ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

"Inclusión de Harina de Kelp (*Ascophyllum nodosum*) en alimentos para reproductores de *Litopenaeus vannamei*"

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO ACUACULTOR

Presentada por:

Hugo Renato Hernández Sumba

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO: 2005

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL

CIB-ESPOL

Hugo Renato Hernández S.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser luz y verdad en los momentos más difíciles de la vida...

Al Laboratorio de Maduración "Centinela", perteneciente al grupo EXPALSA, a su Gerente de Producción Walter Intriago, por haberme brindado la oportunidad de realizar este trabajo. Gracias por su apoyo.

A todas las personas que de uno u otro modo colaboraron en la realización de este trabajo y especialmente al Ac. Gabriel Rivera, mi director de tesis, mi maestro y amigo, por su invaluable ayuda.

DEDICATORIA

A mi madre Miriam, a mi tía Delia, gracias por estar siempre conmigo, por darme su amor y apoyo incondicional.

A mi hermano Cristhian, por su cariño y por saber escucharme cuando más lo necesité.

A mi esposa Viviana, por compartir bellos momentos juntos.

A mis hijos Daniel y Naydeline por ser las personas que dan luz a mis días y motivo para seguir adelante.

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

M.Sc. Jerry Landivar
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ac. Gabriel Rivera
DIRECTOR DE TESIS

CIB-ESPOL

M.Sc. Victor Osorio
MIEMBRO PRINCIPAL

Ph.D. Marcelo Muñoz
MIEMBRO PRINCIPAL

ABREVIATURAS

%	Tanto por ciento
° C	Grados centígrados
ANOVA	Análisis de varianza
EDTA	Ácido etilen di amino tetra acético
M-W-U-test	Man-Whitney U test
ppm	Partes por millón
ppt	Partes por mil
PVC	Cloruro de polivinilo
TM	Toneladas métricas

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO 4

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

INDICE DE ANEXOS

RESUMEN

Dos ensayos nutricionales a escala comercial fueron realizados para comprobar el efecto de la inclusión de Harina de kelp el primero en dietas artificiales y el segundo con inclusión de Harina de kelp al alimento fresco, en el rendimiento reproductivo de *Litopenaeus vannamei*. Para este propósito, un total de 600 reproductores fueron utilizados en cada prueba y con similares condiciones de temperatura y salinidad para cada uno. Hembras ablacionadas fueron sembradas en seis (6) tanques de maduración con capacidad para 7 toneladas de agua, con una relación macho: hembra de 1:1. Un control y un tratamiento fueron evaluados en cada experimento. En la primera prueba, el tratamiento se basó en la sustitución del 5% de los alimentos frescos del régimen alimenticio con una dieta artificial. El control estuvo basado en el régimen alimenticio normal del laboratorio comercial.

Para el segundo experimento, se incluyó el 10% de harina de *kelp* al régimen alimenticio normal es decir al calamar. El control, para este experimento, fue basado en el régimen alimenticio del laboratorio. En el diseño experimental, cada hembra fue considerada como una réplica en la obtención de huevos al inicio de cada experimento y, además, un set experimental fue utilizado para

realizar un control de la eclosión y la calidad de los nauplios, donde cada tanque fue considerado como una replica. Los resultados del primer experimento no demostraron diferencias estadísticamente significativas en lo referente a los datos generales de producción por desove, producción por hembra, así como la variabilidad de los datos obtenidos. En este experimento no hubo indicativos de un posible efecto sobre los reproductores, siendo esto observado en los resultados totales de producción, donde la cantidad de huevos, nauplios y zoeas fue muy similar con respecto al tratamiento control. Este mismo efecto se pudo observar en el segundo experimento, donde el tratamiento que incluía harina de *kelp* en los alimentos frescos, fue ligeramente menor al control. Estos resultados llevaron a concluir que la inclusión de harina de *kelp*, en las dietas para maduración al 10 y 5% no tuvieron efecto sobre el rendimiento reproductivo de *L. vannamei*.

INTRODUCCION

En el Ecuador, las camaroneras dependían de la captura de postlarvas o semillas que eran recolectadas en estuarios y áreas costeras por pescadores artesanales (Arellano *et al.*, 1984) pero éstas desafortunadamente fueron afectadas por diferentes tipos de virus y enfermedades que llevaron casi a la quiebra a este sector productivo del país y la depredación del recurso natural.

Por esta razón, los laboratorios comerciales existentes están optimizando las técnicas de maduración de reproductores en cautiverio con el fin de no depender del medio natural y elevar la producción en las camaroneras ecuatorianas.

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

La harina de *kelp* deshidratada es un ingrediente bajo en calorías, con una alta concentración de minerales (Mg, Ca, P, K, I y Se), vitaminas (A, B2 y B12), proteínas, carbohidratos complejos poco digestibles, fibra y bajo contenido en lípidos (Jiménez-Escrig y Goñi-Cambrodon, 1999). La calidad de la proteína y de los lípidos es aceptable en comparación con otras fuentes vegetales principalmente debido al alto contenido de aminoácidos esenciales y altos valores relativos de ácidos grasos insaturados.

Actualmente, las dietas utilizadas para la reproducción de camarones a nivel comercial son utilizadas para sustituir sólo del 5 al 20% del alimento fresco.

En un extenso estudio llevado a cabo por Cruz *et al.* (2000) donde se alimentaron camarones *L. vannamei*, se concluye que la harina de kelp incluida entre el 2 y 4% en alimentos peletizados para camarón, funciona como un excelente aditivo atractante, aglutinante y texturizante, que permite una utilización más eficiente de los nutrientes dietarios, al asegurar una menor lixiviación y una amplificada ingesta en ensayos para engorde de camarón dentro del Programa Maricultura, en la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) de México, entre los cuales podemos destacar el incremento en el consumo de alimento, mejora en la tasa de crecimiento y producción de biomasa del camarón hasta en un 100%.

El contenido de selenio (micro nutriente) de la harina de kelp es muy importante y podría tener interesantes influencias sobre la reproducción del camarón *L. vannamei* por su acción estimulante de la libido sexual comprobada en cerdos y otras especies (Marín-Guzmán, 2000).

En 1999, en la camaronera "Marfrisco" situada en Balao Chico-Guayas, se utilizó un suplemento de selenio orgánico en el alimento artificial de reproductores en una piscina de 0.1 hectáreas, esta piscina contenía reproductores con pesos aproximados de 30 a 40 g. las cópulas se incrementaron dramáticamente (Biol. Estuardo Maldonado, comm. pers.).

En Diciembre del 2001, se realizó un bioensayo en el laboratorio de maduración de "Aquatecsa" situado en San Pablo-Guayas realizado por el Sr. Jorge Villavicencio para probar las cualidades de esta harina en maduración, obteniendo resultados favorables, pero no documentados. La prueba fue supervisada por el Biol. Julio Macías (2001), sus comentarios y los resultados obtenidos (Biol. Julio Macías, comm. pers.) (Anexo1) fueron la pauta para realizar la presente tesis con lo cual esperamos obtener buenos resultados a nivel comercial en la maduración de *L. vannamei*, en dietas dentro de un laboratorio comercial.

CAPITULO 1

1.1 ASPECTOS QUIMICOS Y BIOLOGICOS DE *ASCOPHYLLUM NODOSUM*

El kelp es un nombre genérico utilizado para denominar a las algas cafés feofitas de los ordenes Fucales (e.i. *Ascophyllum nodosum, Sargassum* spp y *Pelvetia* spp.) y Laminariales (e.i. *Laminaria hyperborea, Macrocystis pyrifera y Nereocystis luetkaena*) (Vásquez, 1999), aunque hay algunos autores que consideran dentro de este término, específicamente a las Laminarias (Vozzhinskaya y Kuzin, 1994; Kloareg y Gall, 1999). Estas algas generalmente se localizan en zonas de sustratos rocosos cercanas a las costas a profundidades no mayores de 40 metros, en aguas templadas o frías, claras y ricas en nutrientes. Las principales áreas donde se localiza *Ascophyllum nodosum* es en las costas de Bretaña y Irlanda. Se han informado poblaciones en las aguas de Rhode Island, EE.UU.

A. nodosum es un alga marina café grande muy común, domina en las orillas rocosas protegidas. La especie tiene largas hojas con huevos grandes formados a intervalos regulares. Las hojas de *A. nodosum* tienen entre 0.5 y 2m de longitud. La especie lleva a menudo mechones de las algas de filamentos rojizos-castaños pequeños. Se forma en medio de la orilla, la especie crece despacio y pueden vivir por varias décadas. Las hojas individuales pueden llegar a los 15 años de edad antes de la rotura.

Phylum	Chromophycota
Clase	Phacophyceae
Orden	Fucales
Familia	Fucaceae
Género	Ascophyllum
Especie	Nodosum
Autoridad	Le Jolis, 1863

Los rasgos importantes de identificación son:

- Talo (conjunto de raíz, tallo y hojas) formado por ejes comprimidos, sin nervio medio.

- Los cuerpos reproductores son redondeados en tallos cortos.
- Pueden aparecer vesículas flotadoras.

Se encuentran a menudo en el lago de la costa de Escocia y a veces en gran abundancia en bahías e islas pequeñas.

Su abundancia típica es de densidad alta, llegando a tener un tamaño de 2 metros en estado maduro, tiene un crecimiento en forma de arbusto, su crecimiento va desde 5 a 15 cm. por año. Su cuerpo es flexible, pero su movilidad es de atadura permanente. Posee un método característico de alimentación, el foto-auto tropismo, es una especie no tóxica.

La especie tiene vida larga. La proporción de crecimiento es muy lenta cuando está en sus primeros estadios, pero aumenta con la edad de la planta. Durante el primer año de crecimiento toma 0.2 cm. por año, subiendo a 1.5 cm. por año en el segundo.

Ellos se reproducen anualmente. Se piensa que las raíces de *A. nodosum* persisten durante varias décadas de las que nuevas hojas se generan.

La proporción de crecimiento es la máxima por la mañana, seguido por un declive continuo a lo largo del día (Hernández & Carmona, 1996). En Strangford Lough en Irlanda del Norte, observaron el crecimiento estacional con crecimientos bajos durante Noviembre y Diciembre, y el crecimiento más alto en primavera y verano.

Su distribución global se restringe al Océano Atlántico Norte. Sus límites norteños son el Mar Blanco en el este e Isla de Baffin en el oeste. Las distribuciones del sur se extienden al Norte de Portugal y New Jersey.

Tabla 1.- Principales especies de algas cafés, distribución y uso

Especie	Distribución	Principal uso
Ascophyllum nodosum	Bretaña, Irlanda, Noruega y Sur de Nueva Escocia, Canadá.	Producción de alginato en Canadá, producción de alginatos y de harina de kelp como forraje o aditivo alimenticio niveles de 5% en aves, bovinos, caprinos, cerdos y equinos. Consumo fresco por ganado. Extractos como fertilizantes.
Laminaria	Escocia, Irlanda, Noruega, Francia, china, Japón, Corea	En Asia: consumo humano, Japón solo desechos para alginato, China produce por cultivo y usa para consumo humano y alginato
Laminaria hyperborea	Francia, Irlanda, Escocia, Noruega	Noruega produce alginatos (Protan)
Laminaria digitata	Francia, Noruega y Escocia	Alginatos
Durvillaea antártica	Chile	Exportada para alginatos a Inglaterra y estados Unidos
Durvillaea potatorum	Australia	Exportada para alginatos a Inglaterra y estados Unidos
Lessonia	Chile	Exportada a Japón, Estados Unidos y Canadá para alginatos
Ecklonia cava	Japón y Corea, Sudáfrica	Alginato, Sudáfrica exporta
Undaria	Corea	Consumo humano, deshechos para alginato
Sargassum	India, Filipinas	Exporta y localmente alimento animal y fertilizante
Turbinaria	India	Exporta y localmente alimento animal y fertilizante
Macrocystis	Costa oeste de Norteamérica, de la península de Monterrey en California Central a la mitad de la Baja California costa oeste. Costa de Tasmania y de Australia, Perú Chile, Argentina	En California: Industria del Alginato (Kelko), poca producción de harina o alga deshidratada para consumo animal o humano farmacéutico (Productos del Pacifico). Forraje y aditivo alimenticio. Fuente de potasa para fertilizante y explosivos (Primera Guerra Mundial).

Fuente: McHugh, 1987

El *A. nodosum* se cosecha en Irlanda y Escocia para el uso en alginatos, fertilizantes y para la fabricación de alimento para uso animal y consumo humano. Alrededor de 32,000 T. se cosechan por año. La especie también se cosecha en Europa, Canadá y en la parte norte y oeste del Atlántico. La sobreexplotación ha llevado a las poblaciones a escasear severamente en muchas regiones.

El uso de algas a escala industrial ha requerido, para propósitos prácticos, de un análisis detallado de sus contribuyentes químicos (Anexo 2). Desde el punto de vista nutricional, las algas son productos bajos en calorías, con una alta concentración de minerales (Mg, Ca, P, K y I), vitaminas, proteínas, carbohidratos poco digestibles, fibra y bajo contenido en lípidos (Jiménez-Escrig y Goñi-Cambrodon, 1999).

La calidad de la proteína y de los lípidos es aceptable en comparación con otras fuentes vegetales principalmente debido al alto contenido de aminoácidos esenciales y altos valores relativos de ácidos grasos insaturados. El perfil de aminoácidos destaca por contener elementos esenciales para diversas especies como: Alanina, leucina y lisina y no esenciales como ácido glutámico, ácido aspártico, considerándose como una fuente de proteína complementaria, interesante por este aspecto.

Los carbohidratos se encuentran en esta alga en forma de carbohidratos complejos o ficocoloides (40%), estos se presentan en forma de gomas: Alginatos (18-26%), fucoidinas (polisacáridos sulfatados, glucuronoxiloglucan sulfatado) (0.5-2%), manitol (6-22%). Estos tienen la capacidad de retener agua (con sus minerales) en el alga para evitar la deshidratación (Rodríguez & Hernández, 1991). Por su alto contenido de cenizas, la harina de algas es una fuente potencial de minerales como cloro, potasio, magnesio, yodo y otros minerales traza. "Su fibra, constituida principalmente de polisacáridos solubles, difiere química y físico-químicamente de la fibra de plantas terrestres y por lo tanto induce diferentes efectos fisiológicos".

En general la composición química de las algas varía considerablemente de especie a especie y en función de su localización geográfica, estaciones del año, exposición al oleaje y a las corrientes, concentración de nutrientes presentes en el medio, profundidad a la que se localizan, la temperatura, estado de desarrollo de las algas, etc. (Tabla 2).

Tabla 2.- Perfil de aminoácidos presentes (% de proteína).

Arginina	3.55 %
Histidina	2.05 %
Isoleucina	3.25 %
Leucina	5.59 %
Ácido Aspártico	8.3 %
Metionina	1.65 %
Ácido Glutámico	9.75 %
Treonina	3.66 %
Serina	4.1 %
Valina	4.39 %
Glicina	5.32 %
Alanina	6.89 %
Tirosina	2.1 %
Fenilalanina	4.16 %
Lisina	5.25 %
Taurina	0.86 %

Composición química de Macrocystis y Ascophyllum (%, base seca)

Fuente: Rodríguez-Montesinos y Hernández-Carmona, 1991; Castro-González et al. 1994; Castro-González et al., 1991.

Anualmente más de 4 millones de toneladas de kelp son cosechadas, principalmente de su cultivo comercial en China, Japón y Corea o de poblaciones naturales presentes en Europa, Norte y Sudamérica (Kloareg *et al.* 1999). Comercialmente, las algas cafés son utilizadas en Asia normalmente para consumo humano, y en Europa y América para la producción de harina de algas y especialmente para la producción de ficocoloides, principalmente alginato, el cual genera anualmente US $250,000,000 (Vásquez, 1999).

El kelp también ha sido utilizado por cientos de años como fertilizante y como complemento nutricional en alimentos para ganado (Guzmán del Proo *et al.* 1986).

Las principales fuentes comerciales son las especies de *Ascophyllum* y *Laminaria* (Europa), *Lessonia* (América del Sur), *Ecklonia* (Sudáfrica), *Durvillaea* (Australia y Chile) y *Macrocystis* (California y Baja California, Perú y Chile). Las especies de *Sargassum* y *Turbinaria* se recolectan en aguas más cálidas, pero normalmente sólo producen pequeñas cantidades de alginato de calidad inferior.

Estos alginatos se emplean en procesos en los que se requiere un agente espesante, gelificante, emulsificante, formador de películas o que dé cuerpo a ciertas sustancias (Guzmán del Proo *et al.* 1986). Los alginatos son ampliamente utilizados en la industria de textiles (42%), alimentos (34%), papel (9.4%), farmacéutica y productos dentales (5.3%), y otras actividades productivas (3.2%) (Vásquez, 1999).

1.2 APLICACIONES EN ALIMENTACION DE ANIMALES TERRESTRES

El uso de algas deshidratadas como complemento alimenticio ha dado buenos resultados en humanos, bovinos y aves. Estudios clínicos y universitarios han demostrado que ésta es la forma más beneficiosa de consumir algas marinas para humanos y animales. Varios estudios con algas aún son realizados para combatir muchos tipos de cánceres (Teas, 1981; Furusawa y Furusawa, 1985; Yamamoto *et al.,* 1986 y Riou *et al.*, 1996).

El *A. nodosum* mejora en el ganado la eficiencia de utilización del alimento y la ganancia en peso; incrementa la producción de leche, prolonga los períodos de lactación, aumenta la asimilación de yodo y vitaminas, mejora la proporción de concepción y aumenta el nacimiento de vacas saludables, aumenta los niveles de hemoglobina en sangre, produce una reducción en el contenido de grasa en la carne, menos problemas causados por deficiencias dietéticas como mastitis (Inflamación de las mamas), placenta retenida, fiebre de leche, abortos y esterilidad.

Estos mismos efectos positivos han sido observados en aves, como por ejemplo plumaje más luminoso, aumento rápido de peso, aumento de yodo en el volumen de huevos producidos, yemas profundamente coloreadas con mejor pigmentación, cascarón más resistente con lo cual existen menos roturas de los huevos, reduce las manchas de sangre en los huevos, ayuda al combate de enfermedades y disminuye el uso de antibióticosx (Strand, 1998).

En cerdos mejora la conversión alimenticia, aumenta el peso rápidamente ahorrando semanas antes de la comercialización, aumenta la carne y disminuye la grasa del animal, además de reducir la presencia de parásitos en el hígado, aumenta la libido sexual y fertilidad. La deficiencia de selenio en cerdos afecta la integridad, morfología del esperma, motilidad, el número de espermatozoides maduros y las reservas de esperma en los testículos. El selenio es esencial para el desarrollo del esperma y la maduración.

Tabla 3.- Efecto del selenio sobre la fertilidad en cerdos.

	Selenio (ppm)	
	0	**0.5**
Motilidad del esperma (%)	60	88
Esperma normal (%)	24	62
Radio de fertilización (%)	73	98

Marín-Guzmán, 2000

Cerdos alimentados con dietas deficientes en Se presentan espermatozoides con anormalidad estructural en la zona media de sus colas.

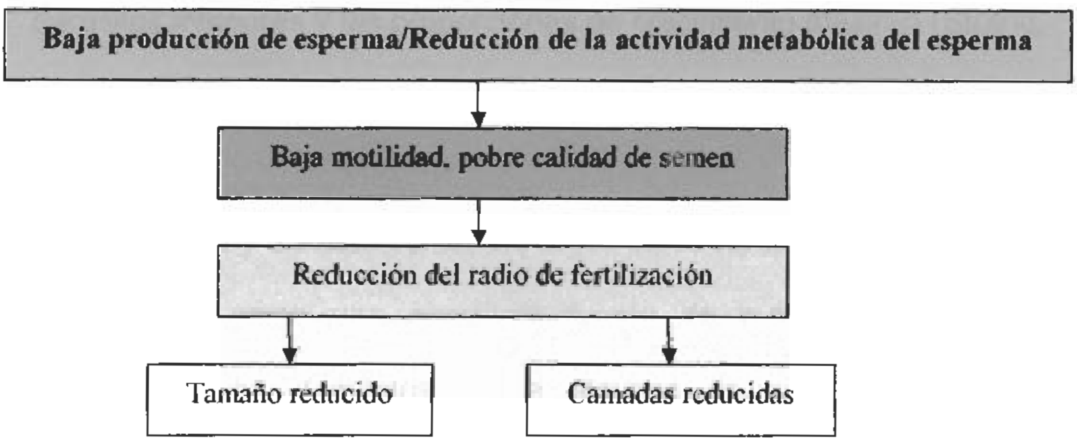


Fig. 1. Esquema relacionado al bajo consumo de Selenio en cerdos

Fuente: Marín-Guzmán, 2000

En caballos promueve la resistencia a infecciones y hace más rápido el tiempo de curación de las lesiones, aumenta la fertilidad, elimina hábitos nerviosos, la textura elástica y superficial mejoran (Strand, 1998).

.

En las ovejas aumentan hasta en un 20% la producción de lana debido a la habilidad del alga a prevenir la muda, la calidad de la fibra es más larga y fuerte. Reduce las mortandades por la enfermedad del músculo blanco, aumenta el porcentaje de corderos nacidos por oveja, reduce parásitos interiores y las proporciones de crecimiento mejoran (Strand, 1998).

En el hombre y en mamíferos, las algas cafés no solamente han sido reconocidas como una excelente fuente de nutrientes, sino que además se ha demostrado que algunos de sus componentes, especialmente sus pigmentos y sus polisacáridos, poseen propiedades fisiológicas importantes (Strand, 1998).

1.3 PROPIEDADES FISIOLOGICAS DE POLISACARIDOS DE ALGAS O EXTRACTOS REPORTADOS EN HUMANOS Y OTROS ORGANISMOS

Por su parte, en nutrición de organismos acuáticos, *A. nodosum, M. pyrifera* y *Ulva* spp. se han utilizado frescas y en alimentos extruidos para el erizo de mar *Loxechinus albus* en Chile, obteniendo buenos resultados en la formación de gónadas especialmente con el alimento extruido conteniendo Kelp (Lawrence. 1997); en alimentos para el abulón, *Haliotis* spp. y como atractante en la misma especie aunque en forma fresca (Viana. 1994).

En Japón las algas también se han evaluado como aditivos en alimentos para peces, encontrándose que aceleran la asimilación de ácido ascórbico y mejoran las condiciones fisiológicas relacionadas a la nutrición de la vitamina C (Nakagawa, 1997). Consecuentemente, el metabolismo de lípidos, especialmente la lipólisis, es mejorado y el efecto dietario del alga sobre la mejoría del metabolismo de lípidos puede ser parcialmente explicado por el efecto sinergístico con la vitamina C.

Por otro lado, se ha probado un efecto inmunoestimulante en alginatos de sodio de *Undaria pinnatifida*, *Macrocystis pyrifera* y *Ascophyllum nodosum* en contra de infecciones bacterianas (*Edwarsiella tarda*) en *Cyprinus carpio* L. (carpa común) (Fujiki, 1994). El laminarán sulfatado por su parte se ha encontrado que tiene propiedades inmunomodulatorias en los macrófagos *in vitro* del Salmón *Salmo salar* (Dalmo y Seljelid, 1995).

En camarones *Penaeus japonicus* (Takahashi *et al*., 1998) demuestran la eficacia de la administración oral de fucoidan, un polisacárido sulfatado extraído del alga café *Cladosiphon okamuranus*, a concentraciones de 60 y 100mg de fucoidan semi-puro/ Kg. de camarón/día en el control del síndrome de mancha blanca (WSSV), a través de un desafío de inmersión con el virus WSSV, en donde se presentaron supervivencias de 77 y 76% con respecto al 0% obtenido en el control. Concluyendo que el fucoidan inhibe la absorción del virus WSSV en las células del camarón, previniendo la infección, mecanismo previamente demostrado en la inmunodeficiencia viral del herpes simplex, de inmunodeficiencia. Actualmente se comercializa fucoidan líquido extraído de algas cafés como aditivo inmuno-estimulatorio para camarones marinos a través de varias compañías del mundo (Anexo 3).

CAPITULO 2

2.1 APLICACIONES EN LA TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PARA ACUICULTURA

Los alginatos se han empleado como aglutinante junto con el carrogenano (otro polisacárido de origen marino) en alimentos microparticulados para la nutrición en larvicultura marina, en alimentos experimentales y semicomerciales para engorde de camarones marinos y de agua dulce y de diferentes especies de peces (IFREMER, Tahití; Programa Maricultura, UANL; Akiyama, 1989). Sin embargo, su utilización en alimentos producidos a escala comercial en grandes volúmenes no es posible por el precio. Adicionalmente, en algunos estudios en peces se ha demostrado que su inclusión en niveles elevados disminuye la digestibilidad del alimento (Riaza, 1987).

En México, desde los inicios de los noventa, se ha utilizado la harina de kelp de *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pyrifera* en alimentos experimentales y comerciales para adulón (caracol marino), y más recientemente desde mediados de 1998 en algunos alimentos comerciales para engorde de camarón como "agente aglutinante" y como "aditivo inmunoestimulante". Esto, en algunos casos basándose en recomendaciones técnicas aparentemente extrapoladas de las buenas experiencias reportadas en otras especies. Los resultados obtenidos en este año con el uso de estos alimentos en granjas intensivas han sido excelentes en términos de velocidad de crecimiento, tasa de conversión y supervivencia en *L. vannamei* (E. Díaz, 2000)

2.2 EFECTO DE LA HARINA DE KELP SOBRE PROPIEDADES QUIMICAS Y FUNCIONALES DE ALIMENTOS COMERCIALES

Los parámetros físico-químicos en la calidad del alimento para camarón dependen del tipo y cantidad de ingredientes seleccionados, además de los parámetros de procesamiento y equipos utilizados en su producción.

El camarón es uno de los crustáceos más importantes y extensivamente cultivados en el mundo. Esto es debido a su demanda, gran valor comercial, buen desarrollo y eficiente conversión alimenticia.

Los alimentos comerciales con requerimientos para camarón han estado disponibles por mucho tiempo (Akiyama, 1989). Aunque los efectos de los requerimientos nutricionales sobre el engorde de camarón han sido estudiados por varios años, la calidad del alimento es evaluado por la apariencia del pellet y su estabilidad en el agua.

Factores en el procesamiento del alimento, tales como tamaño de la partícula, uniformidad en las mezclas de ingredientes, tipo y grados de cocción, afectan la estabilidad del alimento peletizado en el agua. También, este tipo de factores afectan la estabilidad del agua, cambiando sus propiedades físico-químicas, haciendo de la calidad del alimento limitado.

2.2.1 Efecto de la harina de kelp sobre las propiedades químicas y funcionales de los alimentos experimentales y comerciales

La inclusión de harina de kelp tiende a incrementar los niveles de ceniza y fibra en el alimento, especialmente si se agrega a niveles mayores de 4%. Esto se debe justamente a una de las características benéficas, que es la elevada presencia de minerales en formas orgánicas fácilmente asimilables. La harina de kelp tiene una capacidad aglutinante ligeramente menor a la del gluten de trigo (en alimentos experimentales) o la del aglutinante sintético tipo urea formaldehído (en alimentos peletizados comerciales). La harina de kelp incrementa la capacidad de absorción de agua de los alimentos a través de sus compuestos ficocoloides generando una actividad aglutinante por medio de la formación de un gel suave, que a su vez produce en el alimento una textura suave, de consistencia "surimi o carne reconstituida" que facilita el consumo de alimento en los camarones sin generar muchas migajas y que permite una mejor utilización de los nutrientes. Aparentemente, esta capacidad aglutinante y esta textura especial en el pellet son producidas gracias a la polimerización de los ficocoloides del kelp y a la formación de un gel, pero esta capacidad es afectada de manera significativa por varios factores como: 1) la composición de los ingredientes y de nutrientes del alimento 2) el tamaño de la partícula de los ingredientes y 3) las condiciones de proceso. Viana, (1994) en una revisión sobre producción, propiedades y usos de los alginatos reporta las capacidades aglutinantes y gelificantes del alginato en alimentos y menciona que la fuerza del gel depende de la composición del alginato, la cantidad de alginato y del calcio disponible para la polimerización. Cabe señalar que esta capacidad aglutinante de los alginatos "puros" ha sido relativamente poco utilizada en alimentos para acuicultura, especialmente en alimentos experimentales y alimentos para larvas, por su alto costo; en estos casos los niveles de inclusión generalmente son menores de un 5% en combinación con cloruro de calcio como agente polimerizante.

El uso directo de la harina de alga, sin la extracción de los alginatos, como aglutinante, ciertamente permite una disminución de costos y una nueva forma de aplicación que además permite aprovechar otras propiedades nutricionales del recurso.

2.2.2 Efecto de la harina de kelp sobre la digestibilidad de los alimentos

En algunos estudios como el de Riaza (1987) se ha reportado que el uso de altas concentraciones de alginato (más de 15%) como aglutinante en alimentos para peces reduce la digestibilidad de los alimentos. En estudios recientes se demostró que los niveles de inclusión de harina de alga fueron relativamente bajos, entre 0.5 y 2%, y lejos de reducir la digestibilidad de los alimentos, ésta se mejoró en comparación con un alimento control aglutinado con 3% de alginato puro. La diferencia de la digestibilidad entre alimentos comerciales peletizados con aglutinante sintético o con harina de kelp, también debe evaluarse; sin embargo es bien conocido el hecho de que algunos aglutinantes sintéticos disminuyen la digestibilidad de los alimentos.

2.2.3 Capacidad atractante y promotora de crecimiento

La inclusión de kelp aumenta significativamente la búsqueda y la ingesta del alimento, acciones que en conjunto fueron observadas y medidas a través de la determinación de la cantidad de alimento consumido. Esta capacidad atractante parece estar relacionada a compuestos propios del alga, pero también y de manera muy importante, al nivel de atractantes presentes en los otros ingredientes del alimento, como es el caso de la harina de pescado, ya que el consumo de alimento fue significativamente mayor cuando la harina de kelp se incluyó, a baja concentración, en alimentos experimentales y comerciales, con una mayor proporción de harina de pescado que cuando se incluyó, a mayor concentración, en alimentos originalmente poco atractantes con alto contenido de proteína vegetal. Cabe señalar que en la industria farmacéutica los alginatos son usados por su capacidad de formar geles o películas que permiten una liberación retardada y prolongada de compuestos químicos activos (Viana, 1994). Es posible que este mecanismo de acción se esté desarrollando en el caso de la liberación de moléculas atractantes desde el alimento hacia el medio, lo que aunado a la textura y consistencia del alimento favorece a la utilización más eficiente de los nutrientes por el camarón. Los compuestos propios de la harina de kelp con capacidad atractante pueden ser múltiples, pero de acuerdo a diversos autores, los aminoácidos, los compuestos nitrogenados volátiles y algunos azúcares podrían estar participando de esta función. La capacidad atractante del kelp ha sido reportada con anterioridad en estudios de alimentación con adulones y con erizos (Viana *et al*., 1994; Lawrence, 1997) donde se encontró que aumentaban el consumo y derivado de ello también el crecimiento. En el caso de los camarones esta respuesta también se presentó. Con el incremento de consumo de alimento, el crecimiento también aumentó significativamente aunque a una tasa inferior, lo que dio como resultado una tasa de conversión mayor. Cuando el consumo de alimento es controlado, las tasas de conversión no son afectadas negativamente según se ha comprobado en algunos cultivos intensivos de camarón en México (E. Díaz, 2000).

2.2.4 Factores que afectan la capacidad aglutinante y texturizante de la harina de kelp

Se ha comprobado que el contenido y la calidad de la proteína en los alimentos, así como el nivel de inclusión del kelp y sus combinaciones, tienen efectos altamente significativos sobre la estabilidad, la capacidad de absorción del agua y la textura de los alimentos; se presenta una menor estabilidad, mientras mayor es el contenido de proteína, especialmente proteína vegetal y mientras mayor es el nivel de inclusión de kelp en el alimento. La excelente correlación entre el contenido de alginato del alimento y la capacidad de absorción de agua o la estabilidad del alimento en el agua, permite deducir que el efecto aglutinante y texturizante de la harina de kelp, está relacionado a su contenido de ficocoloides, especialmente a su contenido de alginato, por lo que el contenido de estos compuestos debe conocerse cuando se va a utilizar para la elaboración de alimentos balanceados.

2.3 PARAMETROS ZOOTECNICOS DEL CAMARON BLANCO (L. VANNAMEI)

2.3.1 Aspectos Biológicos

Las especies de camarones peneidos, comúnmente conocidos en aguas americanas, pertenecen al subgénero *Litopenaeus*. De estas especies, tres de ellos están limitados al océano Pacífico y son: *Litopenaeus occidentalis, Litopenaeus stylirostris* y *Litopenaeus vannamei;* y dos se encuentran en el océano Atlántico, *Penaeus schmitti* y *Penaeus setiferus.*

Todos ellos pertenecen al grupo de camarones de télico abierto, grupo en el cual se puede resaltar que el télico y el petasma son más primitivos que en especies de otros géneros, derivando así su ubicación en la escala zoológica (Pérez-Farfante, 1997):

Phylum:	Arthropoda
Clase:	Crustácea
Subclase:	Malacostrácea
Serie:	Eumalacostraca
Superorden:	Eucarida
Orden:	Decapoda
Infraorden:	Penaoidea
Familia:	Penaeidae
Género:	Penaeus
Subgénero:	Litopenaeus
Especie:	vannamei

(Pérez-Farfante & B. Kensley, 1997, en: Wyban & Sweeney, 1991)

2.3.1.1 Sistema reproductivo de la hembra

Las hembras de camarones peneidos tienen un sistema reproductivo constituido por un par de ovarios, formados por cuerpos fusionados en forma bilateral y simétrica, que se extienden desde la región cardiaca del estómago hacia el telson. Los lóbulos abdominales que se originan de estos cuerpos, se encuentran adjuntos al intestino en la región del cefalotórax (King, 1948). Los oviductos se originan en los extremos del sexto y séptimo lóbulos laterales, descienden hacia las aberturas genitales ubicadas en el tercer par de periópodos. El télico de las hembras de camarones pendidos, está adaptado para proporcionar agarre o soporte al espermatóforo en animales de télico abierto, u originar un receptáculo seminal, en animales de télico cerrado, para almacenar y proteger el esperma hasta el tiempo de desove (King, 1948).

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

Las hembras maduras liberan un significativo número de huevos por desove, pudiendo variar entre 25000 y 700000, dependiendo de la especie, así como con el peso y tamaño de la hembra reproductora (Quackenbush, 1986). El tiempo que transcurre entre desove y desove varía entre 5 a 30 días, dependiendo de las condiciones en las que se desarrolle el animal (Primavera, 1984).

2.3.1.2 Sistema reproductivo del macho

Los machos de camarones peneidos, poseen una estructura denominada petasma, presumiblemente responsable de la transferencia del espermatóforo hacia el télico de la hembra. La estructura del aparato reproductor del macho está constituida por un par de testículos, acompañados por vasos deferentes que culminan en ampollas que dan origen a los espermatóforos, los cuales se comunican por medio externo a través de los poros genitales o gonoporos, que se sitúan en la base del quinto par de periópodos.

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

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

2.3.1.3 Reproducción

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

La expulsión de los huevos ocurre cuando las hembras comienzan a nadar lentamente en la columna de agua, batiendo vigorosamente los pleópodos (Wyban &

Sweeney, 1991), los huevos son depositados en el agua y finalmente son mezclados con el esperma.

2.3.1.4 Eclosión y desarrollo larval

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

CAPITULO 3

3. MATERIALES Y METODOS

El desarrollo de este trabajo se realizó en el Laboratorio de Maduración "CENTINELA" (Grupo EXPALSA), para el cumplimiento de los objetivos de esta investigación y experimentación. Las instalaciones del Laboratorio "Centinela" se encuentran ubicadas en San Pablo y se llevó a cabo durante el periodo Agosto – Septiembre del 2003. Durante este periodo, dos ensayos se realizaron (uno en cada mes) en condiciones diferentes para comprobar el efecto del producto utilizado.

3.1 Diseño experimental

Para cada ensayo, dos tratamientos fueron evaluados. Los animales fueron marcados, todos provenían de una misma camaronera (Plumont), ubicada en el sector del Morro. Se utilizaron seis (6) tanques, tres (3) de control y tres (3) en producción. Los tanques utilizados fueron escogidos aleatoriamente, se colocaron 100 animales por cada tanque, los parámetros medidos fueron salinidad y temperatura.

3.1.1 Dietas experimentales

3.1.1.1 Tratamiento A

Este tratamiento consistió en suministrar durante 30 días un pellet comercial, bañado con una suspensión de harina de kelp (*A. nodosum*). El peletizado comercial fue del 5.26 % (50 g) en relación con el alimento fresco por tanque (950 g), al peletizado se le agregó una suspensión del 20% (10 g) de harina de kelp. La decisión de adicionar la cantidad de 50 g de peletizado fue dada por el laboratorio de maduración "CENTINELA".

3.1.1.2 Tratamiento B

El tratamiento B fue suministrado en los mismos tanques después de la obtención de resultados con el primer tratamiento, pero en este segundo tratamiento la harina de kelp fue adherida al alimento fresco (solo al calamar), en una relación del 10 % (95 g) de harina de kelp con respecto al total de alimento suministrado diariamente.

La cantidad de alimento seco a suministrar diariamente se basó en la cantidad de alimento fresco en el primer caso, por decisión del laboratorio de maduración "Centinela". En el segundo caso se tomó la cantidad pura de harina de kelp para comprobar los posibles cambios al aplicarla de esta manera, basados en las experiencias técnicas del Programa de Maricultura, en la Universidad Autónoma de Nuevo León de México (Cruz, 2000) y las experiencias en Aquatecsa S.A. (Biol. Julio Macías, comm. pers. 2001).

Tabla 4.- Horario y cantidad de alimento fresco suministrado diariamente

HORA	ARTEMIA	GONADAS	POLIQUETO	CALAMAR
9:00	200 g			
10:30			100 g	
12:00				200 g
15:00		50 g	50 g	
21:00				150 g
00:00				200 g

3.1.1.3 Preparación del alimento comercial con harina de kelp

El alimento seco se pesó en una balanza digital "OHAUS", previo a lo cual se realizaron los cálculos para determinar la cantidad de alimento a colocar en cada tanque (50 g). La cantidad de harina de kelp pesada fue de 10 g que corresponden al 20 % del alimento seco comercial de "DIAMASA" (Línea FH al 35% de proteína) para cada tanque.

En un recipiente de aluminio colocamos 10 ml de agua por cada gramo de harina de kelp, calentamos el agua hasta que alcanzara los 65 º C de temperatura para provocar la gelatinización del alginato contenido en la harina de kelp y lograr una mejor adherencia.

Colocamos la harina de kelp en el recipiente de aluminio, revolvemos con un cucharón hasta lograr su homogenización con el agua calentada previamente, la cual dura alrededor de 15 minutos luego de lo cual se procede a agregar el alimento seco (pellets), mezclamos durante 2 minutos.

El alimento seco bañado con la harina de kelp es colocado en una bandeja hecha de malla de aluminio para su posterior secado utilizando un foco infrarrojo para acelerar el proceso dentro de una cámara de secado para alimento seco.

Una vez terminado el secado, se pesaron las dietas y fueron almacenados en fundas selladas para su uso posterior. Cabe señalar que las dietas se las preparan diariamente y se las suministraba una vez al día para este primer tratamiento.

3.1.1.4 Preparación del calamar con harina de kelp

Para el segundo tratamiento se suministraron 550 g de calamar dividido en tres raciones diarias, como se observa en la tabla 5 con los mismos horarios allí indicados.

Se pesaron 95 g de harina de kelp, que corresponden al 10 % de la ración de alimento fresco suministrado diariamente por tanque. Esta cantidad también se la dividió para suministrarla con las tres raciones diarias de calamar por tanque, es decir 31.7 g.

Una vez pesada la ración correspondiente de calamar, agregamos los 31.7 g de harina de kelp y mezclamos durante 5 minutos, periodo en el cual el kelp se adhiere al calamar y se procede a la alimentación por boleo en cada tanque.

3.2 Infraestructura y condiciones de operación

3.2.1 Maduración

Cada experimento contó con 6 tanques de madera forrados con liners de color negro, de 4 m de diámetro, con una altura de 0.80 cm. La columna de agua se mantuvo en 0.5 m, con lo que se logró un volumen de agua de 7 T. El drenaje de cada tanque consistió en un tubo ubicado en el centro del tanque, con lo que se proporcionaba un recambio de agua del 300 % diario. La aeración de los tanques se proporcionó mediante una línea de aire (mangueras), con piedras difusoras, que ayudaban a suministrar una aeración suave en el tanque.

La temperatura del agua en los tanques se mantuvo en 29 º C durante cada ensayo el cual siempre fue igual.

Además en cada tanque se colocaron 100 animales en una relación macho hembra de 1:1, con la utilización de fotoperíodo natural durante la experimentación.

3.2.2 Desove

Se dispuso de 30 tanques plásticos, cilíndricos, de color negro exterior e interiormente y tapa del mismo color, con capacidad de 300 lt y un volumen de operación de 200 lt para cada desove y una salinidad de 33 ppt. Los tanques no llevaban aeración, y el agua fue tratada con EDTA en una concentración de 10 ppm antes de cada desove.

3.2.3 Eclosión

El sistema de eclosión contó con 20 tanques cilíndricos, de color negro, con fondo cónico y un volumen de operación de 500 lt. Cada tanque contaba con aeración y luz en la parte superior, la cual aparte de atraer los nauplios hacia la superficie, proporcionaba calor al tanque. En cada tanque, se agrupaban los huevos producidos de 3 o 4 desoves, dependiendo del número de desoves por sala.

Las muestras de los desove fueron obtenidas antes de juntar los desoves en los tanques de eclosión. Las muestras fueron colocadas en tanques cónicos de fibra de vidrio, a los que se acondicionó un sistema de baño María, a una temperatura de 29 º C a la cual se llegó gradualmente y se mantuvo por medio de los calderos externos, para determinar la calidad de huevos y nauplios, así como para evaluar el desarrollo larval desde Nauplio 1 (N1) a Zoea 1 (Z1). Los huevos fueron sembrados en envases plásticos de 250 ml y los nauplios en envases plásticos de 1500 ml, con aeración.

3.2.4 Parámetros físicos

Los valores promedio para los parámetros físicos durante el transcurso de cada experimento se mantuvieron constantes, siendo la temperatura 29 º C, y 33 ppt. de salinidad en los tanques de proceso.

3.2.5 Limpieza y desinfección de los tanques

La desinfección de los tanques antes de iniciar cada experimento se llevó a cabo con hipoclorito de sodio (cloro granular), en una concentración de 200 ppm. Se mantuvo con agua y cloro por 24 horas para que actúe eficazmente la desinfección, y luego se lavó con abundante agua dulce.

Así mismo, el resto de materiales como envases plásticos, baldes, etc. fueron desinfectados con cloro granular, en una solución de 100 ppm que era luego neutralizada al enjuagar el material con una solución de tiosulfato en una concentración de 50 ppm (Mendoza, 1995).

La limpieza de los tanques de maduración se realizó diariamente a las 8:00 AM con un sifón, eliminando así alimento sobrante, además de las heces y las mudas expulsadas por los animales. Los animales muertos eran retirados con la ayuda de un challo.

3.3 Protocolos

3.3.1 Captura y transporte

Para los dos experimentos se utilizaron 600 camarones de la especie *L. vannamei,* tanto hembras como machos provinieron de piscinas especiales para reproductores de la camaronera Plumont, ubicada en El Morro, en la Provincia del Guayas.

La captura de los animales fue llevada a cabo por trabajadores de la misma camaronera, con el método tradicional de pesca en camaronera, esto es vaciado de la piscina y captura en una red en forma de bolso y posteriormente depositados en tanques plásticos de capacidad de 1000 lt con oxígeno, donde eran transportados hasta el laboratorio.

3.3.2 Aclimatación y siembra de reproductores

La recepción y aclimatación de los reproductores se llevó a cabo en los tanques de madera forrados con Liner de color negro y con un volumen de 7 T. El proceso de recepción de animales se efectuó en el transcurso de la madrugada.

Los animales capturados provenían de una zona con salinidad de 15 ppt. por lo cual la aclimatación se realizó mediante un recambio mínimo de 3 ppt. por día de agua durante una semana, para evitar una reacción brusca en el metabolismo de los animales.

Una vez concluido el proceso de aclimatación, se seleccionaron los animales que estaban listos para ser ablacionados y sembrados en los tanques.

Los animales fueron mantenidos en los tanques de recepción y producción durante una semana para reducir el estrés producido por la transportación antes de empezar el experimento.

Los animales sembrados en los tanques de maduración fueron sometidos a un periodo de aclimatación de 15 días para que los animales se adapten a ingerir el pellet experimental y, a la vez, asimilen los nutrientes proporcionados por este alimento.

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

En el caso de los machos, estos fueron mantenidos en los tanques de recepción hasta su traspaso hacia los tanques de maduración, con su respectivo periodo de aclimatación de 15 días.

3.3.3 Ablación

Para el bioensayo, la extirpación del pedúnculo ocular se llevó a cabo mediante el proceso de corte y expulsión, efectuando el corte en el órgano que presentara algún defecto. En el pedúnculo restante, se colocó un anillo numerado para identificar a cada hembra.

3.3.4 Búsqueda de la hembra copulada

La búsqueda de las hembras que habían copulado en los tanques de maduración se iniciaba entre las 19h00 y 21h00. Para esto, con ayuda de una linterna y un challo, se localizaban aquellas hembras que presentaban el espermatóforo adherido al télico. Esta observación se realizó ejerciendo una leve presión con ayuda del challo sobre el cefalotórax de la hembra, logrando que ésta se voltee, pudiendo así determinar si se encontraba impregnada o no. La pesca de las hembras copuladas se hizo con la ayuda del mismo challo.

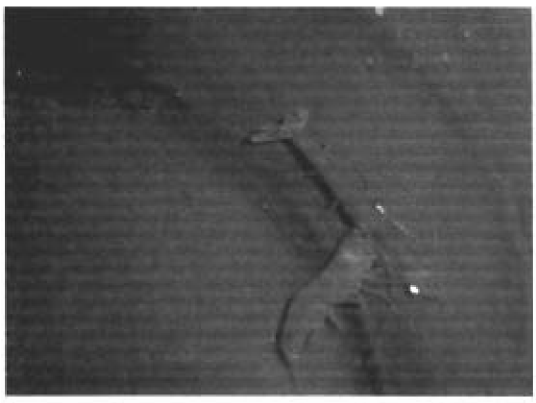


Fig. 2. Animales en proceso de cópula.

3.3.5 Desove

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

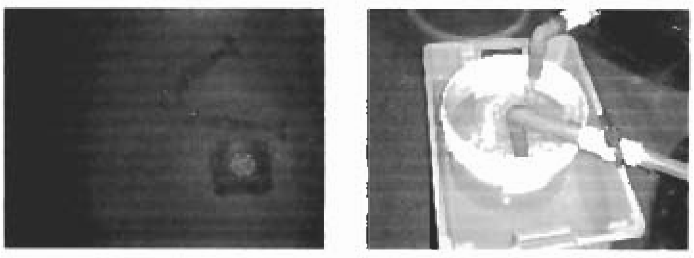


Fig. 3. Proceso de desove: a) Animales desovando, b) recolección de huevos.

3.3.6 Rutina diaria

Tabla 5.- Horario de actividades

HORA	ACTIVIDAD
8h00	Sifoneo de tanques.
9h00	Alimentación.
9h30	Conteo de nauplios, huevos no viables e infértiles de las tarrinas sembradas el día anterior.
10h15	Siembra de huevos en tarrinas (para ser revisados al día siguiente). Toma de temperatura del sistema experimental y tanques de proceso.
10h30	Alimentación.
11h15	Cosecha de nauplios sembrados en las tarrinas de el día anterior.
12h00	Alimentación.
12h45	Almuerzo.
13h30	Preparación de tanques de desove.
13h45	Conteo y siembra de nauplios.
15h00	Alimentación.
15h15	Limpieza de materiales y área de trabajo.
18h00	Corte de flujo de agua y aire.
19h00	Búsqueda de hembras copuladas.
21h00	Captura de hembras copuladas y registro de desoves por tanque. Restablecimiento del flujo de agua y aire en tanques de proceso. Alimentación.
01h00	Devolución de hembras a los tanques de proceso. Alimentación.
03h00	Cosecha de huevos y traspaso a tanques de eclosión.

3.4 Parámetros evaluados

3.4.1 Muestreo de huevos

Los huevos fueron cosechados en baldes, con un volumen de agua de 15 lt y desinfectados con KILOL^{R} (producto comercial natural) a una concentración de 100 ppm con flujo continuo de agua antes de ser colocados en los eclosionadores.

Para llevar un control de la cantidad de huevos producidos por desove, se tomaron dos (2) muestras con pipetas graduadas de 1 ml de cada balde, donde se contó el número de huevos presentes en cada muestra, para luego hacer el respectivo cálculo y determinar el total de huevos.

Además, de cada desove se tomaron muestras en envases plásticos de 250 ml las cuales sirvieron posteriormente para evaluar otros parámetros.

3.4.2 Fecundidad y porcentaje de eclosión

Luego de aproximadamente 30 horas de ocurrido el desove, se determinó el porcentaje de eclosión, huevos infértiles y no viables. Esto se llevó a cabo tomando una alícuota de 100 huevos, extraídos de la muestra general, que fueron sembrados en tarrinas de 250 ml.

3.4.3 Desarrollo larval

El porcentaje de metamorfosis se midió tomando en cuenta la cantidad de nauplios que llegaban a zoea 1. Para esto, de la muestra general obtenida de cada desove, se separó una muestra de 100 nauplios, los cuales fueron sembrados en envases plásticos a un volumen de 1000 ml. (botella). Estos nauplios permanecieron en los envases plásticos por 48 horas para que completaran el desarrollo hasta zoea, habiéndoles suministrado *Chaetoceros sp.* (150,000 cel.ml-1) a las 24 horas que se sembraron los envases.

Posteriormente, las zoeas se cosecharon al pasar el contenido de los envases por un tamiz de 150 um y poder así tomar una muestra y observarlas al microscopio.

3.5 Evaluación de datos y análisis estadístico

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

En cada experimento, las hembras reproductoras fueron consideradas como réplicas al evaluar los parámetros de producción individual de huevos y copulas. Además cada envase plástico de 1000 ml. (botella) fueron considerados como replicas para evaluar el resto de parámetros, tales como viabilidad de huevos, nauplios y nauplios que llegaban a Zoea.

Los datos obtenidos de cada experimento, fueron evaluados estadísticamente con ANOVA (una vía) y con análisis No-paramétricos. Los resultados de normalidad entre los tratamientos y los controles fueron evaluadas mediante la prueba estadística de Shapiro-Wilk´s W test.

Los datos relacionados con las hembras productivas (número de huevos por hembra y número de hembras copuladas), fueron evaluados con análisis No-Paramétricos mediante la prueba de Mann-Whitney U Test.

Para realizar las evaluaciones de los datos obtenidos, se utilizó el programa STATISTICA 6.

CAPITULO 4

4 RESULTADOS

CIB-ESPOL

4.1 Experimento 1

Para este experimento se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk´s W Test la cual nos indico que existió una distribución no normal, utilizando en este caso el análisis estadístico NO-PARAMÉTRICO, detectando diferencias no significativas (p > 0.05) en la producción de huevos por hembra entre el tratamiento A y el control.

Utilizamos los métodos estadísticos mencionados antes, debido a la distribución no normal detectada en los datos de hembras copuladas, observando diferencias no significativas (p > 0.05) entre el tratamiento A y el control.

Para el número de huevos viables, nauplios y zoeas se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk´s W Test encontrando una distribución normal. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), observando que no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados (tratamiento A y control).

El número de reproductores supervivientes (tabla 6), se obtuvo tomando en cuenta el total de reproductores reportados al inicio del ensayo, así como aquellos utilizados para redoblar, es decir, aquellos animales que reemplazaron a los que salieron del sistema de producción por muerte.

Tabla 6.- Supervivencia de los reproductores, tratamiento A vs control

	CONTROL	TRATAMIENTO A
Hembras sembradas	300	300
Machos sembrados	300	300
Hembras supervivientes	279	276
Machos supervivientes	275	280
Hembras supervivientes %	93	92
Machos supervivientes %	91.6	93.3

Como podemos observar el porcentaje de supervivencia en el tratamiento A es relativamente similar al control en este primer experimento.

Los valores dados en la siguiente tabla (tabla 7) corresponden al número de huevos por desove, huevos viables, nauplios y zoeas 1. El número de observaciones con que se realizó el análisis fue de quince (15) para cada uno.

Tabla 7.- Resultados de producción por hembra, tratamiento A vs control.

	TRATAMIENTO A	CONTROL
Huevos / desove ($x10^3$)	160.4 ± 146.0	168.8 ± 139.4
Huevos viables ($x10^3$)	157.2 ± 145.5	165.4 ± 135.6
Nauplios ($x10^3$)	152.5 ± 141.1	160.4 ± 131.5
Zoea 1 ($x10^3$)	144.9 ± 134.0	152.4 ± 124.9

En cuanto a los resultados de producción total por tratamiento (figura 4), se puede observar que la producción de huevos, viabilidad, producción de nauplios y zoeas obtenida en el tratamiento A, es menor al control.

También en los resultados totales de Hembras copuladas entre Tratamiento A y el Control (figura 5), se observa que el número de cópulas es mayor en el control. Manifestándose así, ningún efecto de la dieta seca con harina de *kelp* al sustituir los alimentos frescos.

Fig. 4. Resultados de producción total entre tratamiento A y el Control

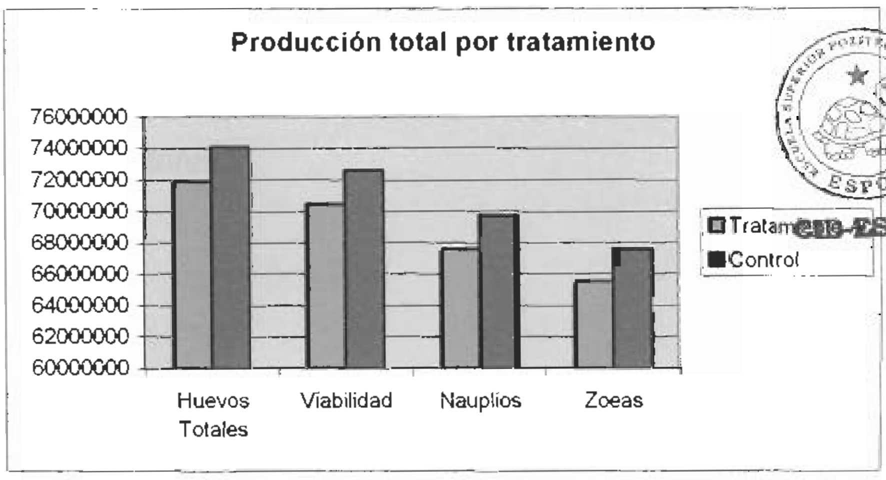
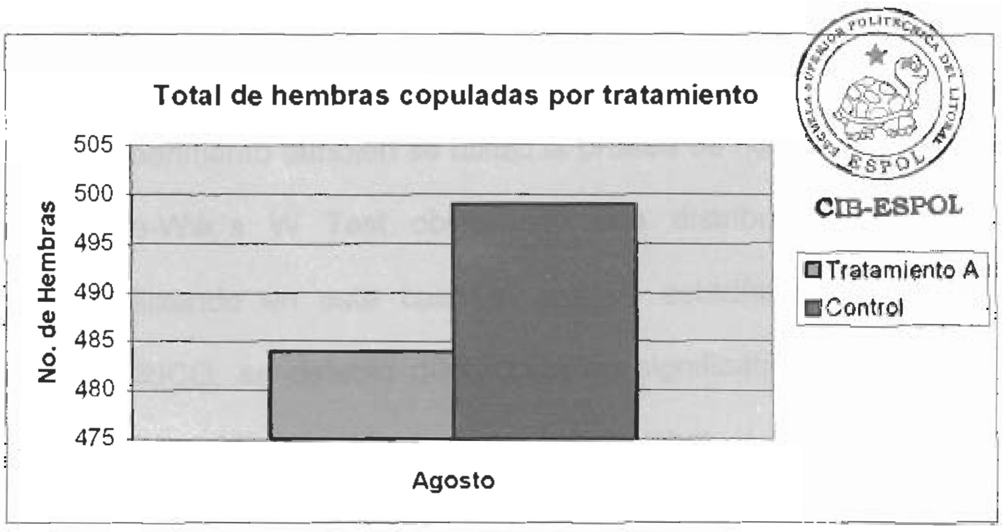


Fig. 5. Resultados totales de hembras copuladas entre tratamiento A y el control



Sin embargo, por lo observado en los resultados de producción general y de hembras copuladas, se desarrollo el segundo experimento, pero esta vez aplicando de una manera directa la harina de *kelp*, para verificar los efectos sobre los reproductores.

4.2 Experimento 2

En este experimento también se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk´s W Test obteniendo una distribución no normal, utilizando en este caso el análisis estadístico NO-PARAMETRICO, se detecto diferencias no significativas ($p > 0.05$) en la producción de huevos por hembra y hembras copuladas entre el tratamiento B y el control.

Para el número de huevos viables, nauplios y zoeas se realizó la misma prueba de normalidad descrita anteriormente, encontrando una distribución normal. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), observando que no presentan diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos evaluados (tratamiento B y control).

En este experimento además podemos observar que, la supervivencia fue mayor que la presentada en el experimento anterior. Aún así, no se observaron diferencias significativas entre el tratamiento B y el Control ($p \leq 0.05$).

Tabla 8.- Supervivencia de los reproductores, tratamiento B vs control

	CONTROL	TRATAMIENTO B
Hembras sembradas	300	300
Machos sembrados	300	300
Hembras supervivientes	286	289
Machos supervivientes	290	285
Hembras supervivientes %	95.3	96.3
Machos supervivientes %	96.6	95

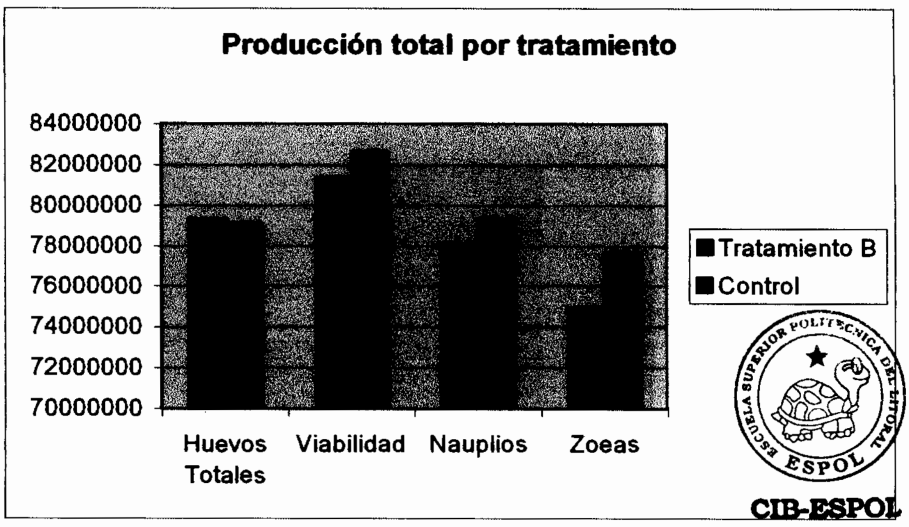
Los resultados de producción por hembra, en este experimento fueron superiores, con respecto a los presentados en el tratamiento A.

Tabla 9.- Resultados de producción por hembra, tratamiento B vs control.

	TRATAMIENTO B	CONTROL
Huevos / desove ($x10^3$)	197.2 ± 149.1	197.9 ± 149.3
Huevos viables ($x10^3$)	193.3 ± 146.1	193.9 ± 146.3
Nauplios ($x10^3$)	187.5 ± 141.7	188.1 ± 141.9
Zoea 1 ($x10^3$)	178.1 ± 134.6	178.7 ± 134.8

El número de observaciones con que se realizó el análisis fue de quince (15) para todos los datos de la tabla.

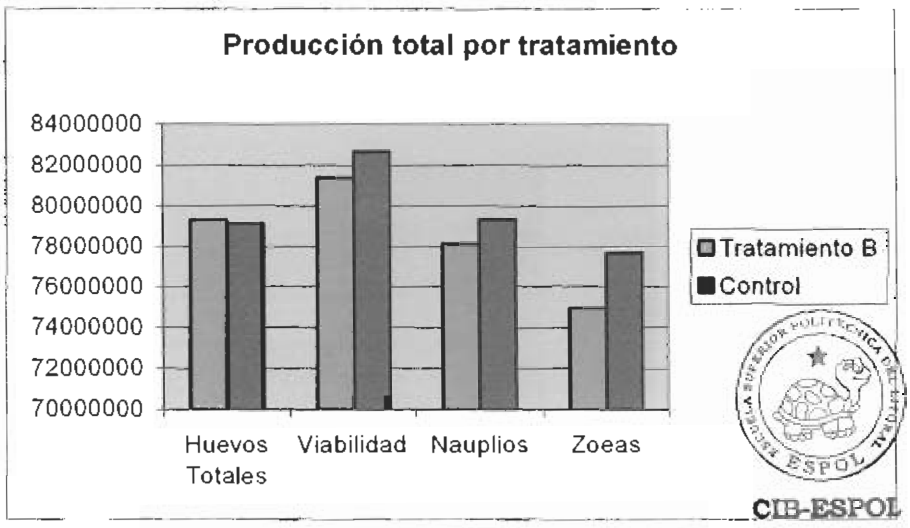
Fig. 6. Resultados de producción total entre tratamiento B y el control



La figura 6 demuestra que los resultados totales de producción del tratamiento B, con respecto al control son ligeramente superiores en la cantidad de huevos totales producidos.

Pero con respecto a la viabilidad, número de nauplios y zoea 1 es menor con respecto al control. Con lo que se comprueba que no existió un efecto al suministrar harina de *kelp* en la dieta de los reproductores.

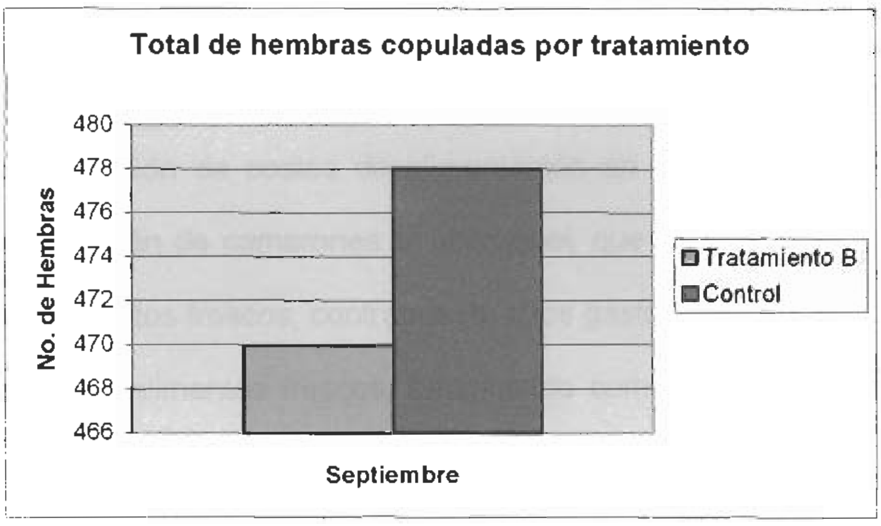
Fig. 6. Resultados de producción total entre tratamiento B y el control



La figura 6 demuestra que los resultados totales de producción del tratamiento B, con respecto al control son ligeramente superiores en la cantidad de huevos totales producidos.

Pero con respecto a la viabilidad, número de nauplios y zoea 1 es menor con respecto al control. Con lo que se comprueba que no existió un efecto al suministrar harina de *kelp* en la dieta de los reproductores.

Fig. 7. Resultados totales de Hembras copuladas entre Tratamiento B y el Control



La figura 7 compara los resultados totales de hembras copuladas entre los tratamientos B y el control, se puede observar una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en el número de hembras copuladas.

Diferencias ($p \leq 0.05$) no pudieron ser observadas al comparar los tratamientos A y B con el control respectivo para cada experimento, con lo que podemos decir que no hubo ningún efecto significativo con respecto al régimen alimenticio del laboratorio comercial.

4.3 Análisis Económico

Se analizaron los costos en que se incurrieron para la terminación de la presente tesis; se hace una breve comparación de costos de alimentación en un laboratorio de maduración de camarones *L. vannamei,* que emplea una dieta de alimentos frescos, contrapuesta a los gastos con una dieta a base de alimentos frescos, balanceado comercial y harina de *kelp* para el primer tratamiento.

En el segundo tratamiento se realizó la comparación de la dieta de alimentos frescos, contrapuesta a los gastos con una dieta a base de alimentos frescos y harina de *kelp.*

4.3.1 Insumos y Materiales

Valores que fueron invertidos para el desarrollo del trabajo de investigación:

Tabla 10.- Costo de insumos y materiales

Descripción	Costo
Materiales	$11.12
Balanceado (saco)	$26.00
Harina	$113.40
Transporte	$40.00
Total	**190.52**

4.3.2 Costo del balanceado comercial bañado con harina de kelp

El costo que se detalla, corresponde al consumo de balanceado comercial bañado con harina de kelp que tuvo una duración de un mes (30 días) durante la realización del primer experimento:

Tabla 11.- Costo del balanceado comercial bañado con harina de kelp

Insumos	Cantidad (kg)	Valor (kg)	Costo ($)
Balanceado	9.00	0.65	5.85
Harina de kelp	0.90	12.00	10.80
TOTAL			**$16.65**

4.3.3 Costos de alimentos frescos con harina de *kelp*

El costo que se detalla, corresponde al consumo de harina de kelp adherida a los alimentos frescos (calamar), durante un mes (30 días) en la realización del segundo experimento:

Tabla 12.- Costos de alimentos frescos con harina de kelp

Insumos	Cantidad (kg)	Valor (kg)	Costo($)
Artemia	18.00	5.50	99.00
Calamar	49.50	1.00	49.50
Gónadas	4.50	2.30	10.35
Poliquetos	13.50	2.65	35.78
Harina de kelp	8.55	12.00	102.60
TOTAL			**297.23**

4.3.4 Análisis económico de un (1) tanque para maduración de reproductores

Con el objeto de estudiar los costos, que ofrece la alimentación de reproductores en cautiverio utilizando alimento balanceado comercial bañado con harina de *kelp* y alimento fresco con harina de *kelp*, se ha realizado el análisis comparativo de sus diferencias con la dieta normal del laboratorio.

Los datos empleados, fueron tomados de una consideración general de datos técnicos; teniendo como base el tiempo promedio de vida útil de los reproductores de *L. vannamei*, en un tanque de maduración.

Tabla 13.- Costo para un (1) tanque de maduración en base a dieta de alimentos frescos durante tres (3) meses

Insumos	Cantidad (kg/día)	Costo / día ($)	Número de días	Costo ($)
Artemia	0.20	1.10	90	99.00
Calamar	0.55	0.55	90	49.50
Gónadas	0.05	0.12	90	10.35
Poliquetos	0.15	0.40	90	36.00
TOTAL				**194.85**

Tabla 14.- Costo para un (1) tanque de maduración en base a alimento balanceado bañado con harina de *kelp* y alimentos frescos, durante tres (3) meses

Insumos	Cantidad (kg/día)	Valor (kg/día)	Número de días	Total ($)
Artemia	0.20	1.10	90	99.00
Calamar	0.55	0.55	90	49.50
Gónadas	0.05	0.12	90	10.35
Poliquetos	0.15	0.40	90	36.00
Balanceado	0.05	1.30	90	117.00
Harina de kelp	0.01	0.12	90	10.80
TOTAL				**322.65**

Tabla 15.- Costo para un (1) tanque de maduración en base a alimentos frescos adheridos con harina de *kelp*, durante tres (3) meses

Insumos	Cantidad (kg/día)	Valor (kg/día)	Número de días	Total ($)
Artemia	0.20	1.10	90	99.00
Calamar	0.55	0.55	90	49.50
Gónadas	0.05	0.12	90	10.35
Poliquetos	0.15	0.40	90	36.00
Harina de kelp	0.095	1.14	90	102.60
TOTAL				**297.45**

Tabla 16.- Comparación de costos de alimentación en un (1) tanque de maduración, durante tres (3) meses

Costo total con alimentos frescos y balanceado bañado con harina de *kelp*	**$322.65**
Costo total con alimentos frescos	**$194.85**
Diferencia	**$127.80**
Porcentaje	**60.39%**

Costo total con alimentos frescos y harina de kelp adherida	**$297.45**
Costo total con alimentos frescos	**$194.85**
Diferencia	**102.60**
Porcentaje	**65.51%**

4.4 Discusión Técnica

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

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

Actualmente se siguen buscando formulas que bajen los costos en la alimentación para reproductores de camarón. Un estudio llevado a cabo por Cruz *et al.* (2000) concluye que la harina de *kelp* incluida en alimentos peletizados para camarón funciona como un atractante, aglutinante y texturizante, que permite una utilización más eficiente de los nutrientes dietarios (minerales, vitaminas, proteínas, etc).

El presente trabajo, realizado a nivel comercial, tuvo como fin comprobar si el contenido de selenio (micro-nutrientes de la harina de *kelp*) podría poseer acciones estimulantes sobre la libido sexual de los camarones, se pudo probar que no existió ningún efecto en los animales que se encontraban bajo este tratamiento.

En los dos experimentos realizados para esta investigación, no se pudieron observar diferencias significativas en los datos generales de producción y número de hembras copuladas entre los tratamientos y el control. Esto ocurrió, debido a que las condiciones de experimentación no fueron del todo favorables para los dos experimentos, donde la variación de parámetros en el sistema experimental, fue un factor que impidió que se generen resultados que permitan la deducción de conclusiones.

4.5 Conclusiones

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

El rendimiento reproductivo de *L. vannamei,* sobre los parámetros por hembra productiva, no se vio mejorado al incorporar una dieta artificial (alimento seco) con harina de *kelp* en el primer experimento.

El rendimiento reproductivo de *L. vannamei*, sobre los parámetros por hembra productiva, no se vio mejorado al incorporar harina de *kelp* en forma directa al alimento fresco (calamar) en el segundo experimento.

La inclusión de harina de *kelp* como suplemento alimenticio en las dietas artificiales, no constituye un aporte importante para la maduración y reproducción de *L. vannamei* en las condiciones experimentales descritas anteriormente.

4.6 Recomendaciones

El experimento aquí presentado no obtuvo resultados significativos ($p \leq 0.05$), sin embargo puede volver a realizarse tomando en cuenta varios factores como la cantidad de harina a utilizar, emplear alimento preparado bajo normas de pedido específicas con harina de kelp o incluir la harina en otra fuente de asimilación, etc., para comprobar si alguno de estos factores pudo haber influido en los resultados.

En la adición de harina kelp al peletizado y calamar se deben tomar en cuenta valores compensatorios a la lixiviación o perdida del producto durante este procedimiento, así como también al momento de aplicarlo, para que el producto llegue en un 100 % de la formulación al tanque.

Las restricciones con respecto a la cantidad de alimento artificial a utilizar deben ser cuidadosamente estudiadas y relacionadas directamente con la cantidad de alimento suministrado por el laboratorio para evitar una mala formulación que afecte a los reproductores en experimentos posteriores.

Se debe tener en cuenta un lapso de aclimatación gradual con respecto al alimento nuevo a utilizar antes de realizar cualquier tipo de ensayo u experimento para que la asimilación del animal sea mejor.

Es necesario proseguir con investigaciones que permitan mejorar la formulación de las dietas artificiales con proteínas de tipo vegetal, a nivel comercial las harinas vegetales (algas) son económicas, o adicionar nuevos ingredientes, tal como hormonas, que permitan mejorar la producción cuando el alimento fresco sea limitado.

Es recomendable lograr la determinación de niveles óptimos de inclusión de harina de *kelp* en dietas formuladas, para así encontrar la cantidad adecuada y mejorar la producción.

BIBLIOGRAFIA

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

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

CASTRO & GONZÁLEZ, M. I., CARRILLO, S., PÉREZ & GIL, F., MANZANO, R., ROSALES, E., 1991. Potencial resource for animal feeding. Cuban Journal of Agricultural Science, 25(1), 77-81.

CASTRO-GONZÁLEZ, M. I., CARRILLO-DOMÍNGUEZ, S., PERÉZ-GIL, F., 1994. Chemical composition of *Macrocystis pyrifera* (Giant Sargazo) collected in summer and winter and its posible use in animal feeding. Ciencias Marinas, 20(1), 33-40.

CHANBERLAIN & LAWRENCE, 1981. Biology and control of shrimp reproduction. En: Texas shrimp farming manual, 1982. Corpus Christy, Texas, Cap III, 1-40.

CRUZ, E., 2000. Inclusión de Harina de Kelp (Macrocystis pyrifera) en alimentos balanceados para camarón *Litopenaeus vannamei*. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 1-45.

DALMO, R.A., SELJELID, R., 1995. The immunomodulatory effect of LPS, laminaran and sulphated laminarian [b(1, 3)-D-glucan] on Atlanctic salmon, *Salmon solar* L., macrophages *in vitro.* Journal of Fish Diseases. 175-185.

DENECE, E., D. PHAM & COUTTEAU, 1998 (Abstract). Reproductive response of *Penaeus stylirostris* to a 50% substitution of fresh food by a new shrimp maturation feed. En: book of Abstracts. The Annual International Conference and Exposition of the World Aquaculture Society. 26 April-2 may. Sydney, Australia, 601.

DÍAZ, E., 2000. Advances in crustacean nutrition and maturations diets. Journal of the World Aquaculture Society. 31 (3), 61-64.

FUJIKI. K., MATSUYAMA, H., YANO, T., 1994. Protective effect of sodium alginates against bacterial infection in common carp, Cyprinus carpio L. Journal of Fish Diseases, 17(4), 349-355.

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

GUZMÁN DEL PROO, S.A., CASAS-VALDEZ, M., DÍAZ-CARRILLO, A., DÍAZ-LÓPEZ, Ma. L., PINEDA-BARRERA, J., SÁNCHEZ-RODRIGUEZ, 1986. Diagnostico sobre las investigaciones y explotación de las algas marinas en México. Inv. Mar. CICIMAR, 3(2), 1-63.

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

HERNÁNDEZ & CARMONA., 1996. Frond elongation rates of *Macrocystis pyrifera and Ascophyllum nodosum*. Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Ciencias Marinas 22(1), 57-72.

JIMENÉZ-ESCRIG, A., GOÑI-CAMBRODON, I., 1999. Nutricional evaluation and physiological effects of edible seaweeds. Arch Latinoam Nutr, 49 (2), 114–120.

KING; J., 1948. A study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus stylirostris*. Biology Bulletin, 244-262.

KLOAREG, B., GALL, E. A, 1999. Molecular and cellular approaches of reproduction, biology and genetic improvement in laminarialean kelps. World Aquaculture Magazine, 30(1), 23-25.

LAWRENCE, J.M., 1997. Enhancement of gonad production in the sea urchin *Loxechinus albus* in Chile fed extruded feeds. Journal of the World Aquaculture Society. 28 (1), 91-96.

McHUGH, 1987. Production and utilization of products from comercial seaweeds. FAO Fischer Technical paper, 288.

MARIN & GUZMAN., 2000. Boar fertility: Selenium plays a key role. The Se Times, A newsletter from Alltech, (1), 1.

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

NAKAGAWA, H., 1997. Effect of dietary algae on improvement of lipid metabolism in fish. 345-348.

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

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

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

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

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

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

RIAZA, A., 1987. Comparación de métods para estimar la digestibilidad en la lubina Dicentrarchus labra. These de DEA, UBO, Brest, Francia. 55-65.

RODRIGUEZ - MONTESINOS, Y.F., HERNÁNDEZ - CARMONA, G., 1991. Variación estacional y geográfica de la composición química de *Macrocystis pyrifera* en la costa occidental de Baja california. Ciencias Marinas, 91-107.

TAKAHASHI Y., UEHRA K., WATANABE R., OKUMURA T., YAMASHITA T., OMURA H., ITAMI T., 1998. Efficacy of oral administration of fucoidan, a sulphated polysaccharide, in controlling white spot syndrome in kuruma shrimp in Japan. In Flegel T. W. (ed) Advances in shrimp biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.

VÁSQUEZ, J.A., 1999. The effect of harvesting of brown seaweeds : a social, ecological and economical importance resource. World Aquaculture Magazine, 31 (1), 19-22.

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

VIANA, M.T., 1994. Attraction and palatability activieties in juvenile abalone *(Haliotis fulgens)*: nine ingredients used in artificial diets. 19-28.

VOZZHINSKAYA, V. & KUZIN, V.S., 1994. Productivity of Laminariales in the World Ocean. Izvestiya Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya (Moscow), 308-312.

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

ANEXOS

ANEXO 1

Uso de la harina de kelp en maduración

Aquatecsa

1-15 diciembre, 2001

Tq 22	Días proceso	Hembras Promedio	Machos	% Mortalidad Hembras	% Mortalidad Machos	Cópulas Total	Huevos	Nauplios	Npls/nm	% cópula	Eficiencia
Tiempo de alimentación	15	13.5	10	14	0	9	306,000	118,000	23,600	4	39%
Después del kelp	15	11	9	9	10	6	253,000	130,000	26,000	3.6	51%

Tq 4	Días proceso	Hembras Promedio	Machos	% Mortalidad Hembras	% Mortalidad Machos	Cópulas Total	Huevos	Nauplios	Npls/nm	% cópula	Eficiencia
Tiempo de alimentación	15	68.6	0	18	0	6	400,000	101,000	20,200	1.2	25%
Después del kelp	15	57	0	19	0	16	1,453,000	493,500	35,250	1.6	34%

ANEXO 2

Perfil nutricional de la harina de kelp

Bromatológicos	Harina de kelp
Proteína	12.00%
Lípidos marinos	1.10%
Fibra	10.00%
Ceniza	26.60%
Humedad	11.00%
Carbohidratos	46 - 50%
Energía bruta	2015 cal/g
Digestabilidad	81 - 90%
Alginato	30%
Fucoidan	5.2 - 5.4%

Vitamínas	
Acido ascórbico	100 - 2000 ppm
Caroteno	30 - 60 ppm
Biotina	0.1 - 0.4 ppm
Acido fólico	0.1 - 0.5 ppm
Niacina	10 - 30 ppm
Riboflavina	5 - 10 ppm
Vitamina B12	<0.004 ppm
Vitamina K	<10 ppm
Tiamina	1 - 5 ppm

Minerales	
Yodo	0.15%
calcio	1.60%
Fósforo	0.28%
Sodio	3.70%
Potasio	5.56 - 7.00%
Magnesio	1.90%
Cloro	1 - 3%
Zinc	5 ppm
Hierro	267 ppm
Cobre	6.2 ppm
Manganeso	6.5 ppm
Plomo	ND
Aluminio	20 - 100 ppm
Bario	15 - 50 ppm
Boro	80 - 100 ppm
Cobalto	1 - 10 ppm
Niquel	1 - 5 ppm
Selenio	3 - 4 ppm
Titanio	3 - 6 ppm
Vanadio	2 - 5 ppm
Mercurio	<0.001 ppm
Arsénico	4.0 ppm
Be, Cd, Cr, N	<1 ppm

Aminoácidos	
Arginina	3.55%
Alanina	6.89%
Fenilalanina	4.16%
Isoleucina	3.25%
Lisina	5.25%
Leucina	5.29%
Metionina	1.65%
Tirosina	2.10%
Treonina	3.66%
Valina	4.39%
Histidina	2.50%
Glicina	5.32%
Serina	4.10%
Acido aspártico	8.30%
Acido glutámico	9.75%
Taurina	0.86%

ANEXO 3

Propiedades fisiológicas de polisacáridos de algas en humanos y otros organismos.

Actividad	Sustancia activa	Referencia
Anticoagulante, antitrombótica	Polisacáridos sulfatados, fucoidan de *Ascophyllum* y otras algas cafés	Chevolot *et al.* 1999, Millet *et al.* 1999
Anticoagulante	Derivados de dextranos y fracciones de fucoidan de algas cafés	Mauray *et al.* 1998
Antioxidante, anticoagulante, antitumoral, antimutagénica	Fibra dietaria algas comestibles asiáticas	Jiménez-Escrig y Goni-Cambrodon, 1999
Antitumoral y antiproliferativa en Pasos de cáncer	Fucanos, polisacáridos sulfatados de *Ascophyllum*	Teas, 1981; Furusawa y Furusawa, 1985; Yamamoto *et al.* 1986 y Riou et al. , 1996
Antioxidante	Pigmento fucoxantina de algas marinas cafés asiáticas: Undaria, Sargassum, Hijikia	Nomura et al. 1997; Yan et al. 1999
Antioxidante	Función compartida con otros polisacáridos solubles en agua como diversas sales de alginato sulfatado y manuronato	Xue *et al.* ,1998

Disminución de la absorción intestinal de glucosa e insulina en cerdos	Polisacáridos extraídos o alginatos de algas *Euchema cottonii, Laminaria digitata, Palmaria palmata*	Vaugelade *et al* . ,2000
Actividades Inmunomodulatorias asociadas a los niveles de células B en ratones	Polisacáridos extraídos con agua caliente, de algas cafés en Japón: *Hijikia* y *Laminaria japónica*	Okai. 1998 y Okai *et al.* ,1996
Actividad estimulante del sistema inmune		Liu, et. Al., 1997; Shan *et al.* 1999
Estimulación del metabolismo de los lípidos en ratas	Alginatos de bajo peso molecular	Lee. 1998
Actividad quelante o secuestrante de metales divalentes como plomo. Reducción en absorción de plomo por el sistema gastrointestinal en ratas	Fucoidan de *Ascophyllum*	Sharp, 1987
Actividad anticolesterol	Fucosteroles de *Ascophyllum.* Compuestos indol en *Macrocystis* como la triptamina (Serotonina), fuente natural para este importante mediador neurohormonal	Sharp, 1987. Accorinti, 1992

ANEXO 4

Composición Química Proximal de las Algas en la Estación de Invierno (Base Húmeda y Base Seca).

Especie	Componentes (%)													
	Humedad		Proteína Cruda (%N x 6.25)		Extracto Etéreo		Ceniza		Arena		Fibra Cruda		Nifex (por diferencia)	
	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.
Ulva papenfussii	85.43	--	5.05	34.68	0.07	0.45	1.91	13.13	0.03	0.24	1.53	10.52	6.01	41.22
Ulva fasciata	85.88	--	2.49	17.61	0.14	1.02	1.80	12.76	0.03	0.20	1.00	7.08	8.69	61.53
Rhodymenia flabellifolia	81.87	--	1.17	6.46	0.42	2.33	7.48	41.27	0.45	2.47	1.10	6.09	7.96	43.85
Gigartina chamissoi	87.68	--	2.26	18.32	0.10	0.82	2.24	18.15	0.03	0.28	0.44	3.61	7.28	59.10
Gymnogongrus furcellatus	75.78	--	5.44	22.48	0.32	1.34	4.40	18.17	0.06	0.25	2.14	8.85	11.92	49.16
Ahnfeltia durvillaei	72.14	--	2.51	9.00	0.20	0.71	3.69	13.23	0.01	0.36	0.98	3.50	20.48	73.56
Grateloupia doryphora	81.92	--	4.51	24.93	0.22	1.20	1.89	10.27	0.27	1.51	1.06	5.88	10.43	57.72
G. lemanaeformis	89.91	--	2.14	21.24	0.26	2.53	2.87	28.43	0.07	0.67	0.77	77.68	4.05	40.12
Agardhiella tenera	91.00	--	2.60	28.90	0.10	1.13	2.09	23.26	0.13	1.46	0.76	8.44	3.45	38.27
Ascophyllum nodosum	90.21	--	1.14	11.67	0.04	0.37	1.68	17.11	0.08	0.78	0.98	10.02	5.95	60.83
Lessonia nigrescens	88.60	--	1.70	14.88	0.08	0.68	2.57	22.52	0.05	0.45	0.99	8.67	6.06	53.25

Composición Química Proximal de las Algas en la Estación de Primavera (Base Húmeda y Base Seca).

Especie	Componentes (%)													
	Humedad		Proteína Cruda (%N x 6.25)		Extracto Etéreo		Ceniza		Arena		Fibra Cruda		Nifex (por diferencia)	
	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.	b. h.	b. s.
Ulva papenfussii	88.17	--	3.87	32.73	0.11	0.91	1.78	15.05	0.13	1.09	0.82	6.91	5.25	44.40
Ulva fasciata	84.22	--	3.77	23.86	0.16	1.02	3.06	19.41	0.86	5.48	0.93	5.89	7.86	49.82
Rhodymenia flabellifolia	87.56	--	3.08	24.75	0.07	0.53	2.99	24.03	0.17	1.38	1.03	8.25	5.27	42.44
Gigartina chamissoi	88.24	--	2.27	19.31	0.13	1.12	2.53	21.48	0.21	1.82	0.36	3.06	6.47	55.03
Gymnogongrus furcellatus	79.27	--	4.39	21.19	0.15	0.73	4.63	22.33	0.23	1.13	1.01	4.85	10.55	50.93
Ahnfeltia durvillaei	72.73	--	5.73	21.03	0.19	0.70	4.98	18.26	0.01	0.03	1.46	5.35	14.91	54.66
Grateloupia doryphora	83.14	--	2.73	116.20	0.15	0.91	2.25	13.33	0.16	0.97	0.73	4.33	11.00	65.23
G. lemanaeformis	90.35	--	2.44	25.29	0.08	0.84	1.44	14.92	0.41	4.24	0.68	7.07	5.01	51.88
Agardhiella tenera	88.81	--	2.48	22.18	0.06	0.57	3.44	30.76	0.26	2.36	0.92	8.26	4.29	38.23
Ascophyllum nodosum	88.58	--	1.88	16.46	0.16	1.43	3.32	29.06	0.54	4.75	1.36	11.88	4.70	41.17
Lessonia nigrescens	86.99	--	2.14	16.47	0.10	0.77	3.65	28.08	0.04	0.34	1.58	12.14	5.54	42.54

ANEXO 5

Shapiro-Wilk´s W test
Resultados de Normalidad

p < 0,05 No significativo - Normal

Agosto		Septiembre	
Huevos producidos/tratamiento		**Huevos producidos/tratamiento**	
Control	**Tratamiento A**	**Control**	**Tratamiento B**
W=0,97527 p=0,00000 **Significativo** **No normal**	W=0,97736 p=0,00000 **Significativo** **No normal**	W=0,95746 p=0,00000 **Significativo** **No normal**	W=0,95388 p=0,00000 **Significativo** **No normal**
Huevos Viables por tratamientos		**Huevos Viables por tratamientos**	
Control	**Tratamiento A**	**Control**	**Tratamiento B**
W=0,98990 p=0,70369 **No significativo** **Normal**	W=0,98815 p=0,57194 **No significativo** **Normal**	W=0,97820 p=0,13509 **No significativo** **Normal**	W=0,98236 p=0,26226 **No significativo** **Normal**
Nauplios por tratamiento		**Nauplios por tratamiento**	
Control	**Tratamiento A**	**Control**	**Tratamiento B**
W=0,98994 p=0,70682 **No significativo** **Normal**	W=0,98812 p=0,56966 **No significativo** **Normal**	W=0,97820 p=0,13509 **No significativo** **Normal**	W=0,98236 p=0,26226 **No significativo** **Normal**
Zoeas por tratamiento		**Zoeas por tratamiento**	
Control	**Tratamiento A**	**Control**	**Tratamiento B**
W=0,98997 p=0,70907 **No significativo** **Normal**	W=0,98814 p=0,57128 **No significativo** **Normal**	W=0,97761 p=0,12271 **No significativo** **Normal**	W=0,98234 p=0,26141 **No significativo** **Normal**
Hembras copuladas por tratamiento		**Hembras copuladas por tratamiento**	
Control	**Tratamiento A**	**Control**	**Tratamiento B**
W=0,95406 p=0,00246 **Significativo** **No normal**	W=0,95561 p=0,00311	W=0,92469 p=0,00006 **Significativo** **No normal**	W=0,95310 p=0,00261

ANEXO 6

RESULTADOS ESTADISTICOS UTILIZANDO EL ANALISIS NO-PARAMETRICO

Mann-Whitney U Test

$p < 0,05$ No significativo - Normal

Huevos Producidos por Hembra **Resultados Tratamiento A vs Control** **Agosto**	**Huevos Producidos por Hembra** **Resultados Tratamiento B vs Control** **Septiembre**
Mann-Whitney U Test (Spreadsheet11) By variable Var1 Marked tests are significant at $p < 0,05$ $p = 0,929362$	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet11) By variable Var1 Marked tests are significant at $p < 0,05$ $p = 0,748847$
Diferencia no significativas entre Tratamiento A vs Control	**Diferencia no significativas entre Tratamiento B vs Control**
Hembras copuladas **Resultados Tratamiento A vs Control** **Agosto**	**Hembras copuladas** **Resultados Tratamiento B vs Control** **Septiembre**
Mann-Whitney U Test (Spreadsheet11) By variable Var1 Marked tests are significant at $p < 0,05$ $p = 0,536365$	Mann-Whitney U Test (Spreadsheet11) By variable Var1 Marked tests are significant at $p < 0,05$ $p = 0,597608$
Diferencia no significativas entre Tratamiento A vs Control	**Diferencia no significativas entre Tratamiento B vs Control**

ANEXO 7

RESULTADOS DE LOS ANALISIS ESTADISTICOS UTILIZANDO ANOVA (ONE WAY)

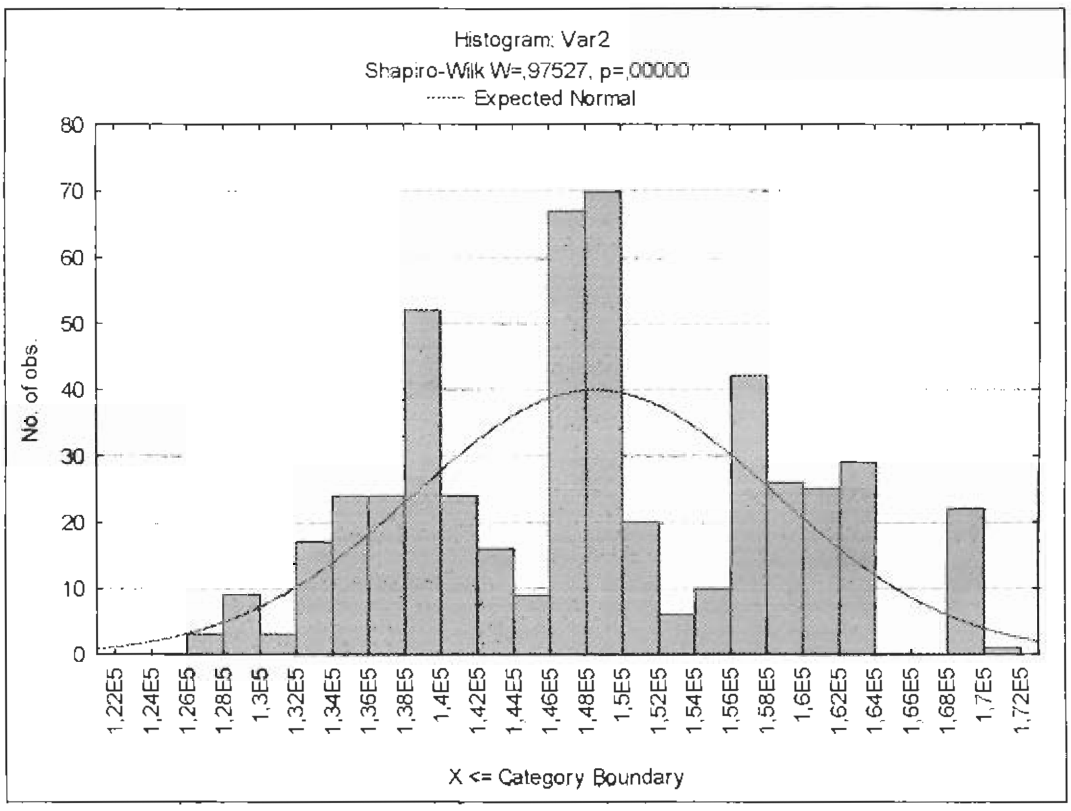
p < 0,05 No significativo - Normal

Huevos Viables por tratamientos	**Huevos Viables por tratamientos**
Tratamiento A vs Control	**Tratamiento B vs Control**
Agosto	**Septiembre**
ANOVA (ONE WAY)	**ANOVA (ONE WAY)**
Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet41) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition	Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet3) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition
p = 0,538720	p=0,725685
Diferencia no significativas entre Tratamiento A vs Control	**Diferencia no significativas entre Tratamiento B vs Control**
Nauplios por tratamiento	**Nauplios por tratamiento**
Tratamiento A vs Control	**Tratamiento B vs Control**
Agosto	**Septiembre**
ANOVA (ONE WAY)	**ANOVA (ONE WAY)**
Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition	Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet5) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition
p=,538060	p=0,725685
Diferencia no significativas entre Tratamiento A vs Control	**Diferencia no significativas entre Tratamiento B vs Control**

Zoeas por tratamiento	Zoeas por tratamiento
Tratamiento A vs Control	**Tratamiento B vs Control**
Agosto	**Septiembre**
ANOVA (ONE WAY)	**ANOVA (ONE WAY)**
Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet8) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition	Univariate Tests of Significance for Var2 (Spreadsheet11) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition
p=0,537486	p=0,426572
Diferencia no significativas entre Tratamiento A vs Control	**Diferencia no significativas entre Tratamiento B vs Control**

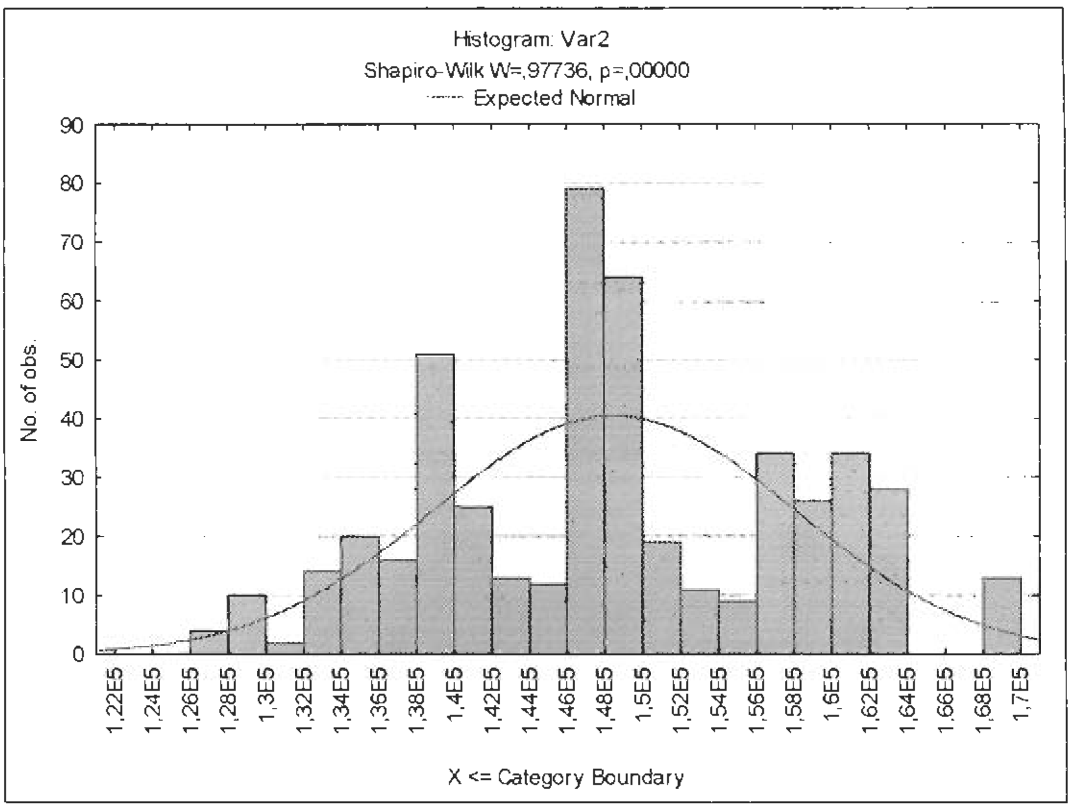
Anexo 8

AGOSTO
HUEVOS PRODUCIDOS /HEMBRA/TRATAMIENTO
CONTROL



p > 0,05 Significativo-No Normal

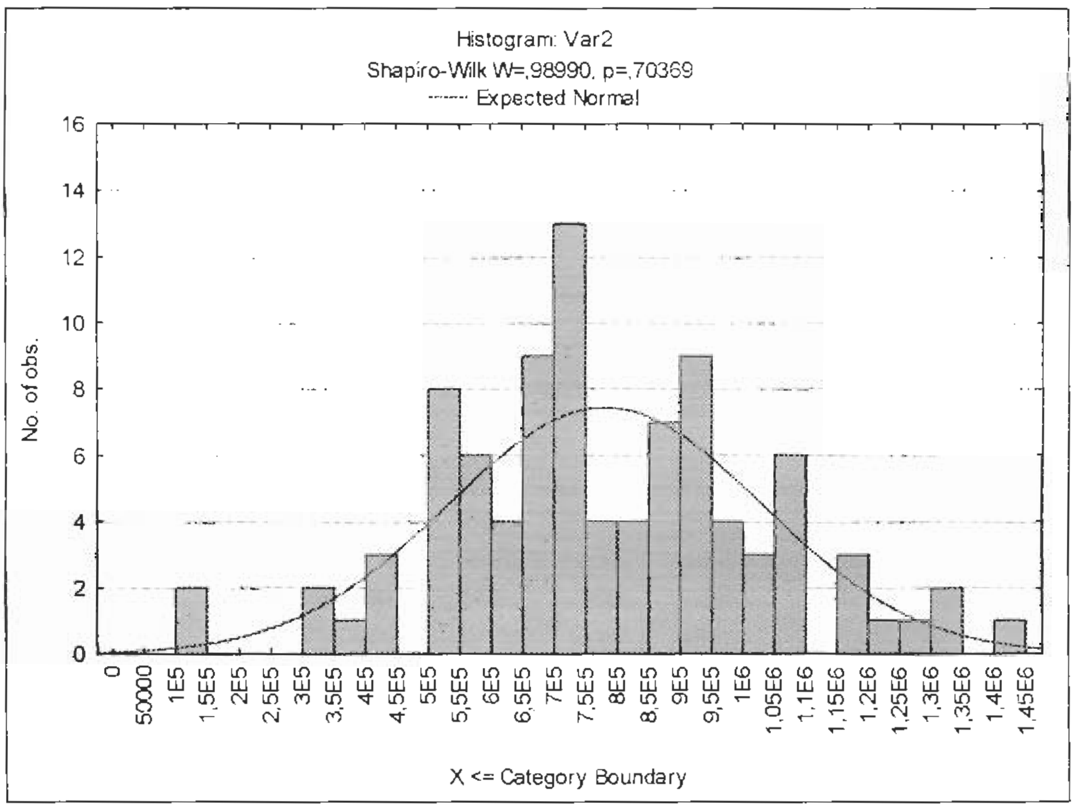
Tratamiento A



p > 0,05 Significativo-No Normal

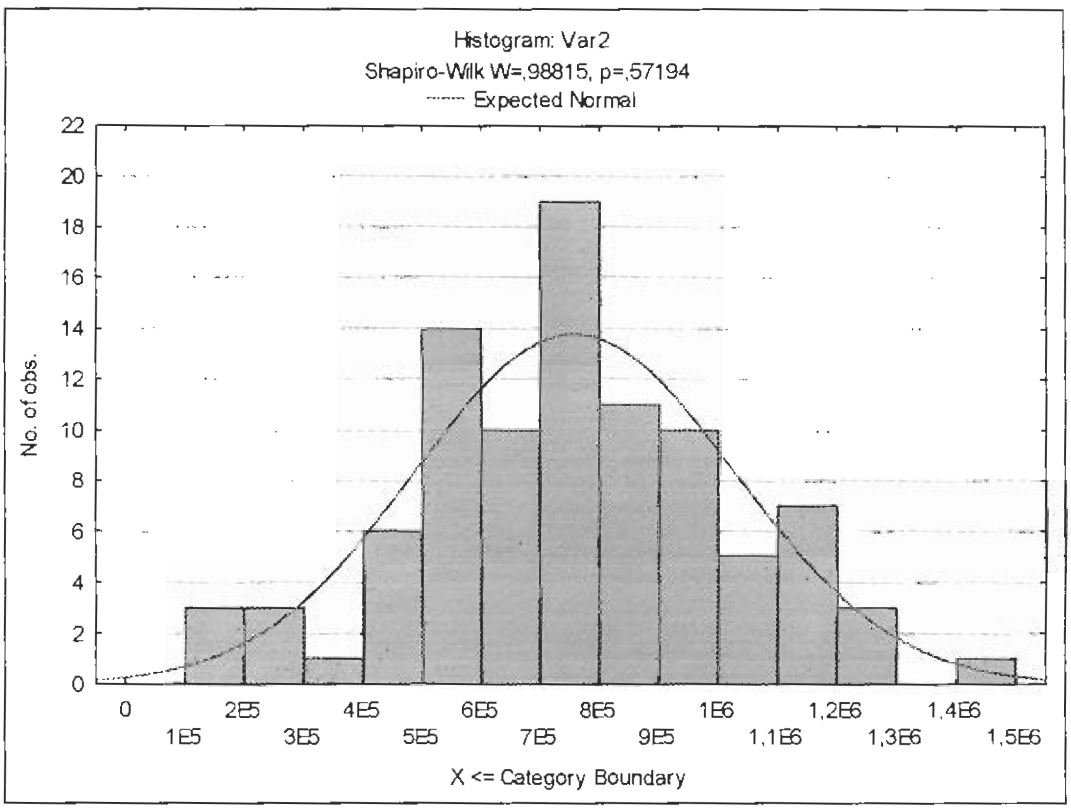
ANEXO 9

AGOSTO
VIABILIDAD POR TRATAMIENTO
CONTROL



p < 0,05 No significativo-Normal

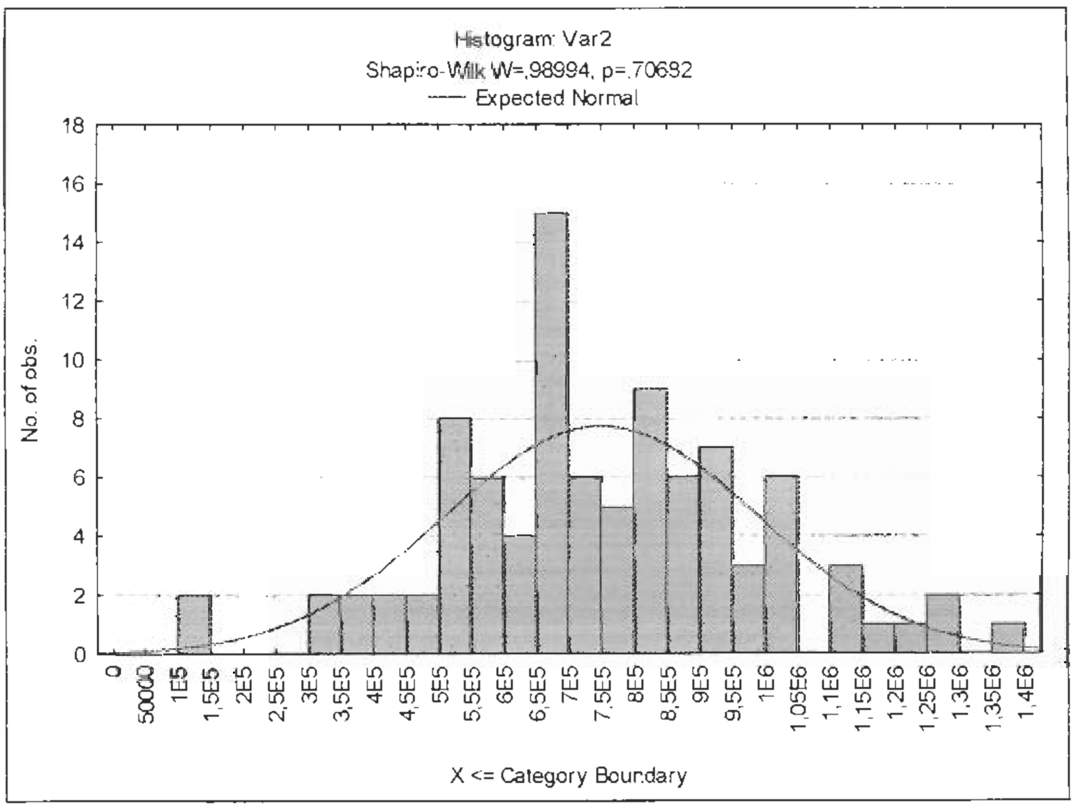
Tratamiento A



p < 0,05 No significativo-Normal

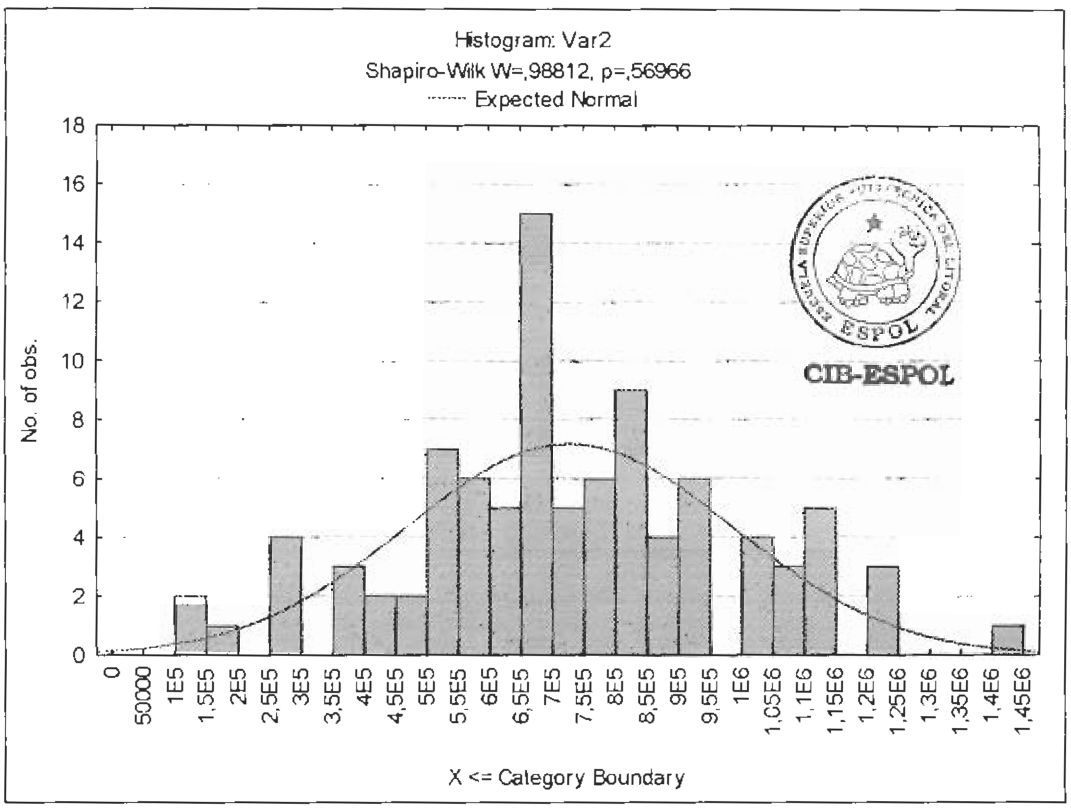
ANEXO 10

NAUPLIOS POR TRATAMIENTO
CONTROL



$p < 0,05$ No significativo-Normal

TRATAMIENTO A

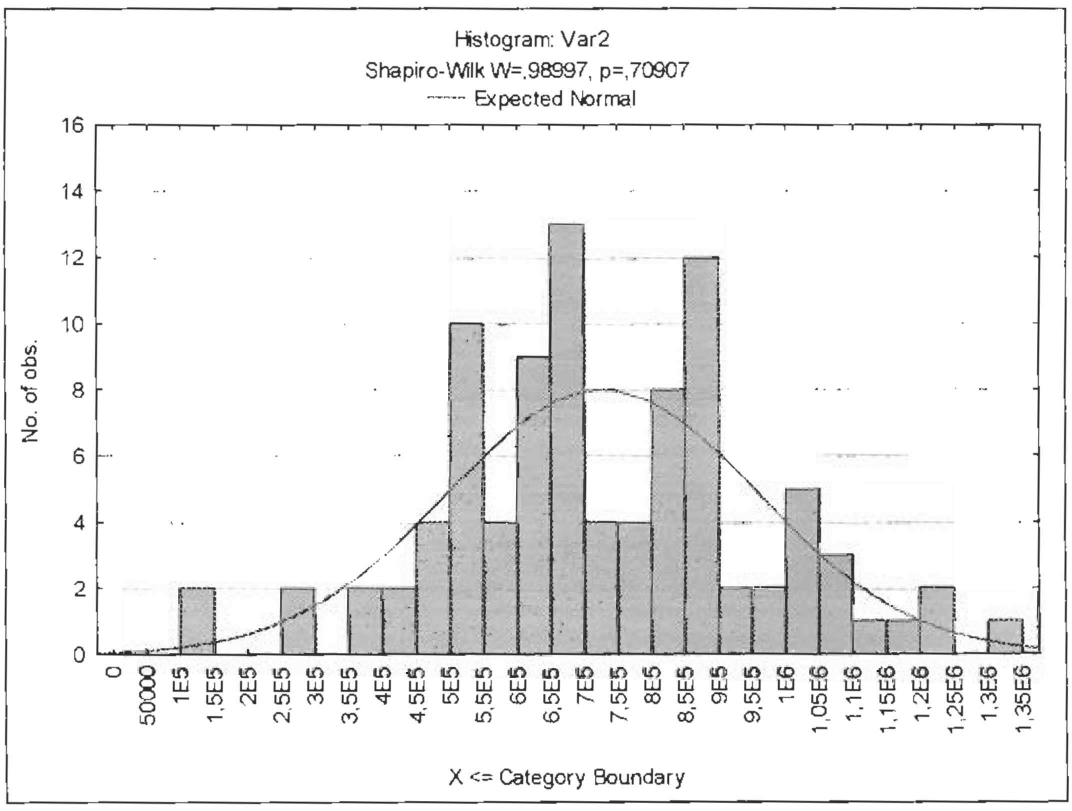


p < 0,05 No significativo-Normal

ANEXO 11

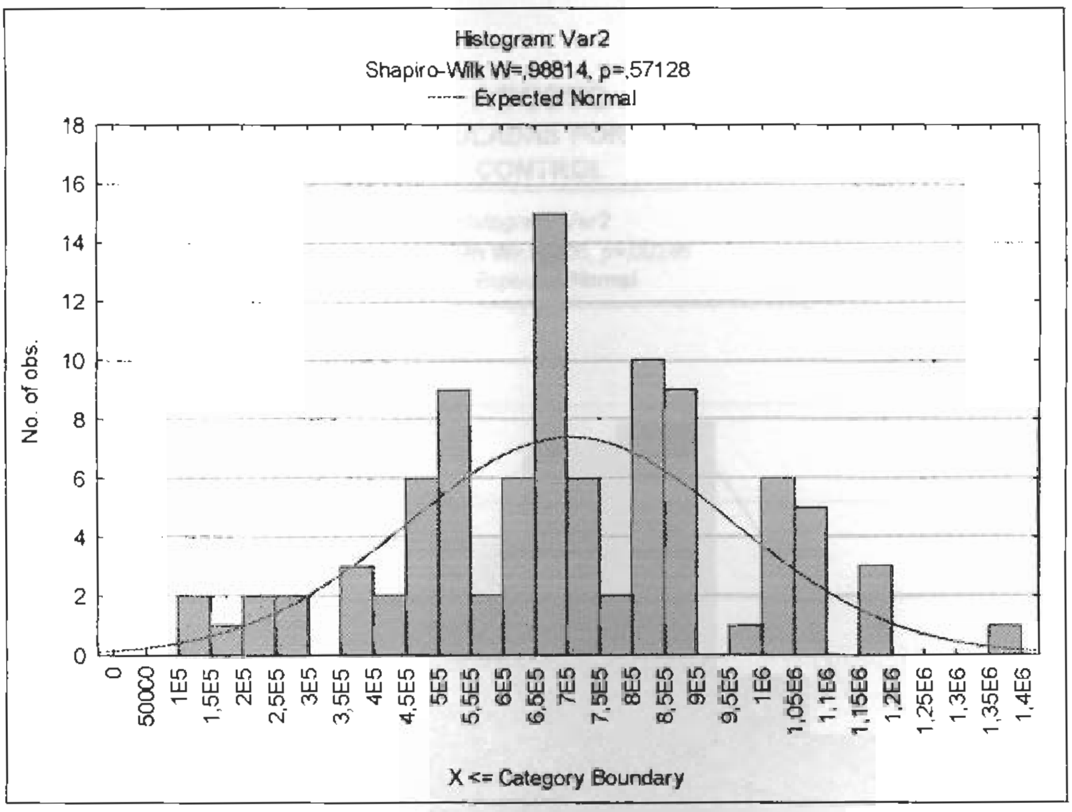
AGOSTO

ZOEAS POR TRATAMIENTO
CONTROL



$p < 0,05$ No significativo-Normal

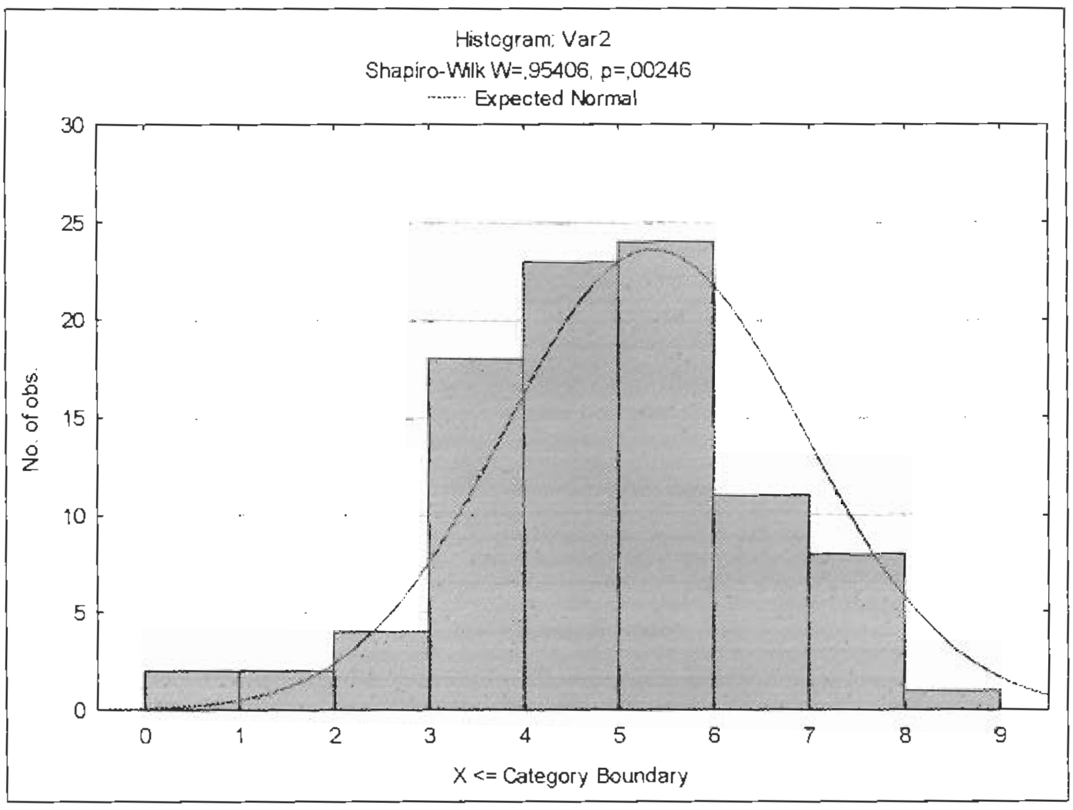
TRATAMIENTO A



p < 0,05 No significativo-Normal

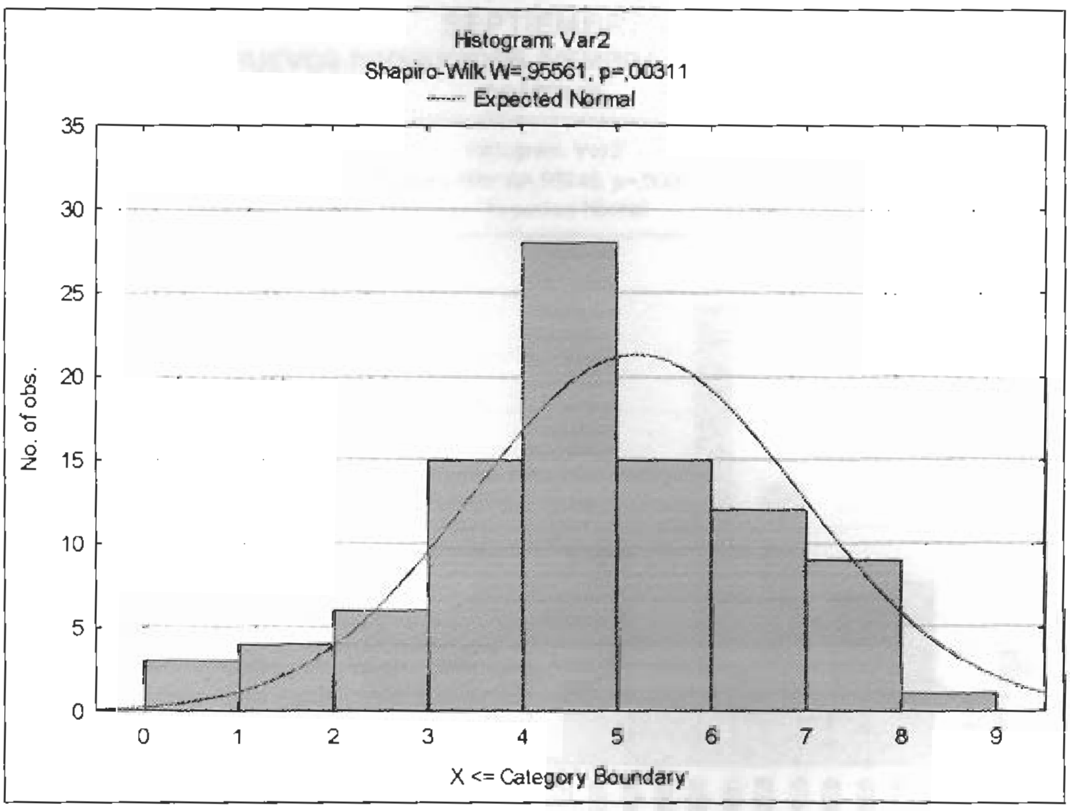
ANEXO 12

AGOSTO
HEMBRAS COPULADAS POR TRATAMIENTO
CONTROL



p > 0,05 Significativo-No Normal

TRATAMIENTO A

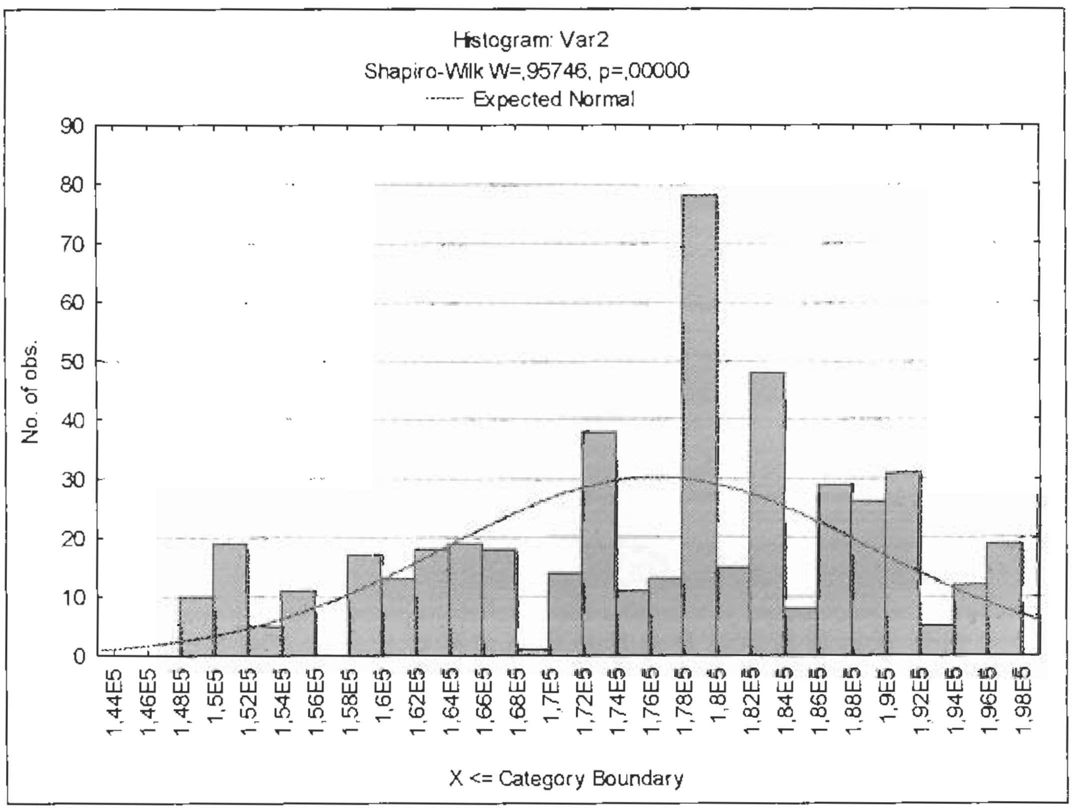


p > 0,05 Significativo-No Normal

ANEXO 13

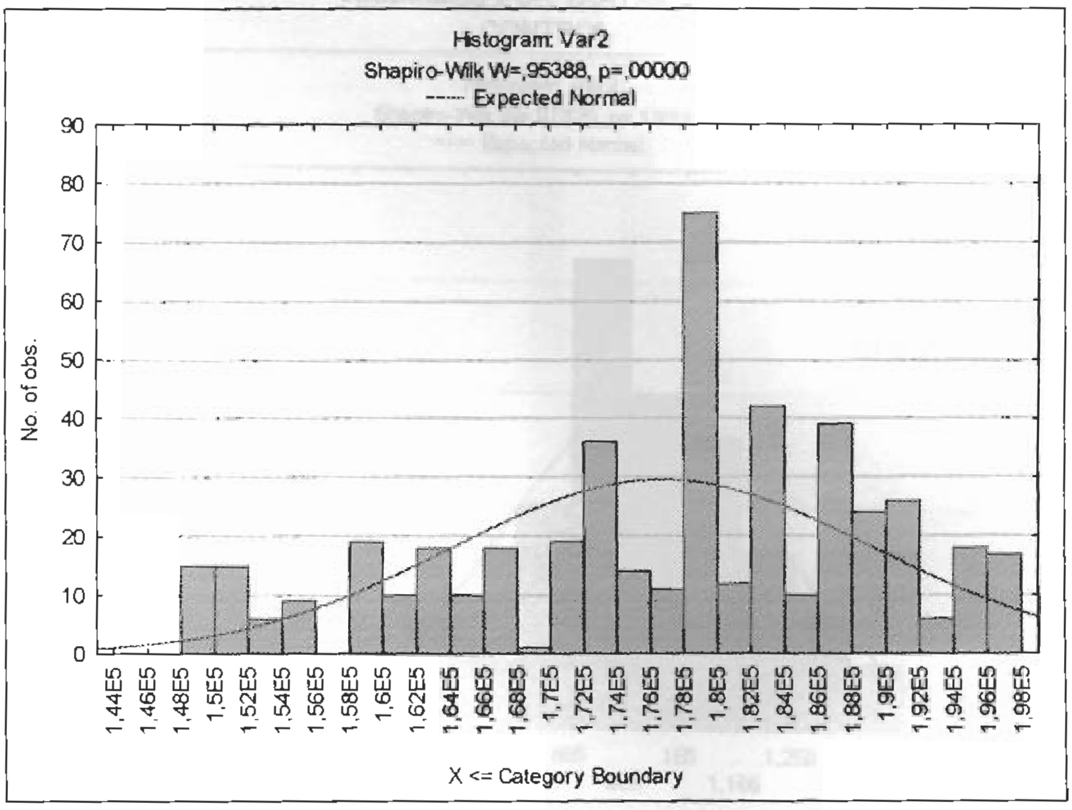
SEPTIEMBRE

HUEVOS PRODUCIDOS /HEMBRA/TRATAMIENTO
CONTROL



p > 0,05 Significativo-No Normal

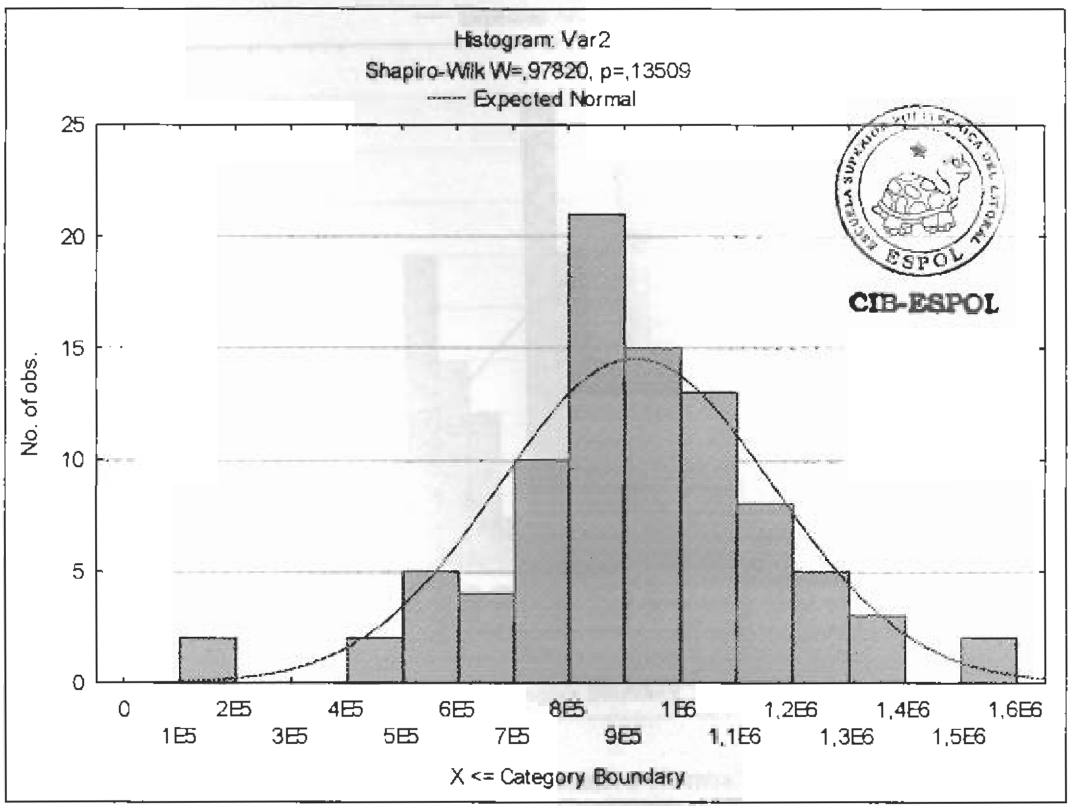
TRATAMIENTO B



p > 0,05 Significativo-No Normal

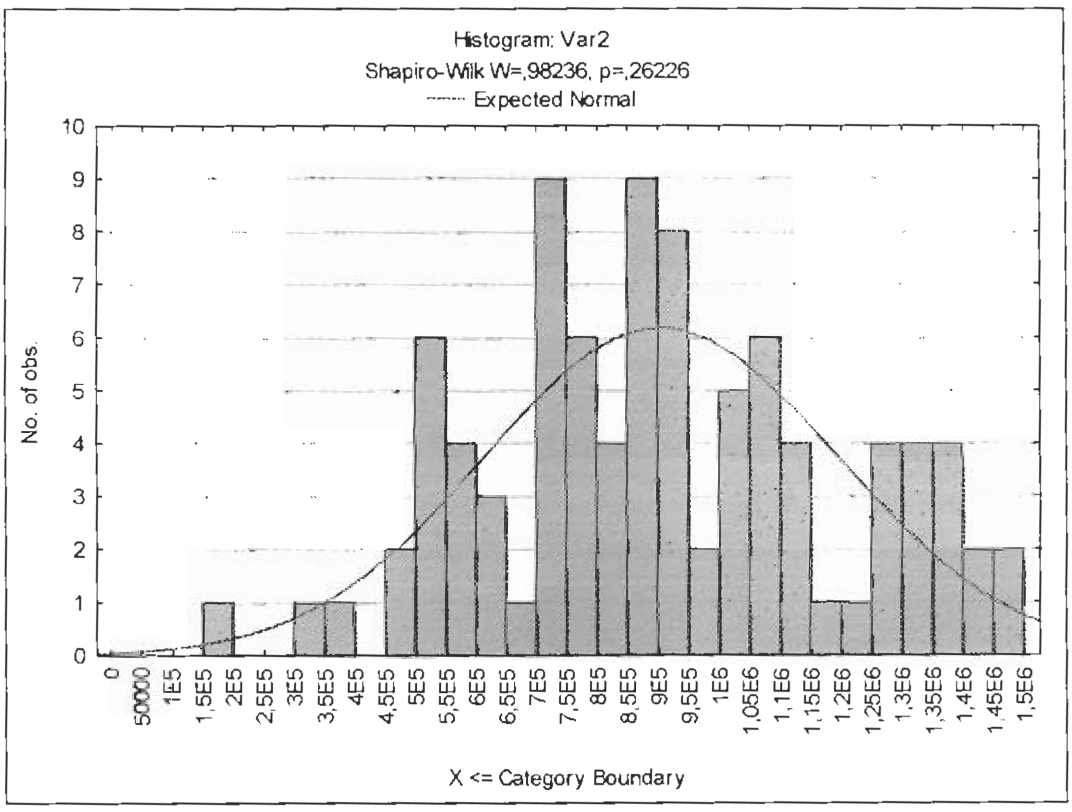
ANEXO 14

SEPTIEMBRE
VIABILIDAD POR TRATAMIENTO
CONTROL



p < 0,05 No significativo-Normal

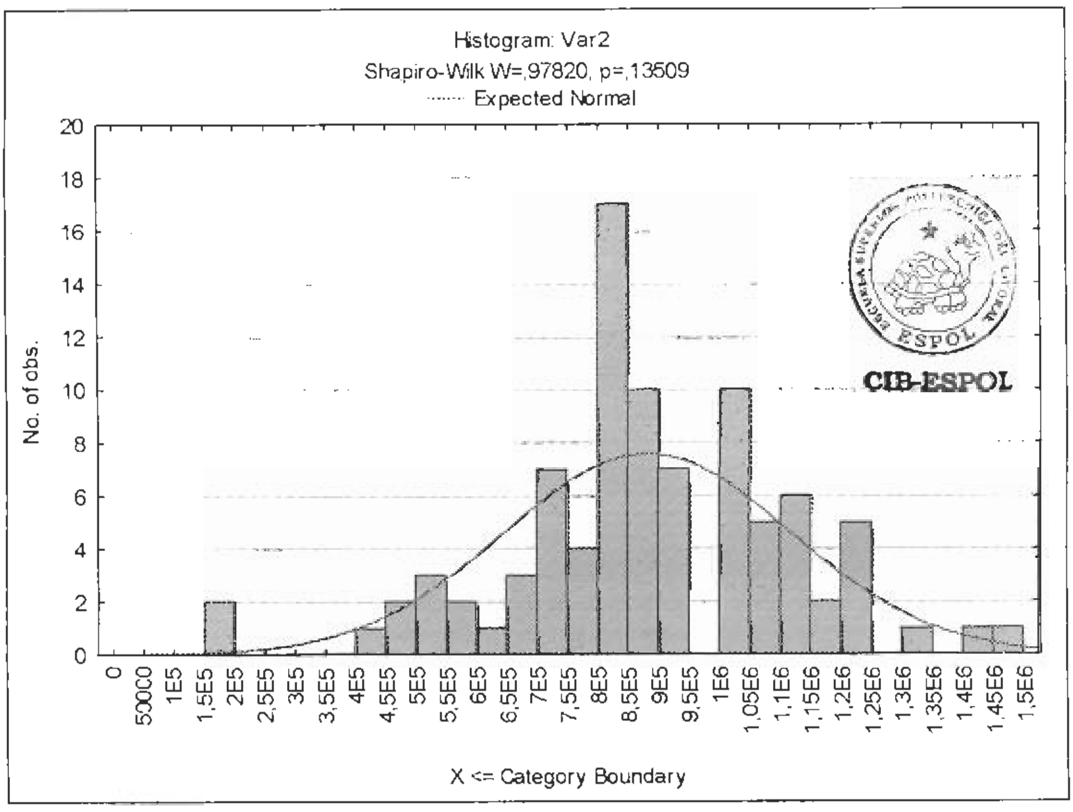
TRATAMIENTO B



p < 0,05 No significativo-Normal

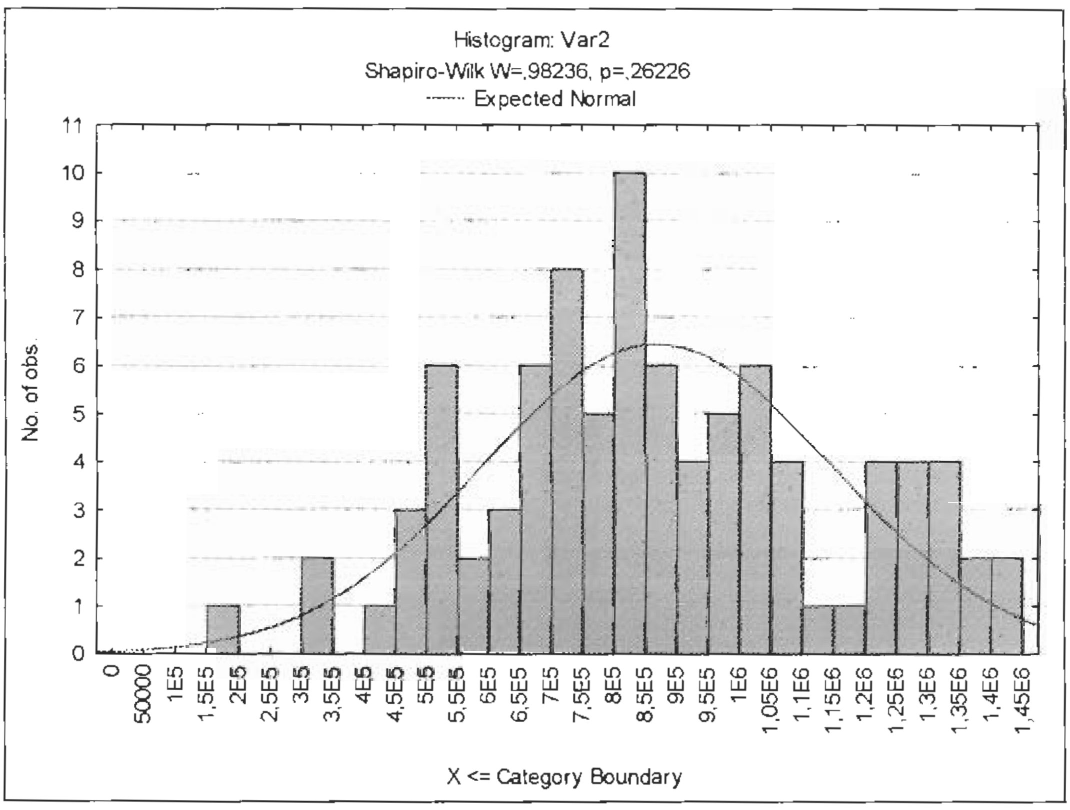
ANEXO 15

SEPTIEMBRE
NAUPLIOS POR TRATAMIENTO
CONTROL



p < 0,05 No significativo-Normal

TRATAMIENTO B



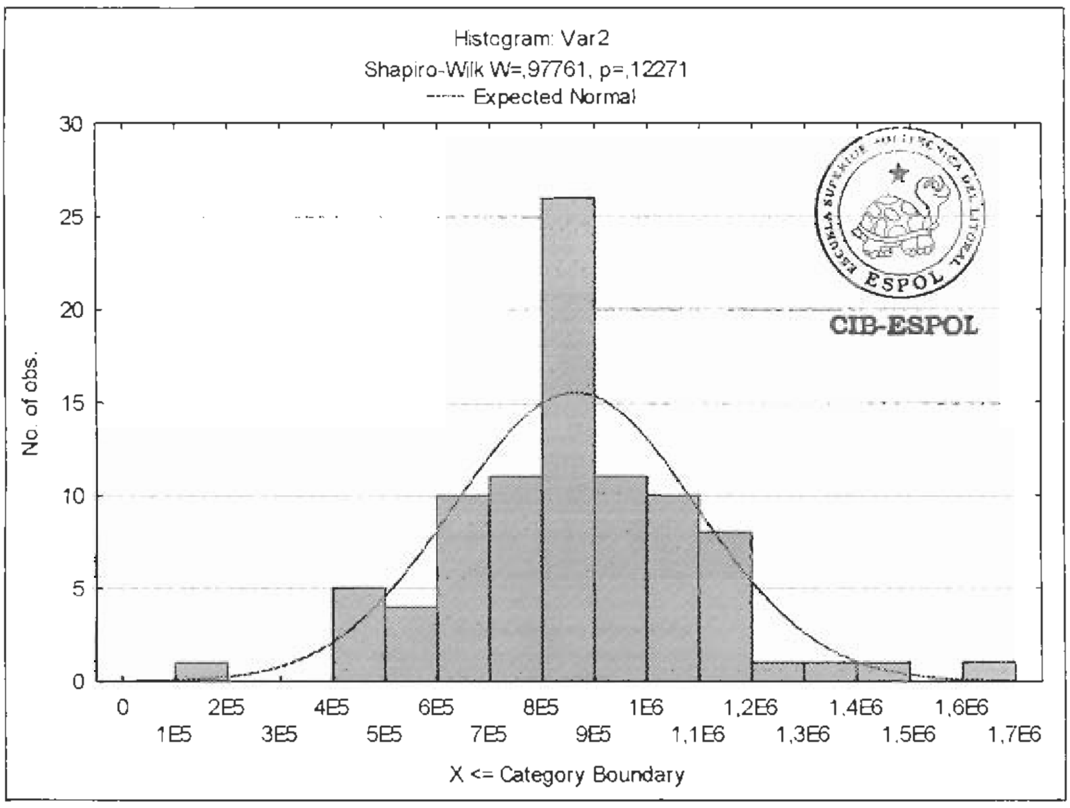
p < 0,05 No significativo-Normal

ANEXO 16

SEPTIEMBRE

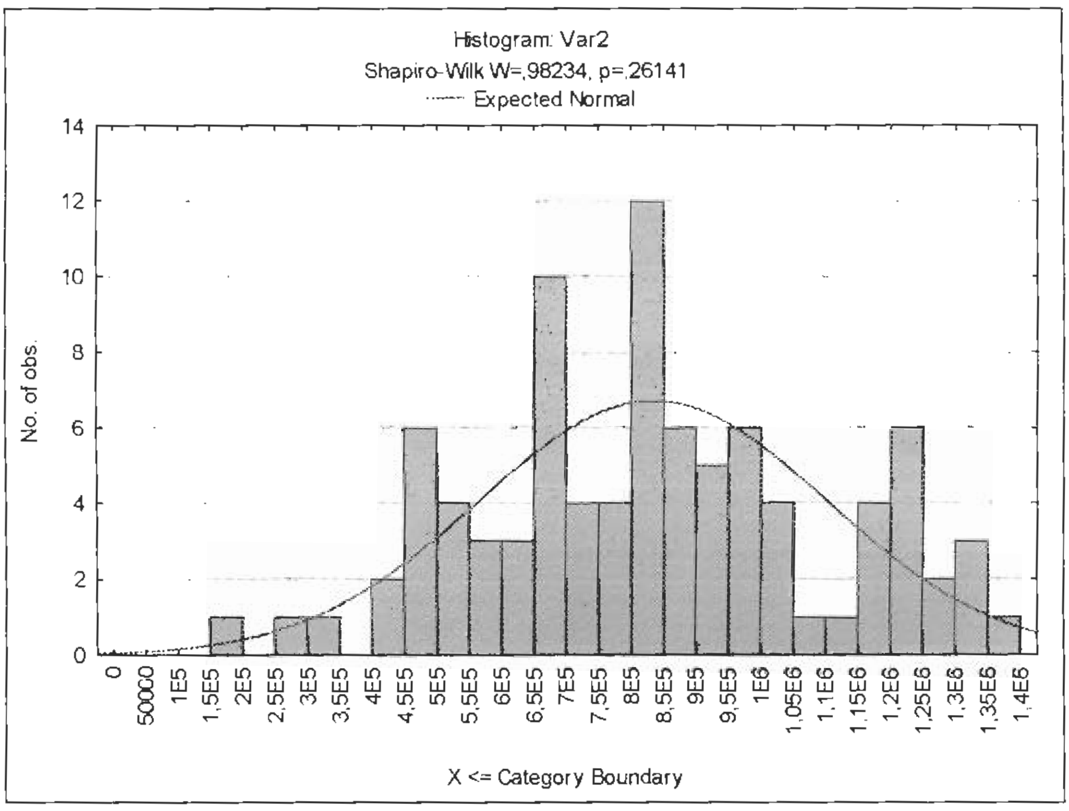
ZOEAS POR TRATAMIENTO

CONTROL



p < 0,05 No significativo-Normal

TRATAMIENTO B

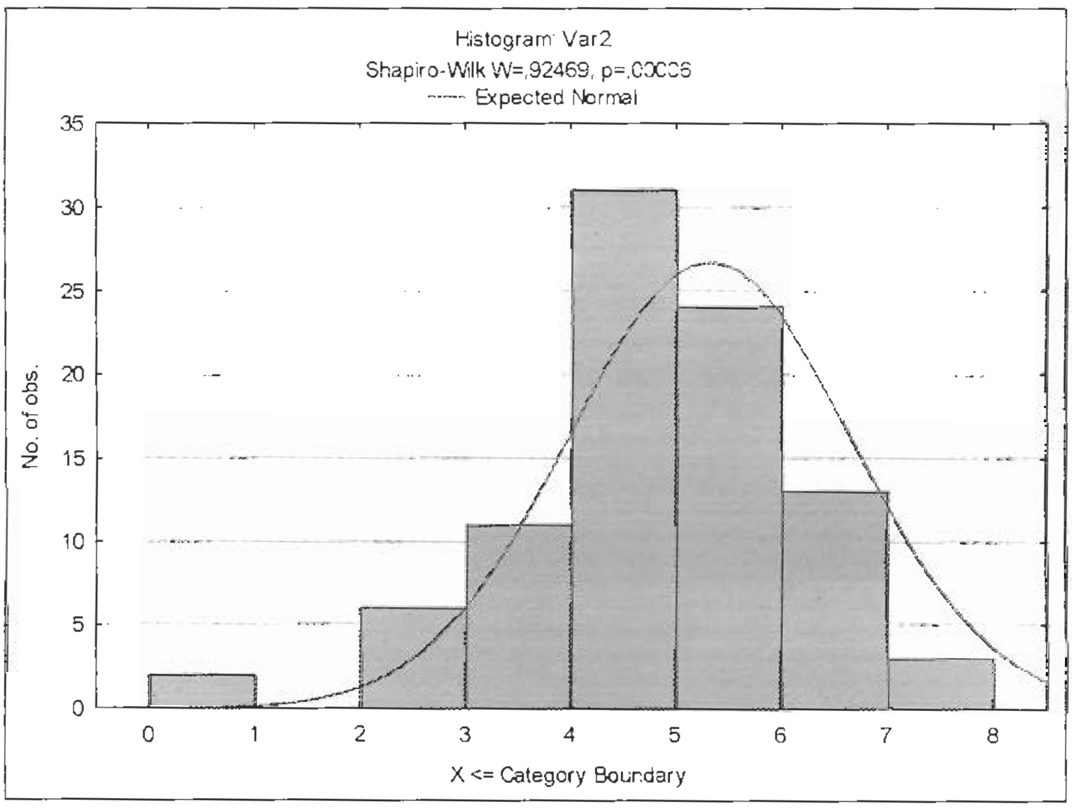


p < 0,05 No significativo-Normal

ANEXO 17

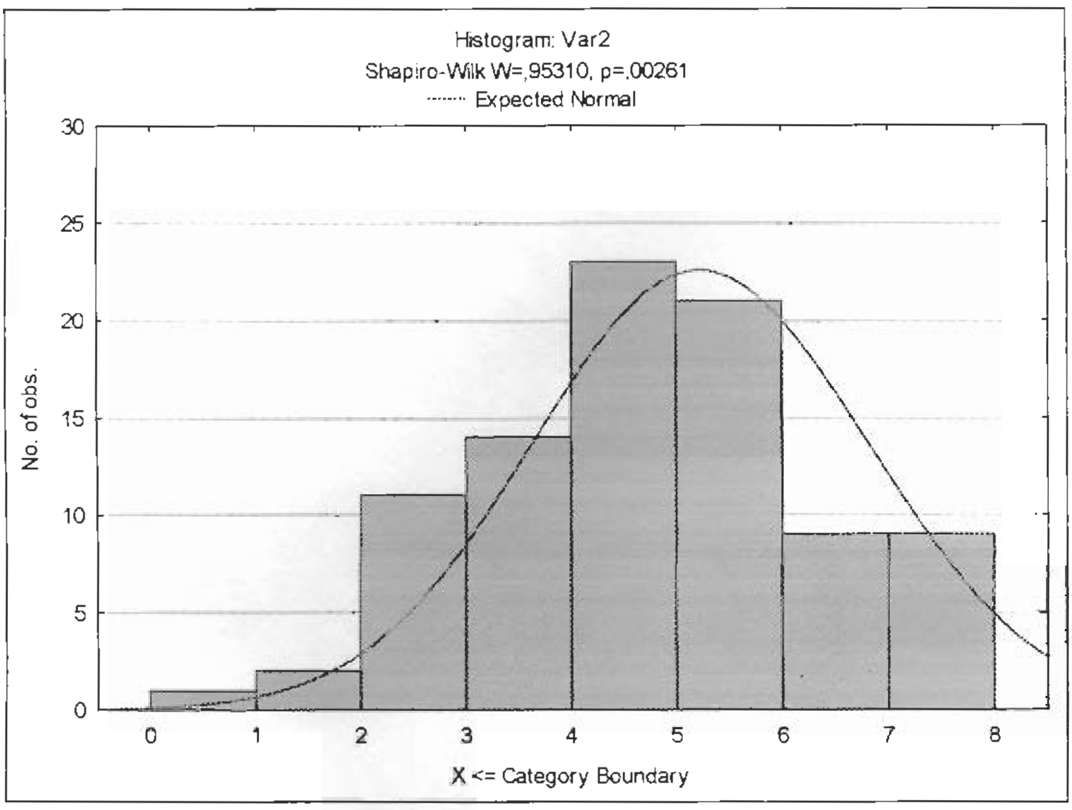
SEPTIEMBRE

HEMBRAS COPULADAS POR TRATAMIENTO
CONTROL



p > 0,05 Significativo-No Normal

TRATAMIENTO B



p > 0,05 Significativo-No Normal