

Effect of the diet traditional and non-traditional on the respiration and excretion in larvae of white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Efecto de la dieta tradicional y no tradicional en la respiración y excreción de larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

María Alejandra Medina-Jasso,¹ M.Sc, Juan Francisco Arzola-González,² Ph.D,
Pablo Piña-Valdez,^{1,2,*} Ph.D, Mario Nieves-Soto,^{1,2} Ph.D.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Programa Regional para el Doctorado en Biotecnología. Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Av. de Las Américas y Blvd. Universitarios s/n. Ap. Postal 1354. Culiacán, Sinaloa, México. ²Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. Av. Paseo Claussen s/n. Ap. Postal 610. Mazatlán, Sinaloa, México. *Correspondencia: pablopina@live.com.mx

Received: August 2014; Accepted: February 2015.

ABSTRACT

Objective. It was studied the respiration and ammoniacal excretion of zoeas and mysis of *Litopenaeus vannamei* fed with the diet used traditionally (of microalgae and nauplios of artemia) and another alternative (not traditional) of microalgae with rotifers. **Materials and methods.** After four hours the oxygen consumption and ammonia excretion in BOD bottles with 60 larvae (closed respirometers) was estimated. The concentrations of O₂ and NH₄⁺ were measured with an electrode polarográfico in the first case and with the indophenol blue technique for the second. **Results.** In zoea, oxygen consumption increased with development and showed statistical differences (p=0.023). In mysis, the oxygen consumption were significance in the traditional diet, whereas no differences were alternative (p=0.003). In both stages for the ammoniacal excretion increased development stage and there were detected statistical difference (p<0.001), although to the diets were not noticed significant differences. **Conclusions.** A higher energy absorption for zoea (I, II y III) what mysis (I, II y III) larvae was obtained, this is likely an interaction between rates of respiration and excretion caused by variations in the efficiency of absorption by the larvae. The weights obtained in both larvae were not supplied with differences between diets.

Key words: Ammonia, *brachionus plicatilis*, oxygen, white shrimp (Fuente: MeSH).

RESUMEN

Objetivo. Se analizó la respiración (O₂) y excreción amoniaca (NH₄⁺) en larvas zoea y mysis de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, alimentadas con las dietas tradicionales (microalgas y nauplios de artemia) y no tradicionales (microalgas y rotíferos). **Materiales y métodos.** A las cuatro horas de experimentación se estimó el consumo de oxígeno y la excreción de amonio en botellas BOD con 60 larvas (respirómetros cerrados). La concentración de O₂ se midió con un electrodo polarográfico y la NH₄⁺ se determinó con la técnica de azul de Indofenol. **Resultados.** En zoea, el consumo de oxígeno incrementó con el desarrollo y se presentaron diferencias estadísticas (p=0.023). En mysis, los

consumos de oxígeno presentaron una significancia entre la dieta tradicional, mientras en la alternativa no se obtuvieron diferencias ($p=0.003$). La excreción en ambos estadios larvales aumentó con la fase y se detectaron diferencias estadísticas ($p<0.001$), aunque no se registraron diferencias significativas en las larvas respecto a las dietas suministradas. **Conclusiones.** Se obtuvo una absorción de energía superior para las zoea (I, II y III) que mysis (I, II y III), esto probablemente a una interacción entre las tasas de respiración y de excreción provocada por variaciones en la eficiencia de absorción de las larvas. Los pesos obtenidos en ambas larvas no resultaron con diferencias entre las dietas suministradas.

Palabras clave: Amonio, *brachionus plicatilis*, oxígeno, camarón blanco (Fuente: MeSH).

INTRODUCTION

In Mexico, shrimp culture has been based solely on post larvae of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* produced under commercial laboratory conditions. Penaeid shrimp in laboratory conditions are adequately fed during larvae development both in quality and quantity in order to keep the larvae alive and ensure morphologic changes in larvae substrates from nauplius to post larvae (1).

Presently, commercial diets are available that constitute alternatives to live diet based on microalgae (2,3) where these diets play a fundamental role as feeding complements for zoea larvae of *L. vannamei*. However, due to characteristics such as nutritional composition, digestibility, presentation, floatability and above all ease of ingestion, they have not yet been optimized for the constant demand created by larva cultivators (4). Additionally, satisfactory results have not been obtained and therefore the producers continue to require live feed (micro algae) at least during the first stages of larvae development of *L. vannamei* white shrimp (5).

Due to the above and the uncertain market in the demand of artemia cysts to obtain nauplius feed for mysis larvae, production laboratories could eventually not be able to meet the demand for post larvae penaeid shrimp, which could lead to a serious problem for the shrimp sector as it strives to provide larvae feed. An urgent and necessary alternative is to use diets for shrimp larvae based on microorganisms that can substitute artemia nauplius such as copepods and (6) rotifers (7,8).

Rotifers are an important feeding source for shrimp larvae since they have high dietary value (9). Production techniques for mass cultivation of *Brachionus plicatilis* and *Brachionus rotundiformis* rotifers has been described, which makes these microorganisms probable alternatives to feeding for the first stages of the life cycle of penaeid shrimp, in particular during the mysis stage (8,9), as well as fish alevin (10). However, for rotifers, larvae or microscopic water species there are

INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo del camarón se ha basado únicamente en la utilización de postlarvas de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* producidas en condiciones de laboratorio comercial. En los camarones peneidos bajo condiciones de laboratorio, su alimentación durante el desarrollo de las larvas están relacionados con una adecuada alimentación en calidad y cantidad suficiente para mantener la supervivencia de las larvas y asegurar los cambios morfológicos entre los subestadios larvales desde nauplio hasta postlarva (1).

Hoy en día, existen dietas comerciales disponibles como alternativas del alimento vivo a base de microalgas (2,3), donde estas dietas juegan un papel fundamental como complementos del alimento para las larvas zoea de *L. vannamei*; sin embargo, por sus características en su composición nutritiva, digestibilidad, presentación, flotabilidad y sobre todo su facilidad de ingestión, no han sido todavía optimizados por la constante demanda de los larvicultores (4), además, tampoco se han obtenido resultados satisfactorios y con ello continúan los productores requiriendo del alimento vivo (microalgas), al menos durante las primeras etapas del desarrollo larval del camarón blanco *L. vannamei* (5).

Por lo anterior y debido a la incertidumbre en el mercado por la demanda de quistes de artemia para la obtención de nauplios como alimento para las larvas mysis, podría en un determinado tiempo no abastecer la demanda por los laboratorios de producción de postlarvas de camarones peneidos, resultando posiblemente la alimentación en las larvas en un grave problema para el sector camaronícola. Una alternativa urgente y necesaria es utilizar posibles dietas para larvas de camarón a base de microorganismos que puedan sustituir a los nauplios de artemia como son los copépodos (6) y rotíferos (7,8).

Los rotíferos constituyen una importante fuente de alimentación para larvas de camarón por presentar un alto valor dietético (9), incluso se

hydrologic factors that are of interest, such as temperature, pH, salinity and dissolved oxygen, among others, that can alter physiological processes such as respiration and ammoniacal excretion (11) in those aquatic organisms.

However, it is not only necessary to propose new alternative diets that can substitute at some point the artemia nauplius for rotifer, but also what implications this has in larvae and how this affects these microorganisms in physiological processes such as, among others, respiration and ammoniacal excretion in *L. vannamei* Larvae.

Studies exist that analyzed the oxygen consumption and ammoniacal excretion in white shrimp post larvae using feed that is not alive (11,12). However, in *L. vannamei* larvae investigations have not been done on the effect that traditional feed (microalgae and artemia nauplius) and non-traditional feed (microalgae and *B. plicatilis* rotifer) have on respiration and excretion of zoea and mysis larvae in white shrimp. Therefore, the objective was to analyze the consumption of oxygen and ammonia excretion in zoea and mysis larvae of *L. vannamei* white shrimp fed with different diets (microalgae and artemia nauplius and microalgae and rotifer) under laboratory conditions.

MATERIALS AND METHODS

Support cultures. The species used as support cultures, such as microalgae, rotifer and artemia, were *Chaetoceros muelleri*, *Brachionus plicatilis* y *Artemia franciscana*, respectively. The strains of microalgae were provided by the collection from the Centro de Investigaciones Científicas y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE), rotifer was provided by the Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) and artemia cysts were acquired from a commercial business. The techniques used to cultivate the microalgae (13), rotifer (8) and to decapsulate the artemia cysts and obtain nauplius (14) followed what was proposed by those authors. The larvae correspond to one lot of *L. vannamei* in nauplius III and were provided by a commercial laboratory in the south of Sinaloa, Mexico. The larvae were transported for a period of 2 h in a container in plastic bags with seawater (35ups) filtered, oxygenated to saturation, and between 26 and 27°C.

Experiment design. In the laboratory larvae were acclimatized (1°C/h) to the experiment temperature and salinity (29±0.2°C and 35ups) and were placed in a 250 L recipient with filtered seawater to 1 µm and treated with activated

han descrito técnicas de producción para el cultivo de los rotíferos *Brachionus plicatilis* y *Brachionus rotundiformis* en condiciones masivas, lo que ubica a estas especies de microorganismos como probables alternativas de alimentación para las primeras etapas del ciclo de vida de los camarones peneidos, en particular al estadio de mysis (8,9), así como alevines de peces (10). Sin embargo, para los rotíferos, larvas o especies acuáticas microscópicas, existen algunos factores hidrológicos de interés como temperatura, pH, salinidad y oxígeno disuelto, entre otros, que pueden alterar sus procesos fisiológicos como son la respiración y excreción amoniaca (11) en dichos organismos acuáticos mencionados.

Aunque, no solamente es necesario proponer nuevas dietas alternativas que puedan sustituir en un determinado momento a los nauplios de artemia por los rotíferos, sino que implicaciones tienen en las larvas y como afectan estos microorganismos en algunos de sus procesos fisiológicos como son entre otros, la respiración y la excreción amoniaca en larvas de *L. vannamei*. Existen algunos estudios donde se analizó el consumo de oxígeno y la excreción amoniaca en postlarvas de camarón blanco utilizando alimento no vivo (11,12). Sin embargo, en larvas de *L. vannamei* no se han realizado investigaciones sobre el efecto de la alimentación tradicional (microalgas y nauplios de artemia) y no tradicional (microalgas y rotíferos *B. plicatilis*) sobre la respiración y excreción en larvas zoea y mysis de camarón blanco. Por lo tanto, como objetivo se analizó el consumo de oxígeno y la excreción amoniaca en larvas zoea y mysis de camarón blanco *L. vannamei* alimentadas con diferentes dietas (microalgas y nauplios de artemia y microalgas y rotíferos) bajo condiciones de laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cultivos de apoyo. Las especies utilizadas para los cultivos de apoyo como microalgas, rotíferos y artemias, correspondieron a *Chaetoceros muelleri*, *Brachionus plicatilis* y *Artemia franciscana*, respectivamente. Las cepas de microalgas fueron proporcionadas por la colección del Centro de Investigaciones Científicas y de Estudios Superiores de Ensenada (CICESE), los rotíferos por el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) y los quistes de artemia fueron adquiridos de una empresa comercial. Las técnicas utilizadas para el cultivo de microalgas (13), rotíferos (8) y la descapsulación de quistes de artemia y su obtención de nauplios (14), fue de acuerdo con lo propuesto por estos autores. Las larvas correspondieron a un mismo lote de *L. vannamei* en fase de nauplio III y fueron

carbon. They were constantly aerated with bubbles and the air was filtered to 1 μm . The larvae were maintained with daily water changes of 25 to 30% and bio deposits were eliminated by a syphon protected with a Nyltex screen of 200 μm .

When the larvae were in zoea I to mysis III stages they were concentrated in a submerged sieve and were later placed in four recipients of 15 L (aquarium) to a density of 100 larvae/L (1500 larvae/aquarium). Afterwards the concentration of the feed was verified. Initially, 50 larvae were obtained per phase and the dry unit weight (PSU) and the organic unit weight (POU) of the larvae were estimated. Additionally, the PSU and PSO per individual was estimated for the microalgae, rotifer and artemia nauplius; these groups were concentrated separately in 25 mm Whatman GF/C fiberglass filters, previously calibrated. The PSU and PSO of the microalgae was expressed in $\text{pg}/\text{cel}^{-1}$ (pg =picograms). In the aquariums, the elimination of the excess feed and feces were extracted by a syphon protected by a 250 μm nylon NITEX meshing to impede the exit of zoea larvae and 600-700 μm for mysis.

The estimation of oxygen consumption and ammonium excretion was determined separately in zoea and mysis larvae. In zoea, a total of 102 300 ml BOD bottles were used, of which, 32 bottles corresponded to each sub phase (Zoea I, II y III) with 60 larvae (closed respirometers), whose sole feed was microalgae (*C. muelleri*), and six bottles were considered control (no larvae).

In mysis, a total of 204 300 ml BOD bottles were used, corresponding to 64 bottles for each sub phase (mysis I, II and III) with 60 larvae (closed respirometers), and four bottles were considered control. Of these 64 bottles, 32 were fed with microalgae -*C. muelleri*- and artemia nauplius (ma+nau) and 32 bottles with microalgae diet -*C. muelleri*- and rotifer (ma+rot). All the bottles with both larvae phases were kept in a rectangular fiberglass recipient (124x60x19 cm) with water recirculated with a LITTLE GIANT pump submerged to 1/16 Hp and a constant temperature of 29°C with a heater and FINNER HC-0800 thermoregulator.

Determining the oxygen consumption and ammoniacal excretion for each bottle of the zoea and mysis larvae was recorded four hours after beginning the experimental phase. The concentration of oxygen was directly measured in each bottle with an oximeter and an ORION polarographic electrode. To estimate the consumption of oxygen for each control, the

proporcionadas por un laboratorio comercial ubicado al sur de Sinaloa, México. Las larvas fueron transportadas por un período de 2 h en un contenedor en bolsas de plástico con agua de mar (35ups) filtrada, oxígeno a saturación y temperatura de 26 a 27°C.

Diseño experimental. En el laboratorio, se aclimataron las larvas (1°C/h) a la temperatura y salinidad experimental (29±0.2°C y 35ups) y se colocaron en un recipiente de 250 L con agua de mar filtrada a 1 μm y tratada con carbón activado, se le adicionó constantemente aireación por burbujeo y el aire fue filtrado a 1 μm , las larvas fueron mantenidas con recambios de agua diarios del 25 al 30% y la eliminación de los biodepositos se obtuvieron con un sifón protegido por una malla nyltex de 200 μm .

Cuando las larvas fueron presentando los estadios desde zoea I a mysis III, se concentraron en un tamiz sumergido, después fueron colocadas en cuatro recipientes de 15 L (acuarios) a una densidad de 100 larvas/L (1500 larvas/acuario), después se verificó la concentración del alimento. Inicialmente se obtuvieron 50 larvas por estadio y se estimó el peso seco unitario (PSU) y el peso orgánico unitario (POU) de las larvas. Además, se realizó la estimación del PSU y PSO por individuo para las microalgas, rotíferos y nauplios de artemia; para estos grupos, se concentraron por separado en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 25 mm de diámetro previamente calibrados. El PSU y PSO de las microalgas fue expresado en $\text{pg}/\text{cel}^{-1}$ (pg =picogramos). En los acuarios la eliminación del excedente del alimento y las heces, fueron extraídas por un sifón protegido por una malla nylon NITEX de 250 μm para impedir la salida de las larvas zoea y de 600-700 μm para mysis.

La estimación del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio, se determinó por separado en las larvas zoea y mysis. En zoea, se utilizaron en total 102 botellas BOD de 300 ml, de las cuales, 32 botellas correspondieron a cada subestadio (zoea I, II y III) con 60 larvas (respirómetros cerrados), su alimentación fue únicamente microalgas (*C. muelleri*), más seis botellas que fueron consideradas como testigos (sin larvas).

En mysis, se utilizaron en total 204 botellas BOD de 300 ml, correspondiendo a 64 botellas por cada subestadio (mysis I, II y III) con 60 larvas (respirómetros cerrados), más cuatro botellas como testigos. De estas 64 botellas, 32 fueron alimentadas con microalgas -*C. muelleri*- y nauplios de artemia (ma+nau) y 32 botellas con la dieta de microalgas -*C.*

differences in the average of oxygen in the control bottle (without larvae) was subtracted from the average amount of oxygen in the bottles with larvae, thus obtaining the average amount of oxygen consumed by the larvae. To estimate the consumption per larva, the amount of oxygen consumed in each bottle was divided among the number of larva (60 larvae) contained in each bottle, thus obtaining the oxygen consumption per larva (12,15,16), the oxygen consumed was expressed as $\mu\text{g O}_2/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$. Later, the oxygen consumption per larva was converted into units of energy under the supposition that 1 mg of O_2 consumed is equivalent to 14.06 J (17), the consumption of oxygen in energy per larva was expressed as $\text{mJ}/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$.

Simultaneously with the oxygen readings for each bottle, ammonium was determined using the indophenol blue method (18), which consisted of obtaining 10 ml of water in each bottle (with and without larvae) which were deposited in duly labeled test tubes. To each was added 0.4 ml of phenol alcohol solution, 0.4 ml of nitroprusside and 1 ml of oxidizing solution (sodium citrate and sodium hypochlorite), after which the tubes were shaken and left to rest for two hours to develop the color of the chromophore mix, after which absorbency readings were taken in a HACH 4000UV-VIS spectrophotometer with a wave length of 640 nm. To estimate the excretion per larva, it was calculated the same way as oxygen consumption. The ammonium excretion was expressed as $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. The amount of ammonium excreted by larva was converted into energy units with the idea that 1 mg of nitrogen ammonium (N-NH_3) is equivalent to 24.87 J (19), the excretion of ammonium in energy was expressed as $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$.

The O:N index (rate of oxygen consumption and ammonium excretion) was estimated based on the values of oxygen consumption and ammonium excretion of the larvae kept in respirometers during the experimental phase. The physiological rates (consumption and excretion) of the larvae for both components were transformed into atoms/grams to estimate the O:N using the supposition of respiratory thermochemistry (17). This index was used to estimate the energy component of proteins, lipids and carbohydrates for *L. vannamei* larvae. It was considered that values between 3 and 16 obtained from this index indicated protein oxidation, from 50 to 60 indicated catabolism of proteins and lipids, and values above 61 corresponded to carbohydrates (20).

muelleri- y rotíferos (ma+rot). Todas las botellas de ambos estadios larvales, se mantuvieron en un recipiente rectangular (124x60x19 cm) de fibra de vidrio con agua recirculando con una bomba LITTLE GIANT sumergida de 1/16 de Hp y una temperatura constante de 29°C con un calentador y un termorregulador FINNER, HC-0800.

La determinación en cada botella del consumo de oxígeno y de la excreción amoniacal por las larvas zoea y mysis, se registraron a las cuatro horas de iniciada la fase experimental. La concentración de oxígeno se midió directamente en cada botella con un oxímetro y un electrodo polarográfico ORION. Para estimar el consumo de oxígeno por cada tratamiento, se obtuvo por las diferencias en los promedios de la cantidad de oxígeno en las botellas testigo (sin larvas), menos la cantidad media de oxígeno en las botellas con las larvas, obteniendo así, la cantidad promedio del consumo de oxígeno por las larvas. Para estimar el consumo por larva, la cantidad de oxígeno consumido en cada botella se dividió entre el número de larvas (60 larvas) contenidas en cada botella, obteniendo así el consumo de oxígeno por larva (12,15,16), el consumo de oxígeno fue expresado en $\mu\text{g O}_2/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$. Posteriormente el consumo de oxígeno por larva se convirtió a unidades de energía bajo el supuesto que 1 mg de O_2 consumido es equivalente a 14.06 J (17), el consumo de oxígeno en energía por larva fue expresado en $\text{mJ}/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$.

De forma simultánea a las lecturas del oxígeno por cada botella, se realizó la determinación del amonio a través del método de azul de indofenol (18), el cual consistió en obtener 10 ml de agua de cada botella (con y sin larvas) y se depositaron en tubos de ensayo debidamente etiquetados. A estos se les adicionaron 0.4 ml de solución alcohólica de fenol, 0.4 ml de nitroprusiato y 1 ml de solución oxidante (citrate de sodio e hipoclorito de sodio), después se agitaron los tubos y se dejaron reposar durante dos horas para su desarrollo del color de la mezcla cromofórica, transcurrido el tiempo se realizaron las lecturas de absorbancia en un espectrofotómetro HACH, 4000UV-VIS a una longitud de onda de 640 nm. Para la estimación de la excreción por larva, se calculó de la misma forma que el consumo de oxígeno. La excreción de amonio fue expresada en $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. La cantidad de amonio excretado por larva, fue convertido a unidades de energía bajo el supuesto que 1 mg de nitrógeno de amonio (N-NH_3) es equivalente a 24.87 J (19), la excreción de amonio en energía fue expresada en $\text{mJ}/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$.

Statistical analysis. Using the data of oxygen consumption and ammonium excretion in zoea and mysis substages, normality (Lillieford) and homoscedasticity (Bartlett) tests were performed, and depending on the results, in zoea a one way ANOVA was applied, while mysis corresponded to a two factor ANOVA (substage and diet). In cases where the results were significant, multiple comparison tests were performed (Tukey – parametric- or Tukey Type -non parametric). In all cases, a level of significance of 0.05 (21) was used, and measurement adjustments were calculated using the Statistica V7.0 packet (22).

RESULTS

Total and organic dry weight. The total and organic dry weight of larvae increased from zoea I by 11.3 (PSU) and 8.7 μg (POU) to 92.1 (PSU) and 71.7 μg (POU) for the PL1 phase. Weight increase for the organisms between the substages showed different growth rates. In mysis I the increase in total dry weight fluctuated from 47 to 74%. However, the inorganic material of the larvae did not behave according to larva development, with percentages between 17.4 and 25% (Table 1).

Table 1. Average values and standard deviation (\pm) of the unit (PSU) and organic (POU) dry weight.

	PSU pg/cel ⁻¹	POU pg/cel ⁻¹	PSU $\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}$	POU $\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}$
Microalgae	78.7 ± 19.1	44.7 ± 9.9		
Rotifer			0.37 ± 0.09	0.29 ± 0.05
Nauplius			2.52 ± 0.57	2.23 ± 0.53
Zoea I			11.31 ± 2.68	8.67 ± 1.78
Zoea II			16.66 ± 3.30	12.54 ± 2.63
Zoea III			28.95 ± 4.56	21.67 ± 3.64
Mysis I			48.23 ± 6.91	36.57 ± 5.37
Mysis II			61.93 ± 7.67	47.15 ± 5.84
Mysis III			84.17 ± 6.39	69.47 ± 4.85

Respiration. The oxygen consumption rates in Zoea increased progressively from 1.47 in Zoea I to 2.15 $\mu\text{g O}_2/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$ in Zoea III. The equivalent energy use per hour in the larvae varied from 20.6 to 30.2 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. When the oxygen consumption data were analyzed statistically, these showed significant differences between Zoea I and II, but not between II and III (Table 2).

In mysis fed with microalgae and *Artemia* nauplius, oxygen consumption was different in the substages, with a minimum and maximum

El índice de O:N (tasa de consumo de oxígeno y tasa de excreción amonio), se estimó con los valores del consumo de oxígeno y de la excreción de amonio de las larvas mantenidas en los respirometros durante la fase experimental. Las tasas fisiológicas (consumo y excreción) de las larvas para ambos componentes, fueron transformados a átomos/gramo para la estimación de la razón O:N, bajo los supuestos de la termoquímica respiratoria (17). Este índice fue utilizado para la estimación del componente energético de las proteínas, lípidos y carbohidratos para las larvas de *L. vannamei*. Se consideró que valores obtenidos de este índice entre 3 y 16, indicaron oxidación de proteínas, de 50 a 60 indicaron catabolismo en proporción de proteínas y lípidos, y valores superiores a 61 correspondieron a carbohidratos (20).

Análisis estadístico. A los datos del consumo de oxígeno y de excreción de amonio en los subestadios de zoea y mysis, se les realizaron pruebas de normalidad (Lillieford) y homoscedasticidad (Bartlett) y dependiendo de los resultados, en zoea se aplicó un ANOVA de una vía, mientras en mysis correspondió a un ANOVA de dos factores (subestadio y dieta), en los casos donde resultó significativo se aplicaron pruebas de comparaciones múltiples (Tukey – paramétrica- o Tipo Tukey -no paramétrica-), en todos los casos se utilizó un nivel de significancia de 0.05 (21) y el ajuste de medias se calculó por el paquete Statistica, V7.0 (22).

RESULTADOS

Peso seco total y orgánico. El peso seco total y orgánico de las larvas, aumentaron desde zoea I en 11.3 (PSU) y 8.7 μg (POU) hasta 92.1 (PSU) y 71.7 μg (POU) para el estadio de PL1. Los incrementos del peso en los organismos entre los subestadios registraron diversas tasas de crecimiento, en mysis I los aumentos en peso seco total fluctuaron del 47 al 74%. Sin embargo, la materia inorgánica en las larvas, no presentaron un comportamiento de acuerdo al desarrollo larval, resultando los porcentajes entre 17.4 y 25% (Tabla 1).

Respiración. La tasa de consumo de oxígeno en zoea incrementó progresivamente de 1.47 en zoea I a 2.15 $\mu\text{g O}_2/\text{larva}^{-1}/\text{h}^{-1}$ en zoea III. Su equivalente en gasto energético por hora en las larvas varió de 20.6 a 30.2 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, al analizar estadísticamente los datos de consumo de oxígeno, estos presentaron diferencias significativas entre zoea I y II, pero no entre zoea II y III (Tabla 2).

En mysis alimentadas con microalgas y nauplios de *Artemia*, el consumo de oxígeno resultó con

Table 2. Average consumption of oxygen and standard deviation (\pm) in $\mu\text{g O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (A) and $\text{mg O}_2/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and $\text{KJ}/\text{h}^{-1}/\text{g}^{-1}$ for total dry weight (B) in zoea larvae. p =probability.

		ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III	p
A	$\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	1.47 ^a \pm 0.39	1.91 ^b \pm 0.81	2.15 ^b \pm 0.51	$p=0.023$
	$\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	20.60 ^a \pm 5.42	26.80 ^b \pm 11.45	30.20 ^b \pm 7.19	$p=0.023$
B	$\text{mg}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	129.54 ^b \pm 34.05	114.39 ^{ab} \pm 48.05	74.21 ^a \pm 17.67	$p=0.009$
	$\text{KJ}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	1.82 ^b \pm 0.48	1.61 ^{ab} \pm 0.69	1.04 ^a \pm 0.25	$p=0.009$

Different letters indicate significant differences (for a non-parametric one-way ANOVA).

variation of 1.9 and 2.4 $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, which corresponded to an energy output of 27.9 and 34.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, respectively. While the mysis larvae that were fed with the alternative diet (microalgae and rotifers) did not show differences between the three substages, with consumption between 2.2 and 2.4 $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, its equivalent in energy consumption varied from 32.0 to 33.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. Additionally, statistically there were no significant differences observed in oxygen consumption measurement in mysis substages (Table 3).

Lower energetic use was seen in mysis I fed with *Artemia* nauplius, since they possibly consumed less feed; from mysis II no differences were seen between the substages (2.3 to 2.4 $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$), and diets (33.5 to 34.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$), although the values were intermediate during mysis I fed with microalgae and *B. plicatilis* rotifers. As was seen with the oxygen consumption in mysis, metabolic output showed no statistical differences between the diets given to those larvae (Table 3).

Ammonium excretion. In zoea, the excretion of NH_4^+ in energy units was inferior to those estimated for respiratory activity, and did not present a gradient related to the weight and development time of larvae. The individual excretion rate was around 0.06 $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, corresponding to 5 and 7.5% of the metabolic use recorded during respiration. The normalized production rate of

diferencias entre los subestadios presentando una variación mínima y máxima de 1.9 y 2.4 $\mu\text{gO}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, los cuales correspondieron en gasto de energía a 27.9 y 34.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, respectivamente. Mientras que las larvas mysis alimentadas con la dieta alternativa (microalgas y rotíferos), no presentaron diferencias entre los tres subestadios, registrando consumos entre 2.2 y 2.4 $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, y su equivalente en gasto energético varió de 32.0 a 33.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. Además, estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre las medias del consumo de oxígeno en los subestadios de mysis (Tabla 3).

El menor gasto energético resultó en mysis I alimentadas con nauplios de *Artemia*, debido a que consumieron posiblemente una menor cantidad de alimento; a partir de mysis II no se presentaron diferencias entre los subestadios (2.3 a 2.4 $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$), al igual que en dietas (33.5 a 34.8 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$), aunque los valores resultaron intermedios durante mysis I alimentadas con microalgas y rotíferos *B. plicatilis*. De igual forma que el consumo de oxígeno en la mysis, el gasto metabólico no resultó con diferencias estadísticas entre las dietas proporcionadas a dichas larvas (Tabla 3).

Excreción amoniacal. En zoea, la excreción de NH_4^+ en unidades energéticas, fueron inferiores a los estimados por la actividad respiratoria, además no presentaron un gradiente relacionado con el peso y el tiempo de desarrollo de las larvas. La tasa de excreción individual se mantuvo alrededor de 0.06 $\mu\text{g N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, correspondiendo entre 5 y 7.5% del costo metabólico registrado durante la respiración. La tasa de producción de NH_4^+ normalizada por unidad de peso disminuyó progresivamente, presentando diferencias significativas en los subestadios de zoea, donde el costo metabólico en la respiración de zoea I fue 7% y entre zoea II y III del 5%. Los valores de la excreción en zoea, resultaron estadísticamente significativos con el desarrollo larval, además, los valores de la excreción incrementaron con el subestadio, aunque no se detectaron diferencias estadísticas entre las dietas suministradas en dichas larvas (Tabla 4).

Table 3. Average oxygen consumption and standard deviation (\pm) in $\mu\text{g}/\text{O}_2/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and in $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (A) and in $\text{mg O}_2/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and $\text{KJ}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$ for total dry weight (B) in mysis larvae. ma+nau=microalgae and *Artemia* nauplius; ma+rot=microalgae and rotifers; p =probability.

		MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III		p
		ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	
A	$\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	1.99 ^a \pm 0.47	2.28 ^{ab} \pm 0.47	2.39 ^b \pm 0.60	2.41 ^b \pm 0.42	2.48 ^b \pm 0.44	2.40 ^b \pm 0.50	$p=0.003$
	$\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	27.95 ^a \pm 6.67	32.06 ^{ab} \pm 6.63	33.55 ^b \pm 8.42	33.86 ^b \pm 5.94	34.80 ^b \pm 6.20	33.76 ^b \pm 6.97	$p=0.003$
B	$\text{mg}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	41.21 ^{bc} \pm 9.84	47.28 ^c \pm 9.78	38.53 ^b \pm 9.68	38.89 ^b \pm 6.83	29.40 ^a \pm 5.24	28.53 ^a \pm 5.89	$p<0.01$
	$\text{KJ}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	0.58 ^{bc} \pm 0.14	0.67 ^c \pm 0.14	0.54 ^b \pm 0.14	0.55 ^b \pm 0.10	0.41 ^a \pm 0.07	0.40 ^a \pm 0.08	$p<0.01$

Different letters indicate significant differences (two-way ANOVA).

NH_4^+ per unit of weight diminished progressively, presenting significant differences in the zoea substages where the metabolic cost in zoea I respiration was 7% and between zoea II and III was 5%. The values of zoea excretion resulted statistically significant in larvae development, and the excretion values increased with the substage, although no statistical differences were detected between the diets fed in such larvae (Table 4).

Table 4. Average values and standard deviation (\pm) of ammonium excretion rate in μg of $\text{N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and in $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (A) and in mg of N-NH_4^+ + $\text{KJ}/\text{h}^{-1}/\text{g}^{-1}$ for total dry weight (B) for zoea larvae. p=probability.

		ZOEA I	ZOEA II	ZOEA III	p
A	$\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	0.06 ^a \pm 0.01	0.06 ^a \pm 0.02	0.06 ^a \pm 0.02	p=0.134
	$\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	1.43 ^a \pm 0.32	1.58 ^a \pm 0.41	1.53 ^a \pm 0.38	p=0.128
B	$\text{mg}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	5.09 ^c \pm 1.15	3.81 ^b \pm 0.98	2.12 ^a \pm 0.52	p<0.001
	$\text{KJ}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	0.13 ^c \pm 0.03	0.09 ^b \pm 0.02	0.05 ^a \pm 0.01	p<0.001

Different letters indicate significant differences (one-way ANOVA).

In mysis, the excretion rate did not show differences between the diets fed to the larvae, and the same can be said for individual weight and in regard to the developmental phase. On average, values from 0.10 to 0.11 μg $\text{N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, and from 2.5 to 2.6 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ were obtained, which correspond to 8 and 10% of the metabolic use calculated from the respiration rate for larvae (Table 5).

Metabolic expense and O:N ratio. The average respiration rates and ammonium excretion, which were mainly produced by catabolism of the protein, aided in estimating the metabolic expense per substage, which was between 22 (zoea I) and 31.7 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (zoea III), which corresponded to a daily energetic expense of 0.53 and 0.76 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{day}^{-1}$, respectively.

The values of metabolic expense normalized per unit of total dry weight progressively diminished, obtaining total daily energetic expenses of 46.8 (zoea I), 40.8 (zoea II) and 26.4 $\text{kJ}/\text{día}$ -

En mysis, la tasa de excreción no registró diferencias entre las dietas suministradas a las larvas, asimismo en el peso individual y con respecto a la fase de desarrollo. En promedio, se obtuvieron valores de 0.10 a 0.11 μg $\text{N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, y de 2.5 a 2.6 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, los cuales correspondieron entre 8 y 10% del costo metabólico calculado a partir de la tasa de respiración por larva (Tabla 5).

Costos metabólicos y razón O:N. Los promedios en conjunto de las tasas de respiración y de la excreción amoniacal, los cuales fueron producidos principalmente por el catabolismo de las proteínas; permitieron estimar el costo metabólico por subestadio, resultando entre 22 (zoea I) y 31.7 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (zoea III), lo cual correspondió a un gasto energético por día de 0.53 y 0.76 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{día}^{-1}$, respectivamente.

Los valores del costo metabólico normalizado por unidad de peso seco total disminuyeron progresivamente, obteniéndose costos energéticos totales diarios de 46.8 (zoea I), 40.8 (zoea II) y 26.4 $\text{kJ}/\text{día}^{-1}/\text{g}^{-1}$ (zoea III) de peso seco de las larvas, lo cual indicó una disminución mínima entre zoea I y II, con respecto a zoea III. Aunque, el costo metabólico diario total para el estadio de zoea III, representó aproximadamente el 56% respecto al gasto metabólico de zoea I.

En mysis, el gasto metabólico individual alimentado con microalgas y nauplios de *Artemia*, registró un mínimo de 30.5 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ y un máximo de 37.2 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$, mientras a base de microalgas y rotíferos, la variación fue 34.7 y 36.6 $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$. Sin embargo, los valores del costo energético fueron muy similares entre los subestadios independientemente de la dieta suministrada a las larvas. En cambio, los gastos energéticos por unidad de peso disminuyeron aproximadamente 60%, entre zoea III y mysis I, registrando valores mínimos en forma progresiva de acuerdo al desarrollo larval y sin una relación con el tipo de alimento suministrado a las larvas. La razón O:N en larvas zoea aumentó en paralelo con el desarrollo larvario, registrando valores a partir de 22.3 hasta 30.6. Mientras en mysis, la razón O:N resultó con valores menores que

Table 5. Average values and standard deviation (\pm) of ammonium excretion in μg of $\text{N-NH}_4^+/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and in $\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$ (A) and in mg of $\text{N-NH}_4^+/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$ and $\text{KJ}/\text{h}^{-1}/\text{g}^{-1}$ for total dry weight (B) of mysis larvae. ma+nau=microalgae and *Artemia* nauplius; ma+rot=microalgae and rotifers; p=probability.

		MYSIS I		MYSIS II		MYSIS III		p
		ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	ma+nau	ma+rot	
A	$\mu\text{g}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	0.10 ^a \pm 0.01	0.11 ^a \pm 0.01	0.10 ^a \pm 0.02	0.11 ^a \pm 0.01	0.10 ^a \pm 0.02	0.10 ^a \pm 0.01	p=0.187
	$\text{mJ}/\text{lar}^{-1}/\text{h}^{-1}$	2.51 ^a \pm 0.36	2.68 ^a \pm 0.35	2.54 ^a \pm 0.39	2.69 ^a \pm 0.35	2.45 ^a \pm 0.37	2.51 ^a \pm 0.30	p=0.193
B	$\text{mg}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	2.09 ^c \pm 0.30	2.24 ^c \pm 0.29	1.65 ^b \pm 0.25	1.75 ^b \pm 0.23	1.17 ^a \pm 0.18	1.20 ^a \pm 0.14	p<0.001
	$\text{KJ}/\text{g}^{-1}/\text{h}^{-1}$	0.05 ^c \pm 0.01	0.06 ^c \pm 0.01	0.04 ^b \pm 0.01	0.04 ^b \pm 0.01	0.03 ^a \pm 0.004	0.03 ^a \pm 0.004	p<0.001

Different letters indicate significant differences (two-way ANOVA).

1/g-1 (zoea III) of dry weight of larvae, which indicated a minimum reduction between zoea I and II with respect to zoea III. Although the total daily metabolic expense for the zoea III stage represented approximately 56% with regards to the metabolic expense of zoea I.

In mysis, the individual metabolic expense with microalgae and *Artemia* nauplius feedings showed a minimum of 30.5 mJ/lar⁻¹/h⁻¹ and a maximum of 37.2 mJ/lar⁻¹/h⁻¹, while when based on microalgae and rotifers, the variation was 34.7 and 36.6 mJ/lar⁻¹/h⁻¹. However, energetic expense values were very similar between substages, independently of the diet fed to the larvae. Conversely, energetic expense per unit of weight diminished by approximately 60% between zoea III and mysis I, with minimum values progressing according to larval development and unrelated to the type of feed given to the larvae.

The O:N ratio in zoea larvae increased parallel to larval development, with values from 22.3 to 30.6. Mysis had lesser O:N ratio values than zoea, between 17.2 and 22, which determined that the proteins in both stages were used as metabolic substrate during larval development of *L. vannamei* (Table 6).

DISCUSSION

The final weights reached in the postlarva stage (PL1) obtained in development were considerably superior in the same species and age than those obtained by other authors in laboratory conditions (8). The probable difference in weights obtained could be related to environmental characteristics in which the larvae developed between nauplius I and II. Although they were part of the same production lot, the weight of the larvae could have been influenced by a genetic variability in the nauplius used. If we take into account that larval development is directly related to water conditions and feed, then the results of this study with respect to average weights between the diets could be considered as indicators of adequate conditions in which the laboratory tests were performed.

Also, the same water conditions were maintained among all the bottles, and only the type of feed given to the larvae was changed, so that weight variations obtained could be attributed to different nutritional components in diets based on microalgae and *Artemia* nauplius or microalgae and rotifers, in order to achieve morphologic changes between mysis and postlarva stages, which is necessary so that larvae can reach said phase according to changes in the feeding habits during development. In general, satisfactory

Table 6. Total energetic expense per respiration (mJ/lar⁻¹/h⁻¹) and ammonia excretion (KJ/h⁻¹/g⁻¹) for dry weight and O:N ratio per diet applied. ma = microalgae, ma + nau = microalgae and *Artemia* nauplius, ma + rot = microalgae and rotifers.

STATE	LARVAE	DIET	mJ/lar ⁻¹ /h ⁻¹	KJ/g ⁻¹ /h ⁻¹	O:N
ZOEAE	I	ma	22.03	1.95	22.26
	II	ma	28.37	1.70	26.30
	III	ma	31.73	1.10	30.59
MYSIS	I	ma + nau	30.45	0.63	17.22
	II	ma + nau	36.09	0.58	20.41
	III	ma + nau	37.24	0.44	22.01
MYSIS	I	ma + rot	34.74	0.72	18.50
	II	ma + rot	36.56	0.59	19.44
	III	ma + rot	36.27	0.43	20.81

zoea entre 17.2 y 22, lo cual determinó que las proteínas en ambos estadios fueron utilizadas como sustrato metabólico durante el desarrollo larval de *L. vannamei* (Tabla 6).

DISCUSIÓN

Los pesos finales alcanzados en las postlarvas (PL1) obtenidas en el desarrollo fueron considerablemente superiores para la misma especie y edad que los obtenidos por otros autores en condiciones de laboratorio (8). Las probables diferencias en los pesos obtenidos podrían estar relacionadas con características ambientales en las cuales fueron desarrolladas las larvas entre nauplio I y II; aunque correspondieron a un mismo lote de producción, el peso en las larvas pudo estar influenciado por la variabilidad genética de los nauplios utilizados. Si se considera que el desarrollo larval está relacionado directamente con las condiciones hidrológicas y el suministro del alimento, entonces los resultados del presente estudio con respecto a los pesos promedios entre las dietas, pudieran ser considerados como indicadores de condiciones adecuadas en las cuales se mantuvieron los ensayos en el laboratorio.

También, se procuró mantener las mismas condiciones hidrológicas entre las botellas, y solamente varió el tipo de la alimentación suministrada a las larvas, por lo tanto las respuestas obtenidas entre los pesos podrían ser atribuidas a los diferentes componentes nutricionales en las dietas a base de microalgas y nauplios de *Artemia* o microalgas y rotíferos, para lograr así el cambio morfológico entre mysis y postlarva, los cuales las larvas requieren para alcanzar dicho estadio de acuerdo a sus cambios en los hábitos alimenticios durante su desarrollo. En general, se han reportado resultados satisfactorios en cuanto a la supervivencia y metamorfosis cuando se han utilizado

results have been reported regarding survival and metamorphosis when diatom microalgae have been used as feed for white shrimp larvae (2,3).

The respiration rate in crustaceans and in particular *L. stylirostris* and *L. vannamei* larvae can be modified by external factors such as salinity, light intensity, dissolved oxygen and temperature, as some authors have mentioned (23), although in this study those factors were controlled. Oxygen consumption values obtained in mysis larvae fed with microalgae and artemia nauplius or with the alternative diet (microalgae and rotifers) coincide with oxygen consumption of larvae fed *Litopenaeus setiferus* (24), who indicated that oxygen consumption varies according to the type of feed. These authors, as in this study, determined greater oxygen consumption when the larvae were fed with a concentration of one or two artemia nauplius/ mL^{-1} . Additionally, oxygen consumption in mysis II and III were similar when 0.5 nauplius/ mL^{-1} were provided, but when the larvae were fed a concentration of 0.1 nauplius/ mL^{-1} , oxygen consumption was minimum.

The results obtained in oxygen consumption did not coincide with that reported in *L. vannamei* larvae (25), who showed that oxygen consumption diminished with larval development, that is, as morphological changes in the larvae from zoea to mysis took place, respiration decreased. However, those authors indicated that the consumption of oxygen did not show significant differences between the stages. In this study, larvae fed with microalgae and artemia nauplius increased oxygen consumption in developing between the three mysis phases (I, II and III), but when they were statistically analyzed, no differences in oxygen consumption were detected between mysis larvae II and III.

Metabolic expenses in this study of *Farfantepenaeus paulensis* larvae (26) were superior to the amount of energy used in respiration when compared with energy used in growth, with the exception of the zoea III stage. For example, those authors indicated that the larvae assimilated 3.59 J, of which approximately 42% was used in growth and 52% of the energy was used for respiration, which coincides with that reported on larvae for Pacific white shrimp *L. vannamei* (6) and *Penaeus setiferus* from the Gulf of Mexico (24).

Higher energy absorption was seen in zoea larvae (I, II, and III) than in mysis (I, II, and III), probably due to an interaction between respiration and excretion rates from variations in absorption efficiency as a consequence of

microalgas diatomeas como fuente de alimento para larvas de camarón blanco (2,3).

La tasa de respiración en crustáceos y en particular en larvas de *L. stylirostris* y *L. vannamei*, con frecuencia pueden ser modificadas por algunos factores externos como son la salinidad, intensidad luminosa, oxígeno disuelto y temperatura, como lo han señalado algunos autores (23), aunque en el presente estudio, dichos factores se mantuvieron controlados. Los valores obtenidos en el consumo de oxígeno en las larvas mysis alimentadas con microalgas y nauplios de artemia, o con la dieta alternativa (microalgas y rotíferos), coincidieron con el consumo de oxígeno en larvas alimentadas de *Litopenaeus setiferus* (24), quienes indicaron que el consumo de oxígeno varía de acuerdo con el tipo de alimento suministrado. Estos autores al igual que en el presente estudio, se determinaron un mayor consumo de oxígeno cuando las larvas fueron alimentadas con una concentración de uno a dos nauplios de artemia/ mL^{-1} . Además, los consumos de oxígeno en mysis II y III fueron similares cuando se les suministró 0.5 nauplios/ mL^{-1} , en cambio cuando las larvas fueron alimentadas a una concentración de 0.1 nauplios/ mL^{-1} , los consumos de oxígeno fueron mínimos.

Los resultados obtenidos en el consumo de oxígeno, no coincidieron con lo reportado en larvas de *L. vannamei* (25), quienes determinaron que el consumo de oxígeno disminuyó con el desarrollo larval, es decir, conforme se presentaron los cambios morfológicos de las larvas desde zoea a mysis, la respiración fue menor; sin embargo, dichos autores indicaron que los consumos de oxígeno no presentaron diferencias significativas entre los estadios. En el presente estudio las larvas alimentadas con microalgas y nauplios de artemia, los consumos de oxígeno incrementaron con el desarrollo entre los tres estadios de mysis (I, II y III), pero cuando fueron analizados estadísticamente, no se detectaron diferencias en el consumo de oxígeno entre las larvas mysis II y III.

Los costos metabólicos del presente estudio respecto a larvas de *Farfantepenaeus paulensis* (26), fueron superiores a la cantidad de energía utilizada en la respiración en comparación a la destinada al crecimiento, con excepción del estadio de zoea III. Por ejemplo, estos autores indicaron que las larvas asimilaron 3.59 J, de los cuales aproximadamente 42% fue invertido en crecimiento y 52% de la energía fue utilizado para la respiración, lo cual coincidió con lo reportado en larvas para los camarones blanco del Pacífico *L. vannamei* (6) y del Golfo de México *Penaeus setiferus* (24).

Se obtuvo una absorción de energía superior para las larvas zoea (I, II y III) que mysis (I, II y III), esto probablemente a una interacción entre las tasas de respiración y de excreción provocada por variaciones

variations in feed availability and the delay in the digestive tract of the larvae. However, differences observed in the present study in evaluating the metabolic expense measured as respiration and excretion are due to the fact that the larvae were previously fed, which included three main components of respiration and excretion (routine, standard and post-feeding), where the last one could alter the physiologic variation according to the type and amount of feed ingested by the larvae.

In conclusion, the zoea larvae required greater energy absorption than mysis as a consequence of the interaction between respiration and excretion. Also, the mysis larvae fed with rotifers instead of artemia nauplius could be less efficient, since *B. plicatilis* is not considered to be adequate feed during the mysis II and III phase, mainly due to size, making it difficult for larvae to capture, and therefore requires greater energetic expense. However, the weight obtained for zoea and mysis larvae for *L. vannamei* shrimp showed no differences according to the diets provided.

Acknowledgements

To the CONACYT 38232-B project for the resources granted. To the staff at Cuerpo Académico Consolidado UAS-CA-162. To the Programa de Posgrado Regional para el Doctorado en Biotecnología of the Universidad Autónoma de Sinaloa.

en la eficiencia de absorción, como consecuencia con las variaciones de disponibilidad de alimento y con el tiempo de permanencia en el tracto digestivo de las larvas. Sin embargo, probablemente las diferencias observadas en el presente estudio en la evaluación de los costos metabólicos medidos como respiración y excreción sean debido a que las larvas fueron alimentadas previamente, lo cual incluyó los tres principales componentes de la respiración y excreción (rutina, estándar y post-alimentaria), donde ésta última puede alterar su variación fisiológica de acuerdo al tipo y cantidad de alimento ingerido por las larvas.

Como conclusiones, las larvas zoea requirieron una mayor absorción de energía que mysis como consecuencia de la interacción entre la respiración y la excreción. Además, las larvas mysis alimentadas con rotíferos en lugar de nauplios de artemia podría no resultar con una mayor eficiencia, esto debido a que *B. plicatilis* no es considerado como un alimento adecuado durante la fase de mysis II y III, debido principalmente a sus tallas, las cuales dificultan su captura por las larvas y por lo tanto requiere un mayor costo energético. Sin embargo, los pesos obtenidos en las larvas zoea y mysis de camarón *L. vannamei* no resultaron con diferencias entre las dietas suministradas.

Agradecimientos

Al proyecto CONACYT 38232-B por los recursos otorgados. Al personal del Cuerpo Académico Consolidado UAS-CA-162. Al Programa de Posgrado Regional para el Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

REFERENCES

1. Arzola GJ, Piña VP, Nieves SM, Medina JA. Supervivencia de postlarvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* a diferentes salinidades y temperaturas. Rev MVZ Córdoba 2013; 18(2):3618-3625.
2. Piña VP, Nieves M, Ramos L, Chavira CO, Voltolina D. Survival, growth and feeding efficiency of *Litopenaeus vannamei* protozoa larvae, fed different rations of diatom *Chaetoceros muelleri*. Aquacult 2005; 249(1-4):431-437.
3. Piña VP, Voltolina D, Nieves M, Robles M. Survival, development and growth of the pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* protozoa larvae, fed with monoalgal and mixed diets. Aquacult 2006; 253(1-4):523-530.
4. Páez, OF. Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. Rev Lat Rec Nat 2005; 1(1):21-31.
5. Piña VP, Medina JA, Nieves M, Leal S, López-Elías J, Guerreo MA. Cultivo de cuatro especies de microalgas con diferentes fertilizantes utilizados en acuicultura. Rev Invest Mar 2007; 28(3):225-236.
6. Isiordia PE, Puello A, D'Abrahamo L, González H. Evaluación de la actividad enzimática y contenido de proteína en larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas. Redvet 2006; 7(4):1-13.

7. Rojo CA, Román RJ, Rodríguez MG, Nieves SM, Piña VP, Medina JA. Balance energético del rotífero *Brachionus rotundiformis* alimentado con cuatros especies de microalgas. *Univ Cienc* 2012; 28(3):231-244.
8. Piña VP, Nieves SM, Voltolina D, Chavira C. Crecimiento, desarrollo y supervivencia de mysis de (*Litopenaeus vannamei*) alimentadas con nauplios de *Artemia* y con el rotífero *Brachionus plicatilis*. *Rev Invest Mar* 2004; 25(3):245-251.
9. Planas M, Vázquez JA, Marqués J, Pérez-Lomba R, González MP, Murado M. Enhancement of rotifer *Brachionus plicatilis* growth by using terrestrial lactic acid bacteria. *Aquacult* 2004; 240(1-4):313-329.
10. Prieto M, Castaño F, Sierra J, Logato P, Bolero J. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: copépodos y mesocosmos. *Rev MVZ Córdoba* 2006; 11(1):30-36.
11. Arzola GJ, Flores LF, Izabal A, Gutiérrez Y. Crecimiento de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en un estanque rústico a baja salinidad. *Aquatic* 2008; 28(1):8-15.
12. Spanopoulus HM, Martínez CA, Vanegas RC, Rosas C, Ross LG. The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris*. *Aquacult* 2005; 244(1-4):341-348.
13. Nieves M, López D, Medina MA, Piña P, Leal S, López EJ. Producción y calidad de *Chaetoceros muelleri* a diferentes concentraciones de nutrientes y densidades de inóculos. *Rev Invest Mar* 2009; 30(2):123-133.
14. Gelabert R, Brito R, Gaxiola MG, Castro T, Rosas C. Efecto de nauplios de *Artemia franciscana* enriquecidos sobre el crecimiento, supervivencia y resistencia al estrés de postlarvas (PL5-40) de *Litopenaeus vannamei*. *Univ Cien* 2008; 24(1):29-40.
15. Re AA, Díaz HF. Effect of different oxygen concentrations on physiological energetic of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*. *O Zool J* 2011; 4(1):1-8.
16. Valenzuela QW, Rodríguez QG, Ponce PP, Esparza LH. Efecto de diferentes combinaciones de temperatura y salinidad sobre el consumo específico de oxígeno en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Rev Biol Mar Ocean* 2011; 46(3):303-311.
17. Gnaiger E, Forstner H. (Eds) Polarographic oxygen sensors. Berlin. 1983.
18. Rodier J. Análisis de las aguas: naturales, residuales y agua de mar. Ed. Omega, Barcelona. 1981.
19. Elliot JM, Davison W. Energy equivalents of oxygen consumption in animal energetic. *Oecología* 1975; 19(1):195-201.
20. Mayzaud P, Conover RJ. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Mar Ecol Prog Ser* 1988; 45(1):289-302.
21. Zar JH. Biostatistical analysis. Upper Saddle River, USA: Prentice-Hall Inc; 2009.
22. StatSoft Inc. Statistica for Window version 7.0. Tulsa, Oklahoma, USA: StatSoft Inc; 2004.
23. Re AD, Díaz F, Sierra E, Gómez-Jiménez S. Oxygen consumption, ammonium excretion and osmoregulatory capacity of *Litopenaeus stylirostris* exposed to different combinations of temperature and salinity. *Cienc Mar* 2004; 30(3):443-453.
24. Brito R, Chimal ME, Gelabert R, Gaxiola G, Rosas C. Effect of artificial and natural diets on energy allocation in *Litopenaeus setiferus* and *Litopenaeus vannamei* early postlarvae. *Aquacult* 2004; 237(4):517-535.
25. Gallardo P, Martínez G, Brito A, Barrera J, Pedroza-Islas R, Cuzon G, et al Effect of *Artemia* nauplii replacement by an artificial feed containing krill hydrolysate on ingestion rate, oxygen consumption and energy budget in the mysis of *Litopenaeus vannamei*. *Nauplius* 2003; 11(2):69-81.
26. Lemos D, Phan VN, Álvarez G. Growth, oxygen consumption, ammonia-N excretion, biochemical composition and energy content of *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) early postlarvae in different salinities. *J Exp Mar Biol Ecol* 2001; 261(1):55-74.