UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA

FACULTAD DE AGRONOMIA VETERINARIA Y ACUACULTURA

ESCUELA DE ACUACULTURA

Efecto de diferentes niveles de salinidad y balances proteína/energía en el crecimiento del *Penaeus vannamei*

TESIS DE GRADO

ANGEL PATRICIO ORELLANA TANDAZO

INGENIERO ACUACULTOR

DIRECTOR: Dr. Benigno Granda

CO-DIRECTOR: M. Sc. César Molina

MACHALA **EL ORO** **ECUADOR**

2000

TRIBUNAL DE GRADO

Dr. Benigno Granda Arias __________________________

Director VISTO BUENO

Dr. Patricio Renteria Minuche __________________________

Miembro VISTO BUENO

Dr. Patricio Reyes Nieto __________________________

Miembro VISTO BUENO

La responsabilidad por las investigaciones, resultados y discusiones del presente trabajo, pertenecen exclusivamente al autor.

Angel Patricio Orellana Tandazo

DEDICATORIA

A ti Madre:

Dios es amor, y para mi la señal inconfundible de que existe el amor es el mejor regalo que pude recibir de el: mi Madre, una mujer en todo el sentido de la palabra, que con su esfuerzo, dedicación y sacrificio, supo siempre enseñarme y brindarme lo mejor de la vida, que no es la riqueza, sino el cariño, amor y comprensión, que es en realidad lo que nos hace felices en este mundo.

Para ti Mami Mariana, está dedicado este trabajo y los años de estudios para llegar a el, recuerdas que yo te dije que nunca te iba a decepcionar, pues me siento feliz y orgulloso de haberte cumplido.

Patricio

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida, fortaleza, capacidad y oportunidad para poder realizar mis sueños y mis metas y por tener una hermosa familia con quien compartirlos.

A mi Madre, por su amor, ejemplo, dedicación y apoyo incondicional, en cada paso y decisión de mi vida.

A mis hermanos Nixón, Daniela, José Alberto y Lorena, que han tenido la paciencia y comprensión de esperar y entender mis ideales durante todos estos años de no estar juntos.

Al P. Jaime Vasquez, por ser esa persona que siempre tuvo palabras de aliento, por creer en mi y hacer que yo también lo haga, por darme ese consejo sabio cada vez que hizo falta y lo mas importante ser ese amigo que se necesita en los momentos difíciles de la vida.

Quiero expresar un profundo agradecimiento al Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), por su apoyo total brindado como institución, por otorgarme la oportunidad de realizar este trabajo y haberme dado todas las facilidades económicas y materiales para desarrollar el mismo, además de haber podido nutrirme de abundantes conocimientos que han fortalecido mi formación como profesional.

A César Molina M. Sc., por tener la confianza en mi para realizar este trabajo y por la paciente y acertada dirección del mismo.

A Q. F. Yela Paredes, por su apoyo y amistad, por su importante y continua ayuda durante el desarrollo de los análisis de este trabajo.
A Fermín Orellana y Javier Santacruz, mis compañeros y amigos desde las aulas, por su amistad sincera e imperecedera y el apoyo constante.

Para ese grupo de personas que hicieron que la estadía en CENAIM una gran experiencia, y en cada uno de las cuales nació la semilla de una nueva amistad: Marcos Espín, Anita Gutiérrez, Víctor Otero, Fanny Escobar, Eduardo Reyes, Xavier Piguave, Karina Ponce, Ruben Guerrero, Luis Toro, Iván Murillo, Jorge Apolo, Ruben Román y muchos otros más.

A Inge Vissers, Andrés Pedrazzoli y José Melena por su apoyo constante y por facilitarme la ayuda necesaria cada vez que la solicité.

A Víctor Hugo Borbor y Rosario por la gran colaboración prestada durante el desarrollo de los bioensayos y análisis.

Al laboratorio "G. C. y F. Marino", por haber donado los animales para el desarrollo de los experimentos.

A Javier Romero por su importante colaboración para poder terminar el presente trabajo.

Por último quiero dejar constancia de mí más sincero agradecimiento para cada una de las personas que de una u otra forma ayudaron (fueron muchas) para que este trabajo llegue a un feliz termino.

A todos y cada uno de ellos: GRACIAS

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS

CONTENIDO **PAGINA**

INDICE DE FIGURAS

CONTENIDO **PAGINA**

I. INTRODUCCION.

El cultivo de camarón en el Ecuador en las últimas décadas ha sido una de las actividades productivas de mayor y más rápido desarrollo, hasta convertirse en uno de los pilares de su economía, produciendo ingresos de 860 millones de dólares en 1998 (CNA, 1999).

Los alimentos balanceados constituyen uno de los principales rubros dentro de la producción de camarón en cautiverio, pues representa al productor uno de los mayores egresos dentro de los costos totales de operación (dependiendo del sistema de cultivo). Además estos alimentos suplementarios han venido constantemente incrementando su valor, por lo que existe la necesidad de reducir estos valores y tratar de hacer del cultivo de camarón una actividad mucho mas sustentable a largo plazo.

La formulación de alimentos balanceados para el camarón está enfocada a obtener un mayor crecimiento, en menor tiempo, pero sin tomar en cuenta los diversos factores ambientales que pueden influir en su desarrollo, lo cual resulta imprescindible para obtener alimentos más amigables con el medio ambiente (Jiang *et al*., 1999).

La salinidad es uno de los factores ambientales más importantes para los camarones peneidos, ya que determina la distribución de los organismos dentro de los ecosistemas acuáticos. La tolerancia y adaptación para un amplio rango de salinidades, especialmente en los niveles encontrados en nuestras aguas costeras.

Los últimos acontecimientos negativos que se han presentado en el cultivo de peneidos como es la presencia del virus de la mancha blanca y otras enfermedades ha obligado a replantear el manejo de cultivo utilizado. Uno de los aspectos en los que se ha hecho mayor énfasis ha sido el reducir los recambios de agua, lo cual provoca por efecto de evaporación y filtraciones un aumento progresivo de la salinidad de las piscinas durante el desarrollo del cultivo.

Las variaciones de salinidad, debido a la ubicación geográfica de las camaroneras, época del año y algunos fenómenos climáticos pueden provocar diferentes respuestas metabólicas y por lo tanto diversas necesidades alimenticias. De ahí la importancia que tiene el conocimiento de los requerimientos nutricionales de los camarones en las diferentes condiciones medioambientales y etapas de desarrollo, para poder formular dietas que proporcionen un óptimo crecimiento y una mayor eficiencia del alimento utilizado.

La salinidad medioambiental y sus cambios tienen influencia en aspectos fisiológicos tan relevantes como la osmorregulación, el consumo de oxígeno y energía, y por lo tanto en los requerimientos nutricionales.

El determinar un balance adecuado de proteína/energía en el alimento, es de gran importancia. Si tomamos en cuenta que la proteína es el ingrediente de mas alto costo dentro de la composición de los alimentos, llegamos a la conclusión que la producción de energía a través de la oxidación de la proteína es nutricional y económicamente un desperdicio, así que es necesario economizar proteína, para que esta este destinada para el crecimiento, con la optimización del uso de fuentes de energía no proteicas. El conocimiento de los niveles óptimos de proteína y el ahorro de esta con el uso de fuentes de energía no proteicas como carbohidratos y lípidos, será efectivo para la reducción de costos del alimento y un mayor aprovechamiento del mismo, con lo cual se conseguirá tener un sistema de producción de camarones con un impacto ambiental mucho menor.

Los objetivos que se propusieron al comenzar este trabajo fueron el determinar la interrelación entre los niveles de salinidad y el balance proteína/energía y así lograr determinar un nivel de proteína/energía adecuado para cada uno de los niveles de salinidad evaluados.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 Aspectos generales del cultivo de camarón en el Ecuador.

El camarón blanco del Pacífico (*P. vannamei*) es el peneido mayormente cultivado en Ecuador, constituyendo el 95% de la producción total (El Agro, 1999). Las condiciones climáticas permiten el cultivo de camarón durante todo el año, con un promedio estimado de 2,5 a 3 cosechas anuales, lo que garantiza un permanente suministro del producto para el mercado internacional (CNA, 1998).

La disponibilidad de tierras adecuadas para la producción de camarón (suelos no aptos para la agricultura) ha permitido una rápida expansión de la actividad camaronera a lo largo de toda la zona costera llegando a 178.000 el número de hectáreas cultivadas en nuestro país (CNA, 1998).

La semilla (postlarvas) utilizada para sembrar las piscinas camaroneras puede ser de origen silvestre o cultivada en laboratorios. La primera es capturada con redes por los denominados “larveros” en la orilla del mar o en los esteros, su abundancia esta relacionada a la temperatura la cual depende de la estación del año o de fenómenos climáticos. Y por otro lado tenemos la que es criada en laboratorio que asegura un suministro constante de larva independientemente de cualquier factor externo (CNA, 1996).

La infraestructura básica de las camaroneras consiste en una estación de bombeo, canales de suministro y drenaje de agua, estanques de tierra para semilleros de 0,5 a 1 hectárea y piscinas de crecimiento de 5 a 20 hectáreas dotadas de compuertas para salida y entrada de agua (CNA, 1996).

El cultivo semiintensivo de camarones (10-15 m2) es el sistema productivo más aplicado en nuestro país (El Agro, 1999). Con este sistema, la producción promedio por hectárea oscila entre 1300 a 3900 libras por hectárea por año, en un periodo de cultivo que fluctúa entre 100 y 140 días por ciclo (CNA, 1999). También los métodos de cultivo intensivo y extensivo son aplicados, pero son escasamente utilizados (CNA, 1996).

2.2. Salinidad.

La salinidad es la medida de la concentración total de todos los iones disueltos en el agua, donde el sodio, potasio, calcio, magnesio, cloro, sulfatos y carbonatos son los biológicamente más importantes. El agua de mar contiene también cantidades trazas de fósforo, nitrógeno inorgánico, hierro, manganeso, zinc, cobre, boro y otros elementos que son esenciales para el mantenimiento de la productividad primaria (Boyd, 1989).

La salinidad del agua puede ser medida por la refracción que causa en la luz o por conductividad eléctrica, la cual se lo reporta en ups (unidad práctica de salinidad) o ppt (miligramos de sal por cada kilogramo de agua).

En 1986 Fast (citado por Boyd, 1989) clasificó a las aguas de acuerdo al nivel de salinidad (Tabla 1).

Tabla 1.- Clasificación de las aguas por su salinidad

Tipo de agua	Salinidad (ups)
Dulce	<0,5
Oligohalina	>0,5- 3,0
Mesohalina	>3,0-16,5
Polyhalina	>16,5-30,0
Marina	>30-40
Hipersalina	> 40

2.2.1 Factores que afectan el nivel de salinidad.

En las zonas de estuarios, donde se ubican la mayoría de las camaroneras, se produce la mezcla del agua dulce y de mar. Las concentraciones de sales de los canales de suministro para abastecer las piscinas camaroneras son reguladas por las proporciones de estas zonas. Cuando es el caso de un río pequeño el que entra en contacto con el mar, las aguas estuarinas tendrán una salinidad alta y a la inversa si es un río de gran caudal el que desemboca en el mar, se obtendrá menores niveles de salinidad. Esto también depende de la época del año, pues en el trópico están definidas dos estaciones: una lluviosa y otra seca; durante la temporada lluviosa la descarga de los ríos se incrementa y la salinidad disminuye; contrariamente, en la temporada seca la descarga de los ríos es menor y esto provoca el aumento del nivel de salinidad en las aguas (Boyd, 1989), por lo que las aguas estuarinas pueden tener rangos de cerca a 0 ups y más de 30 ups.

2.2.2 Importancia en el cultivo de camarón.

La salinidad es uno de los factores ambientales más importantes para los crustáceos, ya que determina la distribución de los organismos en el medio acuático (Day *et al*., 1982, citado por Rosas *et al*., 1999), además que sus cambios tienen una profunda influencia en varios procesos metabólicos en los animales marinos (Chen y Nan, 1995).

Durante su ciclo de vida los peneidos requieren de diferentes salinidades (figura 1), en su etapa larvaria necesitan de aguas marinas para su desarrollo, luego los “juveniles” habitan en las aguas salobres de estuarios hasta su maduración y finalmente en su etapa adulta retornan a las salinidades oceánicas para su reproducción (Kumlu y Jones, 1995).

En Sur y Centroamérica, el *P. vannamei* es cultivado comúnmente. Las salinidades de 15 a 25 ups son consideradas como ideales, pero este puede ser cultivado exitosamente a bajas y altas salinidades (Boyd, 1990). A pesar de que el *P. vannamei* es capaz de adaptarse muy bien a diferentes niveles de salinidad el crecimiento no se da en iguales proporciones, es más lo resultados obtenidos en altas salinidades demuestran que su crecimiento disminuye (Robertson *et al*., 1993; Bray *et al*., 1994). Esto puede ser debido a incrementos en los requerimientos metabólicos, modificaciones en la utilización de nutrientes, decrecimiento en el uso del alimento, cambios adversos en la calidad y/o cantidad del alimento natural y otros factores desconocidos (Robertson *et al*., 1993; Rosas *et al*., 1999).

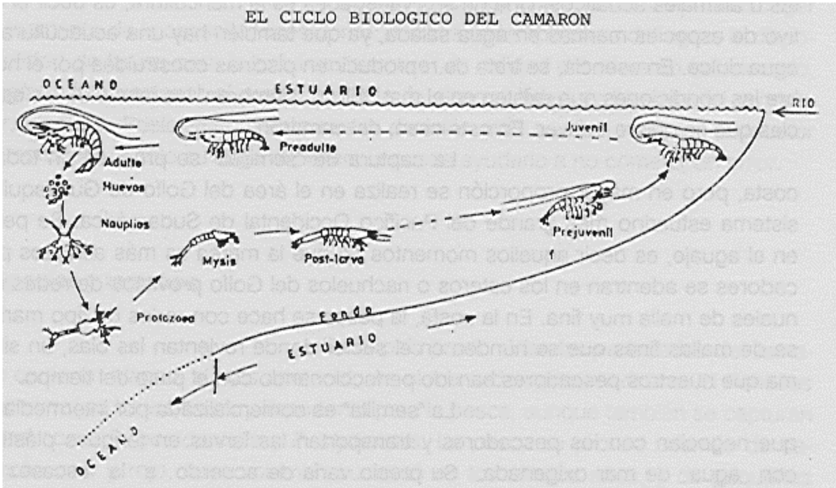
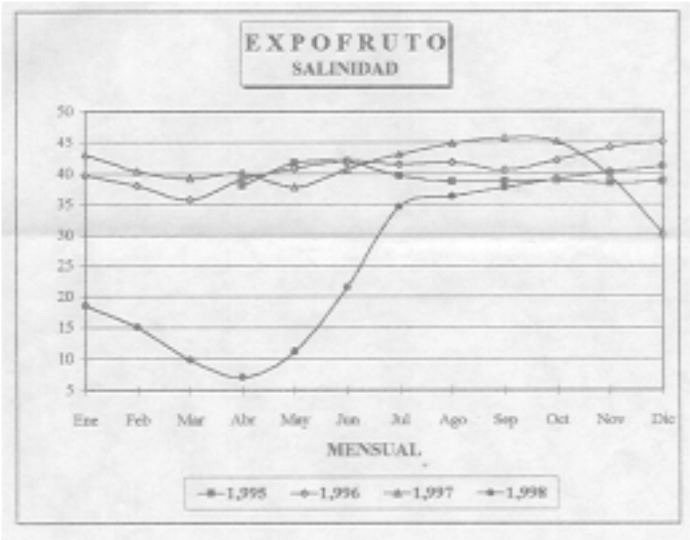


Figura 1.- Ciclo biológico del camarón (Tomado del libro Blanco del camarón)

2.3 Fluctuaciones de la salinidad en el Ecuador.

En 1997 el CENAIM realizó un muestreo de varias camaroneras ubicadas en el Golfo de Guayaquil y la provincia de El Oro. En la estación invernal o época lluviosa (diciembre a mayo), el 10 % de las camaroneras del Golfo presentaron salinidades menores a 10 ups, el 40 % reportaron salinidades entre 10 y 20 ups, y un 50 % con más de 20 ups, aproximadamente. Mientras que en la época seca, cerca del 90 % de las camaroneras tuvieron salinidades superiores a 20 ups. En la provincia de El Oro en la estación invernal el 5 % de las camaroneras muestreadas presentaron salinidades menores a 10 ups, en un 20 % hubo salinidades entre 10 y 20 ups y alrededor de un 75 % con salinidades superiores a 20 ups, llegando hasta un 90 % en la estación seca con este rango. En la figura 2 se puede apreciar los datos de las salinidades promedio de una camaronera de la zona de Engunga (provincia del Guayas), como se puede notar durante los meses secos (agosto, septiembre y octubre) la salinidad supera los 45 ups, y por otro lado está el efecto causado por el fenómeno de El Niño en el primer semestre de 1998, que provocó descensos de los valores de salinidad habituales en la zona.



2.3 Requerimientos nutricionales.

La nutrición implica procesos químicos y fisiológicos que proveen de nutrientes al animal para sus funciones normales de mantenimiento y crecimiento. Por consiguiente involucra ingestión, digestión, absorción, transporte de nutrientes y remoción de desechos (Akiyama *et al*., 1993).

Es difícil determinar los verdaderos requerimientos que deben cumplir los alimentos suplementarios para organismos acuáticos, ya que primeramente no podemos determinar en que porcentaje el alimento se lixivia desde el momento de entrar en contacto con el agua hasta ser consumido y tampoco es posible determinar el aporte de la productividad primaria, además de la presencia de factores de crecimiento desconocidos (Akiyama *et al*., 1993). Sin embargo para poder cubrir eficientemente los requerimientos nutricionales del camarón se deben tener en cuenta la disponibilidad de nutrientes, el método y/o condiciones de cultivo, y las pérdidas por procesamiento y almacenamiento de los alimentos (Cruz, 1996).

Los alimentos balanceados constituyen la fuente de nutrientes utilizada para complementar o reemplazar al alimento natural, estos proveen principalmente proteína y energía a los organismos cultivados (Akiyama y Chwang, 1999).

2.3.1 Proteína.

Estas grandes moléculas constituidas por cerca de 20 aminoácidos, son esenciales en la estructura y función de todos los organismos vivientes. Las proteínas difieren en tamaño y función y en las proporciones relativas de los aminoácidos que contienen. Algunas proteínas carecen de ciertos aminoácidos mientras que otras contienen los 20, de los cuales metionina, arginina, treonina, triptofano, histidina, isoleucina, leucina, valina, y fenilalanina son considerados esenciales para el camarón (Cowey y Foster, 1971; Shewbart *et al.*, 1972; Kanazawa y Teshima; 1981; citados por Akiyama *et al.*, 1993).

Estas macromoléculas son los principales constituyentes orgánicos en algunos tejidos animales representando entre 65-75 % del total del peso en base seca, las mismas que son usadas continuamente para crecimiento, reposición de tejidos y el metabolismo normal del camarón. Una proteína inadecuada en la dieta resulta en la reducción o suspensión del crecimiento, seguida por una pérdida de peso debido a la extracción de proteínas del tejido para mantener las funciones vitales. Por otro lado si suministra un exceso de proteína en la dieta, solo una parte de ella será usada para hacer nueva proteína y el resto será convertida en energía (Akiyama *et al.*, 1993).

Los niveles de inclusión de proteína determinados para camarones varían de 20 (Molina, 1998) a 60% (Deshimaru y Shigeno, 1972; citados por Shiau, 1998). Los requerimientos de proteína dependen de las características de los animales: especie, fisiología, estadio, tamaño; así como las cualidades dietéticas: calidad de la proteína (digestibilidad y valor biológico), nivel de energía y factores abióticos entre los cuales tenemos la temperatura y salinidad (Akiyama *et al*, 1993). El nivel de proteína óptimo es casi independiente de la temperatura y moderadamente relacionado con la talla y edad (Guillaume, 1997).

Los alimentos para camarón son actualmente formulados para contener un alto nivel de proteína, el cual es uno de los componentes principales y de más alto precio en los alimentos. Por lo tanto, una reducción en el contenido de la proteína de los alimentos o el uso de suplementos de proteínas menos costosos puede disminuir considerablemente el costo del alimento (Bautista, 1986; Hajra *et al.*, 1988; Akiyama *et al.*, 1993). Esto justifica una mayor atención en las investigaciones sobre la proteína.

2.3.2 Energía.

La energía no es un nutriente pero si un producto de la absorción y metabolismo de los componentes orgánicos de los alimentos (Rodríguez, 1993), como son las proteínas, lípidos y carbohidratos. Los peces y crustáceos utilizan preferentemente las proteínas como fuente de energía, debido en primer lugar a la pobre utilización de fuentes de carbohidratos de poca digestibilidad, lo cual ha sido mejorado notablemente con el proceso de la gelatinización de estos (Davis y Arnold; 1993; Romero, 1999), y por otra parte a que los lípidos solo pueden utilizarse hasta cierto porcentaje de inclusión en la dieta (10 %), niveles superiores a éste provocarían anormalidades en el hepatopáncreas de los animales, disminución en el crecimiento e incrementos en las mortalidades (Bautista, 1986; Shiau y Chou, 1991; Cuzon y Guillaume, 1997; Akiyama y Chwang, 1999).

Los camarones requieren de energía para el crecimiento, actividad muscular y la reproducción (Akiyama *et al*.,1993), estos toman la energía de la oxidación del alimento. La cantidad de energía que necesita un organismo depende de la etapa del ciclo biológico en la que se encuentra, de la estación y de las condiciones medioambientales. Un organismo necesitará más energía por unidad de peso en sus etapas iniciales que en estado adulto; así mismo, la temperatura ambiente tiene un efecto determinante en la velocidad metabólica de los organismos (Rodríguez, 1999).

Se considera que los organismos acuáticos tienen requerimientos energéticos menores que los animales terrestres debido a que son poikilotermos, es decir regulan la temperatura corporal a la del medio, requiriendo menos energía para mantener su posición y para moverse en el agua en comparación con los organismos terrestres. Además los desechos nitrogenados son excretados en forma de amoniaco, en vez de urea o ácido úrico, perdiendo menos energía en el catabolismo proteico y la excreción de desechos nitrogenados (Cruz, 1996).

Estudios realizados en la alimentación de camarones indican que las dietas exitosas generalmente no contienen niveles de energía menores a 3,5 kcal/g dieta (Alava y Lim, 1983).

2.3.3 Balance proteína/energía (P/E).

La fuente de proteína, la calidad y el porcentaje de inclusión de la misma tiene un rol preponderante dentro del balance P/E. Así mismo los ingredientes no proteicos (lípidos y carbohidratos) son excelentes fuentes de energía pero su inclusión es limitada porque pueden alterar la calidad del alimento. De la adecuada interrelación de estos ingredientes con los factores medioambientales depende la calidad y utilidad de la dieta (Alava y Pascual, 1987; Jiang *et al*., 1999).

El conocimiento de los niveles óptimos de proteína y la economización de esta, mediante el uso de energía digestible no proteica como carbohidratos y lípidos serán necesarios para reducir los costos del alimento y para producir un máximo crecimiento (Bautista, 1986).

El nivel óptimo del balance P/E en los crustáceos es dependiente de la especie, edad y ciclo de vida (Cuzon y Guillaume, 1997). Los estudios de balance P/E han demostrado que:

1) Cuando la tasa de energía total es mayor que la proteína, el consumo de este nutriente puede ser restringido y por lo tanto el crecimiento retardado.
2) Una dieta con bajo contenido de energía total podría resultar en el catabolismo de las proteínas a aminoácidos, para derivarse en la energía suficiente para el metabolismo normal del animal, resultando en una baja eficiencia de la conversión de la proteína, así como en un pobre crecimiento (Cuzon y Guillaume, 1997).

Resultados en algunas especies de peneidos demuestran que con la adecuada composición de aminoácidos de la fuente de proteína y un nivel de energía constante de fuentes no proteicas se puede reducir los requerimientos de proteína (Bautista, 1986, Koshio, 1992), como fue confirmado por Sedgwick (1979) quien reportó que al reducir el contenido de proteína de 50,9 a 34 % el crecimiento de *P. merguiensis* no fue afectado, cuando se mantuvo un nivel de energía constante en la dieta de 2,9 kcal/g. Shiau y Chou (1991), también sugirieron que la adecuada utilización de carbohidratos permiten una eficiente conversión de la proteína. Estos autores trabajando en *P. monodon* lograron al utilizar un nivel de energía de 3,30 kcal/ g reducir el nivel de proteína requerido por esta especie de 40 a 36 % en agua salada (32-34 ups).

Determinar la tasa proteína/energía en un alimento suplementario además de reportar beneficios económicos, permite obtener un sistema de producción más ecológico, evitando el exceso de proteína en la dieta, disminuyendo consecuentemente la cantidad del amonio excretado (Shiau y Chou, 1991), así como también la cantidad de harina de pescado utilizada para la elaboración de balanceados (Allan y Smith, 1998).

Jiang *et al.* (1999) mostraron que existe una fuerte interacción entre proteínas y lípidos, ya que los niveles óptimos de proteína fueron afectados por los niveles de lípidos usados en las dietas. El mayor crecimiento y supervivencia del *P. vannamei* fue alcanzado cuando el nivel de proteína fue reducido a un 22,5 % con 8 y 11,5 % de lípidos, mientras que con un 4,5 % de este nutriente se necesitó 31% de proteína para alcanzar un crecimiento similar.

Algunas investigaciones encaminadas a determinar un balance adecuado de proteína/energía han sido realizadas en varias especies de peneidos, con diversos resultados, que determinan un efecto de la salinidad sobre este (Tabla 2). Por ejemplo Rosas *et al.* (1999) en *P. setiferus* reportaron que en salinidades bajas los animales mantienen básicamente la proteína como su sustrato de energía en cualquier nivel de oxígeno disuelto, mientras que en el caso de salinidades altas (35ups) y un nivel de oxígeno de 5,8-4 mg/l-1 cambia el sustrato a lípidos-proteína, es decir que son capaces de modificar sus requerimientos alimenticios en respuesta a los cambios de salinidad y oxígeno disuelto (Rosas *et al.*, 1999).

Tabla. 2: Valores determinados de energía/proteína para peneidos a diferentes salinidades

Especie	**Balance P/E (mg/kcal)**	**salinidad (ups)**	**Referencia**
P. indicus	51,95	32	Molina, 1998.
P. merguiensis	95,5-117,2	25-28	Sedgwick, 1979.
P. monodon	121,2	30-32	Bautista, 1986.
	114	32-34	Alava y Pascual, 1987.
	112,2	3,5-4,5	Hajra *et al.*, 1988.
	103,09	32-34	Shiau *et al.*, 1991.
	113,4	12-16	
	109,9	32-34	Shiau y Chou, 1991.
P. schimitti	119-147	35-38	Fraga et al., 1992.
	117	38	Galindo et al., 1992.
P. vannamei	91,37	26,9	Smith et al., 1985.
	97,49	12	Robertson *et al.*, 1993.
	124,65	46	
	53*	27	Aranyakananda y
	101**		Lawrence, 1994.
	51-55	40	Jiang et al., 1999.
	58,8	35	Romero, 1999.

*Con 2% de inclusión artemia liofilizada
**Sin inclusión de artemia liofilizada

2.4 Digestibilidad.

La digestibilidad esta determinada por la biodisponibilidad de nutrientes de un ingrediente o alimento, es decir es la determinación de la capacidad del aparato digestivo de un organismo para convertir un alimento en sustancias útiles para su nutrición (Cruz *et al.*, 2000). Esto se puede cuantificar con la fracción del nutriente en el alimento ingerido que no es excretado en las heces (National Research Council, 1993).

En la digestibilidad intervienen dos procesos: en primer lugar la digestión, que corresponde a la hidrólisis de las moléculas complejas de los alimentos por medio de enzimas y luego la digestibilidad en si que consiste en la asimilación de las moléculas pequeñas (aminoácidos y ácidos grasos) en las células de absorción del hepatopáncreas (Cruz *et al*., 2000).

Una dieta formulada puede ser balanceada y contener todos los nutrientes dietéticos esenciales, pero aún así esta no puede producir un buen crecimiento porque los ingredientes no están realmente disponibles. El verdadero valor nutritivo de una dieta formulada es dependiente de la biodisponibilidad de sus nutrientes y no simplemente de su composición. El perfil nutritivo de un ingrediente aparentemente puede ser bueno, pero si estos nutrientes no son digeridos, absorbidos o utilizados, son de poco valor para el animal (Cruz, 1999). Por lo tanto la información de la digestibilidad es esencial en la evaluación de la calidad de los ingredientes del alimento (Akiyama *et al*., 1993).

Con el conocimiento de la digestibilidad podemos adaptar las fórmulas alimenticias para los requerimientos que representa el hecho de intensificar los cultivos, permitiendo una formulación precisa y completa de las dietas, teniendo a su vez efectos económicos, ya que se puede establecer los requerimientos exactos de la proteína, que es el ingrediente mas caro dentro de la composición de las dietas o se puede evaluar otras posibles fuentes de este nutriente de menor costo. Además la calidad del hábitat en que se desarrollan los organismos puede ser mejor preservado, ya que al ser aprovechado totalmente el alimento es mucho menor la excreción de desechos nitrogenados por parte de los organismos (Mendoza, 1993).

2.4.1 Métodos para la evaluación.

Los métodos para la determinación de la digestibilidad de los alimentos para organismos acuáticos dependen de la especie objeto de estudio (Shiau *et al.*, 1991). Además las metodologías existentes se basan en una adecuada aplicación de las mismas, debido a que el alimento y las heces tienden a lixiviarse, y por otro lado se pueden mezclar fácilmente si los protocolos no son bien realizados (Lee y Lawrence, 1997).

2.4.1.1 Método indirecto.

a) Marcadores inertes.

Consiste en la utilización de materiales inertes que no pueden ser absorbidos por el tracto digestivo de los animales (Austreng *et al.*, 2000).

Hasta la actualidad él mas conocido es el óxido de cromo (Cr_2O_3), que se ha constituido en uno de los métodos mas empleados para la determinación de digestibilidad en los peneidos (Akiyama *et al.*, 1989). Este consiste en la inclusión del óxido de cromo en las dietas objeto de estudio en una proporción del 0,5 al 1 %. Los camarones deben ser adaptados a las dietas con el marcador inerte por lo menos 5 días antes de la colección de heces. La duración de los ensayos de digestibilidad dependerá de la cantidad de heces que se pueda recoger diariamente y del requerimiento de éstas para los análisis (Lee y Lawrence, 1997).

Recientemente Austreng *et al.* (2000) realizaron la evaluación de algunos óxidos de metales trivalentes, para utilizarlos como marcadores inertes, determinando que él óxido de lantano (La_2O_3), oxido de itrio (Y_2O_3) y el óxido de iterbio (Yb_2O_3) pueden ser utilizados exitosamente para determinaciones de digestibilidad.

b) Ceniza.

El método de la ceniza asume que los animales acuáticos absorben relativamente poco de los minerales en su dieta natural, por lo cual la ceniza puede servir como un marcador interno para el alimento y las heces. Este método fue utilizado para zooplancton herbívoro y fue adaptado para usarlo con camarones que se alimentaran de algas, detritus y alimentos formulados (Condrey *et al.*, 1972; citados por Lee y Lawrence 1997). La digestibilidad de algas y detritus concuerdan con las investigaciones realizadas por diversos autores, pero los valores de digestibilidad de los alimentos formulados fue menor con este método a los encontrados en las investigaciones actuales con otros métodos (especialmente la digestibilidad aparente de la proteína). Por lo tanto este método parece no ser el más apropiado para utilizarlo en los alimentos formulados para peneidos (Lee y Lawrence, 1997).

c) Fibra indigestible.

Este método se lo ha utilizado para medir la digestibilidad de vertebrados terrestres, asumiendo que los animales carnívoros y omnívoros no poseen las enzimas digestivas o la flora bacteriana para hidrolizar cantidades significativas de fibra dietética, lo que significa que solo los ingredientes que contienen fibra pueden ser evaluados sin la adición de marcadores internos o aglutinantes y/o atractantes. Este método no ha sido evaluado en crustáceos (Lee y Lawrence, 1997).

2.4.1.2 Método directo o de colección total.

Este método requiere de la recuperación total, peso (gravimétrico), y análisis bioquímicos cuantitativos (energía o nitrógeno) del alimento suministrado, alimento no consumido y las heces por separado. Esta medida cuantitativa de la ingestión y excreción de los nutrientes es teóricamente el mejor método que se puede utilizar, pero la dificultad de recuperar todo y separar el alimento no consumido de las heces de los animales acuáticos es el mayor obstáculo. Además la lixiviación de nutrientes solubles específicos puede darnos resultados alterados de la digestibilidad aparente (Lee y Lawrence, 1997).

La cantidad de heces necesaria para realizar estos análisis es frecuentemente una limitación para este método porque los análisis proximales de la digestibilidad de la proteína, carbohidratos, lípidos y minerales requieren al menos de 2-3 g de heces secas, y recolectar esa cantidad requiere de mucho tiempo (Lee y Lawrence, 1997).

2.4.2 Factores que afectan la digestibilidad.

La digestibilidad de los alimentos puede ser afectada por la fracción mayor (proteína, carbohidratos y lípidos) o la menor (vitaminas y minerales), así como también la presencia de compuestos inhibidores en su composición (Lee y

Lawrence, 1997). La digestibilidad de los ingredientes del alimento no solo depende de la estructura del sistema digestivo de los organismos, sino también de las condiciones ambientales que los rodean y que afectan a la fisiología de los mismos como la salinidad (Hajra *et al*, 1988), temperatura (Mendoza, 1999), y otros factores físico-químicos.

2.4.2.1 Nutricionales.

La digestibilidad de una dieta puede ser afectada de manera diferente por los efectos asociativos de los constituyentes de la dieta; así que el valor de la digestibilidad de una dieta no es el promedio de los valores de cada uno de sus ingredientes y esta puede verse afectada por la composición de las dietas (Akiyama *et al*., 1989).

El crecimiento del *P. vannamei* ha sido positivamente correlacionado con la asimilación eficiente de la proteína, teniendo mayor influencia la calidad de la proteína suministrada, mas no la cantidad de la misma (Smith *et al*., 1985). La digestibilidad de la proteína aumenta cuando el nivel de proteína en la dieta es incrementado, pero según Colvin y Brand (1977) un contenido mayor al 35% de proteína en el alimento no es necesario para aumentar el crecimiento *del P. vannamei*.

Según Akiyama *et al*. (1989) no existen diferencias de digestibilidad por el origen de la proteína en la dieta ya sea esta vegetal o animal, pero una mezcla de dos fuentes diferentes puede mejorar el valor de ésta (Colvin, 1976). En cambio a los carbohidratos se les atribuye interferencias en la digestibilidad de las dietas, esto se ha encontrado en los salmonidos en los cuales la digestibilidad proteica disminuye al suministrarles dietas con una proporción decreciente de proteína y creciente en carbohidratos (Hajen *et al*., 1993b; citado por Mendoza, 1993).

En cuanto a los lípidos parecen no tener efectos sobre la digestibilidad de la proteína (Mendoza, 1993) pero un exceso de estos es perjudicial en las dietas (Akiyama *et al*., 1993). Por otro lado la fibra interviene en la digestibilidad proteica de los ingredientes, como es el caso de la harina de camarón que es menos digestible que las harinas de pescado o calamar por su alto contenido de fibra (10,7%) (Akiyama *et al*., 1989).

2.4.2.2 Físico-químicos.

a) Salinidad.

El estudio de la digestibilidad de los crustáceos ha sido muy limitado (Lee y Lawrence, 1997), y el efecto de la salinidad sobre la misma ha recibido aun menos atención. Los efectos de la salinidad (10-40 ups) en especie templada (*P. japonicus*), subtropical (*P. aztecus*) y tropical (*P. vannamei*) fueron determinados en laboratorio y los resultados indicaron que la salinidad no tiene demasiada influencia a menos que los niveles de proteína suministrados sean bajos (20%); esto es comprobado con los resultados obtenidos por Cabanillas (1996) que tampoco encontró diferencias en la digestibilidad de la proteína a 16 y 35 ups.

La digestibilidad aparente de la materia seca decrece con el incremento de la salinidad a 40 ups en un 30-40 %, en los animales alimentados con proteína baja, esto sugiere que la porción no proteica de la dieta es la más afectada por la salinidad (Coehlo, 1984; citado por Robertson *et al*., 1993).

La razón por la cual la salinidad afecta a la digestibilidad probablemente esta relacionada con el uso de los aminoácidos en la osmorregulación de los crustáceos. En bajas salinidades se produce una pérdida de aminoácidos, reduciendo su concentración en los tejidos por la oxidación muscular; esta disminución del nivel de aminoácidos puede provocar una reducción de la síntesis de enzimas digestivas y una menor eficiencia de la digestión (Lee y Lawrence, 1997).

b) Temperatura.

Un aumento en la temperatura dentro de los límites térmicos de cada especie acelera diversos procesos digestivos tales como la evacuación gástrica, las actividades enzimáticas o la absorción intestinal (Guillaume, 1990; citado por Mendoza, 1993). Pero aun así no se ha encontrado un efecto muy significativo de la temperatura en la digestibilidad de los crustáceos(Lee y Lawrence, 1997), sino más bien una reducción en la tasa de ingestión del alimento, cuando esta es menor a los parámetros normales (Ocampo, 1998)

c) Oxígeno.

Trabajos hechos en *P. vannamei* y *P. monodon* a diferentes niveles de oxígeno no han encontrado gran influencia de estos sobre la digestibilidad de estas especies; en bajos niveles de oxígeno existe una disminución del crecimiento pero esto es mas bien atribuido a la pobre tasa de ingestión del alimento (Lee y Lawrence, 1997).

d) pH.

Los efectos del pH y la calidad del agua sobre la digestibilidad de los alimentos no han sido objeto de estudio, pero estos pueden tener algún tipo de efecto en el balance metabólico de los organismos (Lee y Lawrence, 1997).

2.5 Osmorregulación.

La osmorregulación de los fluidos corporales de un organismo se define como la regulación de la concentración de las sales de tales fluidos a través de membranas permeables, cuando están a niveles diferentes de los medios externos manteniéndolos al mismo nivel por diferencia de gradiente de la presión osmótica (Robertson, 1960; Mantel y Farmer, 1983). La osmorregulación es un importante mecanismo de adaptación al medio ambiente de las especies acuáticas especialmente en crustáceos (Pequeux, 1995; citado por Lignot *et al*., 1999). Los camarones eurihalinos a baja y alta salinidad, regulan osmóticamente sus fluidos corporales como adaptación a los cambios de salinidad (Lignot *et al*., 1999). El *P. vannamei* es considerada una especie altamente eurihalina (Boyd, 1990).

Todos los crustáceos de agua dulce y muchas especies de agua salobre muestran regulación hiperosmótica, manteniendo altas concentraciones de sales en la hemolinfa, iguales al medio donde se desarrollan. La regulación hiposmótica es mostrada solo por algunos crustáceos que viven en el agua de mar y lagos salados. Ambos tipos de osmorregulación son estados sostenidos en los que existe gasto de energía (Robertson, 1960).

Una relación fisiológica entre la salinidad y el metabolismo de los crustáceos es el punto en el cual la hemolinfa de estos es isosmótica con el agua de mar, es decir la concentración de iones disueltos es igual tanto en la hemolinfa como en el agua por lo cual no existen pérdidas de energía por osmorregulación (Chen y Nan, 1995). Se ha reportado que el punto isosmótico para el *P. vannamei* es 24,7 ups (Castille y Lawrence, 1981; citados por Bray *et al.*, 1994).

2.5.1 Organos encargados de la osmorregulación.

Los órganos y tejidos encargados de la regulación osmótica en los crustáceos son las branquias, las antenas y en algunas especies el intestino (Claybrook, 1983). Robertson (1960) realizó una descripción del funcionamiento de cada uno de ellos:

a) Branquias.

Las branquias son los órganos más permeables del integumento y es el sitio de la absorción continua de iones, los mismos que reemplazan las pérdidas en la secreción de las glándulas antenales en especies marinas por difusión externa en organismos de aguas salobres y dulces. Dependiendo de la salinidad existe una mayor o menor actividad enzimática en las branquias, volviéndose estable cuando se llega al punto isosmótico del organismo.

b) Antenas

Las antenas son parte del mecanismo de regulación iónica. Ellas producen una secreción en las cuales ciertos iones, principalmente $Mg^{++,}$ y $SO4^{--}$, son selectivamente secretados, y un residuo, incluyendo K^{+}, conservados.

c) Intestino.

El funcionamiento del intestino en el balance del agua ha sido determinado en la artemia de los lagos salados sometidas a continuas diluciones en el medio.

2.5.2 Aminoácidos que intervienen en la osmorregulación.

Muchas especies eurihalinas de crustáceos responden a los cambios en la salinidad del medio con alteraciones del contenido de aminoácidos libres (FAA, siglas en inglés) en sus tejidos (Claybrook, 1983, Dalla, 1986; Rosas *et al.* 1998). El conjunto de aminoácidos actúa como un amortiguador entre las variaciones de las proteínas corporales, los requerimientos de energía del metabolismo de los peneidos, y la presión osmótica cuando son sometidos a variaciones de salinidad (Rosas *et al*., 1999). Cuando bajan los niveles de salinidad, hay una disminución de los aminoácidos esenciales, pero son los aminoácidos no esenciales, especialmente glicina, prolina, alanina y glutamato los que representan cerca del 90% de la reducción total en la mayoría de las especies (Claybrook, 1983, Dalla, 1986). Los cambios de los crustáceos expuestos a un incremento de salinidad medioambiental no están muy claros, pero al parecer se produce un incremento en el nivel de FAA, especialmente aspartato, glutamato, prolina, y alanina (Claybrook, 1983; Chen et al., 1994). Al producirse un estrés osmótico estos aminoácidos se oxidan, acelerando el ciclo de Krebs, para así proveer la energía necesaria para realizar los ajustes fisiológicos necesarios para la osmorregulación muscular (Rosas *et al*., 1998).

2.5.3 Factores que afectan a la osmorregulación.

2.5.3.1 Salinidad.

El efecto de los diferentes niveles de salinidad sobre la fisiología osmorreguladora de los peneidos aún no se ha podido determinar. Resultados de investigaciones realizadas son contradictorios, Chen y Nan (1995) reportaron un incremento en los niveles de excreción de amonio en niveles bajos de salinidad y en niveles altos un incremento en el consumo de oxígeno; sin embargo Chen y Lai (1993) y Chen y Lin (1995) reportaron un aumento en el requerimiento de oxígeno en salinidades bajas.

2.5.3.2 Nutricionales.

La composición del alimento suministrado a los peneidos debe cubrir los imbalances de aminoácidos causados por la osmorregulación, de no ser así el organismo catabolizará sus proteínas musculares, causando una disminución en su crecimiento (Rosas *et al.*, 1999).

2.6 Metabolismo.

El proceso biológico de la utilización de la energía es definido como metabolismo, mientras que la tasa a la que la energía es utilizada se denomina tasa metabólica. La tasa metabólica de los peneidos esta influida por factores tales como: temperatura del agua, pH, salinidad, especie, edad o talla, actividad y condición física y funciones corporales (Akiyama *et al.*, 1993).

Los valores de energía digestible no han sido bien determinados en los diversos ingredientes alimenticios para camarón. Los camarones pueden utilizar proteínas, lípidos y carbohidratos como fuente de energía (Rosas *et al.*, 1999). Como las proteínas son altamente digestibles por el camarón, si existe un exceso de estas en el alimento serán usadas como fuente de energía. El uso de proteínas como generador de energía no es económicamente eficiente, por consiguiente un nivel de energía adecuada debe ser mantenida en alimentos para camarón (Bautista, 1986).

La supervivencia y buen desarrollo del camarón dependen del almacenamiento, la reorganización y el uso de la energía. La energía derivada del alimento consumido es utilizada generalmente para el crecimiento y el metabolismo respiratorio, mientras que la otra porción se pierde durante la eliminación de los desechos nitrogenados y de las heces secretadas (Blaxter, 1989; citado por Ocampo, 1998).

En acuacultura es importante identificar las condiciones nutricionales ambientales que maximizen la utilización de la energía del organismo a cultivar (Ocampo, 1998); ya que el metabolismo es determinado predominantemente por las condiciones medioambientales de su hábitat (Villarreal *et al.*, 1994).

El incremento de la salinidad modifica la osmosis y el balance iónico de los camarones, causando un incremento en la demanda de energía metabólica, por lo cual en estas condiciones estos organismos tendrían menos energía disponible para el crecimiento y los procesos reproductivos (Villarreal *et al.*, 1994). Estos mismos autores encontraron que la ruta metabólica máxima del *P. vannamei* está entre 35 y 40 ups, pero también pudieron observar estos picos metabólicos en menores niveles de salinidad con un incremento de temperatura de 28 a 32 °C.

Por otro lado el consumo de oxígeno es considerado como un indicador directo del "alcance metabólico", es decir la cantidad de energía disponible en el organismo para llevar a cabo funciones bioquímicas, fisiológicas y ecológicas, la misma que es dependiente de la salinidad (Rosas *et al.*, 1997)

2.6.1 Tasa de excreción de amonio.

Los crustáceos decápodos marinos son considerados amoniotélicos, debido a que más del 50 % de los productos catabólicos terminales del nitrógeno es amonio, teniendo menor importancia la urea, el ácido úrico y una proporción relativa de otros compuestos aminados (Parry 1960; Campbell, 1973; Kinne 1976; citados por Mantel y Farmer, 1983).

En estudios realizados para evaluar la capacidad de osmorreguladora de los crustáceos, se determinó una sensibilidad a la toxicidad del amonio (Lignot *et al.*, 1999), la misma que puede variar con la acción de otros factores como la salinidad, temperatura y concentración de oxígeno (Zuñiga *et al.*, 1984).

En muchas investigaciones la tasa de excreción de amonio ha sido usada como un indicador de las respuestas fisiológicas o eficiencia de la utilización de la proteína dietética, bajo diversas condiciones medioambientales (Mantel y Farmer, 1983). Según Clifford (1994) para que las tasas de crecimiento y supervivencia no sean afectadas, el rango idóneo de amonio total en los estanques de cultivo de camarones debe estar entre 0,1 y 1,0 mg/l. Los juveniles de *P. vannamei* pueden soportar niveles de amonio tan altos como 2,1 mg/l por períodos cortos, sin alterar su supervivencia (Hopkins *et al.*, 1993).

La toxicidad del amonio es atribuida principalmente a su forma desionizada. Cuando la concentración de amonio en el agua aumenta a niveles superiores a 5 mg/l^{-1}, la excreción de amonio por parte de los organismos acuáticos disminuye y los niveles de amonio en la hemolinfa y otros tejidos se incrementa (Chen *et al.*, 1994). El resultado es una elevación en el pH de la hemolinfa y efectos adversos en las reacciones de catalización de enzimas y estabilidad de las membranas. El amonio incrementa el consumo de oxígeno por parte de los tejidos, causa daño en las branquias y reduce la capacidad de la hemolinfa para transportar oxígeno (Chen et al., 1993). Una exposición a concentraciones subletales de amonio provoca en los organismos una mayor susceptibilidad a las enfermedades (Boyd, 1989), disminuyendo la tasa de crecimiento y en casos extremos causando mortalidades (Wasjbrot *et al.*, 1990, Zin y Chu, 1991; citados por Ostrensky y Wasielesky, 1995)

2.6.1.1 Factores que afectan la excreción de amonio.

2.6.1.1.1 Abióticos.

Los factores ambientales tienen un efecto importante en la tasa de excreción de amonio, esta decrece con el incremento de la salinidad (Chen *et al.*, 1995) y cuando el oxígeno es un factor limitante (condiciones de hipoxia y anoxia) (Rosas *et al.*, 1999). En cambio un incremento en la temperatura induce a una mayor excreción (Kaushik, 1998).

2.6.1.2 Bióticos.

La excreción del amonio disminuye con el aumento del peso corporal de los crustáceos (Brito *et al.*, 1998), aumenta antes y después del proceso de la muda y se incrementa también debido al estrés provocado por el manejo (Kaushik, 1998).

Los factores nutricionales afectan en gran medida la tasa de excreción de amonio pues esta es 6 veces mayor en animales alimentados que en los mantenidos en ayuno (Zuñiga *et al.*, 1984). Por otro lado la fuente de proteína y la cantidad de la misma en la dieta también es importante, debido a que un exceso de la misma en la dieta incrementa la excreción de amonio (Rosas *et al.*, 1998), lo cual es confirmado por Molina (1998), que determinó que esta era 20 y 25 veces mayor con una inclusión de 40 % de proteína en comparación con 20 y 10 % de proteína, respectivamente.

III MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Experimento de crecimiento.

3.1.1 Sistema de cultivo.

Un sistema de recirculación cerrado fue implementado (Figuras 3 y 4), utilizando 10 tanques rectangulares de 1000 l como reservorios de agua. Para cada salinidad (5, 15, 25, 35, 45 ups) se intercaló cada dos tanques un biofiltro para la purificación del agua. Uno de los dos tanques fue empleado para recibir el agua con desechos, mientras que el otro tanque receptaba el agua tratada por el biofiltro, para luego enviarla a gavetas plásticas. La recirculación entre los tanques, los biofiltros y las gavetas se realizó con la implementación de sistemas "airlifts". En la parte superior de los tanques se colocaron tablas de 1 m de largo, como base para colocar gavetas de 50 litros, distribuidas en un número de 10 por salinidad (5 en cada tanque), éstas se cubrieron con malla para evitar que los camarones salgan del sistema.

Para el recambio de agua de las gavetas se uso sifones hechos de tubos de cloruro de polivinilo (PVC) de 1 1/2 pulgada ("). El agua se desplazó a través de canales de PVC de igual diámetro hacia el tanque de destino.

Figura 3.- Vista lateral del sistema de cultivo

Figura 4.- Vista superior del sistema de cultivo

3.1.2 Biofiltros.

Se utilizaron para este fin dos gavetas plásticas rectangulares de 31 l y 62 l. Se cubrió las aberturas de estas con fibra de vidrio y se colocó una válvula en la parte superior central de la gaveta de 62 l, para drenar posteriormente el agua de las mismas. El fondo de la gaveta de 31 l fue perforado para permitir la salida de agua por gravedad a través de una capa de piedras finas de aproximadamente 15 cm, que descansaba sobre una malla de 300 µm. En el interior de la gaveta de 62 l se construyo un fondo falso con pedazos de tubo de PVC de 2" perforados sobre los cuales se colocó la gaveta de 31 l (Figura 5). Para el desarrollo de las bacterias nitrificantes en los biofiltros se hizo aplicaciones semanales de 3 g de sulfato de amonio, con recirculación de agua y aireación constante durante dos meses. Se cubrió la parte superior de los mismos con fundas plásticas negras, debido a que la luz inhibe la presencia de estas bacterias (Alleman *et al*., 1987).

3.1.3 Sistema "airlifts".

3.1.3.1 Desaminación de agua.

El agua del tanque proveniente de las gavetas era enviada a los biofiltros para su desaminación utilizando "airlifts", diseñados con tubos de PVC de 1" de diámetro con 1 y dos metros de largo, los cuales se unieron con codos de igual diámetro en un ángulo de 90º. En la parte superior del tubo de 1 m, se realizó una perforación de tal manera que pueda entrar a presión una manguera de 16 mm, por donde se inyectó aire. Otro codo fue colocado en el otro extremo del tubo de 2 m para que toda el agua bombeada por el "airlift" ingrese directamente a los biofiltros (Figura 6). Dos "airlifts" fueron usados para cada bloque de salinidad. La recirculación obtenida a través de los biofiltros con este sistema fue de 400 % diario.

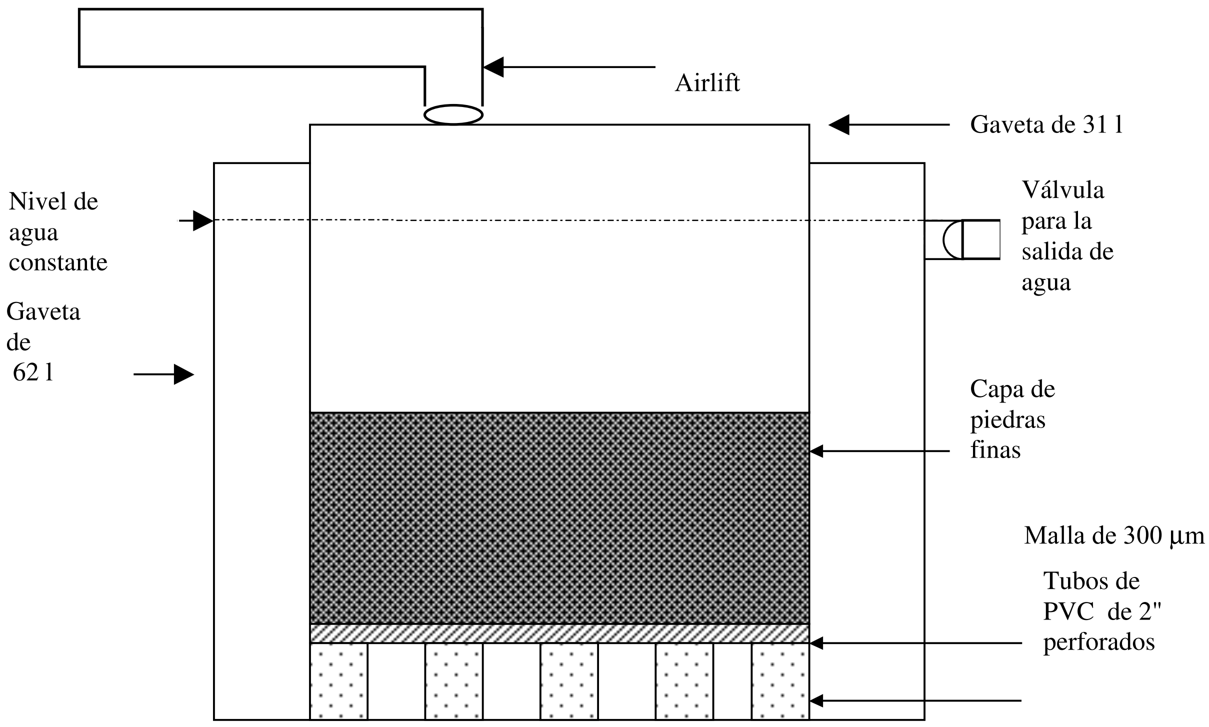


Figura 5.- Corte transversal que muestra las partes del biofiltro

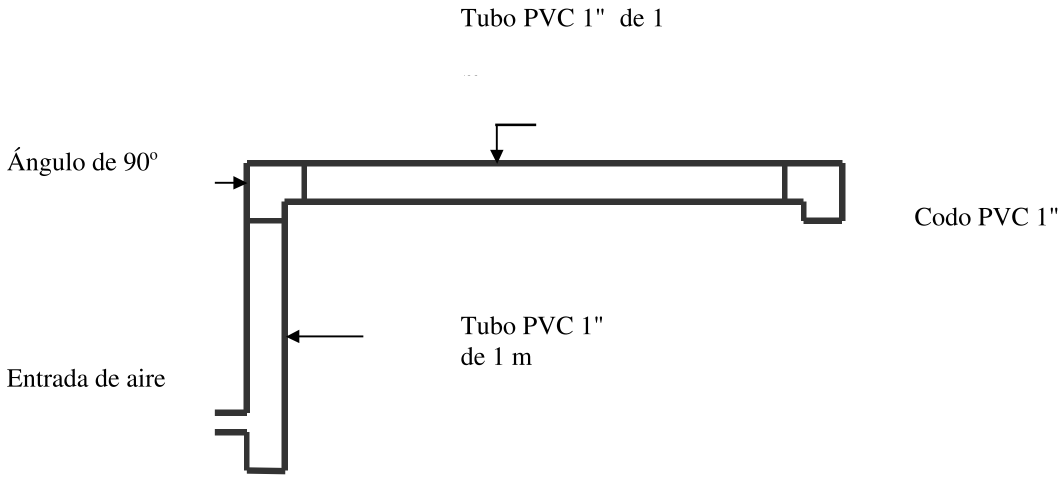


Figura 6.- "Airlift" para desaminación de agua

3.1.3.2 Recambio de agua.

El recambio y oxigenación del agua de las gavetas se realizó usando “airlifts” hechos de tubos de PVC de 1/2 " de diámetro, cortados en longitudes de 90 y 5 cm unidos con codos de igual medida, obteniendo una recirculación diaria de 2000 % (Figura 7).

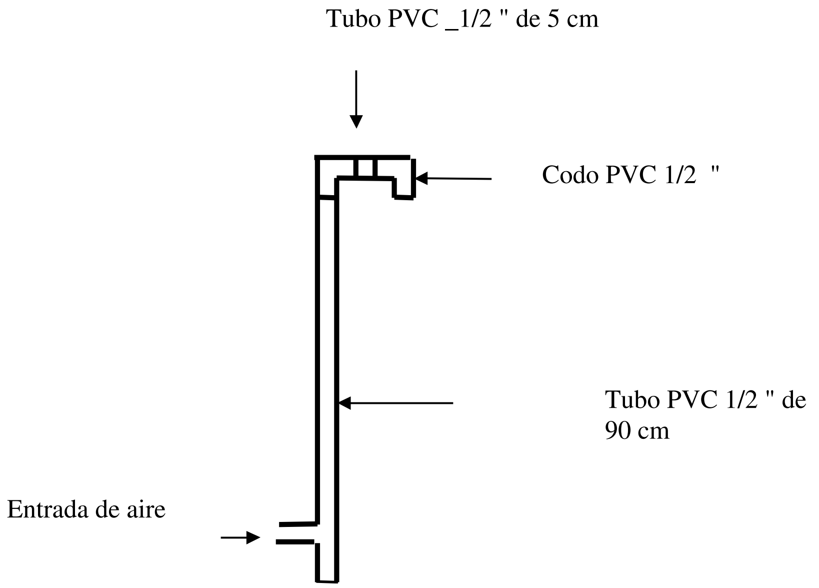


Figura 7.- “Airlift” para recambio y oxigenación de agua

3.1.4 Sistema de aireación.

Para la distribución del aire se utilizó tubos de PVC de 6 m de largo por 1/2 " de diámetro conectados a las tomas de aire. A cada tubo se le realizaron perforaciones para colocar válvulas destinadas a regular el flujo de aire de aire para cada una de las gavetas. Este diseño permitió obtener la presión de aire necesaria para hacer funcionar los sistemas “airlifts”.

3.1.5 Salinidad.

Los niveles de salinidad inferiores a 35 ups, se alcanzaron mediante la combinación de volúmenes calculados de agua dulce (0,5 ups) y de mar (35 ups). En tanto que para alcanzar el nivel de 45 ups, se usó sal sin refinar, cuya cantidad dependió del grado de pureza y/o contenido de humedad de la misma (Tabla 3). Para preparar 1 tonelada de agua, primeramente se midió el caudal de agua existente en las tomas de agua dulce y salada. Con la ayuda de un cronómetro y un recipiente graduado, se determinó cuanto tiempo era necesario para conseguir las cantidades de agua calculadas.

Tabla3.- Cantidades de agua dulce y salada para obtener 1 Ton de las salinidades requeridas

Salinidad (ups)	Agua dulce (l)	Agua salada (l)
5	865	135
15	550	450
25	350	650
35	----	1000
45	---	1000 + sal

Durante la mezcla de estos volúmenes de agua, se mantuvo aireación constante, para homogenizar el agua y obtener una lectura exacta en el momento de medir la salinidad.

3.1.6 Camarones.

3.1.6.1 Procedencia y crianza.

Los animales utilizados para los bioensayos fueron obtenidos del laboratorio "G. C. y F. Marino" ubicado en Mar Bravo, Península de Santa Elena. Estos fueron llevados desde postlarva 13 hasta 1 g en un tanque de 10 Ton. La temperatura del agua promedio de 21° C fue elevada a 24° C mediante el uso de calentadores. Los camarones fueron alimentados con la misma dieta suministrada en el laboratorio (Con un contenido de proteína de 50 %) y nauplios de artemia durante la primera semana, de acuerdo con el régimen alimenticio usada en el laboratorio de origen, luego se combinó con una dieta de 40 % de proteína elaborada en CENAIM y a partir de la tercera semana solo se los alimento con esta última dieta.

Análisis de PCR para detectarla posible presencia del virus de la mancha blanca (WSSV) fueron realizados, al llegar al tanque, a los 40 días y antes de comenzar el experimento, resultando todas las pruebas negativas. Una semana antes del traslado de los juveniles a la sala experimental se les suministro una dieta de 40 % de proteína con 150 ppm de ß-glucanos, para prevenir posibles mortalidades por inmunodepresión, originadas por el posterior manejo y potencializadas por las variaciones de salinidades.

El día de la transferencia de los animales a las gavetas se los pesó en una balanza de 0,01g de precisión, teniendo un peso promedio de 0,99±0,14 g, inmediatamente se los marcó con elastómeros para posibilitar la identificación individual de cada camarón.

3.1.6.2 Marcación

La preparación del elastómero se lo hizo mezclando 1 ml de color y 0,1 ml de “curing agent”, por aproximadamente un minuto con una paleta de madera. La pasta resultante fue succionada con una jeringa de 1 ml (sin aguja), para luego pasarla a una jeringa de 0,3 ml con aguja, esta se la colocó en el aplicador y se procedió a la marcación procediéndose luego a la marcación, usando el código anotado en la tabla 4.

Tabla 4.- Código de identificación de camarones marcados con elastómeros

Código	Marca	Nº Camarón
6DR	Sexto segmento, derecho rojo	1
6IR	Sexto segmento, izquierdo verde	2
6DV	Sexto segmento, derecho verde	3
6IV	Sexto segmento, izquierdo verde	4
3DV	Tercer segmento, derecho verde	5

La marca se realiza en los segmentos, no en los intersegmentos, como se puede apreciar en la figura 8, procurando que esta quede en el músculo; si se la hace superficialmente se perderá con la muda, y si se la aplica en el intestino migrará al hepatopáncreas para luego ser excretada.

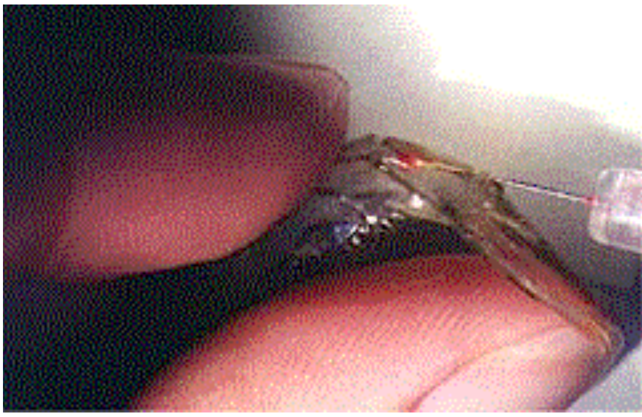


Figura 8.- Aplicación del elastómero

3.1.6.3 Aclimatación a salinidad

La aclimatación de los animales a las diferentes salinidades se la realizó en un período de 15 días. Las salinidades se modificaron gradualmente a 3 ups por día, reduciéndolo a 2 ups cuando se llegó a menos de 20 ups y más de 40 ups. Primeramente se hizo la mezcla en los tanques de 1000 l, para luego cambiar lentamente la salinidad en las gavetas por medio de los “airlifts”. Durante este período los juveniles recibieron una dieta de 40 % de proteína para compensar el posible desbalance de aminoácidos que puede provocar el cambio de salinidad y evitar un efecto en el crecimiento de los animales a evaluarse antes de ser suministradas las respectivas dietas de ensayo

3.1.7 Protocolo del experimento.

El experimento se lo realizó en el Centro Nacional de Acuícultura e Investigaciones Marinas (CENAIM), ubicado en San Pedro de Manglaralto, provincia del Guayas.

Las 5 dietas ensayadas fueron suministradas al 10 % de la biomasa y distribuidas en 4 raciones: 09h00, 13h00, 17h00 y 20h00 para que puedan ser mejor aprovechadas. Se estimo un crecimiento semanal de 1 gramo, para ajustar la cantidad de alimento entregada. El alimento sobrante, heces, mudas y animales muertos fueron sifoneados en las mañanas antes de la primera ración de alimento. Se manejo un fotoperiodo constante de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Diariamente sé monitoreó la salinidad con un refractómetro de mano, la temperatura y oxígeno con un medidor portátil digital. El pH fue medido semanalmente con un pHmetro. Recambios de 50 % del agua de los tanques de 1000 l, fueron realizados semanalmente para prevenir la acumulación de desechos de sólidos y algas bentónicas, además de limpiar las paredes de los mismos.

Luego de seis semanas de experimentación, se bajo los niveles de las gavetas y se procedió a la captura, identificación y pesaje de los animales. Se tomaron muestras para análisis de PCR, para determinar la presencia de WSSV y Virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética (IHNNV).

3.2 Experimento de digestibilidad.

Para evaluar la digestibilidad de las dietas se utilizó la misma sala experimental, métodos de manejo y control de parámetros de calidad de agua, sistema de suministro de alimento y animales empleados en el experimento de crecimiento.

3.2.1 Alimentación y acondicionamiento a las dietas.

Los 250 animales con un peso promedio de 3,32±0,23 fueron acondicionados a las 5 dietas (A-E), que tuvieron idéntica composición a las utilizadas en el bioensayo de crecimiento, pero con la adición de 1 % de óxido de cromo como marcador inerte. Se les suministró las dietas por un espacio de seis días, antes de comenzar a recoger las heces de los camarones, para permitir que estos se adapten a las mismas como lo recomiendan Lee y Lawrence (1997).

3.2.2 Colección de heces.

Antes de dar la primera ración de alimento diario se sifoneó minuciosamente el fondo de las gavetas, para eliminar heces lixiviadas, mudas y alimento sobrante. Después de 2 horas de haber alimentado, las heces fueron sifoneadas y recogidas en mallas de Nylon de 300 µm. Con ayuda de pinzas las heces lavadas en agua destilada fueron almacenadas en tubos ependorf ®, previamente marcados y almacenados a – 80 º C. La cantidad de muestra requerida (0,5 g, peso húmedo, por acuario) fue liofilizada durante 48 horas para posteriores análisis.

3.3 Formulación de dietas.

3.3.1 Composición.

Se formuló 5 dietas semipurificadas con balances P/E de niveles ascendentes de proteína: 20, 25, 30, 35 y 40 % (dietas A-E), mediante la inclusión de diferentes niveles de caseína. Esta es una fuente de proteína de alta digestibilidad (99,1 %) (Akiyama *et al.*, 1989), pero deficiente en arginina, por lo cual a medida que se iba aumentando el nivel de caseína, se adicionó progresivamente este aminoácido. La harina de calamar fue incluida en las dietas por su alta atractabilidad, y por que se cree tiene un factor que estimula el crecimiento (Cruz *et al.*, 1987). El nivel de carbohidratos formulado de 40 % fue constante en las 5 dietas, mediante la adición de almidón de yuca gelatinizado, elaborado siguiendo el procedimiento descrito por Romero (1999). El nivel de lípidos en todas las dietas se ajustó al 6 % con aceite de hígado de bacalao, que ademas sirvió como atractante. Para llevar las fórmulas al 100 % se utilizó tierra de diatomea lavada en ácido, la cual no tiene efectos negativos sobre la digestión en camarones (Aranyakananda y Lawrence, 1999). El nivel de fibra de 4 % sé logró con la inclusión de celulosa.

Tabla 5.- Composición de las dietas semipurificadas

Ingredientes	A	B	C	D	E
Caseína	17,11	22,37	27,63	32,89	38,16
Calamar	5	5	5	5	5
Arginina	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4
Celulosa	4	4	4	4	4
Hexametafosfato de sodio	1	1	1	1	1
Aceite de hígado de bacalao	5,36	5,36	5,36	5,36	5,36
Tierra de diatomea	21,52	16,16	10,79	5,43	0,07
Lecitina de soya	1	1	1	1	1
Colesterol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Yuca gelatinizada	39	39	39	39	39
Vitaminas	3	3	3	3	3
Minerales	2	2	2	2	2
Aglutinante	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Antioxidante	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
TOTAL	100	100	100	100	100

3.3.2 Preparación.

Los ingredientes fueron mezclados manualmente de menor a mayor porcentaje de inclusión de las dietas, para lograr una mejor homogenización de estos. La lecitina de soya y el aceite de hígado de bacalao fueron adicionados al final. Una vez obtenida la mezcla se agrego agua, la cantidad de la misma fue variable para las dietas, aumentando según el contenido de caseína, de 40 a 60 % del peso de la mezcla. Para una mayor aglutinación de los ingredientes la pasta resultante fue pasada dos veces por un molino de carne. Los pellets resultantes de 3 mm de diámetro fueron secados por dos horas a 60º C en un secador con flujo de aire vertical. Finalmente el producto resultante fue troceado a 1 cm de largo, enfundado, etiquetado y conservado a –20 º C.

3.4 Análisis proximal.

3.4.1 Dietas.

3.4.1.1 Tratamiento de las muestras.

Se pulverizaron 30 g de cada una de las dietas en un mortero y se las paso por un tamiz de 300 µm. Luego las muestras fueron empacadas en fundas de plástico con la adición de nitrógeno, para evitar la oxidación, y mantenidas a –20 º C hasta su análisis.

3.4.1.2 Determinación de humedad.

Sobre una cápsula de aluminio previamente tarada y pesada se colocaron 2,5 g de muestra para ser secadas en una estufa a 110º C por dos horas. Las cápsulas fueron depositadas en un desecador por 10 minutos para permitir su enfriamiento y seguidamente pesarlas en una balanza de 0,0001 g de precisión. Después de esto se las colocó nuevamente en la estufa por media hora, repitiendo el proceso hasta obtener un peso constante. El resultado era obtenido por la diferencia entre el peso inicial y final, determinando el porcentaje de humedad de la muestra analizada.

3.4.1.3 Determinación de ceniza.

En un crisol de porcelana previamente tarado por media hora en una mufla y pesado se colocaron 2 g de muestra. Los crisoles y su contenido fueron quemados en un plato de calentamiento, para eliminar la mayor cantidad de carbono presente en la muestra, lo cual se determinaba por la ausencia de humo. Posteriormente las muestras eran incineradas a 550º C por 4 horas. Una vez enfriadas en un desecador se las pesaba y el proceso de incineración en la mufla era repetido en intervalos de media hora hasta obtener peso constante.

3.4.1.4 Determinación de lípidos.

Siguiendo el método de Folch (1952) modificado, a 250 mg de muestra se los depositó en tubos de ensayos plásticos, para ser biohomogenizados con una solución de cloroformo-metanol (2:1) para extraer los lípidos. Luego de la extracción la muestra era sometida a lavados sucesivos con solución salina de KCl 0.88% en agua y solución salina-metanol (1:1) para su purificación. El extracto lipídico era recogido en peras de vidrio previamente taradas y pesadas, luego se evaporaba los solventes en un rotavapor. Los lípidos presentes en la pera eran pesados y relacionados para el peso de la muestra original, obteniéndose el porcentaje de lípidos presentes en la muestra.

3.4.1.5 Determinación de fibra.

Se pesó 1,5 g de muestra previamente desengrasada en crisoles de 35 ml, para luego someterlos a digestiones en caliente con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en un equipo para determinar fibra. Los productos de esta digestión se secaron en una estufa a 110º C por 60 minutos, luego enfriados y pesados. Posteriormente fueron incinerados en una mufla a 450º C por 90 minutos, enfriados en un desecador y pesados, determinándose el contenido de fibra por la diferencia en peso de la muestra secada en la estufa y el resultado obtenido luego de incinerada esta.

3.4.1.6 Determinación de proteína cruda.

Basado en el método de Kjeldahl, se pesaron 0,3 ± 0,01 g de muestra, el nitrógeno orgánico de estas se lo trasformó en Sulfato de amonio por digestión con una mezcla de $S0_4H_3$ y PO_4H_3, empleando un catalizador (tableta de SO_4Cu-SO_4K_2). L solución digestada, se destiló por 10 minutos y mediante la adición de NaOH al 40 % y vapor de agua, el amonio es liberado y recuperado en H_3BO_3 al 4 %. El Burato de amonio formado es titulado junto con HCl para obtener el porcentaje de nitrógeno.

3.4.2 Heces.

3.4.2.1 Proteína.

Se pesaron en tubos de ensayo de 2 a 2,3 mg de heces, estas fueron digestadas en un plato de calentamiento con 1 ml de solución ácida por 12 horas a 120º C, luego se elevó la temperatura a 320º C y se continuó con la digestión por seis horas más. La solución digestada fue diluída con agua destilada en matraces volumétricos de 20 ml, tomando de estos una alícuota de 1 ml, la misma que fue depositada en matraces de 10 ml en los que se agregó 2 ml de Hidróxido de sodio al 2,5 %, 4 ml de solución de fenol y 2 ml de solución de Hipoclorito de sodio, se llevó a volumen con agua destilada y después de 20 minutos se realizaron las lecturas respectivas en un espectofotómetro a 635 nm.

3.4.3.2 Óxido de cromo.

Para la determinación del óxido de cromo se pesaron de 1,5 a 1,8 mg de heces en tubos de ensayo, digestandose con una solución ácida por 30 minutos a 220º C. Luego el contenido de los tubos fue diluído con agua destilada en un matraz volumétrico de 50 ml. Alícuotas de 10 ml se depositaron en matraces volumétricos de 10 ml, y se adicionó 1 ml de difenilcarbocida para desarrollo de la coloración. La lectura se la realizó después de 30 minutos en el espectofotómetro a 540 nm.

3.5 Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos en los bioensayos de crecimiento y digestibilidad fueron evaluados mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de doble vía, para determinar diferencias significativas entre salinidades y balances P/E, además de verificar si existía interrelación entre estos.

Previamente los datos porcentuales de supervivencia y digestibilidad fueron trasformados a arco seno. Para la evaluar el crecimiento se consideró la ganancia en peso neta, esto se lo hizo restando el peso inicial (Pi) del peso final (Pf) de los camarones marcados. El efecto de la salinidad sobre la supervivencia fue analizado mediante el Coeficiente de correlación Pearson.

Al determinar interrelación positiva entre salinidades y dietas se realizó un ANOVA de una vía en cada uno de los niveles de salinidad evaluados, para determinar el efecto de los balances P/E sobre los animales.

Finalmente mediante la prueba de la diferencia mínima significante (LSD, siglas en ingles) se comparó los pares de medias entre salinidades evaluadas, las dietas experimentales y el efecto de estas dentro de cada nivel de salinidad. Los resultados fueron considerados significativos a $p<0{,}05$. Todo el análisis estadístico fue realizado usando el programa Data Desk 6.0 para Macintosh.

IV. Resultados.

4.1 Análisis proximal.

El análisis proximal realizado para determinar la composición de las dietas suministradas (A-E), nos indicó que las mismas estuvieron en valores muy cercanos a los formulados a excepción de la dieta D, que presentó un nivel de proteína de 40,86% valor superior al formulado (35%), debido quizás a algún error en la mezcla de los ingredientes, lo cual originó que el valor del balance P/E entre las dietas D (88,06 mg/kcal) y E (89,56 mg/kcal) sea muy similar. El nivel de lípidos (7%) se mantuvo constante en todas las dietas, al igual que el contenido de fibra de las mismas que estuvo entre 3,2 y 3,86 %. La cantidad de cenizas en las dietas fue decreciendo a medida que aumentó el nivel de proteína y disminuyó la inclusión de tierra de diatomea en las mismas.

Tabla 6.- Composición nutricional (en base seca) de las dietas experimentales

NUTRIENTES (%)	A	B	C	D	E
Humedad	4,64	3,92	4,78	5,54	6,08
Proteína cruda	22,65	25,68	33,59	40,86	42,45
Lípidos	7,18	7,42	7,20	7,15	7,12
Carbohidratos*	39,83	40,04	40,25	40,46	40,67
Ceniza	26,81	20,81	15,30	9,38	4,34
Fibra	3,86	3,87	3,84	3,51	3,23
Energía bruta (kcal/g)	3,65	3,79	4,23	4,64	4,74
P/E (mg Proteína/kcal)	62,05	67,76	79,41	88,06	89,56

*valores teóricos

4.2 Parámetros físico-químicos del agua.

Cada uno de los niveles de salinidad evaluados se mantuvieron constantes sin presentar variaciones durante el desarrollo del bioensayo, de igual forma los valores medidos de temperatura, oxígeno y pH fueron similares entre los tratamientos, manteniéndose sin mayores cambios durante el desarrollo del experimento (Tabla 7).

El nivel de amonio no se lo pudo medir durante el experimento, por daños en el equipo necesario para realizar esta determinación, por lo cual se realizó recambios semanales del agua, para que los animales no sean afectados por el mismo. Pero cabe anotar que en pruebas preliminares al bioensayo de crecimiento, para comprobar la eficiencia de los biofiltros, realizadas con concentraciones conocidas de amonio, se determinó una eliminación total de las mismas en tres días.

Tabla 7. Parámetros de calidad de agua durante el bioensayo de crecimiento

Tratamiento	**Salinidad (ups)**	**Temperatura (ºC)**	**Oxígeno (ppm)**	**pH**
5 ups	$5,0 \pm 0,7$	$26,5 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,41$	$8,18 \pm 0,37$
15 ups	$15,0 \pm 1,5$	$26,3 \pm 0,5$	$4,5 \pm 0,37$	$8,34 \pm 0,44$
25 ups	$25,0 \pm 0,7$	$26,3 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,40$	$8,26 \pm 0,43$
35 ups	$35,0 \pm 0,9$	$26,2 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,39$	$8,14 \pm 0,34$
45 ups	$45,0 \pm 1,5$	$26,1 \pm 0,3$	$4,4 \pm 0,40$	$8,20 \pm 0,30$

Durante el desarrollo del experimento se presentó un incremento constante del número de animales muertos a partir de la cuarta semana, razón por la cual se concluyó el bioensayo a la sexta semana. El análisis de PCR (Polimerase Chain Reaction) demostró la presencia del IHHNV y la ausencia del WSSV (enfermedad que tuvo su repunte en el sector camaronero durante los meses en los que se realizó el experimento).

4.3 Supervivencia.

Diferencias significativas ($p<0,05$) en la supervivencia fueron encontradas entre las 5 salinidades, independientemente de la dieta empleada. No se observó un efecto significativo ($p>0,05$) del balance P/E en la supervivencia final así como tampoco fue detectada una interacción significativa entre salinidades y dietas ($p>0,05$).

La salinidad tuvo un efecto negativo sobre la supervivencia, ya que esta fue inversamente correlacionada con la salinidad en el rango de 5 – 45 ups (Coeficiente de correlación Pearson, -0,73, $p<0,001$). La figura 9 muestra los valores de regresión del mínimo cuadrado *versus* los valores actuales de supervivencia. La variabilidad en supervivencia asociada con el modelo fue de 53% (r^2). Considerando las condiciones experimentales bajo las cuales se realizo este estudio de 6 semanas con animales de aproximadamente 1 g de peso inicial, este modelo predice la supervivencia como:

$$\text{Supervivencia} = (-0,9200)\text{Salinidad}+97$$

El método LSD determinó diferencias significativas ($p<0,05$) entre la supervivencia alcanzada a 5 ups y las de los camarones cultivados a salinidad de 15, 35 y 45 ups (76, 68 y 52 % respectivamente). Al analizar los resultados de estos tres últimos niveles no se halló diferencias ($p>0,05$) entre 15 y 35 ups ni entre 35 y 45 ups, mientras que al comparar 15 y 25 con 45 ups si se observó diferencias, siendo este último nivel de salinidad el que presento el menor porcentaje de supervivencia. No se encontró diferencias estadísticas (p>0,05) entre 5 ups (94%) y 25 ups (80%) (Tabla 9).

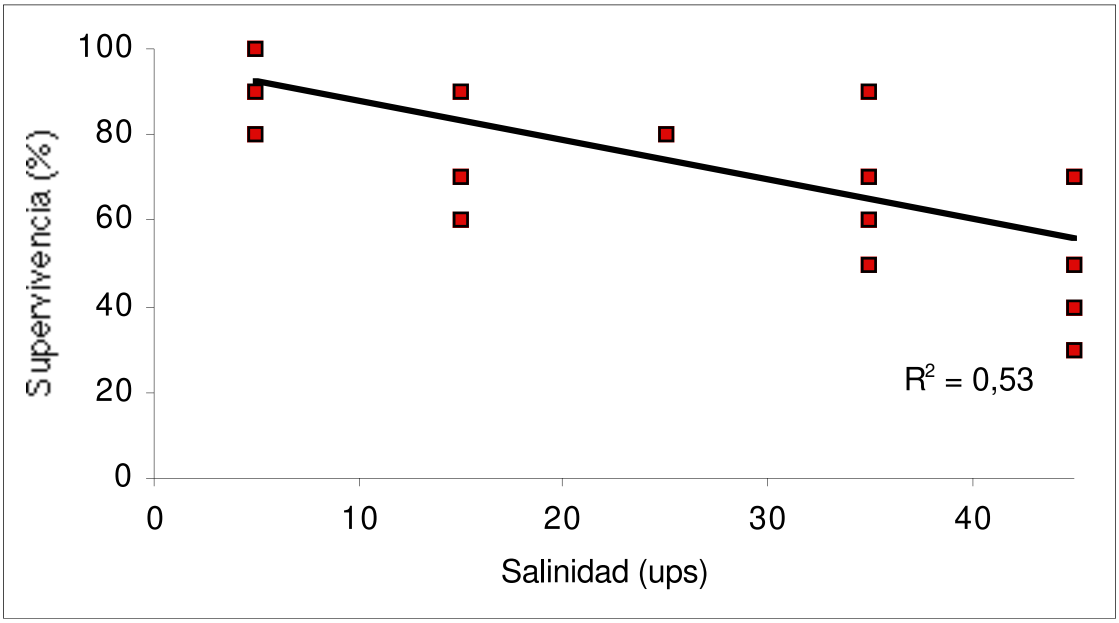


Figura 9.- Supervivencia del *P. vannamei* en el rango de salinidades de 5 a 45 ups después de 6 semanas de cultivo. Coeficiente de correlación Pearson, -0,73, p<0,001

4.4 Crecimiento.

El ANOVA de doble vía utilizado para la evaluación de la ganancia de peso neta alcanzada no mostró una interacción significativa (p>0,05) entre los niveles de salinidad y las dietas evaluadas en el experimento. Al analizar la incidencia de cada uno de los 2 factores por separado se pudo determinar que existieron diferencias significativas

(p<0,05) entre los 5 niveles de salinidad, pero no entre las dietas suministradas durante el bioensayo de crecimiento.

Independientemente de la dieta suministrada, el método LSD determinó que la ganancia de peso neta obtenida en 45 ups (2,15 g) fue significativamente inferior (p<0,05) a la alcanzada por los animales situados en las salinidades 5, 15, 25 y 35 ups, sin encontrarse diferencias estadísticas (p>0,05) entre estas últimas.

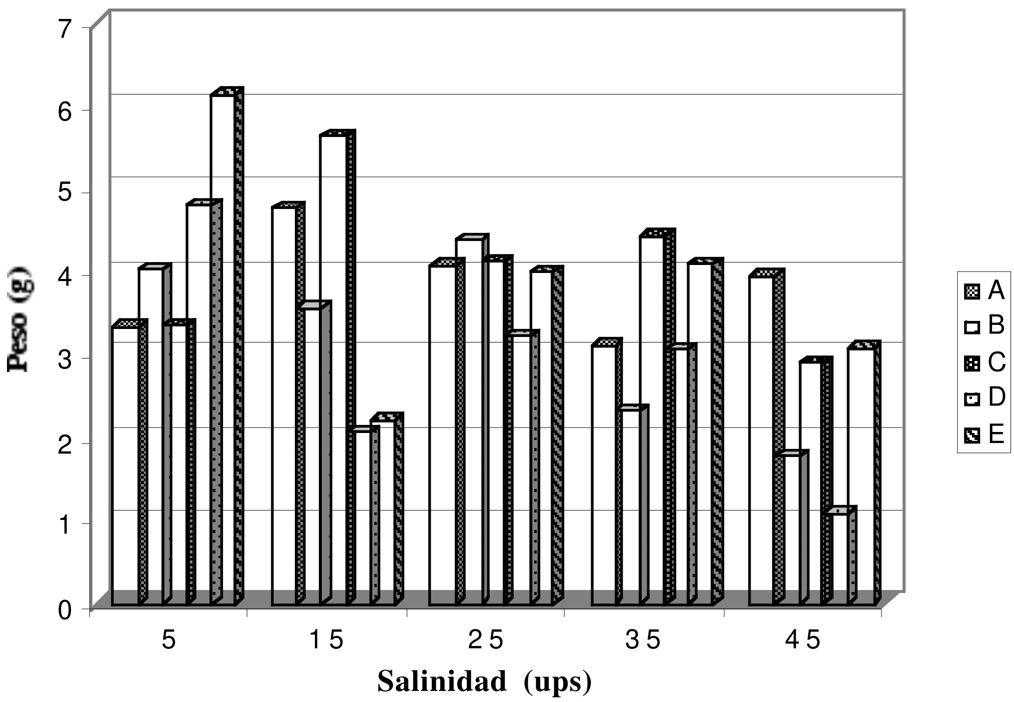


Figura 10.- Efecto de salinidad y balance P/E en el crecimiento del *P. vannamei*

4.5 Biomasa.

Al analizar los resultados de biomasa diferencias significativas ($p<0.05$) fueron determinadas por ANOVA entre salinidades. Mediante el método LSD, se encontró los mejores resultados a 5 ups (20,36 g), los cuales fueron significativamente superiores ($p<0.05$) a los otros niveles de salinidad evaluados, a excepción de los camarones cultivados a 25 ups. Al comparar las biomasas conseguidas en 25 y 35 ups (15,90 y 11,95 g, respectivamente) con 15 ups no se estableció diferencias significativas ($p>0,05$), la misma respuesta se obtuvo entre 25 y 35 ups. Finalmente los animales mantenidos en niveles inferiores a 35 ups presentaron una biomasa significativamente mayor ($p<0,05$) que la lograda en 45 ups (6,27 g).

La figura 12 muestra los balances P/E que produjeron una mejor respuesta, aunque esta no fue significativamente diferente ($p<0.05$) debido a la alta variabilidad presentada dentro de cada tratamiento. En 5 ups la dieta E (89,56 mg/kcal) mostró un mayor rendimiento, en 15 y 35 ups, la dieta A (62,05 mg/kcal) fue la que aparentemente presentó mejores resultados. Finalmente en 25 ups la dieta B (67,76 mg/kcal) alcanzó una mayor biomasa y en 45 ups la dieta C (79,46 mg/kcal) fue superior a las otras dietas.

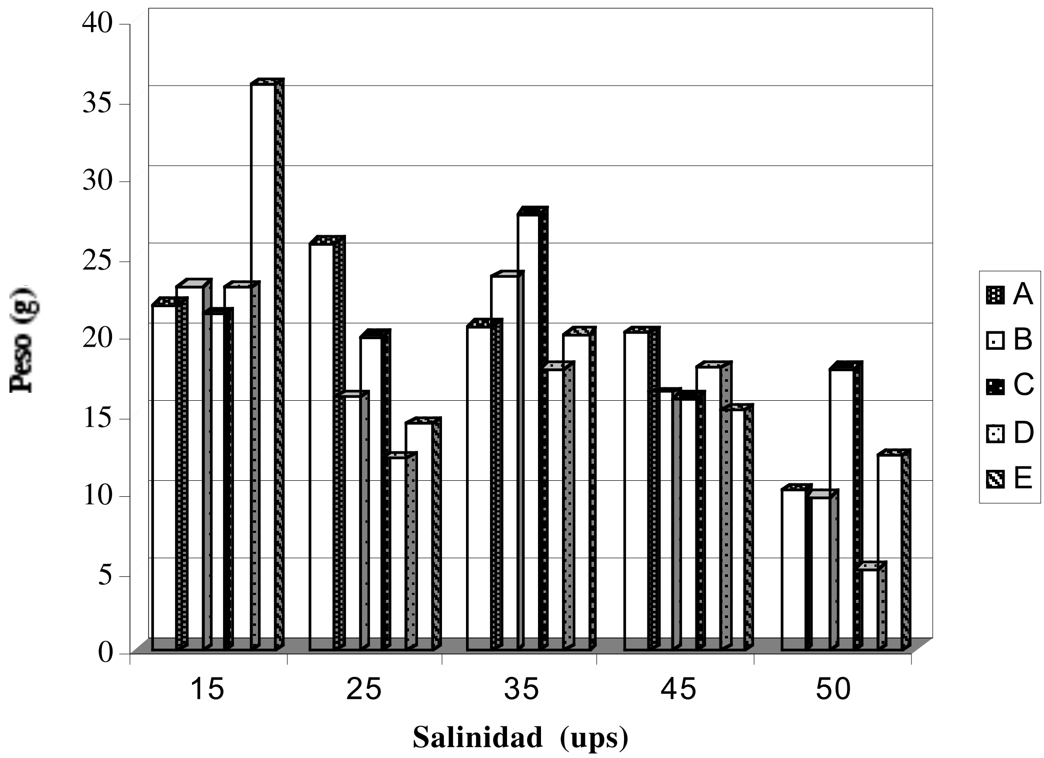


Figura 11.- Efecto de la salinidad y balance P/E sobre la biomasa obtenida en *P. vannamei*

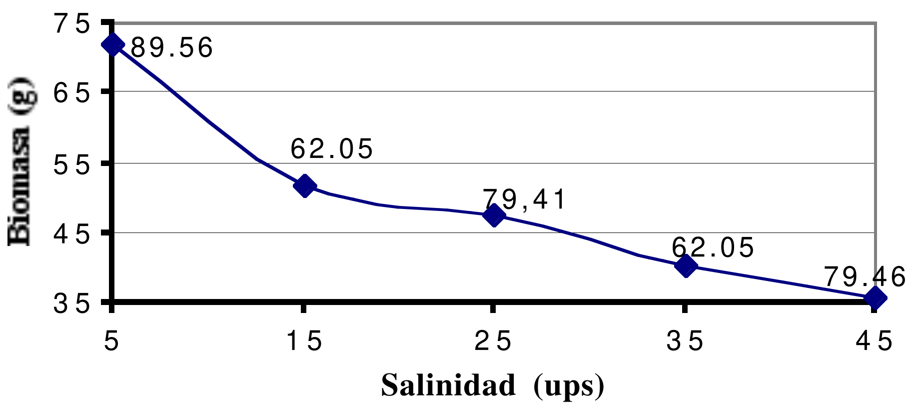


Figura 12.- Balances P/E con los que se consiguió una mayor biomasa por nivel salinidad (no significativos)

4.6 Digestibilidad.

4.6.1 Digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS).

Al realizar el ANOVA de vías no se determino interacción significativa (p>0,05) entre las dietas suministradas y los niveles de salinidad, por lo que no se ensayo un análisis de varianza de una vía en cada una de las salinidades. La DAMS fue afectada significativamente (p<0,05) por el balance P/E y las salinidades en las que se desarrolló la prueba.

Al realizar la comparación con el método LSD se determinó que, independientemente de la salinidad, la dieta E fue la que obtuvo una DAMS significativamente (p<0.05) superior (72,21%) a las otras 4 dietas. Las dietas A, B y C que no presentaron diferencias estadísticas entre ellas y fueron significativamente inferiores a la obtenida con la dieta D.

En tanto que al analizar el efecto de la salinidad en la DAMS, sin importar la dieta suplida, se pudo establecer diferencias significativas (p<0,05) entre 15 con respecto a 25, 35 y 45 ups (Tabla 13), no siendo diferente a 5 ups (58,70). La prueba de LSD no encontró diferencias entre las salinidades de 5, 25, 35 y 45 ups.

4.6.2 Digestibilidad aparente de la proteína (DAP).

Con la aplicación del análisis de varianza de dos vías no se encontró interacción significativa (p>0,05) entre los 5 niveles de salinidad y los 5 balances P/E, pero si existieron diferencias significativas (p<0,05) en la DAP entre las dietas suministradas y entre los niveles de salinidad evaluados.

Al evaluar el efecto de la salinidad en la digestibilidad de la proteína de las dietas con la prueba LSD se detectó que 5 y 15 ups no presentaron diferencias estadísticas (p>0,05) entre ellas y sus niveles de DAP (85,43 y 84,13 %, respectivamente) fueron significativamente superiores (p<0.05) a los alcanzados en las salinidades de 25, 35 y 45 ups. Estas últimos 3 salinidades no presentaron diferencias estadísticas (p>0.05) entre ellos.

El método de comparación de pares usado anteriormente, permitió determinar el efecto del balance P/E sobre la DAP. Las dietas A (62,05 mg/kcal) y B (67,76 mg/kcal) suministradas a los camarones no dieron una DAP estadísticamente diferente entre ambos, pero si presentaron las digestibilidades significativamente (p<0.05) mas bajas en este estudio. Al comparar la dieta C con D y E se encontró diferencias significativas, no siendo estas 2 últimas diferentes entre ellas pero si significativamente superiores (p<0.05) a las otras 3 dietas utilizadas en el experimento.

Tabla 8. Resultados de peso ganado, biomasa y supervivencia alcanzados después de 6 semanas de alimentación.

Salinidad (ups)	Dieta	Peso ganado (g)	Biomasa ganada (g)	Supervivencia (%)
5	A	3,37 ± 1,56	16,83 ± 7,81	100,0 ± 0,0
	B	4,12 ± 1,02	18,19 ± 1,68	90,0 ± 14,1
	C	3,37 ± 0,81	16,87 ± 4,03	100,0 ± 0,0
	D	4,81 ± 0,08	19,22 ± 0,31	80,0 ± 0,0
	E	6,14 ± 0,76	30,72 ± 3,81	100,0 ± 0,0
15	A	4,86 ± 1,20	21,46 ± 1,97	90,0 ± 14,1
	B	3,43 ± 1,49	12,55 ± 7,63	70,0 ± 14,1
	C	5,66 ± 3,65	16,99 ± 10,95	60,0 ± 0,0
	D	2,73 ± 2,19	8,80 ± 5,75	70,0 ± 14,1
	E	2,20 ± 0,22	9,97 ± 2,53	90,0 ± 14,1
25	A	4,05 ± 0,31	16,41 ± 6,95	80,0 ± 28,3
	B	4,40 ± 0,01	17,61 ± 0,02	80,0 ± 0,0
	C	4,15 ± 0,03	16,60 ± 0,13	80,0 ± 0,0
	D	3,27 ± 0,29	12,89 ± 3,48	80,0 ± 28,3
	E	4,19 ± 1,05	16,00 ± 1,73	80,0 ± 28,3
35	A	3,59 ± 0,84	12,87 ± 5,49	70,0 ± 14,1
	B	2,75 ± 0,17	9,68 ± 2,55	70,0 ± 14,1
	C	4,35 ± 0,63	11,09 ± 4,64	50,0 ± 14,1
	D	3,14 ± 0,99	13,77 ± 2,23	90,0 ± 14,1
	E	3,97 ± 0,62	12,35 ± 7,47	60,0 ± 28,3
45	A	1,98 ± 2,79	5,93 ± 8,38	30,0 ± 42,4
	B	1,45 ± 1,14	6,29 ± 7,07	70,0 ± 42,4
	C	3,08 ± 1,68	10,18 ± 3,71	70,0 ± 14,1
	D	1,16 ± 0,31	2,79 ± 0,05	50,0 ± 14,1
	E	3,08 ± 1,30	6,16 ± 2,60	40,0 ± 0,0

Tabla 9.- Efecto de la salinidad en el rendimiento del juvenil *P. vannamei*.

Salinidad (ups)	**Peso ganado (g)**	**Biomasa ganada (g)**	**Supervivencia (%)**
5	4,36 ± 1,16 a	20,36 ± 5,87 a	94,0 ± 9,7 a
15	3,78 ± 1,45 a	13,95 ± 5,24 b	76,0 ± 15,8 b
25	4,01 ± 0,43 a	15,90 ± 1,78 ab	80,0 ± 16,3 ab
35	3,56 ± 0,64 a	11,95 ± 1,60 b	68,0 ± 19,3 bc
45	2,15 ± 0,90 b	6,27 ± 2,62 c	52,0 ± 27,0 c

[1] Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

Tabla 10.- Efecto del balance P/E en el rendimiento del juvenil *P. vannamei*.

Dieta	**Peso ganado (g)**	**Biomasa ganada (g)**	**Supervivencia (%)**
A	3,57 ± 1,06 a	14,70 ± 5,87 a	74,0 ± 27,0a
B	3,23 ± 1,18 a	12,85 ± 5,11 a	76,0 ± 8,9 a
C	4,12 ± 1,01 a	14,34 ± 3,41 a	72,0 ± 19,2 a
D	3,02 ± 1,31 a	11,49 ± 6,12 a	74,0 ± 15,2 a
E	2,92 ± 1,47 a	15,04 ± 9,47 a	74,0 ± 24,1 a

[1] Medias con la misma letra no son significativamente diferentes (p>0.05)

Tabla 11.- Resultados de digestibilidad aparente de proteína y materia seca obtenidos en cada una de las salinidades evaluadas con los 5 balances proteína/energía.

Salinidad (ups)	Dietas	DAMS (%)	DAP (%)
5	A	50,37±0,46	80,74±2,44
	B	47,10±4,25	80,89±8,15
	C	52,71±3,20	86,37±2,67
	D	70,08±1,80	90,05±2,07
	E	73,22±3,65	89,12±4,01
15	A	54,72±4,35	81,58±5,47
	B	55,49±0,71	81,75±6,35
	C	53,79±7,70	82,75±3,46
	D	70,17±4,17	87,91±6,24
	E	73,06±1,19	86,68±2,75
25	A	50,74±3,84	77,54±5,96
	B	40,06±2,36	75,17±3,35
	C	55,60±0,98	77,17±4,51
	D	70,68±2,12	89,35±1,21
	E	70,13±5,05	83,21±5,60
35	A	49,48±3,76	75,62±3,77
	B	47,63±4,43	75,56±6,27
	C	49,70±6,82	77,12±5,26
	D	65,74±7,47	86,55±2,91
	E	73,18±4,06	87,03±1,92
45	A	48,27±4,78	73,47±3,89
	B	46,84±5,35	72,79±6,29
	C	50,29±5,66	80,42±5,38
	D	66,75±4,02	86,54±1,24
	E	71,46±4,71	86,17±3,06

Tabla 12.- Efecto de los balances P/E en la digestibilidad aparente de la proteína y materia seca.

Dietas	DAMS (%)	DAP (%)
A	50,71 ± 2,43ab	77,79 ± 3,41a
B	47,63 ± 4,91a	77,23 ± 3,89a
C	52,42 ± 2,45b	80,77 ± 3,93b
D	68,68 ± 2,27c	88,08 ± 1,60c
E	72,21 ± 1,38d	86,44 ± 2,13c

[1] Medias con diferentes letras son significativamente diferentes ($p<0.05$)

Tabla 13.- Efecto de la salinidad sobre la digestibilidad aparente de la proteína y materia seca.

Salinidad (ups)	DAMS (%)	DAP (%)
5	58,70 ± 12,04ab	85,43 ± 4,43a
15	60,97 ± 9,79b	84,13 ± 2,95a
25	57,44 ± 13,10a	80,49 ± 5,79b
35	57,15 ± 11,57a	80,38 ± 5,89b
45	56,72 ± 11,49a	79,88 ± 6,63b

[1] Medias con diferentes letras son significativamente diferentes ($p<0.05$)

V DISCUSION

5.1 Supervivencia.

Los resultados de supervivencia obtenidos en la presente investigación (94 - 52 %) parecen contrastar con los obtenidos por Bray *et al*. (1994) a pesar de que los niveles de salinidad evaluados por ellos son muy similares (5, 15, 25, 35 y 49 ups). Estos autores no encontraron un efecto significativo de los mismos en la supervivencia del *P. vannamei* (89,2 –76,5 %), pero esto quizás se deba a que su bioensayo solo tuvo una duración de 35 días, por que al revisar los datos se puede notar que existe una tendencia a disminuir el porcentaje de supervivencia con el incremento de la salinidad. Al realizar la misma comparación con los datos obtenidos por Ponce-Palafox *et al*. (1997) en 20, 25, 30 y 35 ups a 25 ºC, también se puede apreciar que existió una disminución de la supervivencia del *P. vannamei* desde 90 % en el menor nivel de salinidad ensayado hasta llegar a 51,1 % en 40 ups.

El porcentaje de supervivencia fue disminuyendo constantemente a medida que avanzó el periodo experimental, por lo que se optó por realizar un análisis de PCR para determinación de WSSV e IHHNV, resultando positiva la presencia del último. Aunque este virus esta mas asociado con deformaciones y disminución del crecimiento (Jiménez *et al*., 1999) que con la supervivencia (Bray *et al*., 1994), tal vez su presencia junto con el mayor desgaste energético causado por las altas salinidades, provocaría un debilitamiento en las defensas de los animales con su consiguiente muerte. Además el estrés osmótico al parecer se incrementa durante el periodo de muda de los animales (Bautista, 1986), etapa en la cual se presentaron las mortalidades mas altas en las salinidades de 35 y 45 ups del presente experimento, lo cual seria otra posible explicación a este resultado y que podría estar relacionado con el denominado síndrome de muerte a la muda (Bowser y Rosemark, 1981; citados por D´ Abramo y Castell, 1997).

El porcentaje de supervivencia obtenido en 5 ups (94%) es muy similar al reportado por Samocha *et al*. (1998), con un 98 % en 2 y 4 ups, lo que al parecer confirma que los juveniles de *P. vannamei* tienen una gran capacidad de adaptación a salinidades bajas (Boyd, 1990).

Los resultados de esta investigación determinaron que no existe interrelación entre los niveles de salinidad y los balances P/E suministrados, por lo cual no se pudo encontrar un mejor desempeño por parte de algunas de las dietas en los diferentes niveles de salinidad evaluados. Resultados contradictorios se han encontrado en las investigaciones realizadas en este aspecto. Así tenemos que Bautista (1986) encontró una disminución en la supervivencia *del P. monodon* cuando eran alimentados con bajos niveles proteicos en 32 ups. Mientras que Jiang *et al*. (1999) indico que no existe un efecto del balance P/E en la supervivencia del *P. vannamei.* La supervivencia obtenida en el presente trabajo en 45 ups, fue de 30 % con la dieta A que era la de menor contenido proteico (22,65 %), aunque una supervivencia también baja de 40 % fue reportada con 42,45 % de proteína.

La presencia de niveles altos de nutrientes han sido relacionado con bajas supervivencias en camarón. En esta investigación no se observo el patrón de comportamiento que fue determinado por Andrews (1972) y Romero (1999), que plantean una disminución en el porcentaje de supervivencia con el aumento del nivel de proteína en la dieta, sino mas bien se coincidió con Robertson *et al.* (1993) y Molina

(1998) en el sentido de que no existe una incidencia por parte de esta en la supervivencia de los peneidos.

Por otro lado Catacutan (1991) indica que un nivel de inclusión de los carbohidratos de 35 % afecta la supervivencia. En cambio Romero (1999), uso como fuente de carbohidratos el almidón de yuca gelatinizado (ingrediente utilizado en la preparación de las dietas experimentales usadas en el presente trabajo), encontrando que niveles de inclusión de hasta 45% en la dieta no tienen influencia negativa en la supervivencia del *P. vannamei* por el contrario se obtuvo una mejor utilización de la proteína cuando se incluyo un nivel de 40 % en la dieta.

El nivel de oxígeno en nuestro experimento (4,4 - 4,5 ppm) a pesar de no llegar a niveles de saturación, no tiene efectos negativos en la supervivencia de los peneidos, ya que de acuerdo a lo demostrado por Rosas *et al.* (1998b) no existen diferencias en la supervivencia de *P. setiferus* mantenidos en niveles de oxígeno de 2 a 5,8 ppm.

5.2 Crecimiento

Los resultados obtenidos en el presente bioensayo de crecimiento muestran un efecto significativo de la salinidad sobre el crecimiento, lo cual ha sido reportado en la literatura. Investigaciones realizadas en *P. vannamei* por Lawrence *et al.* (1991), demostraron que los pesos finales obtenidos en 5, 15 y 25 ups fueron mayores a los alcanzados en salinidades superiores a 35 ups. Bray *et al.* (1994), también determinaron un crecimiento significativamente superior en camarones juveniles cultivados en 5 y 15 ups comparando con datos obtenidos a 25, 35 y 49 ups. Resultados similares también han sido encontrados en otros peneidos. Rosas *et al.* (1997) sugirieron que el mejor crecimiento del *P. setiferus* y *P. schmitti* se obtuvo en salinidades entre 5, 15 y 25 ups. Aunque no se pudo establecer en el presente trabajo diferencias significativas entre las salinidades de 5, 15 y 25 ups con la de 35 ups, se observo un mejor crecimiento en los niveles de menor salinidad.

A pesar de la incidencia de un factor ajeno a la investigación (IHHNV), que provoca depresión en el crecimiento y variabilidad en las tallas (Bray *et al*., 1994; Jiménez *et al*., 1999) se pudo notar un significativamente mejor crecimiento en 5, 15, 25 y 35 ups, al compararlos con 45 ups. Resultados de Robertson *et al.* (1993) confirman que los niveles de crecimiento en bajas salinidades (12 ups) son superiores a los obtenidos a 45 ups independientemente del nivel de proteína dietetica, lo cual se puede confirmar en ésta investigación.

Por otro lado al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los de Ponce–Palafox *et al.* (1997) encontramos que estos difieren en gran medida, ya que estos autores reportaron los mejores crecimientos en 33 y 40 ups. Bray *et al*. (1994) justificaron estos resultados contrapuestos explicando que la línea de *P. vannamei* utilizada en su trabajo experimental fue originaria de Ecuador, obteniendo el mejor crecimiento en salinidades bajas, lo cual se reafirma ésta investigación. En tanto que la línea de *P. vannamei* utilizada por Ponce-Palafox era originaria de las costas mexicanas, la misma que parece tener un mejor crecimiento en salinidades altas.

El crecimiento reducido que se obtuvo en el nivel de 45 ups, al parecer no tiene relación con los balances P/E utilizados, a pesar de que Robertson *et al.* (1993) sugirieron que un mayor nivel de proteína es necesario en las salinidades altas para conseguir un mayor crecimiento. Sin embargo, Jiang *et al.* (1999) al evaluar niveles de proteína en 40 ups, encontraron un buen crecimiento con un porcentaje de inclusión de 22,5 % en dietas para *P. vannamei*.

Al parecer la disminución del crecimiento en aguas hipersalinas tiene relación con aspectos fisiológicos propios de la especie, en el sentido de que su etapa juvenil la desarrolla en aguas estuarinas de baja salinidad (Boyd, 1990). Aunque la capacidad de adaptación de los peneidos, en la que intervienen factores evolutivos, determinan la distribución diferenciada de cada una de las especies en aguas estuarinas o marinas (Claybrook, 1983).

En las salinidades intermedias 15 y 25 ups, debido a la alta variabilidad solo se puede asumir que para un mejor crecimiento no es necesario suministrar dietas con un contenido de proteína superior al 30%, ya que no se observo mayor crecimiento de los camarones con las dietas de 35 y 40% de proteína. Estos resultados son cercanos a los reportados por Robertson *et al.* (1993), quienes determinaron que no existían diferencias en el crecimiento del *P. vannamei* alimentado con 35 y 45 % de proteína en 12 ups. Esta respuesta es probablemente debido a un mayor gasto de energía para eliminar el exceso de proteína presente en la dieta con 45% y al menor consumo de oxígeno causado por un menor requerimiento de energía para osmorregulación (Chen y Nan, 1995) cuando el *P. vannamei* esta en niveles de salinidad cercano al punto isoosmótico (24,7 ups) (Castille y Lawrence, 1981; citados Bray *et al.* 1994).

Por otro lado, Brito *et al.* (2000) manifiestan que el crecimiento de los peneidos esta vinculado con su capacidad osmoreguladora el cual también es un indicador para medir el estrés de los camarones expuestos a diversos factores medioambientales. Según estos autores la capacidad osmoreguladora del *P. vannamei* le permite tener un mejor crecimiento en bajas salinidades, lo que se evidenció por el mejor crecimiento alcanzado en 5 ups, con la dieta de 42,45% de proteína en el presente estudio. Esta dieta permitió suministrar la energía y aminoácidos necesarios para satisfacer la demanda metabólica para la osmoregulación (Chen y Nan, 1995; Rosas *et al.*, 1999) evitando que se produzca un desbalance de aminoácidos por efecto de ésta (Claybrook, 1983) . Además ésta observación confirma lo sugerido por Brito *et al.* (2000) quienes refieren que el punto isoosmótico no esta fuertemente relacionado con un mayor crecimiento, sino mas bien con características biológicas que determinan preferencias medioambientales en los peneidos, lo cual ratifica la mejor tasa de crecimiento obtenida en 5 ups y no en 15 o 25 ups reportada en el presente trabajo.

Un punto importante a tomar en cuenta es el nivel de oxígeno en el experimento y de que manera se vió afectado en su consumo por parte de los animales, en las diferentes salinidades. Este aspecto es un poco contradictorio debido a que Chen y Lai (1993) y Chen y Lin (1995) reportan un mayor consumo de oxígeno en salinidades bajas, sin embargo Chen y Nan (1995) manifiestan que en el *P. chinensis* sometido a altas salinidades existe un incremento en el consumo de oxígeno provocado por el estrés de los organismos al ajustarse al medio y para compensar la energía necesaria para la osmorregulación. Rosas *et al.* (1998b) encontraron una reducción en el crecimiento del *P. setiferus* con una disminución del nivel de oxígeno de 5, 8 a 4, 3 y 2 ppm en 32-34 ups. Al analizar el hecho de que todos los animales tuvieron el mismo nivel de oxígeno

(4,5-4,4 ppm) durante el experimento, este pudo no haber sido él mas adecuado a 35 y 45 ups, niveles en los cuales existe la mayor actividad metabólica del *P. vannamei* (Villareal *et al*., 1994) y por lo tanto implicaría un mayor consumo de energía. Tal como se ha determinado en 4,5 y 5 ppm, y entre 4 y 4,3 ppm para *P. monodon* y *P. setiferus* respectivamente (Rosas *et al.,* 1997) considerando estos valores como el "nivel crítico de oxígeno" (que es la concentración mínima requerida para maximizar el alcance metabólico de la energía).

En *P. vannamei* no existe información sobre este aspecto pero haciendo una relación con estas 2 especies podríamos decir que a 35 y 45 ups se pudo incrementar el estrés osmótico y por lo tanto el consumo de oxígeno por parte de los animales, lo que pudo haber afectado negativamente el crecimiento de los animales mantenidos en estas 2 salinidades.

De todas maneras se ha evidenciado que el menor crecimiento del *P. vannamei* en su etapa juvenil en altas salinidades esta mas relacionado con aspectos fisiológicos y de adaptación, que con la calidad del alimento (Robertson *et al*., 1993). Aunque al parecer existiría la posibilidad de que esto se puede mejorar evaluando niveles de lípidos en investigaciones próximas. Jiang *et al.* (1999) lograron el mejor crecimiento del *P. vannamei* en 40 ups con un nivel de proteína de 22,5 % y elevando el nivel de lípidos de 8 a 11%.

Lo enunciado por Jiang *et al*. (1999), fue también señalado por Rosas *et al*. (1999) quienes encontraron que el *P. setiferus* en 35 ups con valores de oxígeno mayores a 4 ppm mantiene un sustrato energético basado en proteínas-lípidos en una relación 50-50

%, lo que sugiere que con un mayor nivel de energía en las dietas basado en lípidos se podría lograr un mejor crecimiento en 35 y 45 ups.

De los resultados de crecimiento obtenidos en este estudio de 6 semanas se puede establecer 2 tipos de respuesta. Primeramente que en bajas salinidades (5 ups) hay un gasto mayor de aminoácidos para la osmorregulación, traducido esto a un requerimiento mayor de proteína en la dieta, los cuales son usadas como la fuente de energía metabólica (Rosas *et al*., 1999) y puede explicar el mayor crecimiento observado con la dieta E en 5 ups en este estudio. En tanto que en altas salinidades (35 y 45 ups), existe un mayor requerimiento de energía (Villareal *et al*., 1994) basado en un substrato de lípidos-proteína (Rosas *et al*., 1999) que de acuerdo a lo mencionado por Jiang *et al.* (1999) pudo haber una deficiencia de energía lipídica en las dietas que fueron formuladas con 7%. Desafortunadamente debido a la alta variabilidad presentada en los resultados del bioensayo de crecimiento, probablemente por la presencia de IHHNV, no es posible dar conclusiones claras en este sentido.

5.3 Biomasa

Los resultados de biomasa obtenidos en este trabajo determinaron una mejor producción del *P. vannamei* en bajas salinidades (5 ups), disminuyendo marcadamente a 45 ups, coincidiendo con lo reportado por Robertson *et al.* (1993). Esto esta relacionado con la disminución de la supervivencia (Ponce-Palafox *et al*., 1997) y del crecimiento (Bray *et al*., 1994) en niveles hipersalinos, como efectivamente ocurrió en este experimento.

En los datos presentados por Molina y Piña (1999), se observó como la salinidad ejerce una fuerte incidencia en la producción del *P. vannamei*. En granjas camaroneras ubicadas en zonas de estuarios y de playas de la provincia del Guayas, se determinó que el crecimiento de los camarones criados en la granja situada en salinidades oceánicas fue menor y necesitaron de un mayor tiempo para alcanzar su tamaño comercial.

Al parecer el mejor desarrollo del *P. vannamei* en bajas salinidades tiene relación con aspectos fisiológicos propios de la especie, ya que al revisar los reportes de producción de camarón en el Ecuador, estos experimentaron un aumento durante el periodo de 1997-1998 (Rodríguez, 1999), debido a las bajas salinidades causadas por las abundantes lluvias y a las altas temperaturas alcanzadas durante el Fenómeno de El Niño, siendo estas al parecer las mejores condiciones para el crecimiento del *P. vannamei* (Cornejo, 1998).

A pesar de no encontrarse diferencias significativas entre dietas en las salinidades intermedias evaluadas (15, 25 y 35 ups), se observó los mejores crecimientos con los niveles entre 22,6 y 33,6% de proteína, lo que podría indicar que un nivel mayor de proteína no es necesario para optimizar la producción. Por otro lado en 5 ups se apreció una mayor biomasa alcanzada con 42,5% de proteína, pero al llevar este resultado al campo práctico, la utilización de niveles de proteína tan altos no son necesarios en aguas estuarinas, ya que la abundante productividad primaria que se desarrolla en ellas suple el requerimiento dietético del camarón (Boyd, 1990).

5.4 Digestibilidad

Según D' Abramo y Castell (1997) el uso del oxido de cromo como marcador inerte para los estudios de digestibilidad es oportuno cuando la velocidad de transito a través del intestino sea constante. Además, la utilización del mismo esta supeditado a la especie objeto de estudio, ya que se ha comprobado que en algunos crustáceos como la langosta *Homarus americanus* no se ha conseguido resultados confiables (Leavitt, 1983;

citado por Shiau *et al*., 1991). Por otro lado, Ezquerra *et al*. (1997) manifiestan que puede existir una sobreestimación de la digestibilidad aparente con el uso del oxido de cromo. Sin embargo numerosas investigaciones realizadas exitosamente en peneidos, demuestran que con manejo adecuado de este método que evite perdidas por lixiviación de nutrientes, el óxido de cromo es un método de determinación confiable, por lo cual se constituye en el sistema mayormente utilizado en la evaluación de dietas e ingredientes para peneidos (Smith *et al*., 1985; Akiyama *et al*., 1989, Catacutan, 1991; Shiau *et al*., 1991; Davis y Arnold, 1993, Cabanillas, 1996; Brunson *et al*., 1997). La rapidez de los análisis, la simplificación de un bioensayo de alimentación y la posibilidad de comparar resultados con trabajos hechos anteriormente justifican el uso de este método (Lee y Lawrence, 1997).

5.4.1 Digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS)

Los valores de DAMS obtenidos con las dietas evaluadas en el bioensayo de digestibilidad (50,87-72,02%) son inferiores a los alcanzados por Molina (1998) (82,04-77,26%) con dietas de similar contenido de proteína, esto probablemente este relacionado a la inclusión de tierra de diatomea en nuestras dietas, ya que este ingrediente es indigestible para el *P. vannamei* (Akiyama *et al*., 1989), lo que se puede confirmar al observar que el resultado de DAMS aumenta con la disminución del contenido de tierra de diatomea en las dietas suministradas durante este experimento.

La inclusión de niveles altos de carbohidratos no influye en la DAP, sino mas bien aumenta la DAMS (Catacutan, 1991), por lo cual el porcentaje de inclusión utilizado en las dietas (40 %) no conlleva efectos negativos. Además se comprobó que el uso del almidón de yuca gelatinizado dentro de las dietas no provoca efectos negativos cuando este se mantiene en 40 % de inclusión dentro de las mismas (Romero, 1999), al contrario el proceso de gelatinización de las fuentes de carbohidratos provoca un aumento en la digestibilidad en comparación con el mismo ingrediente sin gelatinizar (Davis y Arnold, 1993, Storebakken *et al*., 1998).

Los resultados del bioensayo para determinación de digestibilidad no coinciden con Cabanillas (1996), ya que no encontró un efecto de la salinidad sobre la DAMS. Este autor determinó mas bien un efecto significativo de la fuente de proteína utilizada en las dietas sobre la DAMS. La dieta preparada con harina de soya presento una DAMS superior a la dieta con harina de pescado. Esto difiere con lo anotado por Akiyama *et al.* (1989) quienes determinaron que la harina de pescado tenia una DAMS mas elevada que la harina de soya. De acuerdo con este mismo autor, la caseina, que fue la fuente de proteína utilizada en las dietas experimentales del presente trabajo, tiene un valor elevado de DAMS (91,4 %).

Coincidentemente a lo anotado por Coelho (1984) (citado por Robertson *et al*., 1993) se encontró una disminución de la DAMS con el aumento de la salinidad en las dietas con menor balance P/E, esto quizás estaría asociado a la fuente de carbohidrato que se utilizó, ya que el almidón de yuca gelatinizado ha demostrado ser una fuente de carbohidratos asimilable para el *P. vannamei* (Romero, 1999).

5.4.2 Digestibilidad aparente de proteína (DAP)

Los resultados de DAP alcanzados coinciden con otras investigaciones realizadas anteriormente (Ashmore *et al*., 1985; Smith et al., 1985; Shiau *et al*., 1991; Molina, 1998 y Romero, 1999), ya que se determinó un aumento de la DAP de 76,23 a 88,11% en las dietas con 22,65 y 40,86 % de proteína, respectivamente.

La similitud de los valores de DAP obtenidos en las dietas D y E se puede justificar con el hecho de que en el análisis proximal realizado a las mismas se determinó porcentaje de proteína muy cercanos entre ellos, lo que al parecer fue originado por un error durante la elaboración de las dietas.

Los resultados también permiten inferir que la DAP alcanzada por las dietas fue afectada solamente por el nivel de inclusión de proteína en la dieta como los niveles de carbohidratos y lípidos fueron constantes en las dietas no se observó efecto del balance P/E en las mismas.

Una posible interacción entre la proteína y carbohidratos ha sido presentada por Romero (1999) quien utilizando una fuente de carbohidrato gelatinizada por sobre 30% en la dieta, incrementó la DAP. Contrariamente Storebakken *et al.* (1998) no encontró efecto sobre la DAP usando dietas con carbohidratos gelatinizado.

Contrariamente a lo reportado por Shiau *et al.* (1991) y Cabanillas (1996) quienes no encontraron diferencias en la digestibilidad de la proteína en diferentes niveles de salinidad, los resultados del presente trabajo reflejan una clara diferencia entre los valores alcanzados a 5 y 15 ups (84,47 y 83,92 % respectivamente) comparados a los obtenidos con 25, 35 y 45 ups (79,98-79,46 % en ese mismo orden). Pero se puede explicar en el sentido de que las investigaciones evaluaron sus dietas solo a 16 y 32 ups, no existiendo trabajos que hayan determinado el efecto en niveles tan bajos de salinidad como 5 ups y tampoco se lo ha hecho en aguas hipersalinas sobre la DAP del *P. vannamei*. Además se pueden establecer diferencias por la especie, origen y edad de los animales utilizados (Cabanillas, 1996). Por otro lado esta diferencia puede estar relacionada con la mayor capacidad que tiene el *P. vannamei* a adaptarse en aguas con bajos niveles de salinidad (Boyd, 1990).

Los datos obtenidos sobre la DAP en *P. vannamei* no permiten ser concluyentes ya que por ejemplo Cabanillas (1996) al evaluar la harina de soya y de pescado como fuentes proteicas encontró una digestibilidad superior en la primera, lo cual difiere de los resultados obtenidos por Moreno (2000) ya que el determinó una mayor DAP para las dietas con un alto contenido de harina de pescado.

VI CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de este estudio, los juveniles de *P. vannamei* tuvierón un mejor desarrollo en bajas salinidades, debido a aspectos fisiológicos propios de la especie, que le permitieron tener tasas de supervivencia mayores. Además salinidades de 5 y 15 ups inciden favorablemente en una mejor digestibilidad de la proteína y por lo tanto una mayor asimilación de los alimentos con el consiguiente incremento de los niveles de producción en comparación con salinidades de 35 y 45 ups.

No se pudo establecer una dieta recomendable para cualquier nivel de salinidad. Con los diferente balances P/E ensayados no se pudo mejorar el crecimiento de los camarones en altas salinidades. En tanto que en salinidades de 5 y 15 ups parecería que balances P/E altos son requeridos pero dada la alta productividad natural presente en las aguas estuarinas no sería necesario complementar la alimentación de los camarones con dietas con balances P/E altos.

VII RECOMENDACIONES

Futuras investigaciones deberían estar encaminadas a determinar un nivel de lípidos más adecuado que pueda mejorar el balance P/E en las dietas, ya que al parecer en salinidades altas el *P. vannamei* tiene un requerimiento mayor de lípidos como fuente energética.

Es necesario evaluar conjuntamente con la salinidad otros factores medioambientales de gran importancia como son la temperatura y el nivel de oxígeno, y el efecto de la asociación de estos parámetros dentro del balance energético *del P. vannamei*.

VIII RESUMEN

El efecto de los diferentes niveles de salinidad (5,15, 25, 35 y 45 ups) en los que se habita el *P. vannamei* fue evaluado, conjuntamente con dietas que contenían diferentes balances proteína/energía (P/E), los mismos que estaban basados en un nivel proteico ascendente. Los objetivos planteados al comienzo de esta investigación fueron los siguientes:

-Determinar si existe interacción entre los niveles de salinidad y el balance P/E.

-Lograr determinar un balance P/E adecuado para cada uno de los niveles de salinidad evaluados o uno que actué eficientemente en todos.

Para alcanzar estos objetivos se desarrollaron dos bioensayos, el primero estuvo encaminado a evaluar el crecimiento, supervivencia y biomasa obtenida, mientras que en el otro fue dirigido a determinar la digestibilidad de las dietas utilizadas. Ambos experimentos se realizaron en un sistema de recirculación cerrada, previamente diseñado y construido para mantener estables los parámetros físico-químicos del agua (salinidad, temperatura, oxígeno, pH y amonio).

Independientemente del balance P/E usado, un menor crecimiento en 45 ups fue obtenido en comparación con los niveles de salinidad inferiores (5 a 35 ups). No se encontró una interacción entre las salinidades y los balances proteína/energía. La supervivencia fue afectada negativamente por el incremento de la salinidad , ya que fue inversamente correlacionada con la misma. Por otro lado la biomasa alcanzada fue superior en el menor nivel de salinidad (5 ups), mientras que en los niveles intermedios (15, 25 y 35 ups) no existió diferencias, disminuyendo marcadamente en 45 ups.

En el bioensayo de digestibilidad se estableció un efecto de la salinidad y el nivel de proteína sobre la digestibilidad aparente de la materia seca (DAMS). La digestibilidad aparente de la proteína (DAP) aumentó con el incremento del balance P/E en las dietas y disminuyó a medida que la salinidad se elevó. Las valores mas elevados de DAP fueron encontrados a 5 y 15 ups y a 88,06 y 89,56 mg proteína/kcal.

De acuerdo con los resultados obtenidos se podría asumir que el desarrollo del *P. vannamei* esta relacionado principalmente con aspectos fisiológicos que determinan un mejor desempeño de esta especie en bajas salinidades. Al tratar de determinar el balance P/E más adecuado se puede sugerir el uso de un nivel de proteína inferior, ya que no se encontró mejorías al usar niveles de inclusión altos en aguas hipersalinas, en las salinidades intermedias no existió mayores diferencias entre dietas, y finalmente el alto nivel de proteína requerido en 5 ups, podría ser proporcionado por la abundante productividad primaria encontrada en aguas estuarinas.

IX ABSTRACT.

The effect of the different levels of salinity (5, 15, 25, 35 and 45 ups) in which is developed the shrimp culture was evaluated with diet, that contained different protein/energy balance (P/E), such that were based on an ascending protein level. The objectives raised in the beginning of this investigation were the following ones:

-To determine if interrelation between the levels of salinity and the balance of protein/energy exists.

-To determine a suitable level of protein/energy balance for each one of the evaluated salinity levels or one that acted efficiently in all.

In order to reach these objectives two trials were developed, first was directed to evaluate the growth, survival and obtained biomass, whereas in the other it was directed to determine the digestibility of the used diets. Both experiments were made in a system of closed recirculation, previously designed and constructed to maintain the stable physical-chemistries parameters of the water (salinity, temperature, oxygen, pH and ammonium).

The results determined a lower growth in 45 ups (independently of P/E balance used), in comparison with the inferior levels of salinity (5 and 35 ups), No found an interrelation between the salinity and the P/E balance.

The survival was affected negatively by the increase of the salinity, since it was inversely correlated with salinity. On the other hand the obtained biomass was superior in the smaller level of salinity (5ups), whereas in the intermediate levels (15, 25 and 35 ups) it did not exist differences, diminishing in 45 ups.

In the trial digestibility an effect of the salinity was observed on the apparent digestibilidad of the dry matter (ADMS). The apparent digestibility of the protein

(ADP) raised with the decrease of the protein in the diets and diminished with the elevation of the salinities levels.

In agreement with the obtained results in this study, it could assume that the development of *P. vannamei* this related to physiological aspects that determine a better performance of this in low salinity. When trying to determine the more suitable P/E balance the use of an inferior level can be suggested, since it does not improve in higher levels in high salinities. There is no difference between P/E balance in salinity from 15 to 35 ups. Finally the highest P/E balance required in 5 ups can be provided by the abundant primary productivity found in brackiswater.

X REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Akiyama, D., Coelho, S., Lawrence, A. & Robinson, E. 1989. Apparent digestibility of feedstuffs by the marine shrimp *Penaeus vannamei* BOONE. Nippon Suisan Gakkaishi 55 (1): 91-98.

Akiyama,D., Dominy, W. & Lawrence, A. 1993. Nutrición de camarones peneidos para la industria de alimentos comerciales. Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuacultura: 43-79.

Akiyama, D. & Chwang, N. 1999. Requerimientos nutricionales del camarón y manejo de cultivo. Avances en Nutrición Acuícola III. Edit.: Cruz, E., Ricque D., Mendoza, R.: 479-491.

Alava, V. & Lim, C. 1982. The quantitative dietary protein requirements of *Penaeus monodon* juveniles in a controlled environment. Aquaculture 30: 53-61.

Alava, V. & Pascual, F. 1987. Carbohydrate requirements of *Penaeus monodon* (Fabricius) Juveniles . Aquaculture 61: 211-217.

Allan, G. & Smith, D. 1998. Recent nutrition research with australian penaeids. Reviews in Fisheries Science 6 (1-2): 113-127.

Andrews, J., Sick, L. & Baptist, G. 1972. The influence of dietary protein and energy levels on growth and survival of penaeid shrimp. Aquaculture 1: 341-347.

Aranyakananda, P. & Lawrence, A. 1994. Effects of ingestion rate of dietary protein energy requirements of *Penaeus vannamei* and the optimal protein to energy ratio. Memorias 2do Simposium en Nutrición Acuícola, Monterrey (Mexico) 7-9 noviembre.

Aranyakananda, P. & Lawrence, A. 1999. Utilización de tierra de diatomeas lavadas en ácido como relleno no nutritivo para camarones peneidos. Avances en Nutrición Acuícola III. Edit.: Cruz, E., Ricque D., Mendoza , R. 267-276.

Ashmore, S., Stanley, R., Moore, L., & Malecha, S. 1985. Effect on growth and apparent digestibility of diets varying in grain source and protein level in *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of the World Mariculture Society 16: 205-216.

Austreng, E., Storebakken, T., Thomassen, M., Refstie, S. & Thomassen, Y. 2000. Evaluation of selected trivalent metal oxides as inert markers to estimate apparent digestibility in salmonids. Aquaculture 188: 65-78.

Bautista, M. 1986. The response of *Penaeus monodon* juveniles to varying protein/energy ration in test diets. Aquaculture 53: 229-242.

Boyd, C. 1990. Water quality in ponds for aquaculture: 138-142.

Bray, W., Lawrence, A. & Leung-Trujillo, J. 1994. The effect on growth and survival of *Penaeus vannamei,* with observations on the interaction of IHHN virus and salinity. Aquaculture 122: 133-146.

Brito, R., Chimal, M. & Rosas, C. 1998. Efectos de los niveles del tipo de dieta en la excreción nitrogenada de camarones peneidos: un ejemplo con el camarón blanco del Golfo de México *Penaeus setiferus.* IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, La Paz, B.C.S., Mexico, noviembre 15-18, 1998. Manuscritos de conferencia.

Brito, R., Chimal, M. & Rosas, C. 2000. Effect of salinity in survival, growth and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantopenaeus brasiliensis* (decapoda-penaeidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 244: 253-263.

Brunson, J., Romaire, R. & Reigh, R. 1997. Apparent digestibility of selected ingredients in diets for white shrimp *Penaeus setiferus* L. Aquaculture Nutrition 3: 9-16.

Cabanillas, H. 1996. Estudio de la digestibilidad de la harina de soya en dietas prácticas a diferentes temperaturas y salinidades en el camarón blanco, *Penaeus vannamei*, BOONE, 1931. Tesis de Maestria. Centro de Investigación en

Camara Nacional de Acuacultura. 1996. Camarón ecuatoriano: producto de una industria solvente. Acuacultura del Ecuador 14: 3-12.

Camara Nacional de Acuacultura. 1998. Revista de la Camara Acuacultura en el Ecuador 26: 4-10

Camara Nacional de Acuacultura. 1999. Producción de camarón blanco en el Ecuador. Acuacultura del Ecuador 30: 34-37.

Catacutan, M. 1991. Apparent digestibility of diets with various carbohidrate levels and the growth response of *Penaeus monodon*. Aquaculture 95: 89-96.

CENAIM-ESPOL, 1997. Informe interno de encuestas sobre manejo de camaroneras. Proyecto monitoreo: 9-29.

CENAIM-ESPOL, 1998. Influencia de la temperatura y salinidad en la tasa de crecimiento de camarón. Informe del área científica. 45-53.

Charmantier, G., Soyez, C. & Aquacop. 1994. Effect of molt stage and hipoxia on osmoregulatory capacity in the peneid shrimp Penaeus vannamei. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 178: 233-246.

Chen, J., & Cheng, S. 1993. Hemolymph PCO2, protein levels and urea excretions of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia. Aquatic

Chen, J., Chen, C. & Cheng, S. 1994 . Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free aminoacids levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to different concentrations of ambient ammonia-N at different salinity levels. Marine progress series 110: 85-94.

Chen, J. & Lai, S. 1994. The effects of temperature and salinity on growth and survival of juvenile tiger prawns *Penaeus esculentus* (Haswell) . Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 183: Issue1. Abstract.

Chen, J. & Lin, C. 1995. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels. Aquaculture 136: 243 - 255.

Chen, J. & Nan, F. 1995. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* (Osbeck, 1765) juveniles at different salinity levels (Decapoda: Penaeidae). Crustaceana 68: 712 - 719.

Cho, C. & Bureau, **D**. 1999. Bioenergética en la formulación de dietas y estandares de alimentación para la acuacultura del salmón: principios, métodos y aplicaciones. Avances en Nutrición Acuícola III: Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 11 al 13 de noviembre de 1996, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, Mexico (edit). Cruz, E., Ricque, D., Mendoza, R.: 33-63.

Claybrook, D. 1983. Nitrogen metabolism. In Mantel, L. (edit). The biology of crustacea Vol. 5. Internal Anatomy and physiological regulation. Academic press, New York: 163-213.

Clifford, H. 1994. El manejo de estanques camaroneros (un caso de estudio sobre el manejo de estanques de camarón). Seminario Internacional de Camaricultura en Mexico, febrero 10-11y 12 de 1994: 1-39.

Colvin, L. & Brand, C. 1977. The protein requirement of penaeid shrimp at various life-cycle stages in controlled environment systems. Proceedings of the Journal of the World Mariculture Society 8: 821-840.

Cornejo, M. 1998. Variaciones climáticas: impacto del Fenómeno de El Niño/Oscilación sur en la acuicultura del Ecuador. El Mundo Acuícola. Volumen 4, No 1: 5-7.

Cruz, E. 1996. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. en Avances en Nutrición Acuícola III. Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 11 al 13 de noviembre de 1996, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, Mexico (edit). Cruz, E., Ricque, D., Mendoza, R. 207-232.

Cruz, E., Guillaume, J., Cuzon, G. & Aquacop. 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. Journal of the World Aquaculture Society. Vol 18

Cruz, E., Ricque, M. & Nieto, M. 2000. Importancia de la digestibilidad en los alimentos para el camarón. Panorama Acuícola 10: 10-12.

Cousin, M., Cuzon, M., Guillaume, J. & AQUACOP. 1996. Digestibility of starch in *Penaeus vannamei*: in vivo and in vitro study on eigth samples of various origin. Aquaculture 140: 361-372.

Cuzon, G. & Guillaume, J. 1997. Energy and protein: Energy ratio. in Crustacean Nutrition. Abramo, L. (edi). World Aquaculture Society, Lousiana: 51-70.

D' Abramo, L. & Castell, J. 1997. Research Methodology. in Crustacean Nutrition. Abramo, L. (edi). World Aquaculture Society, Lousiana: 3-25

Dall, W. & Smith, D. 1986. Oxygen consumption and ammonia-excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. Aquaculture 55: 23-33.

Dalla, G. 1986. Salinity responses of the juveniles penaeid shrimp *Penaeus japonicus* II. Free amino acids. Aquaculture 55: 307-316.

Davis, A. & Arnold, C. 1993. Evaluation of five carbohydrate sources for *Penaeus vannamei* . Aquaculture 114: 258-292.

De Silva, S., & Perera, M. 1984. Digestibility in *Sarotherodon Niloticus* Fry: effect of dietary protein level and salinity with further observations on variability

El Agro. 1999. Ecuador y el desarrollo camaronero, revista, No.41 : 6-9.

Ezquerra, J., Garcia-Carreño, F., Civera & Haard, N. 1997. pH–stat method to predict protein digestibility in white shrimp (*Penaeus vannamei*). Aquaculture 157: 251-262.

Fraga, I., Alvarez, J. & Galindo, J. 1992. Requerimientos nutricionales y respuesta a varias relaciones proteína/energía en juveniles de camarón blanco *Penaeus schimitti.* Revista de Investigaciones Pesqueras, 16: 13-20.

Garcia-Carreño, F. 1998. Prediction of protein digestibility in shrimp and use of second generation protein ingredients in aquaculture feeds. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, noviembre; 15-18, 1998 La Paz, B.C.S. Mexico. Manuscritos de conferencia.

Guillaume, J. 1997. Protein and aminoacids. in Crustacean nutrition. Abramo, L. (edi). World Aquaculture Society, Lousiana: 26-50.

Hajra, A., Ghosh, A. & Kumar, S. 1988. Biochemical studies o the determination of optimum dietary protein to energy ratio for tiger prawn, *Penaeus monodon* (Fab.), juveniles. Aquaculture 71: 71-79.

Hewitt, R. & Irving, M. 1990. Oxygen consumption and ammonia excretion of the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* fed diets of varing protein content. Comp. Biochem. Physiol. 96A No.3: 373: 378.

Hopkins, J., Halminton, R., Sandifer, P. & Browdy, P. 1993. The production of bivalve molluscs in intensive shrimp ponds and their effect on shrimp production and water quality. World aquaculture 24: 75-77.

Jiang, D., Lawrence, A., Gong, H., Castille, F. & Neill, W. 1999a. Influences of dietary protein and energy of survival and growth of *Penaeus vannamei* juvenile at high salinity. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society, 26 april-2 may 1999, Sidney, Australia. Book of abstracts: 366.

Jimenez, R., Barniol, R., de Barniol, L. & Machuca, M. 1999. Infection of IHHN virus in two species of cultured penaeid shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) in Ecuador during El Niño 1997-1998. Aquaculture research 30: 695-705

Kaushik, S. 1998. Factors affecting nitrogen excretion in teleost and crustacea. IV Simposium internacional de nutriciòn acuìcola, La Paz, B.C.S., Mexico, noviembre 15-18, 1998. Manuscritos de conferencia.

Koshio, S. Teshima, S., Kanazawa, A. & Watase, T. 1992. The effect of dietary protein content on growth, digestion, efficiency and nitrogen excretion of juvenile karuma praws *Penaeus japonicus* . Aquaculture 113: 101 - 114.

Kumlu, M. & Jones, D. 1995.Salinity tolerance of hatchery-reared postlarvae of Penaeus indicus H. Milne Edwards originating from India. Aquaculture 130: 287-296.

Lawrence, A., Castille, F., Samocha, T., Bray, W., & Robertson, L. 1991. Shrimp culture Research at Texas A&M university: 1989 to 1991.

Lee, P. & Lawrence, A. 1997. Digestibility. In Crustacean Nutrition. Abramo, L. (edi). World Aquaculture Society, Lousiana: 194-260.

Libro blanco del camarón. 1989. El proceso de cultivo. 23-32.

Lignot, J., Cochard, J., Soyez, C., Lemarie, P. & Charmantier, G. 1999. Osmorregulatory capacity according to nutritional status, molt stages, and body weigth in *Penaeus stylirrostris*. Aquaculture 170: 79-92.

Mantel, L. & Farmer, L. 1983. The biology of crustacea, vol 5: Internal anatomy and physiological regulation ; Academic press, New York: 53 - 151.

Mendoza, R. 1999. Métodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuáticos. en Avances en Nutrición Acuícola I: Memorias del primer simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para acuacultura 12 al 14 del febrero de 1993, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, Mexico (edit).

Molina, C. 1998. A nitrogen budget for *Penaeus indicus* juveniles fed on diets of different protein levels. Thesis Master of Science. University of Wales, Bangor, United Kingdom.

Moreno, E. 2000. Evaluación en camaroneras de dietas con y sin harina de pescado en el engorde del camarón *Litopenaeus vannamei* Tesis para optar por el grado de Zootecnista. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina veterinaria.

National Research Council. 1993. Nutrient requirements of fish.National academic press. Washington D. C.: 43-48

Ocampo, L. 1998. Energía metabolizable y eficiencia neta de crecimiento bajo el efecto de variaciones medioambientales en el camarón. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, La Paz, B.C.S., Mexico, noviembre 15-18, 1998. Manuscritos de conferencia .

Ostrensky, A. & Wasielesky, W. 1995. Acute toxicity of ammonia to various life stages of the Sao Paulo shrimp, *Penaeus paulensis* Pérez-Farfante, 1967. Aquaculture 132: 339-347.

Molina, C. & Piña, P. 1999. Estudio comparativo de sistemas de alimentación utilizados en el engorde de *Litopenaeus vannamei*: comederos y voleo.

Ponce-Palafox, J., Martinez, C. & Ross, L. 1977. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp *Penaeus vannamei* Boone 1931. Aquaculture 157: 107 – 115.

Robertson, J. 1960. Osmotic and ionic regulation. in The physiology of crustacea Vol 1. Waterman, T. (edi).academic press.

Robertson, L., Lawrence, A. & Castille, F. 1993. Interaction of salinity and feed protein level on growth of *Penaeus vannamei.* Journal of Applied Aquaculture 2: 43-53.

Rodríguez, M. 1999. Requerimientos energéticos de peces y crustáceos. en Avances en Nutrición Acuícola I: Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para acuacultura 12 al 14 de febrero de 1993, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, Mexico (edit). Cruz, E., Ricque, D., Mendoza, R.:81-89.

Rodríguez, R. 1999. Diagnostico del Fenómeno de El Niño en la región insular de la provincia de El Oro. Tesis de grado para obtener el título de Ingeniero Acuacultor. Universidad Técnica de Machala.

Romero, I. 1999. Efecto del balance proteína/energía en dietas para camarones juveniles *Litopenaeus vannamei* . Tesis de grado de grado para optar por el grado

Rosas, C. 1999. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. Avances en Nutrición Acuícola III: Memorias del Tercer Simposium Internacional de Nutrición Acuícola 11 al 13 de noviembre de 1996, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, Mexico (edit). Cruz, E., Ricque, D., Mendoza, R.:81-87.

Rosas, C., Sánchez, A., Días-Iglesia, E. Brito, R., Martinez, E. & Soto, L. 1997. Critical dissolved oxygen to *Penaeus schimitti* postlarvae (PL 10-18) exposed to salinity changes. Aquaculture 152: 259-272.

Rosas, C., Gaxiola, G. & Sanchez, A. 1998a. El metabolismo del nitrógeno y su relación con los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos. IV Simposium Internacional de Nutriciòn Acuìcola, La Paz, B.C.S., Mexico, noviembre 15-18, 1998. Manuscritos de conferencia.

Rosas. C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Días-Iglesia, E., & Soto, L.. 1998b. Effect of dissolved oxygen on the energy balance and survival of *Penaeus setiferus* juveniles. Marine Ecology Progress Series 174: 67-75.

Rosas, C., Martinez, E., Gaxiola, G., Brito, R., Sánchez, A. & Soto, L. 1999 . The effect of dissolved oxygen and salinity on oxygen consumption, ammonia

Rosas, C., Cuzon, G., Gaxiola, G., Arena, L., Lemaire, P., Soyez, C. & Wormhoudt, A. 2000. Influence of dietary carbohydrate on the metabolism of juvenile *Litopenaeus stylirostris*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 249: 181-198.

Samocha, T., Lawrence, A. & Pooser, D. 1998 Growth and survival of juvenile *Penaeus vannamei* in low salinity water in a semi-closed recirculation system. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh Vol. 50 No.2 , pp 55-59.

Sedgwick, R. 1979. Influence of dietary protein and energy on growth, food consumption and food conversion efficiency in *Penaeus merguiensis* de man. Aquaculture 16: 7-30.

Shiau, S. 1998. Nutrient requirements of penaeid shrimps. Aquaculture 164: 73-93.

Shiau, S. & Chou, B. 1991. Effects of dietary protein and energy on growth performance of tiger shrimp *Penaeus monodon* reared in seawater. Nippon Suisan Gakkaishi 57(12) : 2271-2276.

Shiau, S., Kwok, C. & Chou, B. 1990 . Optimal dietary protein level of *P. monodon* reared in seawater and brackishwater. Nippon Suisan Gakkaishi 57 (4): 711-716.

Smith, L., Lee, P., Lawrence, A. & Strawn, K. 1985. Growth and digestibility by three sizes of *P. vannamei* Boone: effects of dietary protein levels and source. Aquaculture 46: 85-96.

Storebakken, T., Shearer, K., Refstie, S., Lagocki, S. & McCool, J. 1998. Interactions between salinity, dietary carbohydrate source and carbohydrate concentration on the digestibility of macronutrients and energy in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 163: 347-359

Zuñiga, O., Wilson, O. & Oyarce, O. 1984. Tasa de excreción de amonio del camarón de roca *Rhynchocinetes tipus* en condiciones de laboratorio (Crustácea: decapoda: Rhynchocinetidae). Revista de biología marina 5: 113-126.