

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLOGICAS



EVALUACIÓN DEL ALGA *Ulva clathrata* COMO FUENTE DE
ALIMENTO Y COMO INGREDIENTE EN DIETAS PARA EL
CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA

PRESENTA

CLAUDIA CARMINA CARRILLO FIERRO

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MEXICO. DICIEMBRE 2008

EVALUACIÓN DEL ALGA *Ulva clathrata* COMO FUENTE DE ALIMENTO Y COMO INGREDIENTE EN DIETAS PARA EL CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*

RESUMEN

Se realizaron dos experimentos independientes, uno en estanques exteriores (49 días) y otro en condiciones de laboratorio (28 días) con el fin de investigar si el alga fresca *Ulva clathrata*, sola o como ingrediente seco en dietas balanceadas (0, 6.25, 12.5 y 18.75% de inclusión), podía generar un crecimiento sostenido de juveniles de *Litopenaeus vannamei*. En el primer experimento se identificó además el impacto de la dieta sobre el estado fisiológico de los organismos (tasa metabólica, efecto térmico del alimento, tasa de excreción de amonio y razón atómica oxígeno:nitrógeno). En el segundo experimento se evaluó también el efecto de la inclusión de harina de *U. clathrata* (HU) sobre el consumo, la razón de conversión alimenticia (RCA) y la razón de eficiencia proteica (REP) de los organismos. El primer experimento demostró que los organismos alimentados con alga fresca presentaron un crecimiento menor ($0.72\%d^{-1}$), comparado con los alimentados con dietas balanceadas (3.12 y $3.41\%d^{-1}$). Además los primeros estuvieron en estado catabólico constante, con tasas metabólicas peso-específicas relativamente altas y razón atómica O:N bajas (O:N, 20.8), características de un metabolismo basado en la oxidación de proteínas. No se observaron diferencias significativas en la talla final promedio alcanzada por los organismos alimentados con dietas balanceadas con distintos niveles de inclusión de HU, ni tampoco en su estado fisiológico. El segundo experimento corroboró que el nivel de inclusión de HU en las dietas balanceadas resultó en mayor crecimiento (aunque no significativo) con respecto al control. Así mismo, se observó un mayor consumo de alimento y una tendencia (no significativa) hacia el aumento de la RCA y disminución de la REP con el aumento de HU en las dietas. El presente estudio demostró que *U. clathrata* no debe ser considerada como fuente única de alimento para camarones, debido a su bajo contenido de proteína y energía. Sin embargo, su inclusión hasta en un 18.75% como ingrediente en dietas balanceadas promueve el consumo de alimento sin afectar el crecimiento de juveniles de *L. vannamei*.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

EVALUACIÓN DEL ALGA *Ulva clathrata* COMO FUENTE DE
ALIMENTO Y COMO INGREDIENTE EN DIETAS PARA EL
CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*


TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

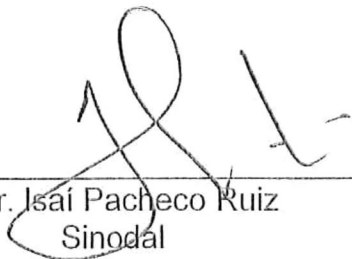
MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

CLAUDIA CARMINA CARRILLO FIERRO



Dr. Zaúl García Esquivel
Director de Tesis



Dr. Isai Pacheco Ruiz
Sinodal



Dr. Fernando Díaz Herrera
Sinodal

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con todo el respeto y cariño que se merecen las 2 personas más importantes de mi vida; mis Padres: *Dina Fierro de Carrillo y Adiel Carrillo Quiñónez*. Muchas gracias por ser unos padres estupendos y por ser los pilares de la maravillosa familia que formaron.

A mis hermanos: *Carlos Alberto, Libna Selene y Ruth Eunice* por ser unos hermanos extraordinarios y por sus palabras de aliento.

A mis queridísimos sobrinos: *Amisadai, Jair, Aylim y David*, por ser los angelitos de la familia y por ser los sobrinos que más amo.

Que Dios los bendiga y los cuide siempre
Los Amo sinceramente

AGRADECIMIENTOS

“Nadie es por si solo tan listo como la colectividad, por lo que, cualesquiera que hayan sido nuestros logros, alguien nos ayudó siempre a alcanzarlos”...

Quiero empezar agradeciendo a mis padres por la confianza que depositaron en mí para que realizara mis estudios y por todo el apoyo que me han brindado siempre. Muchas gracias.

Agradezco infinitamente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT); así como también al proyecto no. 0582, de la 11a. Convocatoria del Sistema de Investigación UABC: “Estandarización de un protocolo para la pre-engorda de semilla de ostión en laboratorio a nivel piloto-comercial’ y al Convenio UABC-Genaro Shel Man Wong Ma proyecto no. 9219: "Cultivo experimental de almeja generosa en Baja California", por las becas otorgadas para la realización mis estudios.

Un agradecimiento muy especial a mi asesor de tesis, el Dr. Zaúl García Esquivel por darme la oportunidad y confianza de trabajar con él, y sobre todo por todo su apoyo y paciencia para que este trabajo se llevara a cabo.

De igual manera al Dr. Isaí Pacheco Ruiz y al Dr. Fernando Díaz Herrera por las correcciones y sugerencias realizadas, que fueron de mucha ayuda para enriquecer este trabajo.

Al M.C. Marco Aurelio González Gómez por su apoyo en la parte experimental de mi tesis; así como también al M.C. Enrique Hernández Garibay por su asesoría en la realización de los procedimientos analíticos. Al Oc. Víctor Grendrop Funes por proporcionar los camarones y por sus sabios consejos. De nuevo al Dr. Fernando Díaz Herrera y a la Dr. Denisse Re Araujo por su apoyo en el ensayo de metabolismo. Muchas gracias.

Al laboratorio de Macroalgas del Instituto de Investigaciones Oceanológicas UABC, especialmente al Dr. Isaí Pacheco y al L.B. Alberto Gálvez Téllez, por proporcionarnos el alga para elaborar las dietas experimentales: así como también a la compañía "Alimentos Concentrados California, S.A. de C.V.", especialmente al Sr. Antonio Paz Félix, por donar la harina de pescado.

Agradezco muy especialmente Al © Dr. Juan Manuel López Vivas por su ayuda en todo momento y sobre todo por brindarme su amistad. También a mis compañeros de la maestría, por compartir conmigo tantos días de desvelo y por darme la oportunidad de conocerlos.

A los alumnos de Ciencias Marinas que participaron en este trabajo como servicio social y/o ayudantía de investigación y que realmente fueron de mucha ayuda: Ivette, Alejandro, Elizabeth, Leonardo, Chuy y Santiago; muchas gracias.

A mis compañeros del laboratorio: Rosa, Mauricio, Paloma, Keren y al M.C. Pancho Ley Lou por tantos momentos agradables y por brindarme su valiosa amistad. Muchas gracias.

Muy especialmente a mi tía Martha Fierro y mi prima Miriam por abrirme las puertas de sus casas y por el apoyo brindado, Muchas gracias. Le agradezco también a Edith Ochoa por su amistad y su apoyo incondicional. Muchísimas gracias.

Mis más sinceros agradecimientos a todos...

ÍNDICE

	<i>Pag.</i>
Resumen.....	I
Votos aprobatorios.....	II
Dedicatoria.....	III
Agradecimientos.....	IV
Índice.....	VII
Lista de tablas.....	X
Lista de figuras.....	XII
I. Introducción.....	1
II. Antecedentes.....	4
III. Hipótesis.....	7
IV. Objetivos.....	8
V. Materiales y métodos.....	10
5.1. Crecimiento y metabolismo (experimento 1).....	10
5.1.1. Diseño experimental y mantenimiento de organismos.....	10
5.1.2. Dietas experimentales.....	11
5.1.3. Estabilidad de las dietas.....	13
5.1.4. Crecimiento.....	14
5.1.5. Metabolismo, Razón atómica O:N y Efecto térmico del alimento (ETA).....	14
5.1.6. Análisis estadístico.....	18

5.2. Consumo y conversión del alimento (experimento 2).....	18
5.2.1. Diseño experimental.....	18
5.2.2. Baño de CaCl_2	20
5.2.3. Estabilidad de las dietas.....	20
5.2.4. Alimentación y consumo.....	21
5.2.5. Crecimiento y sobrevivencia.....	23
5.2.6. Razón de conversión alimenticia (RCA) y Razón de eficiencia proteica (REP).....	24
5.2.7. Análisis bioquímicos de las dietas	24
5.2.8. Análisis estadístico.....	25
VI. Resultados.....	26
6.1. Crecimiento y metabolismo (experimento 1).....	26
6.1.1. Análisis bioquímico de las dietas.....	26
6.1.2. Crecimiento.....	27
6.1.3. Tasas fisiológicas, efecto térmico del alimento (ETA) y razón atómica O:N.....	28
6.2. Fisiología alimenticia (experimento 2).....	31
6.2.1. Análisis bioquímico de las dietas.....	31
6.2.2. Estabilidad (Efecto de la dieta y el tiempo de inmersión).....	31
6.2.3. Crecimiento y sobrevivencia.....	32
6.2.4. Consumo.....	34
6.2.5. Razón de conversión alimenticia (RCA) y Razón de eficiencia proteica (REP).....	35

VII. Discusión.....	36
VIII. Conclusiones.....	45
IX. Referencias.....	46
X. Anexos.....	62

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Ingredientes utilizados en las dietas experimentales evaluadas en el experimento 1 (% peso seco). La composición bioquímica del alga fresca y de las dietas balanceadas se indica para cada tratamiento.....	12
Tabla 2. Ingredientes utilizados en las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2 (% peso seco). La composición bioquímica de las dietas balanceadas se indica para cada tratamiento.....	19
Tabla 3. Peso inicial, peso final y tasa de crecimiento específico (TCE) de juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentados con las cinco dietas experimentales utilizadas en el experimento 1.....	27
Tabla 4. Tasa metabólica de rutina (VO_2 pre), post-alimentación (VO_2 post), tasa de excreción de amonio (VNH_4), efecto térmico del alimento (ETA), razón atómica oxígeno:nitrógeno (O:N) y tasas metabólicas estandarizadas, exhibido por juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> del experimento 1.....	30
Tabla 5. Porcentaje de estabilidad y análisis de comparación múltiple de medias (Tukey) de las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2, a las 8 y 16 horas de inmersión.	32
Tabla 6. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento específico (TCE) y sobrevivencia exhibidas por juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> , alimentados con las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2.....	33

Tabla 7. Consumo, razón de conversión alimenticia (RCA) y razón de eficiencia proteica (REP) exhibidas por juveniles de <i>Litopenaeus vannamei</i> , alimentados con las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2.....	35
---	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Cambios temporales en el peso de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1..... 28
- Figura 2.** Cambios temporales en el peso de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2..... 34

I. INTRODUCCIÓN

Durante la pasada década el consumo global de camarones aumentó como resultado del crecimiento económico y la expansión de la producción acuacultural (Yu, 2004). Por lo mismo, la tendencia actual de investigación en la camaronicultura se ha centrado principalmente en la reducción de los costos de las dietas balanceadas (Lovell, 1991; Mendoza-Alfaro, 1993; Meyers, 1993) y en la exploración de nuevas fuentes alternas de alimento de origen animal y vegetal, no solo para abaratar los costos y disminuir la razón de conversión alimenticia, sino también para cubrir la creciente demanda de alimento en el sector acuícola (Ellis, 1994).

En los sistemas de cultivos intensivos y semiintensivos de camarón el alimento puede representar entre el 50 y 70% del costo total de producción (Tacon, 1989; Tan y Dominy, 1997; Álvarez *et al.*, 2004; Galindo *et al.*, 2002; Forster *et al.*, 2003; Seiffert y Andreatta, 2004; Halver, 2002), por lo que es de suma importancia buscar alternativas para que su valor nutricional sea aprovechado al máximo por el organismo, lo cual se podría lograr con el uso de ingredientes o fuentes alternas no convencionales. La necesidad de optimizar las tasas de conversión alimenticia y de reducir los desperdicios de alimento formulado, se identifican como los puntos más importantes para lograr disminuir los costos de producción en las empresas acuícolas, y por lo tanto, aumentar su rentabilidad (Costero y Meyers, 1993).

El uso de las algas marinas en dietas acuícolas experimentales podría ser una alternativa viable para aumentar el consumo, el crecimiento y disminuir los tiempos de producción de organismos marinos. Sin embargo, esta es un área de investigación aún poco explorada (Hashim y Mat Saat, 1992). Los pocos estudios realizados se enfocan principalmente a la utilización de *Macrocystis pyrifera* y *Ulva sp.* frescas, o como ingredientes en dietas para la alimentación de erizo (Lawrence *et al.*, 1997), abulón (Stuart y Brown, 1994; Marsden y Williams, 1996; González-Aviles y Shepherd, 1996; Viana *et al.*, 1996; Fleming, 1998; Cruz-Suárez *et al.*, 2000) y peces (Nakagawa *et al.*, 1987; Hashim y Mat Saat, 1992; Mustafa *et al.*, 1995; Davies *et al.*, 1997; Wahbeh, 1997; Valente *et al.*, 2006). La utilización de algas en alimentos para camarón es aun muy escasa, y solo recientemente se han utilizado algas pardas como *Macrocystis pyrifera* y *Kappaphycus alvarezii* y algunas rojas del genero *Gracilaria spp.* en alimentos para *Litopenaeus vannamei* y *Penaeus monodon* (Briggs y Funge-Smith, 1996; Peñaflores y Golez, 1996; Cruz-Suárez *et al.*, 2000; Rivera *et al.*, 2002; Marinho-Soriano *et al.*, 2007). Estos trabajos sugieren que las algas marinas pudieran considerarse como una fuente de proteína de bajo costo para la formulación de dietas acuícolas, o bien como agentes ligantes y atrayentes que permiten un mejor aprovechamiento de los nutrientes del alimento.

Dentro del otro grupo de algas marinas, el alga verde *Ulva clathrata* se identifica como la principal especie colonizadora de los estanques de cultivo de camarón (Hendrickx y Meda-Martínez, 2001); y se estima que bajo condiciones de cultivo es capaz de producir biomasa a una tasa de 28 g PS (peso seco) m⁻²d⁻¹, lo cual, aunado a su bajo costo de producción (Moll y Deikman, 1995), la hace una especie factible de utilizar en dietas acuícola experimentales para camarón u otros organismos acuáticos.

Existen experiencias anecdóticas que sugieren que los camarones alimentados con esta alga presentan tasas de crecimiento y sobrevivencia inusuales (comunicación personal Oc. Gabriel Chávez, Aquaconsult International, Los Mochis, Sin., México), pero hasta ahora no existen datos científicos publicados que avalen dicha información. Por esta razón, y debido a que no existe información sobre el uso de esta alga en el cultivo de camarón, este trabajo se planteo con el fin de investigar si el alga *U. clathrata* fresca podía generar un crecimiento sostenido de juveniles del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, e identificar el impacto de esta dieta sobre el estado fisiológico de los organismos. Asimismo, probar la efectividad de la harina de *U. clathrata* como ingrediente en dietas balanceadas para el camarón, utilizando como indicadores el crecimiento y los factores de conversión del alimento.

II. ANTECEDENTES

Una manera de evaluar la efectividad de una dieta es considerando como principal parámetro biológico el crecimiento de los organismos (CICTUS, 1982). Otras variables fisiológicas como el consumo de alimento, la tasa metabólica y la tasa de excreción nitrogenada, se consideran como indicadores de la condición nutricional de un organismo. A partir de estas variables se han establecido indicadores de la efectividad de una dieta, tales como la razón atómica O:N (oxígeno consumido:nitrógeno excretado), el efecto térmico del alimento (ETA) o acción dinámica específica (ADE), la razón de conversión alimenticia (RCA) y la razón de eficiencia proteica (REP) (Bayne, 1985; Mayzaud y Conover, 1988; Lucas, 1996).

De acuerdo con Lucas (1996), el consumo de oxígeno es una medida indirecta del metabolismo del organismo, ya que representa la suma de la energía disipada para el mantenimiento de las funciones vitales de un organismo (metabolismo basal) y la actividad de rutina (metabolismo de rutina), así como la tasa metabólica asociada con los procesos de digestión y absorción del alimento ingerido por el organismo (efecto térmico del alimento). La tasa metabólica expresada por unidad de peso disminuye cuando el peso corporal aumenta (Schmidt-Nielsen, 1975; Hill y Wyse, 1980; Randall *et al.*, 2001). Es por ello que los organismos pequeños consumen mayor cantidad de oxígeno por unidad de peso que los organismos más grandes (Hill y Wyse, 1980;

Randall *et al.*, 2001). La tasa metabólica también está influenciada por factores ambientales, la condición de salud del organismo, su nivel de estrés y por el tipo de alimento ingerido (Nelson *et al.*, 1977; Clifford y Brick, 1978). En el último caso, se sabe que una dieta rica en proteína típicamente produce un mayor efecto térmico del alimento que una dieta con bajo contenido proteico (Hill y Wyse, 1980).

La razón atómica O:N se estima a partir de la cantidad de oxígeno respirado y nitrógeno excretado por un organismo, y es un indicador cualitativo del tipo de sustrato energético (proteínas, lípidos o carbohidratos) que es catabolizado preferencialmente por los organismos para la obtención de energía (Mayzaud y Conover, 1988; Carvalho y Phan, 1997). Sin embargo, existe una gran discrepancia en cuanto al intervalo de valores de O:N y su relación con el tipo de sustrato preferencialmente utilizado. Por ejemplo, con base en la cantidad de oxígeno necesario para la oxidación de los aminoácidos individuales, Mayzaud y Conover (1988) establecieron valores teóricos de O:N de 3 a 16 para el catabolismo preferencial proteínas; de 50 al 60 para el catabolismo proporcional de lípidos/proteínas, y valores mayores a 60 representa el catabolismo de lípidos/carbohidratos.

La realidad es que los valores de la razón atómica O:N varían de acuerdo al tipo de organismo, condición ambiental y estadio de desarrollo. Así, algunos autores mencionan valores entre 7 y 9.3 para el catabolismo preferencial de proteínas en animales marinos (Snow y Williams, 1971) tales como zooplancton

(Conover y Corner; 1968; Mayzaud, 1973) y mejillones (Bayne, 1973). Para el catabolismo de una igual cantidad de proteínas y lípidos Mayzaud y Conover (1988) de acuerdo con Loewy (citado por West y Tood, 1961) reportan valores de 24. Carvalho y Phan (1997) reportan que la razón O:N varía de 14.5 a 15.6; valores similares obtienen Dall y Smith (1986) quienes reportan una O:N de 13.6 a 16.4 en *Penaeus esculentus*, lo cual indica un catabolismo de proteínas. La razón O:N para *P. japonicus* (Chen y Lai, 1993) y *P. chinensis* (Chen y Nan, 1993) fue mayor de 24, lo que indica un metabolismo con preferencia de lípidos.

El efecto térmico del alimento (ETA) se define como el incremento en el consumo de oxígeno después del proceso de alimentación (Kleiber, 1975; Gaffney y Dile, 1986). El ETA de un alimento con alto contenido proteico tiende a ser proporcionalmente mayor que la de un alimento con un bajo contenido proteico (Hill y Wyse 1980; Lucas, 1996). En crustáceos se ha reportado que el ETA depende de la cantidad, calidad y del balance de los componentes energéticos del alimento (DuPreez *et al.*, 1992; Hewitt e Irving, 1990; Rosas *et al.*, 1996; Pascual *et al.*, 2004).

La razón de conversión del alimento (RCA) y la razón de eficiencia proteica (REP) son indicadores de la efectividad de una dieta para generar crecimiento, ya que representa la ganancia en peso de los organismos por cada gramo de alimento ingerido o proteína ingeridos.

III. HIPÓTESIS

- a) Los juveniles de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* pueden crecer eficientemente teniendo como dieta única el alga fresca *Ulva clathrata*.

- b) La inclusión de harina de *U. clathrata* en dietas balanceadas para la alimentación de juveniles de *L. vannamei* presentará un efecto positivo en el crecimiento, metabolismo y conversión del alimento.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivos Generales

- Evaluar el potencial del alga *Ulva clathrata*, en presentación fresca y como ingrediente de dietas balanceadas, sobre el crecimiento y metabolismo de juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei* cultivado en estanques exteriores.
- Estudiar el crecimiento y conversión alimenticia de juveniles del camarón *L. vannamei* en presencia del alga *U. clathrata* como ingrediente en dietas balanceadas, en condiciones de laboratorio.

4.2 Objetivos Específicos

- Comparar el crecimiento de camarones juveniles en estanques exteriores alimentados con: a) *U. clathrata* fresca; b) dieta control; c) dieta control complementada con 6.25% de inclusión de harina de *U. clathrata* (HU); d) dieta control con 12.5% HU y e) dieta control con 18.75% HU.

- Comparar el efecto térmico del alimento (ETA) y la razón atómica O:N de camarones juveniles cultivados en estanques exteriores y alimentados con: a) *U. clathrata* fresca; b) dieta control y c) dieta control con 6.25% HU.

- Comparar en condiciones de laboratorio el crecimiento, consumo de alimento, razón de conversión alimenticia (RCA) y la razón de eficiencia proteica (REP) de camarones juveniles alimentados con: a) dieta control; b) dieta control con 6.25% HU; c) dieta control con 12.5% HU; d) dieta control con 18.75% HU.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 CRECIMIENTO Y METABOLISMO (EXPERIMENTO 1)

5.1.1 Diseño experimental y mantenimiento de organismos

En el experimento en estanques exteriores se utilizó un diseño aleatorio simple con cinco tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. El primer tratamiento consistió en *Ulva clathrata* fresca; el segundo una dieta control, cuya formulación se basó en lo reportado por Cruz-Suárez *et al.* (2000); y del tercero al quinto consistieron en dietas control complementadas con distintos niveles de inclusión de harina de *U. clathrata* (HU, 6.25%, 12.5%, y 18.75%). Los estanques utilizados fueron de fibra de vidrio con una capacidad aproximada de 500L, los cuales se cubrieron con plástico transparente de polietileno para evitar que las aves marinas predaran a los camarones. Se utilizó una densidad inicial de 100 juveniles de *Litopenaeus vannamei* por estanque, con un peso inicial de aproximadamente 1g. Cada estanque contó con aireación constante. Se recambió el agua diariamente en un 30% del volumen total de cada estanque y la limpieza total de los estanques se realizó cada semana.

Los organismos se alimentaron a saciedad una vez al día, con una ración inicial del 10% del peso húmedo de los organismos presentes en cada estanque. La cantidad de alimento que se suministró se ajustó hasta obtener la menor cantidad de restos de alimento. En el caso del alga *U. clathrata*, se hicieron los cálculos necesarios para reportar el alga fresca en peso seco, considerando de igual manera, una ración del 10% del peso de los organismos por estanque. Semanalmente se evaluó el crecimiento pesando en su conjunto los organismos de cada uno de los estanque. Cada tratamiento se evaluó por un periodo de 49 días. Al final del experimento se cuantificó la tasa de consumo de oxígeno y la excreción de amonio en una submuestra de organismos de los tratamientos control, *Ulva* fresca y dieta control con 6.25% HU.

5.1.2 Dietas experimentales

Las dietas se formularon con un contenido de 35% de proteína cruda, 8% de lípidos y 4.4 kcal g⁻¹ de energía (Tabla 1). Estos valores están dentro del intervalo que se reporta como óptimo para el crecimiento de *Litopenaeus vannamei*, los cuales varían entre 28 y 35% de proteína cruda (Colvin y Brand, 1977; Smith *et al.*, 1985; Cousin *et al.*, 1993; Kanazawa, 1995; Lovell, 1998; Guillaume *et al.*, 1999; Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000; Kureshy y Davis, 2002; Cuzon *et al.*, 2004) y de 4 a 10% de lípidos (Guillaume *et al.*, 1999; Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000). El porcentaje de inclusión de *Ulva* en las dietas sustituyó a la harina de trigo.

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales utilizadas en el experimento 1 (% peso seco). La composición bioquímica de las dietas balanceadas y del alga fresca se indica para cada tratamiento.

Ingredientes (%)	Control	6.25% HU	12.5% HU	18.75% HU	Alga Fresca
Harina de pescado ^a	30.3	30.1	30.0	29.9	---
Harina de soya ^b	12.75	12.75	12.75	12.75	---
Harina de trigo ^c	45.8	39.71	33.52	27.34	---
<i>Ulva clathrata</i> ^d	0	6.25	12.5	18.75	---
Aceite de pescado ^e	1.1	1.14	1.18	1.21	---
Lecitina de soya ^f	5.1	5.1	5.1	5.1	---
Colesterol ^g	0.21	0.21	0.21	0.21	---
Mezcla de Vitaminas ^h	0.25	0.25	0.25	0.25	---
Mezcla de minerales ⁱ	0.25	0.25	0.25	0.25	---
Stay C-35 ^j	0.05	0.05	0.05	0.05	---
Alginato de sodio ^k	3	3	3	3	---
BHT ^l	0.05	0.05	0.05	0.05	---
Propionato de calcio ^m	0.05	0.05	0.05	0.05	---
DL-Metionina ⁿ	0.09	0.09	0.09	0.09	---
Hexametáfosfato de Na ^o	1	1	1	1	---
Composición					
Humedad (%)	4.1 ^a ± 0.03	3.3 ^b ± 0.01	4.6 ^c ± 0.03	3.8 ^d ± 0.02	80.0 ± 0.10
Cenizas Totales (%)	7.8 ^a ± 0.02	10.5 ^b ± 0.05	13.2 ^c ± 0.08	16.2 ^d ± 0.01	41.7 ± 0.06
Proteínas (%)	35.7 ^a ± 0.05	35.9 ^a ± 0.63	35.3 ^a ± 0.19	35.4 ^a ± 0.34	13.2 ± 0.07
Lípidos (%)	8.2 ^{ab} ± 0.05	8.0 ^b ± 0.10	8.3 ^a ± 0.08	8.4 ^a ± 0.07	0.6 ± 0.00
Energía (kcal g ⁻¹)	4.5 ^a ± 0.002	4.4 ^b ± 0.012	4.3 ^c ± 0.020	4.2 ^d ± 0.006	2.6 ± 0.001
Estabilidad (%)	67.4 ^a ± 3.46	39.0 ^b ± 2.89	Inestable	Inestable	n/a

Media ± Error estándar. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

^a Alimentos Concentrados California, S.A. de C.V. (71% PC); ^b ICN Biomedicals, Inc. (56% PC); ^c El Rosal (12% PC); ^d Laboratorio de Macroalgas, IIO, UABC (13.2% PC); ^e Sigma cat. #F-8020; ^f Good'n natural; ^g Spectrum cal #CH135; ^h ICN Biomedicals, Inc. cat. #904654; ⁱ ICN Biomedicals, Inc. cat. #905455; ^j Roche; ^k Tic Gums (Colloid 488 'T' Powder); ^l Sigma cat. #B-1378; ^m Soporte técnico productores de pan S.A. de C.V.; ⁿ Sigma cat. #M-9500; ^o Fisher Scientific cat. # S333-500

5.1.3 Estabilidad de las dietas

La estabilidad se evaluó directamente en los estanques experimentales de 500L, para lo cual se utilizaron canastillas circulares hechas con malla de plástico provistas con peso muerto para evitar que flotaran. Éstas se recubrieron en su interior con una malla fina para evitar que los camarones se comieran los pellets. El tiempo de inmersión de los pellets en los tranques fue de 20h, que correspondió al tiempo que estuvo expuesto el alimento antes de volver a alimentar. Una vez transcurrido este período, las canastillas fueron extraídas de los estanques y los pellets remanentes se colectaron y enjuagaron ligeramente con agua destilada, para eliminar las sales; posteriormente se transfirieron con una espátula a navecillas de aluminio pre-pesadas, y secados a 105°C por 24h. El porcentaje de estabilidad se determinó mediante la fórmula de García-Esquivel *et al.* (2007):

$$\%S = (F_{of} / F_{oi}) \times 100$$

Donde:

F_{of} = peso final del alimento seco

F_{oi} = peso inicial del alimento seco

5.1.4 Crecimiento

Cada semana, todos los organismos presentes en cada estanque se colectaron con red y se depositaron en cubetas de plástico de 20L. Posteriormente se colocaron en una bolsa de malla y pesaron en una balanza digital (Sartorius, modelo 1002 MP9), previa eliminación del agua excedente con papel secante. La tasa de crecimiento específico diario (TCE) se determinó mediante las fórmulas de Hopkins (1992):

$$\text{TCE (\% d}^{-1}\text{)} = [\text{Ln } (W_f / W_i) / t] \times 100$$

Donde:

W_i = peso inicial del grupo de organismos en cada unidad experimental

W_f = peso final del grupo de organismos en cada unidad experimental

t = número de días transcurridos entre mediciones

5.1.5 Metabolismo, Razón atómica O:N y Efecto térmico del alimento (ETA)

Las tasas de consumo de oxígeno (VO_2) y de excreción de amonio (VNH_4) se cuantificaron en camarones del primer experimento utilizando un sistema respirométrico semiabierto descrito previamente por Díaz-Herrera *et al.*

(2007). Las evaluaciones se realizaron a 25°C en organismos de los tratamientos de *Ulva* fresca, dieta control y 6.25% HU únicamente.

Un total de 20 camarones por tratamiento se introdujeron en cámaras metabólicas individuales de 250 ml, donde permanecieron durante 24h con flujo abierto y sin alimento. Al término de ese período se tomaron muestras de agua en cada cámara para medir la concentración inicial de oxígeno disuelto y de amonio. Después se cerraron las cámaras herméticamente durante 1h, ya que de acuerdo con Stern *et al.* (1984), éste es el tiempo adecuado para que el oxígeno disuelto no disminuya por debajo del 30% y no cause estrés en los organismos. Al término de ese período se volvió a muestrear el agua para medir la concentración de oxígeno y amonio final. La diferencia entre la concentración inicial y final de oxígeno se utilizó para estimar el metabolismo de rutina (VO_{2pre}) de *Litopenaeus vannamei*.

Posteriormente los organismos fueron alimentados por 2h. Al término de ese período se retiró totalmente el alimento y se colectaron muestras de agua para medir la concentración inicial de oxígeno en el agua. Las cámaras se cerraron nuevamente durante 1h y al final de ese período se tomaron muestras para medir la concentración final de oxígeno. Se restableció el flujo de agua en las cámaras y la medición de concentración inicial y final de oxígeno se repitió a las 2h. El promedio de ambas mediciones representó el metabolismo post-alimentación (VO_{2post}) de los camarones. En cada tratamiento se utilizó una cámara control (sin organismos) para corregir el consumo de oxígeno y la producción de amonio no asociados a los camarones.

Para los cálculos solamente se consideraron las repeticiones de camarones que no mudaron o murieron en las cámaras. También se eliminaron los organismos que no mostraron un aumento en la tasa metabólica post-alimentación, ya que esto se consideró como un comportamiento anormal del alimento. La concentración de oxígeno en el agua se cuantificó con un oxímetro YSI 52 (Yellow Springs Instruments Co.). La concentración de amonio determinó con un analizador de flujo continuo (Lachat QuickChem 8000).

El metabolismo de rutina: VO_{2pre} ($\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$) y la tasa de excreción de amonio: VNH_4 ($\text{mg NH}_4^+ \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$) se estimaron a partir de la diferencia entre la concentración final e inicial de oxígeno disuelto y amonio producido (respectivamente) presente en las cámaras metabólicas, divididas por el peso del organismo.

El efecto térmico del alimento (ETA) se estimó mediante la ecuación de Gaffney y Diehl (1986):

$$\text{ETA} (\text{mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}) = [(\text{VO}_{2post} - \text{VO}_{2pre}) / \text{VO}_{2pre}] \times 100$$

Donde:

VO_{2post} = tasa de consumo de oxígeno después de alimentar

VO_{2pre} = tasa de consumo de oxígeno antes de alimentar

Para eliminar el efecto del peso en la tasa metabólica, ésta fue estandarizada a organismos de 1g utilizando la ecuación de Bayne y Newell (1983):

$$VO_{2S} \text{ (mg O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ org}^{-1}\text{)} = [W_S/W_E]^b \times VO_{2E}$$

Donde:

VO_{2S} = tasa individual de consumo de oxígeno estandarizada a organismos de 1g

VO_{2E} = tasa individual de consumo de oxígeno de los camarones experimentales

W_S = peso estandarizado (1g) de los organismos

W_E = peso real de los organismos

$b = 0.282$: relación alométrica peso-tasa metabólica de *Litopenaeus vannamei* a una temperatura de 25°C (Martínez-Palacios *et al.*, 1996)

La razón atómica oxígeno:nitrógeno (O:N) se determinó a partir de VO_{2pre} y VNH_4 mediante la siguiente ecuación (Flores *et al.*, 2008):

$$O:N = (\text{peso atómico NH}_4 / \text{peso atómico O}_2) (\text{consumo de oxígeno:VO}_2) / (\text{excreción nitrogenada:VNH}_4)$$

5.1.6 Análisis estadístico

Para determinar si existieron diferencias significativas entre las dietas experimentales, sobre los parámetros de crecimiento, razón atómica O:N y ETA, los resultados se examinaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA). En el caso de la estabilidad del alimento, se realizó una prueba "t" de Student. Cuando las pruebas ANOVA resultaron significativas, se realizaron pruebas *a posteriori* de comparación múltiple de medias (prueba Tukey), para identificar las diferencias entre tratamientos (Zar, 1999). Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SigmaStat 3.5 (Systat Software, 2005).

5.2 CONSUMO Y CONVERSIÓN DEL ALIMENTO (EXPERIMENTO 2)

5.2.1 Diseño experimental

En el experimento de laboratorio se utilizó un diseño aleatorio simple con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. Los tratamientos evaluados fueron solamente dietas balanceadas con 6.25%, 12.5% y 18.75% de HU además de la control (Tabla 2).

La formulación de las dietas fue similar a la del experimento 1, excepto por 3 nuevas consideraciones: 1) se incrementó ligeramente el nivel de proteína, 2) se aumentó al 6% el nivel de inclusión del alginato (Tabla 2) y 3) los pellets recién extruidos fueron sometidos a un baño de CaCl_2 al 5% por 2 min.

Tabla 2.- Ingredientes utilizados en las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2 (% peso seco). La composición bioquímica de las dietas balanceadas se indica para cada tratamiento.

Ingredientes (%)	D. Control	6.25% HU	12.5% HU	18.75% HU
Harina de pescado ^a	30.3	30.3	30.3	30.3
Harina de soya ^b	12.75	12.75	12.75	12.75
Harina de trigo ^c	42.8	36.51	30.23	23.92
<i>Ulva clathrata</i> ^d	0	6.25	12.5	18.75
Aceite de pescado ^e	1.1	1.14	1.17	1.23
Lecitina de soya ^f	5.1	5.1	5.1	5.1
Colesterol ^g	0.21	0.21	0.21	0.21
Mezcla de vitaminas ^h	0.25	0.25	0.25	0.25
Mezcla de minerales ⁱ	0.25	0.25	0.25	0.25
Stay C-35 ^j	0.05	0.05	0.05	0.05
Alginato de sodio ^k	6	6	6	6
BHT ^l	0.05	0.05	0.05	0.05
Propionato de calcio ^m	0.05	0.05	0.05	0.05
DL-Metionina ⁿ	0.09	0.09	0.09	0.09
Hexametáfosfato de Na ^o	1	1	1	1
Composición				
Humedad (%)	3.55 ^b ± 0.07	3.66 ^b ± 0.01	5.75 ^a ± 0.04	5.63 ^a ± 0.02
Cenizas Totales (%)	8.57 ^a ± 0.04	10.8 ^b ± 0.01	13.46 ^c ± 0.02	15.92 ^d ± 0.009
Proteínas (%)	34.72 ^a ± 0.93	35.7 ^a ± 0.33	36.0 ^a ± 0.65	35.61 ^a ± 0.30
Lípidos (%)	8.22 ^a ± 0.05	8.33 ^a ± 0.05	8.43 ^a ± 0.11	8.35 ^a ± 0.16

Media ± Error estándar. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

^a Alimentos Concentrados California, S.A. de C.V. (71% PC); ^b ICN Biomedicals, Inc. (56% PC); ^c El Rosal (12% PC); ^d Laboratorio de Macroalgas, IIO, UABC; ^e Sigma cat. #F-8020; ^f Good'n natural; ^g Spectrum cal #CH135; ^h ICN Biomedicals, Inc. cat. #904654; ⁱ ICN Biomedicals, Inc. cat. #905455; ^j Roche; ^k Tic Gums (Colloid 488 "T" Powder); ^l Sigma cat. #B-1378; ^m Soporte técnico productores de pan S.A. de C.V.; ⁿ Sigma cat. #M-9500; ^o Fisher Scientific cat. #S333-500

Para este experimento se utilizaron recipientes de plástico con una capacidad de 15 L, en los cuales se colocaron 6 camarones con un peso promedio de 2g cada uno. El sistema se mantuvo con flujo continuo de agua de mar filtrada (5 μm) a una tasa de 50 ml/min. La temperatura del agua en cada recipiente se mantuvo a $25^{\circ}\text{C} \pm 0.12$, utilizando calentadores sumergibles. El fotoperíodo fue de 12:12 h, luz:oscuridad.

5.2.2 Baño de CaCl_2

Las dietas recién extrusadas del experimento 2 se sumergieron durante 2 min en una solución de CaCl_2 al 5%, con el fin de que gelificara el alginato y le diera mayor estabilidad a las dietas (Stott *et al.*, 2002). Posteriormente, los pellets se secaron en una estufa de aire forzado a 60°C por 24h. A continuación, el alimento se almacenó en bolsas de plástico y se guardó en un lugar limpio y libre de humedad.

5.2.3 Estabilidad de las dietas

La evaluación de estabilidad se realizó en los mismos recipientes de plástico y bajo las mismas condiciones que se utilizaron para el experimento anterior, excepto que no se manejaron organismos. Se determinó la estabilidad del alimento después de 8 y 16h de inmersión en el agua; tiempos que coincidieron con los períodos experimentales de alimentación de los

camarones. Los pellets fueron retirados de los recipientes, por medio de sifoneo y colectados en papel filtro. Posteriormente se enjuagaron con agua destilada para ser colocados en navecillas de aluminio pre-pesadas y secados a 105°C por 24h. El porcentaje de estabilidad se determinó mediante la fórmula de García-Esquivel *et al.* (2007):

$$\%S = (F_{of} / F_{oi}) \times 100$$

Donde:

F_{of} = peso final del alimento seco

F_{oi} = peso inicial del alimento seco

5.2.4 Alimentación y consumo

Los organismos se alimentaron partiendo de un 6% de su peso corporal. La cantidad de alimento diario correspondiente se ofreció en dos porciones con el fin de maximizar la estabilidad de los pellets. La primera porción de alimento se ofreció a las 09:00h y la segunda a las 17:00h.

Al término del experimento y durante una semana, se realizó la evaluación de consumo de alimento. Los restos de alimento no consumido después de 8h (medición diurna) y 16h (medición nocturna), se removieron de los recipientes por medio de sifoneo y se colectaron en papel filtro. Posteriormente los pellets fueron enjuagados ligeramente con agua destilada,

para eliminar sales, transferidos con espátula a navecillas de aluminio pre-pesadas y secados a 105°C por 24h.

El alimento total consumido por día por estanque fue la suma de las dos mediciones hechas en el día (09:00 y 17:00h), considerando las correcciones necesarias de acuerdo a la estabilidad en cada período de medición y el alimento no consumido.

La tasa absoluta (C_i) y relativa (C) de consumo de alimento se calculó mediante las ecuaciones de De Silva y Anderson (1995):

$$C_i \text{ (mg alimento seco } d^{-1}) = \{[(F_{oi} * S) - F_{of}] / n\}$$

$$C \text{ (%peso corporal } d^{-1}) = \{[(F_{oi} * S) - F_{of}] / W\} * 100$$

Donde:

F_{oi} = peso seco inicial del alimento

F_{of} = peso seco final del alimento

S = estabilidad del alimento

n = número de organismos en el recipiente experimental

W = peso húmedo de los organismos

5.2.5 Crecimiento y sobrevivencia

El crecimiento se determinó de la misma manera que en el experimento 1, solo con la variante de que este experimento tuvo una duración de 28 días.

La tasa de crecimiento específico diario (TCE) y la de crecimiento bruto (TCB) se determinaron mediante las fórmulas de Hopkins (1992):

$$\text{TCE (\% d}^{-1}\text{)} = [\text{Ln } (W_f / W_i) / t] \times 100$$

$$\text{TCB (mg d}^{-1}\text{)} = (W_f / W_i) / t$$

Donde:

W_i = peso inicial del grupo de organismos en cada unidad experimental

W_f = peso final del grupo de organismos en cada unidad experimental

t = número de días transcurridos entre mediciones

La sobrevivencia se estimó del número de camarones al final del experimento en cada recipiente en relación al número inicial.

$$\text{Tasa de sobrevivencia} = (\text{numero final} / \text{numero inicial}) \times 100$$

5.2.6 Razón de conversión alimenticia (RCA) y Razón de eficiencia proteica (REP)

La razón de conversión de alimento (RCA) y la razón de eficiencia proteica (REP) se determinaron mediante las ecuaciones de García-Esquivel *et al.* (2007):

$$RCA = C_i / TCB$$

$$REP = TCB / (C_i * P)$$

Donde:

C_i = tasa absoluta de consumo (mg alimento seco d^{-1})

TCB = tasa de crecimiento bruto (mg d^{-1})

P = contenido de proteína en el alimento (%PC)

5.2.7 Análisis bioquímicos de las dietas

Los análisis bioquímicos de las dietas (exp. 1 y 2) se realizaron de acuerdo con los siguientes procedimientos: humedad (A.O.A.C., 1990), cenizas (F.A.O., 2004), lípidos por el método Soxhlet, nitrógeno total por el método de MicroKjeldahl (A.O.A.C., 1990), y el contenido de proteínas multiplicando el contenido de nitrógeno por el factor de 6.25 (A.O.A.C., 1990) y la energía mediante una bomba calorimétrica (Parr 1425 semi-micro).

5.2.8 Análisis estadístico

El efecto de las dietas experimentales sobre el crecimiento, consumo, RCA y REP fueron comparados de manera independiente mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA). Para la estabilidad se realizó un análisis de varianza de dos vías (TWOANOVA), con el fin de determinar el efecto de la dieta, tiempo de inmersión (8 y 16 h) y la interacción entre ambos factores sobre la estabilidad del alimento. Cuando los ANOVA's resultaron significativos, se procedió a realizar pruebas *a posteriori* de comparación múltiple con un nivel de significancia de $P < 0.05$ (Zar, 1999). Se utilizaron pruebas no paramétricas cuando los datos no fueron normales u homoscedásticos. Todos los análisis se analizaron con el paquete estadístico SigmaStat 3.5 (Systat Software, 2006).

VI. RESULTADOS

CRECIMIENTO Y METABOLISMO (EXPERIMENTO 1)

Análisis bioquímico de las dietas

El alga fresca presentó significativamente menor contenido de proteínas ($13.2\% \pm 0.07$), lípidos ($0.6\% \pm 0.00$) y energía bruta ($2.6 \text{ kcal g}^{-1} \pm 0.00$) que las dietas balanceadas (Tabla 1). El nivel de inclusión de harina de *Ulva* en las dietas balanceadas también modificó ligeramente su contenido bioquímico, pero el porcentaje de proteína ($35.26\% \pm 0.19$ a $35.87\% \pm 0.63$) no fue significativamente distinto entre ellas (ANOVA, $F=0.615$, $P=0.624$). En general se observó un gradiente en el cual el contenido de cenizas totales ($7.84\% \pm 0.02$ a $16.25\% \pm 0.01$) y lípidos ($7.97\% \pm 0.10$ a $8.41\% \pm 0.07$) aumentaron conforme aumentó el nivel de inclusión de harina de *Ulva*, mientras que la energía bruta ($4.18 \text{ kcal g}^{-1} \pm 5.83$ a $4.53 \text{ kcal g}^{-1} \pm 2.12$) presentó un patrón inverso (Tabla 1). Asimismo, la dieta control presentó mayor estabilidad que la de 6.25% HU ($67.37\% \pm 3.46$ vs. $38.97\% \pm 2.89$), mientras que las dietas con 12.5 y 18.75% HU fueron muy inestables y no pudieron ser evaluadas confiablemente (Tabla 1). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 1, de la Tabla 1 a la 10.

Crecimiento

Se observaron diferencias significativas en el peso final de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con el alga fresca y las cuatro dietas formuladas (ANOVA, $F=92.590$, $P<0.001$). Los organismos alimentados con *Ulva* fresca presentaron un peso promedio final de $1.47\text{g} \pm 0.06$, mientras que los alimentados con las dietas formuladas alcanzaron un peso final entre 4.7 y 5.4 g (Tabla 3, Fig. 1).

El mismo patrón se observó para la TCE de los camarones (ANOVA, $F=352.41$, $P<0.001$), la cual varió entre $0.72\%d^{-1} \pm 0.05$ (*Ulva* fresca) y $3.41\%d^{-1} \pm 0.03$ (18.75% HU). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 2, de la Tabla 12 a la 15.

Tabla 3. Peso inicial, peso final y tasa de crecimiento específico (TCE) de juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con las cinco dietas experimentales utilizadas en el experimento 1.

Tratamiento	Peso Inicial (g)	Peso final (g)	TCE (%d ⁻¹)
<i>Ulva</i> fresca	$1.03^a \pm 0.04$	$1.47^b \pm 0.06$	$0.72^b \pm 0.05$
D. Control	$1.02^a \pm 0.03$	$4.71^a \pm 0.35$	$3.12^a \pm 0.10$
6.25% HU	$1.08^a \pm 0.05$	$5.44^a \pm 0.12$	$3.30^a \pm 0.05$
12.5% HU	$1.02^a \pm 0.04$	$5.34^a \pm 0.12$	$3.39^a \pm 0.04$
18.75% HU	$1.02^a \pm 0.01$	$5.40^a \pm 0.03$	$3.41^a \pm 0.03$

Media \pm Error estándar. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

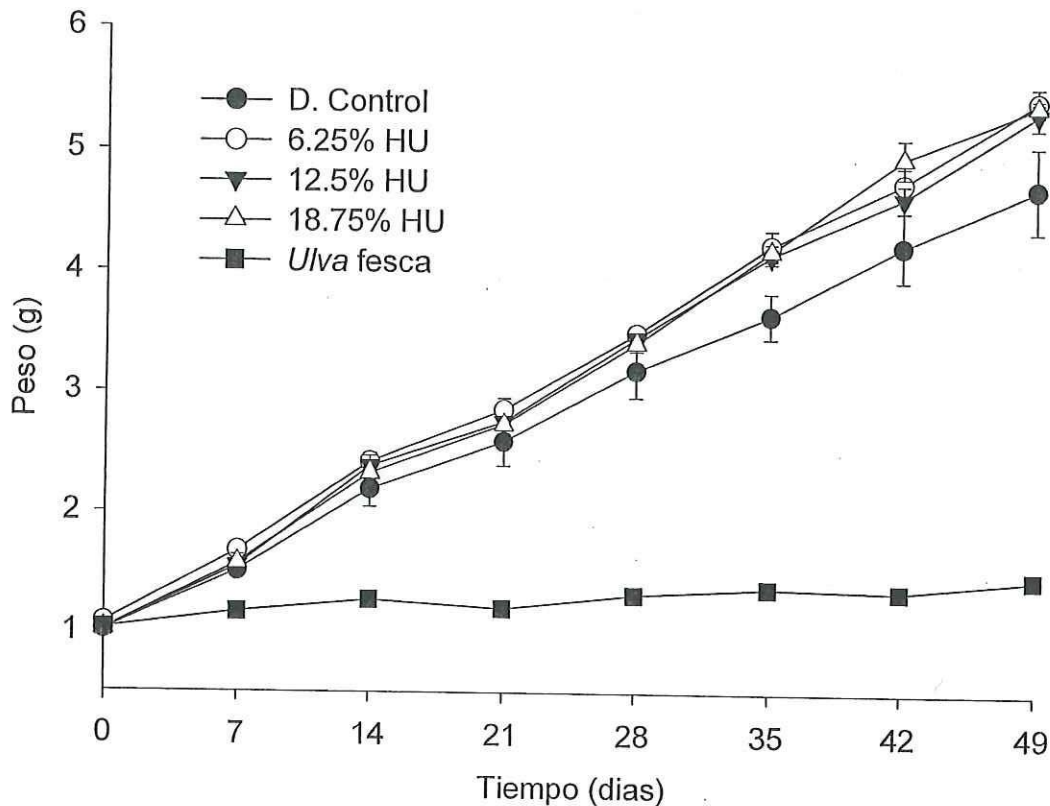


Fig. 1. Cambios temporales en el peso de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1. Las barras verticales indican el error estándar.

Tasas fisiológicas, efecto térmico del alimento (ETA) y razón atómica O:N

Se presentaron diferencias significativas en la tasa peso-específica de consumo de oxígeno de rutina (ANOVA, $F=13.979$, $P<0.001$) y post-alimentación (ANOVA, $F=20.538$, $P<0.001$), y en la tasa de excreción de amonio (Kruskal-Wallis, $H=12.930$, $P=0.002$) entre los organismos alimentados con las tres diferentes dietas (Tabla 4). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 3, de la Tabla 16 a la 21.

Los organismos alimentados con la dieta de 6.25% HU mostraron las menores tasas fisiológicas de rutina (promedio $283 \pm 14.9 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$; mediana $9.6 \pm 8.6 \text{ mgNH}_4^+ \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$), mientras que los camarones alimentados con alga fresca mostraron los valores más altos ($415 \pm 18.6 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$; $23.5 \pm 14.6 \text{ mgNH}_4^+ \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$). Este mismo patrón se presentó en la tasa metabólica post-alimentación, ya que los organismos alimentados con dietas de 6.25% HU y control presentaron menores tasas metabólicas peso-específica (373 ± 19.3 y $446.5 \pm 19 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$, respectivamente) que los alimentados con *Ulva* fresca ($538 \pm 19 \text{ mgO}_2 \text{ h}^{-1}\text{g}^{-1}$) (Tabla 4). Estos últimos también presentaron los valores más bajos de razón atómica O:N (20.4 ± 14.5). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 3, Tabla 26.

La estandarización de las tasas metabólicas eliminó el efecto del peso y mostró que los organismos alimentados con *Ulva* fresca exhibieron, estadísticamente, menor tasa metabólica de rutina (Kruskal-Wallis, $H=20.831$, $P<0.001$) y post-alimentación (Kruskal-Wallis, $H=21.274$, $P<0.001$) que los alimentados con dietas balanceadas (Tabla 4) Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 3, de la Tabla 22 a la 25.

El ETA estimado a partir de datos peso-específicos no fue significativamente distinto entre los organismos de los diferentes tratamientos (ANOVA, $F=0.438$, $P=0.649$, Tabla 4). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 3, Tabla 27.

Tabla 4. Tasa metabólica de rutina (VO_{2pre}), post-alimentación (VO_{2post}), tasa de excreción de amonio (VNH_4), efecto térmico del alimento (ETA), razón atómica oxígeno:nitrógeno (O:N) y tasas metabólicas estandarizadas, exhibido por juveniles de *Litopenaeus vannamei* del experimento 1.

Tratamiento	VO_{2pre} ($mgO_2 h^{-1}g^{-1}$)	VO_{2post} ($mgO_2 h^{-1}g^{-1}$)	VNH_4 (Md, $mgNH_4^+ h^{-1}g^{-1}$)	ETA ($mgO_2 h^{-1}g^{-1}$)	O:N (Md)
<i>Ulva fresca</i>	415 ^a ± 18.6	538 ^a ± 19.0	23.5 ^a ± 14.6	31.1 ^a ± 3.8	20.4 ^a ± 14.5
D. Control	360 ^a ± 23.5	446.5 ^b ± 19.0	14.6 ^{ab} ± 13.1	25.2 ^a ± 4.4	27 ^a ± 25.5
6.25% HU	283 ^b ± 14.9	373 ^b ± 19.3	9.6 ^b ± 8.6	34 ^a ± 8.2	27.5 ^a ± 25.3
Tasas metabólicas estandarizadas (Md, $mgO_2 h^{-1} ind^{-1}$)					
<i>Ulva fresca</i>	718 ^b ± 671	911 ^b ± 876			
D. Control	1,033 ^a ± 959	1,280 ^a ± 1,248			
6.25% HU	963 ^a ± 849	1,341 ^a ± 1,146			

Media ± Error estándar; en los casos en los que se usó la Mediana (Md) como medida de tendencia central se indica el 25% percentil. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

FISIOLOGÍA ALIMENTICIA (EXPERIMENTO 2)

Análisis bioquímico de las dietas

Se presentaron diferencias significativas en el contenido de humedad (ANOVA, $F=835.25$, $P<0.001$) y cenizas (ANOVA, $F=15,296.10$, $P<0.001$) en las dietas evaluadas en el experimento 2 (Tabla 2), con un gradiente de aumento paralelo al nivel de inclusión de HU en las dietas. El contenido de proteínas en las dietas no mostró diferencias significativas (ANOVA, $F=0.827$, $P=0.515$), y su porcentaje varió entre 34.72 y 36.0% (Tabla 2). Tampoco se detectaron diferencias significativas en el contenido de lípidos en las dietas (ANOVA, $F=0.755$, $P=0.550$), los cuales variaron entre 8.22 y 8.43% (Tabla 2). Los detalles de las pruebas estadísticas del contenido bioquímicos se muestran en el Anexo 4, de la Tabla 28 a la 33.

Estabilidad (Efecto de la dieta y el tiempo de inmersión)

Se observaron diferencias significativas de estabilidad por efecto de las dietas (TWOANOVA, $F=16.974$, $P<0.001$) y del tiempo de inmersión (TWOANOVA, $F=43.697$, $P<0.001$) (Tabla 5). Sin embargo, la interacción entre ambos factores no fue significativa (TWOANOVA, $F=2.532$, $P=0.094$). La estabilidad de las dietas a las 8 h de inmersión varió de $74.9\% \pm 0.25$ (18.75% HU) a $85.5\% \pm 0.1$ (dieta control). A las 16 h de inmersión la estabilidad varió

entre $61.0\% \pm 3.0$ (12.5% HU) y $79.8\% \pm 1.9$ (dieta control). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 4, Tablas 34 y 35.

Tabla 5. Porcentaje de estabilidad y análisis de comparación múltiple de medias (Tukey) de las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2, a las 8 y 16 horas de inmersión.

Tratamiento	8 h de inmersión	16 h de inmersión	Promedio
D. Control	85.5 ± 0.1	79.8 ± 1.9	82.7 ^a
6.25% HU	80.9 ± 0.28	73.5 ± 0.4	77.2 ^a
12.5% HU	78.0 ± 0.95	61.0 ± 3.0	69.5 ^b
18.75% HU	74.9 ± 0.25	63.0 ± 5.2	68.9 ^b
Promedio	79.8 ^a	69.3 ^b	

Media \pm Error estándar. Valores con diferentes letras indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

Crecimiento y sobrevivencia

No se presentaron diferencias significativas en el peso final promedio de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con las 4 dietas evaluadas en el experimento 2 (ANOVA, $F=3.284$, $P=0.079$). Los pesos de los organismos variaron entre $3.16\text{g} \pm 0.10$ (dieta control) y $3.81\text{g} \pm 0.09$ (18.75% HU) (Tabla 6, Fig. 2). Lo mismo ocurrió en términos de TCE (ANOVA, $F=0.763$, $P=0.546$);, la cual varió entre $1.47\% \text{d}^{-1} \pm 0.06$ (dieta control) y $1.72\% \text{d}^{-1} \pm 0.14$ (18.75% HU)

(Tabla 6). La sobrevivencia de los juveniles de *L. vannamei* en todos los tratamientos fue del 100% (Tabla 6). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 5, Tablas 36 a la 38.

Tabla 6. Peso inicial, peso final, tasa de crecimiento específico (TCE) y sobrevivencia exhibidas por juveniles de *Litopenaeus vannamei*, alimentados con las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2.

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	TCE (%d ⁻¹)	Sobrevivencia (%)
D. Control	2.0 ^a ± 0.10	3.16 ^a ± 0.10	1.47 ^a ± 0.06	100
6.25% HU	2.4 ^a ± 0.07	3.62 ^a ± 0.09	1.50 ^a ± 0.06	100
12.5% HU	2.2 ^a ± 0.07	3.49 ^a ± 0.25	1.68 ^a ± 0.23	100
18.75% HU	2.4 ^a ± 0.08	3.81 ^a ± 0.09	1.72 ^a ± 0.14	100

Media ± Error estándar. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$).

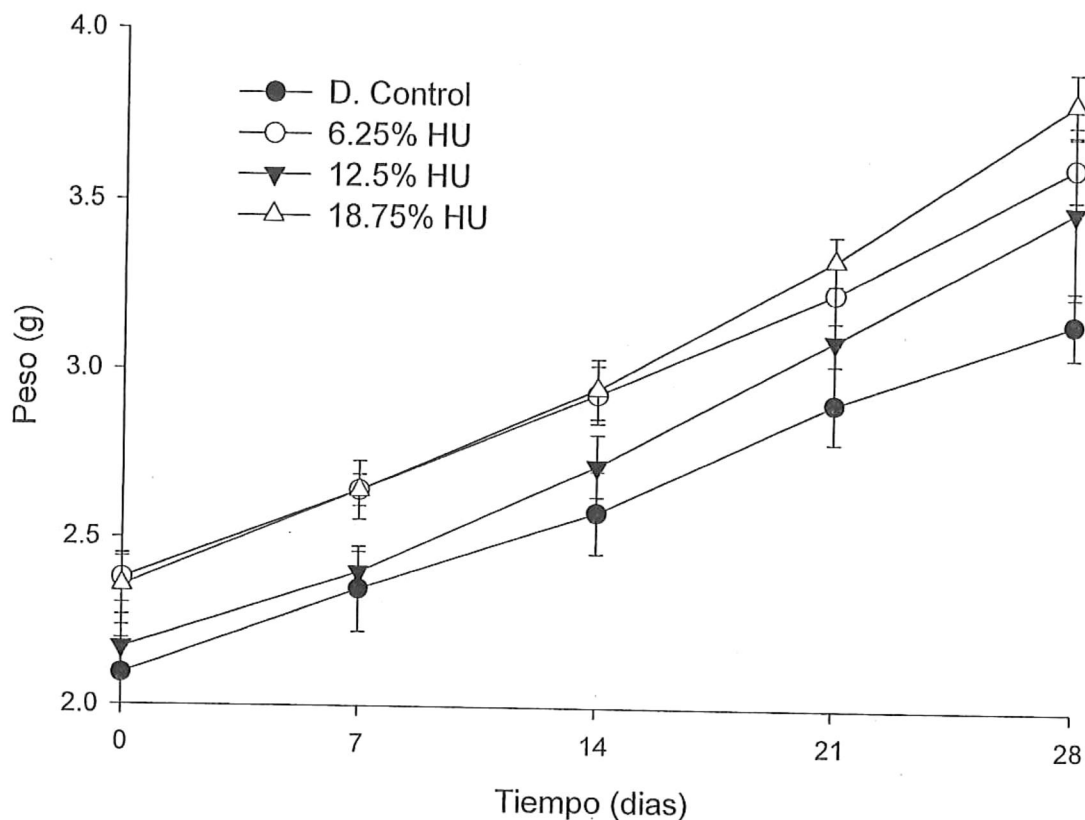


Fig. 2. Cambios temporales en el peso de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2. Las barras verticales indican el error estándar.

Consumo

El consumo de alimento entre los organismos alimentados con las dietas experimentales (Tabla 7) fue significativamente afectado por el nivel de inclusión de HU (ANOVA, $F=10.141$, $P=0.004$). Los organismos que presentaron mayor consumo peso-específico fueron los alimentados con la dieta con 18.75% HU ($3.7 \pm 0.37\%$ BW d^{-1}) y los de menor consumo fueron los alimentados con la dieta control ($2.32 \pm 0.06\%$ BW d^{-1}). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en Anexo 6, Tablas 39 y 40.

Razón de conversión alimenticia (RCA) y Razón de eficiencia proteica (REP)

No se observaron diferencias significativas en las variables RCA (ANOVA, $F=0.667$, $P=0.595$) y REP (ANOVA, $F=0.595$, $P=0.636$) evaluadas en los organismos alimentados con las 4 dietas experimentales (Tabla 7). La RCA varió entre 2.33 ± 0.28 (12.5% HU) y 3.6 ± 1.16 (18.75% HU), mientras que la REP varió entre 0.94 ± 0.25 (18.75% HU) y 1.23 ± 0.16 (12.5% HU). Los detalles de las pruebas estadísticas se muestran en el Anexo 6, Tablas 41 y 42.

Tabla 7. Consumo, razón de conversión alimenticia (RCA) y razón de eficiencia proteica (REP) de juveniles de *Litopenaeus vannamei*, alimentados con las dietas experimentales evaluadas en el experimento 2.

Tratamiento	Consumo (%BWd ⁻¹)	RCA	REP
D. Control	$2.32^a \pm 0.06$	$2.65^a \pm 0.39$	$1.13^a \pm 0.15$
6.25% HU	$2.60^a \pm 0.99$	$3.0^a \pm 0.39$	$0.96^a \pm 0.12$
12.5% HU	$2.45^a \pm 0.08$	$2.33^a \pm 0.28$	$1.23^a \pm 0.16$
18.75% HU	$3.7^b \pm 0.37$	$3.6^a \pm 1.16$	$0.94^a \pm 0.25$

Media \pm Error estándar. Valores con diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

VII. DISCUSION

Crecimiento

El presente estudio mostró que los juveniles de *Litopenaeus vannamei* no crecieron eficientemente al utilizar como única fuente de alimento a el alga fresca *Ulva clathrata*. Además, experimentos preliminares con esta misma alga (datos no publicados) evidencian un alto grado de canibalismo cuando los camarones se quedaban sin alimento por más de 0.5h; lo cual permite sugerir que el bajo crecimiento de los camarones alimentados con *Ulva* fresca fue debido, principalmente, a su bajo contenido de proteína (13.2%) y energía (2.6 kcal g⁻¹). Colvin y Brand (1977) reportan que los camarones juveniles requieren un 30% de proteína para obtener un óptimo crecimiento, mientras que Kureshy y Davis (2002) mencionan un requerimiento del 32% de proteína para juveniles y sub-adultos en este mismo grupo de organismos. En este sentido, la concentración de nutrientes en *U. clathrata* coincide con los valores obtenido en ingredientes usados como complemento en dietas para *Litopenaeus vannamei*, pero no como una fuente exclusiva de alimento (Cuzon *et al.*, 2004).

No obstante, la tasa de crecimiento específico diario (TCE) que presentaron los organismos alimentados con *Ulva clathrata* fresca en el presente estudio (0.72% d^{-1}) fue mayor a lo reportado por Marinho-Soriano *et al.* (2007) (0.44% d^{-1}), quienes evaluaron una dieta a base 100% de *Gracilaria*

cervicornis (22.9% proteína). Sin embargo, ambos resultados fueron significativamente menor a lo obtenido por los organismos alimentados con las dietas balanceadas del presente estudio (control, 6.25, 12.5 y 18.75% HU).

Comparando la TCE de los organismos alimentados con las dietas balanceadas del experimento 1 (3.12-3.41% d^{-1}) y 2 (1.47-1.72% d^{-1}), éstas no fueron significativamente diferentes; sin embargo, se presentó un incremento paralelo al nivel de inclusión de HU en las dietas. A su vez, los valores obtenidos en el experimento 1, coinciden con los de Peñaflorida y Golez (1996), quienes usaron las algas marinas *Kappaphycus alvarezii* y *Gracilaria heteroclada* con inclusiones del 3, 5, 7, 10 y 15% en dietas para juveniles del camarón *Penaeus monodon* (0.02-0.05 g peso inicial). Estos autores reportaron valores entre 3.30 y 5.21% d^{-1} . Así como lo obtenido recientemente por Cruz-Suárez *et al.* (2008), quienes reportan valores de TCE entre 3.5% y 3.9% d^{-1} en camarones (1.6 g peso inicial) alimentados con dietas que contienen 3.3% de inclusión de harina de *Macrocystis pyrifera*, *Ascophyllum nodosum* o *Ulva clathrata*. Sin embargo, la TCE de los organismos alimentados con las dietas formuladas, en el experimento 1 y 2 del presente estudio, fueron menores a lo obtenido por Briggs y Funge-Smith (1996), quienes evaluaron el efecto de la sustitución de harina de trigo y soya por *Gracilaria sp.* (5 al 30%) en dietas para juveniles de *Penaeus monodon*; con lo cual obtuvieron como resultado valores de TCE entre 7.3 y 8.0% d^{-1} . Conviene señalar que Briggs y Funge-Smith (1996) utilizaron dietas con porcentajes de proteína entre 38.08 y 40.29%, lo cual es

mayor a lo obtenido en las dietas del presente trabajo ($\approx 34\%$). Este aumento en la cantidad de proteína posiblemente se reflejó en un aumento en el crecimiento de esos organismos. Los valores de TCE del presente trabajo también fueron menores a los obtenidos por Cruz-Suárez *et al.* (2000) quienes obtuvieron valores de TCE del 5.93 y 6.18% d^{-1} en los organismos alimentados con dietas del 2 y 4% de inclusión *Macrocystis pyrifera*, respectivamente. Los valores de TCE obtenidos en nuestro estudio pueden ser atribuidos a la edad de los organismos experimentales; lo cual coincide con los bajos valores de TCE obtenidos por los juveniles de *L. vannamei*, de 1.6 g de peso inicial, alimentados con dietas balanceadas con inclusiones de diferentes algas marinas (Cruz-Suárez *et al.*, 2008).

En el experimento 2, la sobrevivencia no fue afectada por las diferentes dietas, ya que en todos los casos ésta fue del 100%. Resultados cercanos a los obtenidos en el presente estudio, son los reportados por Cruz-Suárez *et al.* (2000), quienes obtuvieron sobrevivencias del 95 y 100%. Peñaflorida y Golez (1996) y Briggs y Funge-Smith (1996) reportaron valores más bajos, con promedios entre 73 y 93% y 48 y 56%, respectivamente.

Tanto en el experimento 1 y 2, los organismos alimentados con las 4 dietas balanceadas (control, 6.25, 12.5 y 18.75% HU), no presentaron diferencias significativas en crecimiento (peso final y TCE), posiblemente debido a que las dietas fueron formuladas para presentar 35% proteína, 8% lípidos y

4.4 kcal g⁻¹ de energía, cuyos valores se encuentran dentro del intervalo reportado como favorable para el óptimo crecimiento del camarón *Litopenaeus vannamei*. (Colvin y Brand, 1977; Smith *et al.*, 1985; Cousin *et al.*, 1993; Kanazawa, 1995; Lovell, 1998; Guillaume *et al.*, 1999; Hertrampf y Piedad-Pascual, 2000; Kureshy y Davis, 2002; Cuzon *et al.*, 2004).

Estabilidad

La baja estabilidad de las dietas balanceadas del experimento 1 (3% alginato), no afectó el crecimiento de los juveniles de *L. vannamei*. Con el aumento al 6% de inclusión del alginato en las dietas balanceadas del experimento 2 se mejoró significativamente su estabilidad, principalmente las de 12.5 y 18.75% HU, las cuales pasaron de ser inestables (con 3% alginato) a presentar estabilidades del 61.2 y 61.33% a las 20h. Los resultados del experimento 2 también confirmaron que los niveles de HU en las dietas produjeron tasas de crecimiento comparables a las del control. La falta de diferencias significativas en crecimiento obtenidos entre los camarones alimentados con la dieta control y el del resto de las dietas formuladas, en ambos experimentos; así como las observaciones hechas en cada unidad experimental, sugieren que los juveniles de *L. vannamei* fueron capaces de manipular e ingerir fácilmente las pequeñas partículas derivadas de la baja estabilidad de algunas dietas.

En el presente estudio, el período de inmersión del pellet en el agua trató de simular condiciones más cercanas a la realidad operativa de los cultivos comerciales, en los cuales el pellet permanece disponible por períodos de tiempos de 8 a 24 h. En este sentido, la estabilidad de las dietas fue medida a las 20 h (experimento 1) y a las 8 y 16 h (experimento 2); por lo que es difícil compararla con las obtenidas en otros trabajos. Peñaflores y Golez (1996) reportan valores del 94.8 al 91.7% en dietas balanceadas para camarón después de 1 h, de 92.8 al 90.2% después de 2 h y del 86.8 al 90.7% después de 4 h de inmersión. Cruz-Suárez *et al.* (2000) reportan valores del 87.36 al 91.75% a 1 h y del 83.26 al 88.13% a las 2 h; mientras que Marinho-Soriano *et al.* (2007) reportan valores de estabilidad de 91 al 82.6% después de 1 h y del 89 al 82% después de 4 h de inmersión.

Metabolismo, Razón atómica O:N y Efecto térmico del alimento (ETA)

La respuesta fisiológica exhibida por los organismos alimentados con el alga fresca, las dietas control y 6.25% HU (experimento 1), reflejaron el efecto del nivel de proteína en la dieta sobre el metabolismo de los organismos. Así, los organismos alimentados con *Ulva* fresca (13.2% proteína) presentaron las mayores tasas peso-específicas de consumo de oxígeno (de rutina y post-alimentación) y de excreción de amonio, comparadas con las obtenidas de los organismos alimentados con las dietas control y 6.25% HU (35% proteína). Esto podría indicar que los organismos alimentados con estas dietas formuladas

fueron metabólicamente más eficientes, debido a que usaron menos energía por unidad de peso para la respiración y excreción, y por lo tanto, la energía disponible para crecimiento fue mayor.

Es conocido el enmascaramiento que ejerce el peso sobre las tasas fisiológicas peso-específicas (Prosser, 1991), ya que existe una relación inversa entre la tasa metabólica y el peso de los organismos (Burggren y Roberts, 1991). Por esta razón fue necesario reportar las tasas estandarizadas a organismos de 1g. El resultado de dicha estandarización demostró que la tasa metabólica de rutina y post-alimentación fue significativamente menor en los organismos alimentados con *Ulva* fresca, lo cual coincide con el peso final alcanzado por los camarones alimentados con este tratamiento (1.42 g); el cual fue significativamente más bajo que el obtenido por los organismos alimentados con las dietas formuladas (4.71–5.44 g).

No se observaron diferencias claras en términos del ETA entre los camarones alimentados con las diferentes dietas. Esto sugiere que la energía utilizada para los procesos de digestión y absorción fue de la misma magnitud entre estos organismos. Sin embargo, no está claro, si la duración de la respuesta o magnitud del ETA incrementaría conforme se aumentara en nivel de proteína en la dieta.

Considerando el bajo aporte de proteína proveniente de la *Ulva clathrata*, se puede mencionar que los organismos alimentados con esta alga utilizaron proteína como sustrato energético; lo cual se confirma con el bajo valor de O:N obtenido por estos organismos (O:N=20.4); esto mismo también coincide con los valores de la tasa de excreción nitrogenada, presentada por estos organismos, que están dadas por el catabolismo de proteínas.

En cuanto a los valores obtenidos de los organismos alimentados con las dietas control y 6.25% UH, el balance entre el nivel de proteína/energía de las dietas, se vio reflejado en la similitud de los valores obtenidos de la razón atómica O:N; los cuales, al ser mayor de 24, son indicativos de un catabolismo de lípidos. Esto concuerda con lo mencionado por Mayzaud y Conover (1988), quienes reportan valores de O:N de 24 para el metabolismo de igual cantidad de proteínas y lípidos, mientras que valores mayores a 24 corresponden a un catabolismo de lípidos; lo cual coincide también con lo mencionado por Chen y Lai (1993) y Chen y Nan (1993) para *Penaeus japonicus* y *P. chinensis*, respectivamente.

Los resultados fisiológicos indican que los organismos alimentados con *Ulva* fresca ingirieron una cantidad limitada de energía y estuvieron en un estado catabólico constante. Tal situación causó un presupuesto energético cercano a cero, limitando así su crecimiento. Mientras que los camarones alimentados con las dietas balanceadas mantuvieron un balance positivo en el

nivel de proteína/energía, independientemente del nivel de inclusión HU en las dietas.

Consumo, Razón de conversión alimenticia (RCA) y Razón de eficiencia proteica (REP)

La falta de diferencias significativas en términos de la RCA y la REP entre los organismos alimentados con las dietas evaluadas en el experimento 2 coincide con el hecho de que la harina de *Ulva* (HU) *per se* no aportó una cantidad significativa de proteína/energía para el camarón. Sin embargo, la mayor contribución de la inclusión de la HU en las dietas parece estar en el mejoramiento de la palatabilidad. Esto se vio reflejado en un aumento significativo en el consumo de alimento exhibido por los camarones alimentados con la dieta de 18.75% HU; lo cual resultó en un mayor crecimiento de los organismos (aunque no significativo), con el incremento de HU en las dietas.

Cruz-Suárez *et al.* (2000) y Rivera *et al.* (2002), también observaron que el consumo de alimento aumentó conforme se incrementó el nivel de inclusión del alga *Macrocystis pyrifera* en las dietas para *Litopenaeus vannamei*. Estos mismos autores mencionan que la digestibilidad del alimento también aumentó con el nivel de inclusión del alga, por lo que se podría esperar que la digestibilidad de las dietas evaluadas en nuestro estudio también sea mayor en las dietas con mayor inclusión de HU. Es por ello que se podría mencionar que

el consumo, y muy probablemente la digestibilidad del alimento, fueron los factores determinantes en el incremento en crecimiento que presentaron los organismos alimentados con la dieta de 18.75% HU; a pesar de que fueron los organismos que presentaron la mayor RCA y la menor REP. En contraste, los organismos alimentados con la dieta control presentaron una menor RCA y una mayor REP, así como el menor consumo de alimento y el crecimiento más bajo y por tanto posiblemente una menor eficiencia de absorción o digestibilidad.

Valores de RCA similares a los reportados en nuestro estudio fueron los obtenidos por Peñaflores y Golez (1996), quienes reportan un rango de RCA entre 2.9 y 4.0. Mientras que Cruz-Suárez *et al.* (2000; 2008) reportan menores valores de RCA (1.36 y 2.04; 1.78) y mayores de REP (1.74 y 2.70) para *Litopenaeus vannamei*; mientras que Rivera *et al.* (2002) reportan valores de RCA entre 1.7 y 2.8 para la misma especie.

VIII. CONCLUSIONES

Una dieta a base únicamente del alga *Ulva clathrata* no es capaz de mantener el crecimiento sostenido en juveniles de *Litopenaeus vannamei*.

Juveniles de *L. vannamei* alimentados a base de *U. clathrata* fresca obtienen suficiente energía para su mantenimiento, pero no para crecimiento.

Inclusiones de hasta un 18.75% de harina de *Ulva* en dietas balanceadas isoprotéicas e isoenergéticas tienden a promover el consumo de alimento y generan un crecimiento sostenido en juveniles de *L. vannamei*.

El estado fisiológico de los organismos alimentados con las dietas control y 6.25% de inclusión de harina de *Ulva* fue similar, por lo que la diferencia en crecimiento puede probablemente ser debido a las diferencias en el nivel de consumo de alimento.

IX. REFERENCIAS

- Álvarez, J.S., T. García, H. Villarreal, J. Galindo, I. Fraga y E. Pelegrin. 2004. Alternativas para obtener alimentos más eficientes en el engorde semiintensivo del camarón blanco *Litopenaeus schmitii*. En: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M.G. Nieto-López, D.A. Villarreal-Cavazos, U. Scholz y M.L. González-Félix (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 16-19 Noviembre, 2004. México. 721-746.
- A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1990. Animal Feed. IN: Official Methods of Analysis. 15th edition. AOAC. Washington, D.C. USA. 556 pp.
- Bayne, B. 1973. Aspects of the metabolism of *Mytilus edulis* during starvation. Neth. J. Sea Res. 7:399-410.
- Bayne, B.L y R.C. Newell. 1983. Physiological energetics of marine molluscs. En: Wilbur, K.M. y A.S.M. Saleuddin (eds.). The Mollusca, vol. 4, Academic Press, N.Y. 523 pp.

Bayne, B.L., D.A. Brown, K. Burns, D.R. Dixon, A. Ivanovici, D.R. Livingstone, D.M. Lowe, M.N. Moore, A.R.D. Stebbing y J. Windows. 1985. The Effects of Stress and Pollution on Marine Animals. ED. Praeger. USA. 384 pp.

Briggs, M.R.P. y S.J. Funge-Smith. 1996. The potential use of *Gracilaria* sp. meal diets for juvenile *Penaeus monodon* Fabricius. Aquacult. Res. 27:345-354.

Burggren, W. y J. Roberts. 1991. Respiration and metabolism. EN: Prosser, C.L. (ed.). Environmental and Metabolic Animal Physiology. Comparative Animal. 2da edición. New York, USA. 353-435.

Carvalho, P.S.M. y V.N. Phan. 1997. Oxygen consumption and ammonia excretion of *Xiphopenaeus kroyeri* Heller (Penaeidae) in relation to mass, temperature and experimental procedures, shrimp oxygen uptake and ammonia excretion. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 209:143-156.

Chen, J.C. y F.H. Nan. 1993. Changes of oxygen consumption and ammonia-N excretion by *Penaeus chinensis* Osbeck at different temperature and salinity levels. J. Crust. Biol. 13:706-712.

Chen, J.C. y S.H. Lai. 1993. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia-N excretion of juvenile *Penaeus japonicus* Bate. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 165:161-170.

CICTUS (Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora). 1982. El Cultivo del Camarón Azul: *Penaeus stylirostris* Stimpson. Sonora, México. 126 pp.

Clifford, H.C. y R.W. Brick. 1978. Protein utilization in the fresh water shrimp *Macrobrachium rosenbergii*. Proc. Ann. Meet. World Maricult. Soc. 9:195-208.

Colvin, L.B. y C.W. Brand. 1977. The protein requirement of penaeid shrimp at various life cycle stages in controlled environment systems. Proc. Ann. Meet. World Maricult. Soc. 8:821-840.

Conover, R. J. y E.D.S. Corner. 1968. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycle. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 48:49-75.

- Cousin, M., G. Cuzon, E. Blanchet, F. Ruelle y AQUACOP. 1993. Protein requirements following an optimum dietary energy to protein ratio for *Penaeus vannamei* juveniles. EN: Kaushik, S.J. y P. Luquet (eds.). Fish Nutrition in Practice. ED. INRA. Paris, Francia. 599-606.
- Costero, M.C. y S.P. Meyers. 1993. Consideraciones sobre atrayentes químicos y estimulantes de la alimentación del camarón de cultivo *Penaeus vannamei*. EN: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza-Alfaro (eds.). Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Monterrey, Nuevo León, 1993. 355-364.
- Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar y C. Guajardo-Barbosa. 2000. Uso de harina de kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos para camarón. EN: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M.A. Olvera-Novoa y R. Civera-Cerecedo (eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 19-22 Noviembre, 2000. Mérida, Yucatán. 227-266.
- Cruz-Suárez, L.E., M. Tapia-Salazar, M.G. Nieto-López, C. Guajardo-Barbosa y D. Ricque-Marie. 2008. Comparison of *Ulva clathrata* and the kelps *Macrocystis pyrifera* and *Ascophyllum nodosum* as ingredients in shrimp feeds. Aquacult. Nutr. (in press). 10 pp.

- Cuzon, G., A. Lawrence, G. Gaxiola, C. Rosas y J. Guillaume. 2004. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*. 235:513–551.
- Dall, W. y D.M. Smith. 1986. Oxygen consumption and ammonia-N excretion in fed and starved tiger prawns, *Penaeus esculentus* Haswell. *Aquaculture*. 55:23-33.
- Davies, S.J., M.T Brown, y M. Camilleri. 1997. Preliminary assessment of the seaweed *Porphyra purpurea* in artificial diets for thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*). *Aquaculture*. 152:249-258.
- De Silva y Anderson. 1995. *Fish Nutrition in Aquaculture*. 1ra edición. ED. Chapman y Hall. Great Britain. 319 pp.
- Díaz-Herrera, F., A.D. Re-Araujo, R.A González, L.N Sánchez, G. Leyva y F. Valenzuela. 2007. Temperature preference and oxygen consumption of the largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede) acclimated to different temperatures. *Aquacult. Res.* 38:1387-1394.
- DuPreez, H.H., H.Y. Chen y C.S. Hsieh. 1992. Apparent specific dynamic action of food in the grass shrimp *Penaeus monodon* Fabricius. *Comp. Biochem. Physiol.* 103A:173-178.

Ellis, J.N. 1994. Search of History: Early day trout feeds. *Aquacult. Mag.* July/August. 50-59.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. Assessing quality and safety of animal feeds. Paper 160. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma, Italia. 47 pp.

Fleming, A.E. 1998. Growth, intake, feed conversion efficiency and chemosensory preference of the Australian abalone, *Haliotis rubra*. *Aquaculture*. 132(3-4):297-311.

Flores, M., F. Díaz-Herrera, R. Medina, A.D. Re-Araujo y A. Licea. 2008. The effect of dietary astaxanthin on physiological responses of juvenile White shrimp *Litopenaeus vannamei* acclimated to low-salinity water. *J. Fish. Int.* 3(3):75-82.

Forster, I.P., W. Dominy, L. Obaldo y A.G.J. Tacon. 2003. Rendered meat and bone meals as ingredients of diets for shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*. 219(1-4):655-670.

Gaffney, P.M. y W.J. Diehl. 1986. Growth, condition and specific dynamic action in the mussel *Mytilus edulis* recovering from starvation. *Mar. Biol.* 93:401-409.

- Galindo, J., I. Fraga, M. De Arazoza, J.S. Álvarez, D. Ramos y R. González. 2002. Requerimientos nutricionales de juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus schmitti*): evaluación de dietas prácticas. I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, CIVA 2002. 84-94. Disponible en URL: <http://www.civa2002.org>
- García-Esquivel, Z., S. Montes-Magallón y M.A. González-Gómez. 2007. Effect of temperature and photoperiod on the growth, feed consumption, and biochemical content of juvenile green abalone, *Haliotis fulgens*, fed on a balanced diet. *Aquaculture*. 262:129-141.
- González-Aviles, J.G. y S.A. Shepherd. 1996. Growth and survival of the blue abalone *Haliotis fulgens* in barrels at Cedros Island, Baja California, with a review of abalone barrel culture. *Aquaculture* 140(1-2):169-176
- Guillaume, J., S. Kaushik, P. Bergot y R. Métailler. 1999. Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean. ED. INRA, IFREMER. 408 pp.
- Halver, J.E. 2002. Fish Nutrition. 3ra. edición. ED. Academic Press. Elsevier Science. USA. 791 pp.

- Hashim, R. y N.A. Mat Saat. 1992. The utilization of seaweed meals as binding agents in pelleted feeds for snakehead (*Channa striatus*) fry and their effects on growth. *Aquaculture*. 108:299–308.
- Hendrickx, M.E. y M.A. Meda-Martínez. 2001. Fauna asociada en relación con la operación de estanques camaronícolas en sistemas lagunares. EN: Páez-Osuna, F. (ed.). *Camaronicultura y Medio Ambiente*. ED. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. México. 59-74 p.
- Hertrampf, J.W. y F. Piedad-Pascual. 2000. *Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds*. ED. Klumer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda. 573 pp.
- Hewitt, D.R. y M.G. Irving. 1990. Oxygen consumption and ammonia excretion of the brown tiger prawn *Penaeus esculentus* fed diets of varying protein content. *Comp. Biochem. Physiol.* 96A: 373-378.
- Hill, R.W. y G.A. Wyse. 1980. *Fisiología Animal*. 2da edición. Ed. Akal. Madrid, España. 655 pp.
- Hopkins, K.D. 1992. Reporting fish growth: a review of the basics. *J. World Aquacult. Soc.* 23:287-298.

- Kanazawa, A. 1995. Recent developments in shrimp nutrition and feed industry. Paper pres. At Techn. Session of INDAQUA '95. Enero. Madras, India. 27-30.
- Kleiber, M. 1975. The Fire of Life. An Introduction to Animal Energetics. 2da edición. Huntington: Robert E. Krieger Publishing Co. New York, USA. 453 pp.
- Kureshy, N. y D.A Davis. 2002. Protein requirement for maintenance and maximum weight gain for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 204(1-2):125-143.
- Lawrence, J.M., S. Olave, R. Otaiza, A.L Lawrence y E. Bustos. 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. J. World Aquacult. Soc 28(1):91-96.
- Lovell, T. 1991. Aquaculture research needs for the year 2000: fish and crustacean nutrition. World Aquacult. 22(2):57-63.
- Lovell, T. 1998. Nutrition and Feeding of Fish. 2da edición. ED. Kluwer Academic Publishers. USA. 267 pp.

Lucas, A. 1996. Bioenergetics of Aquatic Animals. ED. Taylor y Francis Inc. Great Britain. 169 pp.

Marsden, I. D. y P.M.J. Williams. 1996. Factors affecting the grazing rate of the New Zealand abalone *Haliotis iris* Martyn. J. Shell. Res. 15(2):401-406.

Martínez-Palacios, C.A., L.G. Ross y L. Jiménez-Valenzuela. 1996. The effects of temperature and body weight on the oxygen consumption of *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. J. Aqua. Trop. 11:59-65.

Marinho-Soriano, E., M.R. Camara, T. de Melo-Cabral y M.A. do Amaral-Carneiro. 2007. Preliminary evaluation of the seaweed *Gracilaria cervicornis* (Rhodophyta) as a partial substitute for the industrial feeds used in shrimp (*Litopenaeus vannamei*) farming. Aquacult Res. 38:182-187.

Mayzaud, P. 1973. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. II Studies of the metabolic characteristics of starved animals. Mar. Biol. 21:19-28.

Mayzaud, P. y R.J. Conover. 1988. O:N atomic ration as a tool to describe zooplankton metabolism. Mar. Ecol. Prog. Ser. 45:289-302.

- Mendoza-Alfaro, R. 1993. Métodos para evaluar la digestibilidad proteica de los alimentos destinados a los organismos acuáticos. EN: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie y R. Mendoza-Alfaro (eds.). Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Monterrey, Nuevo León, 1993. 155-202.
- Meyers, S. 1993. Basics of aquaculture and aquaculture feed. EN: Lusas E., G. Guzmán y S. Doty (eds.). Feeds Extrusion Manual For Practical Short Course in Feed Extrusion. Texas A&M University, College Station, TX. 13 pp.
- Moll, B. y J. Deikman. 1995. *Enteromorpha clathrata*: a potencial seawater-irrigated crop. Biores. Technol. 52:225-260.
- Mustafa, M.G., S. Wakamatsu, T.A. Takeda, T. Umino y H. Nakagawa. 1995. Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red-sea bream. Fish. Sci. 6:25-28.
- Nakagawa, H., S. Kasahara y T. Sugiyama. 1987. Effect of *Ulva* meal supplementation on lipid metabolism of black sea bream, *Acanthopagrus sclegeli* (Bleeker). Aquaculture. 62:109-121.

- Nelson, S.C., A.W. Knight y H.W. Li. 1977. The metabolic cost of food utilization and ammonia production by juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Palaemonidae). *Comp. Biochem. Physiol.* 56A:67-72.
- Pascual, C., E. Zenteno, G. Cuzon, J. Suárez, A. Sánchez, G. Gaxiola, G. Taboada, T. Maldonado y C. Rosas. 2004. *Litopenaeus vannamei* juveniles energetic balance and immunological response to dietary proteins. *Aquaculture.* 239:375-395.
- Peñaflorida, V.D. y N.V. Golez. 1996. Use of seaweed meals from *Kappaphycus alvarezii* y *Gracilaria heteroclada* as binders in diets for juvenile shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture.* 143:393-401.
- Prosser, C.L. 1991. Temperature. En: Prosser, C.L. (ed.). *Comparative Animal Physiology, Environmental and Metabolic Animal Physiology.* 4ta. edición. ED. Wiley-Liss. New York. 109–165.
- Randall, D., W. Burggren y K. French. 2001. *Eckert Animal Physiology.* ED. W.H. Freeman and Company. New York. USA. 736 pp.

- Rivera, G., F. Yoong, G. Riofrío, B. Reinoso, F. Hurtado y P. Massuh. 2002. Inclusión de harina de Kelp (*Macrocystis pyrifera*) en alimentos balanceados para camarón. I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, Civa 2002. 244-252. Disponible en URL: <http://www.civa2002.org>
- Rosas, C., A. Sánchez, E. Díaz, L.A. Soto, G. Gaxiola y R. Brito. 1996. Effect of dietary protein level on apparent heat increment and postprandial nitrogen excretion of *P. setiferus*, *P. notialis*, *P. schmitti* and *P. duorarum* postlarvae. J. World Aquacult. Soc. 27:92-102.
- Schmidt-Nielsen, K. 1975. Animal Physiology, Adaptation and Environment. ED. Cambridge University Press. USA. 699 pp.
- Seiffert, Q.W. y E.R. Andreatta. 2004. El manejo de la alimentación y la sostenibilidad en el cultivo de camarones en el Brazil. EN: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M.G. Nieto-López, D.A. Villareal-Cavazos, U. Scholz y M.L. González-Félix (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México. 707-720.

- Smith, L.L., P.G. Lee, A.L. Lawrence y K. Strawn. 1985. Growth and digestibility of three sizes of *Penaeus vannamei* Boone: effects of dietary protein level and protein source. *Aquaculture*. 46(2):85-96.
- Snow, N.B. y P.J Williams Leb. 1971. A simple method to determine the O:N ration of small marine animals. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 51:105-109.
- Stern, S., A. Borut y D. Cohen. 1984. The effect of salinity and ion composition on oxygen consumption and nitrogen excretion of *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Comp. Biochem. Physiol.* 79A: 271-274.
- Stott, A., T. Takeuchi, Y. Koike, H. Yamakawa y O. Imada. 2002. Using micro particle diets to replace diatoms for feeding postlarval abalone *Haliotis discus discus* (Reeve). *Fish. Sci.* 68:1088-1093.
- Stuart, M.D. y M.T. Brown. 1994. Growth and diet of cultivated black-footed abalone, *Haliotis iris* (Martyn). *Aquaculture*. 127(4):329-337.
- Systat Software. 2006. SigmaStat for Windows versión 3.5. Copyright 2006 Systat Software, Inc.

- Tacon, A.G.J. 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: manual de capacitación. Proyecto Aquila II. Documento de Campo (FAO) no. 4. Brasilia, Brazil. 572 pp.
- Tan, R.K.H. y W.G. Dominy. 1997. Commercial pelleting of crustacean feeds. EN: D'Abramo, L.R., D.E. Conklin y D.M. Akiyama. (eds.). Crustacean Nutrition. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA, USA. 520-549 pp.
- Valente, L.M.P., A. Gouveia, P. Rema, J. Matos, E.F. Gomes y I.S. Pinto. 2006. Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*. 252:85-91.
- Viana, M.T., L.M. López, Z. García-Esquivel y E. Méndez. 1996. The use of silage made from fish and abalone viscera as an ingredient in abalone feed. *Aquaculture*. 140(1-2):87-98.
- Wahbeh, M.I. 1997. Amino acid and fatty acid profiles of four species of macroalgae from Aqaba and their suitability for use in fish diets. *Aquaculture*. 159(1-2):101-109.

West, E.S. y W.R. Todd. 1961. Textbook of Biochemistry. ED. Macmillan Co.
New York, USA. 1432 pp.

Yu, Y. 2004. Replacement of fishmeal with poultry byproduct meal and meat and bone meal in shrimp, tilapia and trout diets. EN: Cruz-Suárez, L.E., D. Ricque-Marie, M.G. Nieto-López, D.A. Villareal-Cavazos, U. Scholz y M.L. González-Félix (eds.). Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México. 182-201.

Zar, J. H. 1999. Biostatistical Analysis. Fourth edition. ED. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. USA. 926 pp.

X. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple del análisis proximal y estabilidad de las cuatro dietas evaluadas en el experimento 1.

Tabla 1. Análisis de varianza del análisis de humedad de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	2.928	0.976	565.748	<0.001
Residual	8	0.0138	0.00173		
Total	11	2.942			

Tabla 2. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de humedad de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
12.5% HU vs. 6.25% HU	1.352	4	56.370	<0.001	Si
12.5% HU vs. 18.75% HU	0.844	4	35.202	<0.001	Si
12.5% HU vs. Control	0.491	4	20.483	<0.001	Si
Control vs. 6.25% HU	0.861	4	35.888	<0.001	Si
Control vs. 18.75% HU	0.353	4	14.720	<0.001	Si
18.75% HU vs. 6.25% HU	0.508	4	21.168	<0.001	Si

Tabla 3. Análisis de varianza del análisis de cenizas de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	117.524	39.175	5177.767	<0.001
Residual	8	0.0605	0.00757		
Total	11	117.585			

Tabla 4. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de cenizas de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
18.75% HU vs. Control	8.418	4	167.617	<0.001	Si
18.75% HU vs. 6.25% HU	5.744	4	114.385	<0.001	Si
18.75% HU vs. 12.5% HU	3.018	4	60.094	<0.001	Si
12.5% HU vs. Control	5.400	4	107.524	<0.001	Si
12.5% HU vs. 6.25% HU	2.726	4	54.291	<0.001	Si
6.25% HU vs. Control	2.673	4	53.233	<0.001	Si

Tabla 5. Análisis de varianza del análisis de proteínas de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.756	0.252	0.615	0.624
Residual	8	3.277	0.410		
Total	11	4.033			

Tabla 6. Análisis de varianza del análisis de lípidos de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.346	0.115	6.003	0.019
Residual	8	0.154	0.0192		
Total	11	0.499			

Tabla 7. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de lípidos de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
18.75% HU vs. 6.25% HU	0.440	4	5.506	0.019	Si
18.75% HU vs. Control	0.241	4	3.012	0.223	No
18.75% HU vs. 12.5% HU	0.0724	4	0.906	0.916	No
12.5% HU vs. 6.25% HU	0.368	4	4.600	0.047	Si
12.5% HU vs. Control	0.169	4	2.107	0.486	No
Control vs. 6.25% HU	0.199	4	2.494	0.355	No

Tabla 8. Análisis de varianza del análisis de energía de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	242535.318	80845.106	117.966	<0.001
Residual	11	7538.608	685.328		
Total	14	250073.926			

Tabla 9. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de energía de las dietas evaluadas en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
Control vs. 18.75% HU	355.107	4	25.117	<0.001	Si
Control vs. 12.5% HU	249.528	4	17.649	<0.001	Si
Control vs. 6.25% HU	135.596	4	9.591	<0.001	Si
6.25% HU vs. 18.75% HU	219.512	4	16.770	<0.001	Si
6.25% HU vs. 12.5% HU	113.933	4	8.704	<0.001	Si
12.5% HU vs. 18.75% HU	105.579	4	8.066	<0.001	Si

Tabla 10. Prueba t del análisis de estabilidad de dos de las dietas evaluadas en el experimento 1 (20h de inmersión).

Nombre de Grupo	N	Missing	Media	Dev Std	SEM
Control	3	0	67.368	5.994	3.460
6.25% HU	3	0	38.972	5.011	2.893

Diferencia: 28.396; $t = 6.295$ con 4 grados de libertad ($P = 0.003$).

Anexo 2. Análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple del crecimiento de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Tabla 11. Análisis de varianza de los pesos iniciales de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	4	0.00853	0.00213	0.518	0.725
Residual	10	0.0412	0.00412		
Total	14	0.0497			

Tabla 12. Análisis de varianza de los pesos finales de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	4	34.944	8.736	92.590	<0.001
Residual	10	0.944	0.0944		
Total	14	35.888			

Tabla 13. Prueba de comparación múltiple de Tukey de los pesos finales de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
6.25% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	3.975	5	22.414	<0.001	Si
6.25% HU vs. Control	0.730	5	4.117	0.090	No
6.25% HU vs. 12.5% HU	0.103	5	0.581	0.993	No
6.25% HU vs. 18.75% HU	0.0383	5	0.216	1.000	No
18.75% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	3.937	5	22.198	<0.001	Si
18.75% HU vs. Control	0.692	5	3.901	0.113	No
18.75% HU vs. 12.5% HU	0.0647	5	0.365	0.999	No
12.5% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	3.872	5	21.833	<0.001	Si
12.5% HU vs. Control	0.627	5	3.536	0.166	No
Control vs. <i>Ulva</i> fresca	3.245	5	18.297	<0.001	Si

Tabla 14. Análisis de varianza de la tasa de crecimiento específico (TCE) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	4	16.175	4.044	352.412	<0.001
Residual	10	0.115	0.0115		
Total	14	16.290			

Tabla 15. Prueba de comparación múltiple de Tukey de la tasa de crecimiento específico (TCE) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cinco tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
18.75% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	2.683	5	43.388	<0.001	Si
18.75% HU vs. Control	0.284	5	4.594	0.054	No
18.75% HU vs. 6.25% HU	0.0979	5	1.583	0.793	No
18.75% HU vs. 12.5% HU	0.0162	5	0.262	1.000	No
12.5% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	2.667	5	43.126	<0.001	Si
12.5% HU vs. Control	0.268	5	4.332	0.071	No
12.5% HU vs. 6.25% HU	0.0817	5	1.320	0.878	No
6.25% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	2.585	5	41.805	<0.001	Si
6.25% HU vs. Control	0.186	5	3.011	0.280	No
Control vs. <i>Ulva</i> fresca	2.399	5	38.794	<0.001	Si

Anexo 3. Análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple del metabolismo de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Tabla 16. Análisis de varianza de la tasa metabólica de rutina (VO_{2pre}) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	DF	SS	MS	F	P
Entre Grupos	2	106624.305	53312.152	13.979	<0.001
Residual	29	110599.030	3813.760		
Total	31	217223.335			

Tabla 17. Prueba de comparación múltiple de Tukey de la tasa metabólica de rutina (VO_{2pre}) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q _i	P	P<0.050
<i>Ulva</i> fresca vs. 6.25% HU	131.529	3	7.476	<0.001	Si
<i>Ulva</i> fresca vs. Control	54.622	3	2.702	0.154	No
Control vs. 6.25% HU	76.907	3	3.643	0.040	Si

Tabla 18. Análisis de varianza de la tasa metabólica post-alimentación (VO_{2post}) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	2	169262.725	84631.362	20.538	<0.001
Residual	29	119500.722	4120.715		
Total	31	288763.447			

Tabla 19. Prueba de comparación múltiple de Tukey de la tasa metabólica post-alimentación (VO_{2post}) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
<i>Ulva</i> fresca vs. 6.25% HU	164.799	3	9.011	<0.001	Si
<i>Ulva</i> fresca vs. Control	91.466	3	4.353	0.012	Si
Control vs. 6.25% HU	73.333	3	3.341	0.063	No

Tabla 20. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis de la tasa de excreción de amonio (VNH_4) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Grupo	N	Missing	Mediana	25%	75%
<i>Ulva</i> fresca	14	0	23.525	14.607	30.311
Control	7	0	14.600	13.097	15.153
6.25% HU	11	0	9.589	8.588	14.060

H = 12.930 con 2 grados de libertad (P = 0.002)

Tabla 21. Prueba de comparación múltiple de Dunn's de la tasa de excreción de amonio (VNH_4) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Rangos	Q	P<0.05
<i>Ulva</i> fresca vs. 6.25% HU	13.591	3.596	Si
<i>Ulva</i> fresca vs. Control	6.071	1.398	No
Control vs. 6.25% HU	7.519	1.658	No

Tabla 22. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis de la tasa metabólica de rutina estandarizada de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Grupo	N	Missing	Mediana	25%	75%
<i>Ulva</i> fresca	14	0	718.426	671.296	754.272
Control	7	0	1033.284	959.264	1197.838
6.25% HU	11	0	963.440	848.732	1172.136

H = 20.831 con 2 grados de libertad (P<0.001)

Tabla 23. Prueba de comparación múltiple de Dunn's de la tasa metabólica de rutina estandarizada de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Rangos	Q	P<0.05
Control vs. <i>Ulva</i> fresca	16.857	3.882	Si
Control vs. 6.25% HU	2.857	0.630	No
6.25% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	14.000	3.704	Si

Tabla 24. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis de la tasa metabólica post-alimentación estandarizada de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Grupo	N	Missing	Median	25%	75%
<i>Ulva</i> fresca	14	0	910.882	876.201	992.442
Control	7	0	1280.135	1248.424	1426.225
6.25% HU	11	0	1340.858	1145.509	1485.073

H = 21.274 con 2 grados de libertad (P = <0.001)

Tabla 25. Prueba de comparación múltiple de Dunn's de la tasa metabólica post-alimentación estandarizada de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Comparación	Dif. de Rangos	Q	P<0.05
Control vs. <i>Ulva</i> fresca	16.429	3.783	Si
Control vs. 6.25% HU	1.740	0.384	No
6.25% HU vs. <i>Ulva</i> fresca	14.688	3.886	Si

Tabla 26. Análisis de varianza de Kruskal-Wallis de la razón atómica O:N de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Grupo	N	Missing	Mediana	25%	75%
<i>Ulva</i> fresca	14	0	20.411	14.456	31.100
Control	7	0	26.907	25.538	27.568
6.25% HU	11	0	27.500	25.339	38.479

H = 2.158 con 2 grados de libertad (P = 0.340)

Tabla 27. Análisis de varianza del efecto térmico del alimento (ETA) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con tres de los tratamientos evaluados en el experimento 1.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Between Groups	2	330.054	165.027	0.438	0.649
Residual	29	10916.753	376.440		
Total	31	11246.807			

Anexo 4. Análisis de varianza y pruebas de comparación múltiple del análisis proximal y estabilidad de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Tabla 28. Análisis de varianza del análisis de humedad de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	13.068	4.356	835.254	<0.001
Residual	8	0.0417	0.00522		
Total	11	13.110			

Tabla 29. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de humedad de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P<0.05
12.5% HU vs. Control	2.200	4	52.764	Si
12.5% HU vs. 6.25% HU	2.092	4	50.173	Si
12.5% HU vs. 18.75% HU	0.124	4	2.977	No
18.75% HU vs. Control	2.076	4	49.786	Si
18.75% HU vs. 6.25% HU	1.968	4	47.196	Si
6.25% HU vs. Control	0.108	4	2.590	No

Tabla 30. Análisis de varianza del análisis de cenizas de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	91.621	30.540	15296.104	<0.001
Residual	8	0.0160	0.00200		
Total	11	91.637			

Tabla 31. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de cenizas de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P<0.05
18.75% HU vs. Control	7.347	4	284.788	Si
18.75% HU vs. 6.25% HU	5.117	4	198.331	Si
18.75% HU vs. 12.5% HU	2.456	4	95.209	Si
12.5% HU vs. Control	4.891	4	189.579	Si
12.5% HU vs. 6.25% HU	2.660	4	103.122	Si
6.25% HU vs. Control	2.230	4	86.457	Si

Tabla 32. Análisis de varianza del análisis de proteínas de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	2.760	0.920	0.827	0.515
Residual	8	8.897	1.112		
Total	11	11.657			

Tabla 33. Análisis de varianza del análisis de lípidos de las dietas de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.0720	0.0240	0.755	0.550
Residual	8	0.254	0.0318		
Total	11	0.326			

Tabla 34. Análisis de varianza de dos vías de la estabilidad de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Dieta	3	777.178	259.059	16.974	<0.001
Tiempo inmersión	1	666.914	666.914	43.697	<0.001
Dieta x Tiempo inmersión	3	115.930	38.643	2.532	0.094
Residual	16	244.195	15.262		
Total	23	1804.218	78.444		

Tabla 35. Prueba de comparación múltiple de Tukey del análisis de estabilidad de las dietas evaluadas en el experimento 2.

Comparación por el factor Dieta

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
Control vs. 18.75% HU	13.710	4	8.596	<0.001	Si
Control vs. 12.5% HU	13.151	4	8.246	<0.001	Si
Control vs. 6.25% HU	5.466	4	3.427	0.113	No
6.25% HU vs. 18.75% HU	8.244	4	5.169	0.010	Si
6.25% HU vs. 12.5% HU	7.685	4	4.819	0.017	Si
12.5% HU vs. 18.75% HU	0.559	4	0.351	0.994	No

...continuación Tabla 35

Comparación por el factor de Tiempo de Inmersión

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.050
8.000 vs. 16.000	10.543	2	9.348	<0.001	Si

Comparación por factor: Tiempo inmersión con Control

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
8.000 vs. 16.000	5.732	2	2.541	0.091	No

Comparación por factor: Tiempo inmersión con 6.25% HU

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
8.000 vs. 16.000	7.445	2	3.301	0.033	Si

Comparación por factor: Tiempo inmersión con 12.5% HU

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
8.000 vs. 16.000	17.074	2	7.570	<0.001	Si

Comparación por factor: Tiempo inmersión con 18.75% HU

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
8.000 vs. 16.000	11.921	2	5.285	0.002	Si

...continuación Tabla 35

Comparación del factor de interacción entre la Dieta y Tiempo de Inmersión

Dieta con 8 hrs

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
Control vs. 18.75% HU	10.616	4	4.707	0.020	Si
Control vs. 12.5% HU	7.480	4	3.316	0.129	No
Control vs. 6.25% HU	4.609	4	2.044	0.491	No
6.25% HU vs. 18.75% HU	6.006	4	2.663	0.274	No
6.25% HU vs. 12.5% HU	2.871	4	1.273	0.805	No
12.5% HU vs. 18.75% HU	3.136	4	1.390	0.761	No

Dieta con 16 hrs

Comparación	Dif. de Medias	p	q	P	P<0.05
Control vs. 12.5% HU	18.821	4	8.345	<0.001	Si
Control vs. 18.75% HU	16.804	4	7.450	<0.001	Si
Control vs. 6.25% HU	6.322	4	2.803	0.236	No
6.25% HU vs. 12.5% HU	12.499	4	5.542	0.006	Si
6.25% HU vs. 18.75% HU	10.482	4	4.647	0.022	Si
18.75% HU vs. 12.5% HU	2.017	4	0.894	0.920	No

Anexo 5. Análisis de varianza del crecimiento de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Tabla 36. Análisis de varianza de los pesos iniciales de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.173	0.0577	2.722	0.114
Residual	8	0.170	0.0212		
Total	11	0.343			

Tabla 37. Análisis de varianza de los pesos finales de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.674	0.225	3.284	0.079
Residual	8	0.547	0.0684		
Total	11	1.221			

Tabla 38. Análisis de varianza de la tasa de crecimiento específico (TCE) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre grupos	3	0.139	0.0462	0.763	0.546
Residual	8	0.484	0.0605		
Total	11	0.623			

Anexo 6. Análisis de varianza de los parámetros de conversión del alimento de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Tabla 39. Análisis de varianza del consumo de alimento de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	3.615	1.205	10.141	0.004
Residual	8	0.950	0.119		
Total	11	4.565			

Tabla 40. Prueba de comparación múltiple de Tukey del consumo de alimento de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Comparación	Dif. de Medias		p	q	P<0.05
18.75% HU vs. Control	1.387	4		6.969	Si
18.75% HU vs. 12.5% HU	1.250	4		6.280	Si
18.75% HU vs. 6.25% HU	1.101	4		5.530	Si
6.25% HU vs. Control	0.286	4		1.439	No
6.25% HU vs. 12.5% HU	0.149	4		0.750	No
12.5% HU vs. Control	0.137	4		0.689	No

Tabla 41. Análisis de varianza de la razón de conversión alimenticia (RCA) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	2.582	0.861	0.667	0.596
Residual	8	10.325	1.291		
Total	11	12.907			

Tabla 42. Análisis de varianza de la razón de eficiencia proteica (REP) de los juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con los cuatro tratamientos evaluados en el experimento 2.

Fuente de Variación	GL	SS	MS	F	P
Entre tratamientos	3	0.171	0.0570	0.595	0.636
Residual	8	0.767	0.0959		
Total	11	0.938			