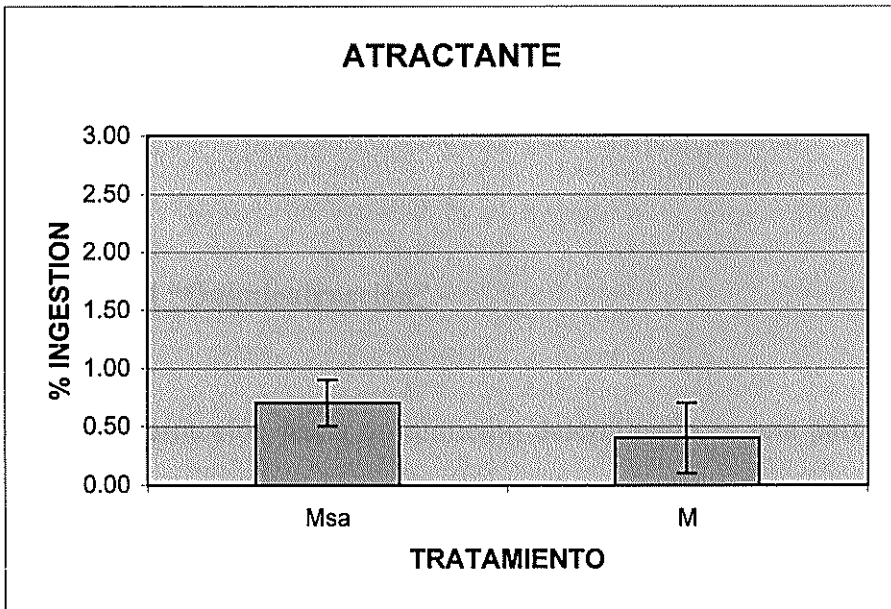


Gráfico #10: Tasa de ingestión entre 2 dietas con y sin atractante con un nivel de lípidos del 10%.

Comparando las dietas de 10% (M) de lípidos en la que una de ellas no tiene atrayente podemos notar que ésta (Msa) fué la que alcanzó mayor tasa de ingestión (0.7%) incluso mayor a la dieta con 7% de lípidos (0.6%) pero sin diferencias estadísticamente significativas ($P>0.05$) siendo la tasa de ingestión, de la dieta que contenía 10% de lípidos con atrayente, del 0.36% como se mencionó anteriormente.

Tabla 3: Características del alimento artificial en el experimento 3

<i>Características</i>	<i>T1(B)</i>	<i>T2(M)</i>	<i>T3(A)</i>	<i>T4(Msa)</i>
% humedad	19.10	20.50	22.60	15.90
% lípidos	8.87	11.48	14.29	9.15
% proteínas	52.00	52.00	52.00	52.00
f estable	0.51	0.43	0.44	0.55

3.b.4. Experimento 4 “Quimioatracción”.-

Aumentar la atracción hacia un alimento determinado es una parte crítica de lograr y más crítica aún es determinar qué es específicamente lo que hace que un alimento determinado tenga la cualidad de atractivo y apetecible para una especie en particular.

Debido a que se acostumbra alimentar a los reproductores *P. vannamei* con calamar, mejillón y ostras frescas y troceadas entre otros (Arellano *et al.*, 1993; Bray *et al.*, 1990; Cahu, 1998; Nascimento *et al.*, 1991) se probó para ver si alguno de estos

productos podrían lograr por separado proveer al alimento artificial la atractabilidad necesaria para aumentar su consumo.

De acuerdo a los resultados, se observa en el gráfico #11 que la dieta con extracto de mejillón mostró en promedio la tasa más elevada de ingestión (1%) siendo la siguiente la dieta que contenía extracto de ostra, cuya tasa de ingestión promedio fue 0.69%, muy cercano se encuentra la dieta control sin attractante alguno con una ingestión del 0.66% y por último se encontró la dieta con extracto de calamar con una ingestión de 0.47%.

Estadísticamente se encontró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre la dieta con extracto de calamar y las demás dietas indicando que el extracto de calamar no logró mejorar la atractabilidad del alimento artificial para el *P. vannamei* en las condiciones de este experimento. Sin embargo se ha podido encontrar que el mejillón aporta con algún compuesto que hace más apetecible el alimento artificial (¿péptidos, aminoácidos, esteroides?) logrando mejorar el porcentaje de ingestión de dicha dieta aunque sin significativas diferencias estadísticas. De acuerdo a observaciones varias, se ha visto como el calamar induce al camarón a buscar el alimento y comer pero esta reacción dura poco tiempo. Basándose en la clasificación de los attractantes podemos decir que el calamar o sus compuestos son estimulantes mientras que al parecer el mejillón y la ostra además de estimulantes contienen arrestantes, es decir sustancias o compuestos que animan al animal a seguir comiendo y en consecuencia aumenta la tasa de ingestión.

Tabla 4: Características del alimento artificial en el experimento 4

<i>Características</i>	<i>T1(con-)</i>	<i>T2(em)</i>	<i>T3(eo)</i>	<i>T4(ec)</i>
% humedad	15.00	15.00	13.50	13.00
% lípidos	10.00	10.00	10.00	10.00

% proteínas	52.00	52.00	52.00	52.00
f estable	0.88	0.9	0.88	0.87

3.b.5. Experimento 5 “Prueba Final”.-

En esta ocasión se quiso poner a prueba una dieta con las mejores características de los experimentos anteriores (VLIR), contra dietas comerciales y una dieta experimental.

Como se puede ver en la gráfica # 12, la dieta con mayor porcentaje de ingestión en promedio fue la dieta VLIR, mostrando un porcentaje de ingestión de 1.5%. La dieta AM obtuvo una ingestión de 1.29% seguido muy de cerca por la dieta LB con una ingestión del 1.24% y por último tenemos la dieta MF con una ingestión de 0.32%. Esta última mostró una diferencia estadísticamente significativa con las demás dietas ($P < 0.05$), siendo la menos consumida por el *P. vannamei* bajo estas condiciones experimentales. La dieta VLIR es el resultado de la combinación de las mejores características de las dietas probadas en los experimentos anteriores y en este experimento ha resultado la dieta con mejor aceptación, aunque aún tiene muchas características por mejorar.

<i>Características</i>	<i>T1(VLIR)</i>	<i>T2(AM)</i>	<i>T3(LB)</i>	<i>T4(MF)</i>
% humedad	9.50	13.00	4.00	28.00
% lípidos	7.00	16.00	12.60
% proteínas	52.00	45.00	37.80
f estable	0.75	0.79	0.84	0.67

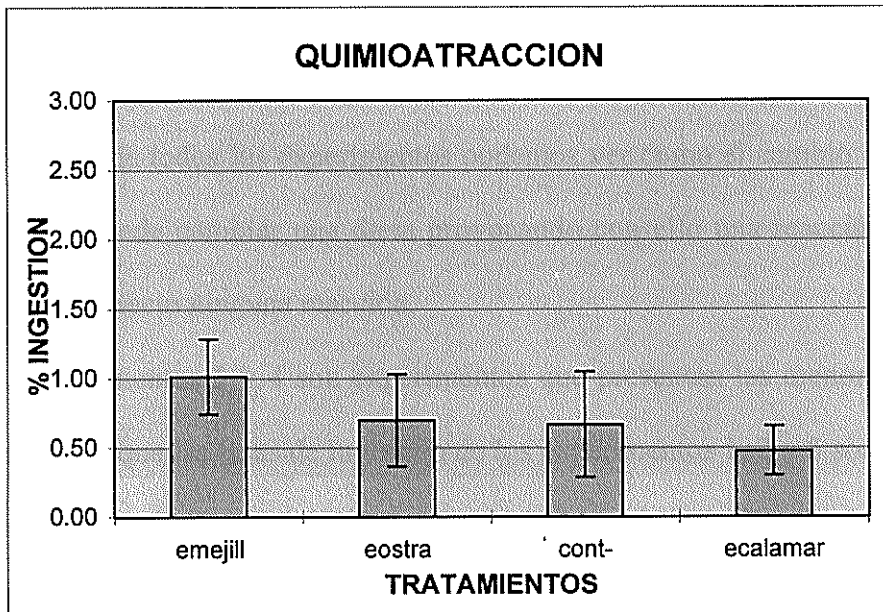


Gráfico #11: Tasas de ingestión de acuerdo al extracto usado.

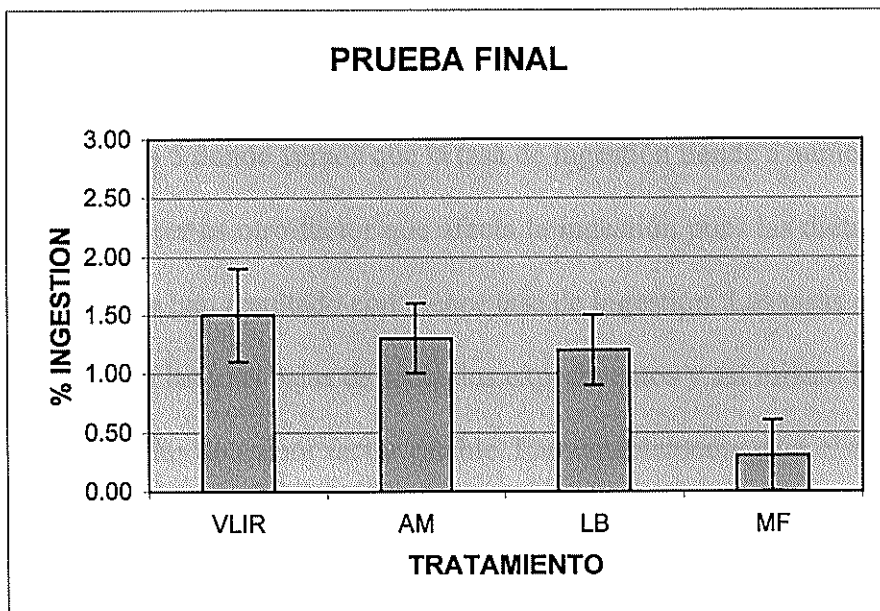


Gráfico #12: Tasas de ingestión de acuerdo al alimento usado.

3.b.6. Observaciones adicionales.-

A lo largo de todos los experimentos podemos ver como el cambio o variación de algún factor puede cambiar una dieta provocando con ello una reacción positiva, negativa o en su defecto ninguna reacción.

Los experimentos 3 y 4 son experimentos que presentan las menores tasas de ingestión mientras que las tasas de ingestión de los experimentos 1, 2 y 5 son similares. En el caso del experimento 3, al extraer los lípidos de aquellas harinas que se encontraban a una proporción mayor en la dieta, por medio de solventes orgánicos, se ha arrastrado con ello compuestos varios que quizás disminuyeron así el aporte de atrayente a la dieta. En el experimento 4 no se usó harina desgrasada, sin embargo tampoco se utilizó atrayente, éste fue reemplazado por extractos de animales marinos. Esta atractabilidad perdida en el experimento 3 la vemos luego recuperada en la dieta VLIR del experimento 5 donde vemos que la tasa de ingestión tiende a aumentar.

La estabilidad al parecer es otro factor que afecta la ingestión pues las dietas de menor estabilidad son las que han resultado con menor tasa de ingestión. Las tasas de ingestión del experimento 3 son las más bajas de todos los experimentos y así mismo las dietas de éste experimento son las de menor factor estable. Lamentablemente para el experimento 3 se utilizó el molino Lieme, el cual no lograba compactar la masa lo suficiente, dando como resultado un alimento de baja estabilidad. A pesar de ello, la baja estabilidad tal vez puede ser compensada con atrayentes logrando así que la ingestión mejore. Tal fue el caso del experimento 2 donde las dietas tuvieron una baja estabilidad pero sus tasas de ingestión fueron mayores que las del experimento 3.

4.- CONCLUSIONES.

1.- El *P. vannamei* realiza sus actividades alimenticias principalmente después de la media noche sin descartar el hecho de que muestran interés de comer al momento en que se les proporciona el alimento.

2.- Pudimos apreciar el efecto del tiempo sobre el alimento en el agua, pues mientras más tiempo tenga éste en el agua, pierde su textura y características iniciales pero su desintegración se acelera mientras más humedad y menos compactación tenga.

3.- Los reproductores no tienen marcada preferencia entre el calamar fresco y el pellet utilizado, cuando se les proporciona un pellet formulado adecuadamente. Incluso el extracto de calamar en la dieta no aumenta la ingestión.

4.- En terminos generales no se encontraron diferencias significativas que permitan afirmar que un factor específico aumenta notablemente la ingestión de los pellets. No obstante, ciertas observaciones pueden servir como indicaciones:

- La aclimatación resulta ser un factor que no influye notablemente en la ingestión.
- Las dietas con bajo nivel lipídico tienden a inducir a una mayor ingestión.
- Hay indicios de que el extracto de mejillón ha causado un efecto positivo en la tasa de ingestión.
- En la comparación de las dietas durante el experimento “Prueba Final” la dieta resultante obtuvo una buena aceptación indicándonos que los factores sometidos a prueba en los experimentos anteriores ejercen cierto grado de influencia en la tasa de ingestión.

5. RECOMENDACIONES.-

1. - Se recomienda el uso de pruebas de ingestión previo al suministro de dietas artificiales en la maduración

2. - Hacer pruebas de ingestión con niveles más bajos de *Artemia* adulta ya sea en forma de extracto o incluyéndola entera en la dieta para estar seguros del efecto que tiene sobre la ingestión.

3. - Hacer pruebas con extractos combinados con el fin de aprovechar las características positivas de cada una y descartar aquellas que causan un efecto negativo o ningún efecto hasta lograr un máximo de ingestión.

4. - Aumentar la frecuencia de alimentación y sifonéo para evitar la excesiva lixiviación y obtener datos mas relacionados con el manejo real de la industria.

5. - Buscar alternativas para aumentar la estabilidad del pellet para reproductores ya sea como pellet húmedo, seco, o semihúmedo.

6. - Evaluar atractantes alternativos de varias fuentes u origen.

7. - Obtener condiciones controladas de experimentación en cuanto a temperatura estabilidad del pellet, porcentaje de humedad, etc.

6. BIBLIOGRAFÍA.-

- ACUACOP., 1979. Penaeid Reared Brood Stock: Closing the cycle of *P. monodon*, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. Proceedings of the journal of the World Mariculture Society 10: 445-452 pp.
- AKIYAMA, D. M., DOMINY, W. G. & LAWRENCE, A. L. 1991. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. Fuente: Akiyama, D. M. & Tan, R. K. H. Tailandia and Indonesia, pp 80-98.
- ALLIOT, E., CECCALDI, H. J., CELADA, J. D., CUENCA, E. M., ECHEVERRÍA, G., FERNÁNDEZ, R., GARCÍA, M., GARRIDO, A., HIDALGO, F., DE LA HIGUERA, M., LOVELL, R. T., MUÑOZ, F., RUIZ, M., SANZ, A., SOLER, G., WALTON, M. J., WATANABE, T. & YOUNG, C., ZAMORA, S. 1987. Nutrición en Acuicultura I. Plan de Formación de Técnicos Superiores en Acuicultura. 272 pp.
- ARANYAKANANDA, P. & LAWRENCE, A. L. 1994. Effects of ingestion rate on dietary protein and energy requirements of *Penaeus vannamei* and the optimal protein to energy ratio. II Simposio de Nutrición Acuícola, Monterrey, México.
- ARELLANO, E., GÓMEZ, L., & YAGUACHI, M. 1993. Dieta preliminar para maduración y evaluación en reproductores *Penaeus vannamei*. Memorias del I Congreso Ecuatoriano de Acuicultura, pp 65-69.

- BAPTISTA, M. 1997. Pathogenicity Test: A tool to assess disease resistance in *Penaeus vannamei* Post Larvae. Master Thesis. Unidad de Ciencias e Tecnologías dos Recursos Acuáticos. Universidade do Algrave. 65 pp.
- BRAY, W. A., LAWRENCE, A. L. & LESTER, L. J. 1990. Reproduction of eyestalk ablated *Penaeus stylirostris* fed various levels of total dietary lipid. Journal of the World Aquaculture Society, 21 (1), 41-51.
- CAHU, C. 1998. Diet for shrimp broodstock and their effect on larval quality. IV Simposio Internacional en Nutrición Acuática Parte 1, La Paz, B.C.S. Mexico, 10 p.
- CECCALDI, H. J. 1989. Anatomy and physiology of digestive tract of crustacean decapods reared in aquaculture. Acuacop, Ifremer. Actas de Coloquio, 243-259.
- CENAIM. 1993. Guia de peces y mariscos comestibles de las aguas costeras del Ecuador. Volumen II, 87 p.
- COBO, M. L. 1997. Semi-purified and practical diets for supplementation of phosphatidilcholine in *Penaeus vannamei* (Boone). Master Thesis. Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences. University of Ghent. 79 pp.
- CHAMBERLAIN, G. W., & LAWRENCE, A. L. 1981. Maturation, reproduction and growth of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* fed natural diets. Journal of the World Mariculture Society 12 (1), 209-224.

- CHAMBERLAIN, G. W. 1994. Investigación de frontera en nutrición acuícola. II Simposio Internacional de nutrición acuícola, 26-43.
- CHRISTIE, W. W. 1982. Lipid Analysis 2nd edition. Pergamon Press, 199 pp.
- DALL, W., HILL, B. J., ROTHLISBERG, P. C. & STRAPLES, D. J. 1990. Advances in Marine Biology Volumen 27. Academic Press, 488 pp.
- DAVIS, D. A., LAWRENCE, A. L. & GATLIN III, D. M. 1992. Mineral requirements of *Penaeus vannamei*: A preliminary examination of dietary essentiality for thirteen minerals. Journal of the World Aquaculture Society. 23 (1), 8-13.
- DESHIMARU, O. & YONE, Y. 1978. Effect of dietary supplements on feeding behavior of prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 44 (8), 903-905.
- DEVRESSE, B., LEGER, SORGELOOS, P., MURATA, O., NASU, T., IKEDA, S., RAINUZZO, J. R., REITAN, K. I., KJORSVIK, E. & OLSEN, Y. 1992. Improvement of flat fish pigmentation through the use of DHA enriched Rotifers and *Artemia*. V International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. Santiago de Chile.
- DOMINY, W. G., LIM, C. 1991. Evaluation of soybean meal extruded with wet squid viscera as a source of protein in shrimp feeds. Fuente: Akiyama, D. M., Tan, R.

K. H. Proceedings of the Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop.
Thailand and Indonesia 116-120.

- EMERSON W. D., 1980. Induced maturation of prawn *Penaeus indicus*. Marine Ecology-Progress Series 2: 121-131 pp.
- HARDY, R. W. 1989. Diet Preparation. Fuente: Halver, J. E. (ed). Fish Nutrition. Academic Press Inc. 79 pp.
- HARRISON, K. E. 1990. The role of nutrition in maturation, reproduction and embryonic development of decapod crustacean: A review. Journal of Shellfish Research, 9 (1), 1-28.
- HEINEN, J. M. 1980. Chemoreception in decapod crustacea and chemical feeding stimulants as potential feed additives. Proceedings of the World Mariculture Society. 11: 319-334.
- LEE, P. G. & MEYERS, S. P. 1997. Chemoattraction and feeding stimulation. Fuente: D'Abramo, L. R., Conklin, D. E. & Akiyama, D. M. (ed). Crustacean Nutrition, Advances in World Nutrition, Volume 6, World Aquaculture Society, 292-352 pp.
- TAKAOKA, O., TAKII, K., NAKAMURA, M., KUMAI, H. & TAKEDA, M. 1995. Identification of feeding stimulants for Tiger Puffer. Fisheries Science, 61 (5), 833-836.

- PRIMAVERA, J. H. & LEBATA, J. 1995. Diel activity patterns in *Metapenaeus* and *Penaeus* juveniles. *Hydrobiologia* 295: 295-302 pp.
- NAESSENS, E., LAVENS, P., GÓMEZ, L., BROWDY, C. L., MC. GOVERN-HOPKINS, K., SPENCER, A. W., KAWAHIGASHI, D. & SORGELOOS, P. 1997. Maturation performance of *Penaeus vannamei* co-fed *Artemia* biomass preparations. *Aquaculture*, 155, 87-101 pp.
- LYTLE, J. S., LYTLE, T. F. & OGLE, J. T. 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 89, 287-299.
- MARSDEN, G. E., MC. GUREN, J. J., HANSFORD, S. W. & BURKE, M. J. 1997. A moist artificial diet for prawn broodstock: its effect on the variable reproductive performance of wild caught *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 149, 145-156 pp.
- MENDOZA, R. & REVOL, A., 1997. Influence of squid extracts on the triggering of secondary vitellogenesis in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* 3:55-63.
- MIDDLEDITCH, B. S., MISSLER, S. R., WARD, D. G., MC VEY, J. B., BROWN, A. & LAWRENCE, A. L. 1979. Maturation of penaeid shrimp: Dietary fatty acids. *Proceedings of the World Mariculture Society*, 10, 472-476.

- MOLINA, C., & PAREDES, Y. 1997. Determinación de humedad. Fuente: Molina, C., Paredes, Y., Montoya, N., León-Hing, A., Townsend, S., & Pedrazzoli, A. Técnicas Analíticas para la Nutrición Acuícola. 143 p.

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

- NEW, B. M. 1987. Feed and feeding of fish and shrimp. United Nations Development Program. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, 274 pp.

- NUNES, A. J. P., GESTEIRA, T. C. V., GODDARD, S. 1997. Food ingestion and assimilation by the southern brown shrimp *Penaeus subtilis* under semi-intensive culture in NE Brazil. Aquaculture 149, 121-136.

- TESHIMA, S. & KANAZAWA, A. 1979. Lipid transportation mechanism in the prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries. 45 (10), 1341-1346.

- TESHIMA, S. 1997. Phospholipids and sterols. Fuente: D'Abramo, L. R., Conklin, D. E., Akiyama, D. M. (ed). Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture. Volume 6. World Aquaculture Society, 85-102.

- WOUTERS, R., GOMEZ, L., LAVENZ, P. & CALDERON, J., 1999. Feeding enriched *Artemia* biomass to *Penaeus vannamei* broodstock; its effects on reproductive performance and larval quality. *Journal of Shellfish Research*. 18 (2); 651-656 pp.