



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



*“Efecto de cuatro concentraciones de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval, bajo condiciones controladas en la Empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas - Ecuador”*

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
BIÓLOGO ACUICULTOR**

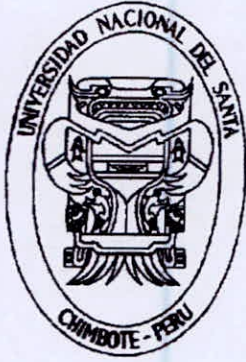
AUTOR

**Bachiller en Ciencias de Biología en Acuicultura
Roxana Pilar Vásquez Zambrano**

ASESOR

Blg^o Pesq^o Eliana Zelada Mázmela, Ms. C.

**NUEVO CHIMBOTE - PERU
2010**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



*“Efecto de cuatro concentraciones de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval, bajo condiciones controladas en la Empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador”*

Tesis Para optar el título de Biólogo Acuicultor

Autor: *Bachiller en Ciencias de Biología en Acuicultura*

Roxana Pilar Vásquez Zambrano

Asesor:

Blgº Pesqº Eliana Zelada Mázmela, Ms. C.

Nuevo Chimbote - Perú, 2010

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



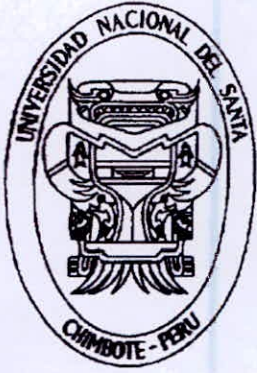
Tesis Titulada:

“Efecto de cuatro concentraciones de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval, bajo condiciones controladas en la Empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador”

Revisado y aprobado por el Asesor:

Blg^o Pesq Eliana Zelada Mázmela, Ms.C.

Nuevo Chimbote - Perú, 2010



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
BIOLOGÍA EN ACUICULTURA**



Tesis Titulada:

“Efecto de cuatro concentraciones de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de Litopenaeus vannamei, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval, bajo condiciones controladas en la Empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador”

Revisado y Aprobado por Jurado calificador, integrado por:

**Blg° Pesq Guillermo Saldaña Rojas, Ms.C.
Presidente**

**Blg° Pesq Eliana Zelada Mázmela, Ms.C.
Miembro**

**Blg° Orlinda Villanueva Valverde, Ms.C.
Miembro**

DEDICATORIA

Con mucho cariño y amor, pensando siempre en ustedes, mis padres, quienes me brindaron todo su apoyo en mi formación profesional y la culminación de este informe

Anita y Noé

A mis hermanos con cariño por estar siempre a mi lado

Lucy y óscar

A mi hijo por darme las fuerzas suficientes para culminar este informe

Máximo Guillermo

A mi esposo, por ser la persona especial en todo momento de mi vida y brindarme todo su apoyo en la realización de este trabajo

José Guillermo

AGRADECIMIENTOS

El autor quiere expresar su agradecimiento muy especial a los *Profesores de la Escuela de Biología en Acuicultura*, quienes tuvieron a cargo mi formación profesional.

A todos los *integrantes de la empresa Biolarva S.A.* en el sector de Mar Bravo Salinas – Ecuador, por el gran apoyo recibido.

Al Ing.acuicultor y Gerente de la Empresa Biolarva S.A. *Klebert Soto Loor* por todo el apoyo otorgado en la dirección de la tesis y sugerencias para la realización de este trabajo y además por ser un ejemplo de dedicación.

A mi asesora por su apoyo incondicional durante la realización del presente trabajo: *Eliana Zelada Mázmela*, quien supo guiarme y enfocar el estudio para darle un aporte a la acuicultura.

Así también a mis amigas: *Gloria Vicuña Segura* y *Silvia Gámez Diestra* por su gran apoyo y mis amigos representantes de la Empresa Aquafarm *Nelly Jara Mateo* y *Lenin Benites Pareja*; gracias por todo su apoyo brindado.

Roxana Pilar Vásquez Zambrano

INDICE

	Pág.
<i>Dedicatoria</i>	<i>i</i>
<i>Agradecimiento</i>	<i>ii</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>iii</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>iv</i>
<i>Índice de fotos</i>	<i>v</i>
Resumen	
Abstract	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	8
III. RESULTADOS	15
IV. DISCUSIÓN	27
V. CONCLUSIONES	32
VI. RECOMENDACIONES	33
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
VIII. ANEXO	38

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Diseño experimental utilizado en el presente estudio	8
Tabla 2: Composición nutricional del alimento	9
Tabla 3: Ración de la alimentación diaria en los diferentes estadios durante la experiencia del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	10
Tabla 4: Características biológicas a evaluar para determinar la calidad de la post larva del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	12
Tabla 5: Promedios del peso diario de las postlarvas de “langostino blanco” <i>L.vannamei</i> en cada tratamiento.....	15
Tabla 6: Supervivencia en porcentaje (%) de las post larvas del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	17
Tabla 7: Resistencia a la prueba de estrés osmótico en porcentaje (%) en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i> durante la experiencia.....	18
Tabla 8: Promedios en el desarrollo branquial en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i> durante la experiencia.....	20
Tabla 9: Resultados del contenido del tracto digestivo en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	22
Tabla 10: Resultados de la condición del hepatopáncreas en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	24
Tabla 11: Resultados de la pigmentación en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	25
Tabla 12: Análisis de varianza del crecimiento en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	43
Tabla 13: Análisis de varianza de la supervivencia en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	45
Tabla 14: Análisis de varianza del estrés osmótico en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	46

Tabla 15:	Análisis de varianza del desarrollo branquial en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	48
Tabla 16:	Análisis de varianza del contenido del tracto digestivo en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	50
Tabla 17:	Análisis de varianza del hepatopáncreas en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	53
Tabla 18:	Análisis de varianza de la pigmentación en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	55
Tabla 19:	Prueba Tukey del crecimiento y supervivencia al final de la experiencia de las post larva de “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	58
Tabla 20:	Prueba Tukey en la calidad postlarval al final de la experiencia de las post larva de “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	59
Tabla 21:	Presupuesto para la producción de postlarvas con vitamina B12 y de rutina hasta el estadio de PL15 de “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	60

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Fig 1: Crecimiento en peso promedio individual (g) del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i> en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12).....	16
Fig 2: Supervivencia en porcentaje (%) de las post larvas del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i> en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12).....	17
Fig 3: Resistencia a la prueba de estrés osmótico en las postlarvas del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i> en diferentes concentraciones.....	19
Fig 4: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre el desarrollo branquial en las distintas etapas de desarrollo del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	21
Fig 5: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre el contenido del tracto digestivo en las distintas etapas de desarrollo del “langostino blanco” <i>L. vannamei</i>	23
Fig 6: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre la condición de la hepatopáncreas en las distintas etapas de desarrollo del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	24
Fig 7: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre la pigmentación en las distintas etapas de desarrollo del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	26

ÍNDICE DE FOTOS

	Pág
Foto 1: Instalaciones de las unidades experimentales en la empresa Biolarva S.A. ...	38
Foto 2: Preparación de las dietas y vitamina B12 para la alimentación del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	38
Foto 3: Alimentación con el microencapsulado Super larva y la vitamina B12 en las unidades experimentales del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	39
Foto 4: Muestras para determinar crecimiento y supervivencia del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	39
Foto 5: Análisis de la calidad post larval del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	40
Foto 6: Prueba al estrés osmótico en post larvas estadio13 del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	40
Foto 7: Branquias en desarrollo de post larva en estadio 6 y 12 del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	41
Foto 8: Cromatóforos punteado y expandido en toda parte del cuerpo de las post larva del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	41
Foto 9: Tractos digestivos llenos de las post larva 12 del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	42
Foto 10: Hepatopáncreas en buen estado nutricional de las post larva del “langostino blanco” <i>L.vannamei</i>	42

“Efecto de cuatro concentraciones de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval bajo, condiciones controladas en la empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador”

RESUMEN

La presente experiencia tuvo como objetivo evaluar el efecto de cuatro concentraciones de la vitamina B12: 0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg/kg de alimento; sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval de *Litopenaeus vannamei* en la Empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas-Ecuador entre los meses de enero a mayo del 2007.

Se emplearon 12 estanques de concreto de 5,79 m x 2,03 m x 2,0 m, con 23,000 l⁻¹ de manejo de agua y con aireación constante. El material biológico fue adquirido como nauplio 3, mantenido en tanques de concreto hasta postlarva 1, con el que se inició la experiencia. Se sembraron 156 org.l⁻¹ haciendo un total de 3 588 000 por tratamiento. La temperatura, y la salinidad se mantuvieron entre 32-33°C y la salinidad en 24 ‰, respectivamente. La vitamina B12 fue aplicada por gramo de alimento microcapsulado.

Se evaluó diariamente el crecimiento mediante la técnica PL/gramo por tratamiento; la supervivencia se realizó en PL15, la calidad post larval se hizo según lo propuesto Ching (1999), considerándose: Resistencia al stress osmótico, desarrollo branquial, contenido del tracto digestivo, condición del hepatopáncreas y pigmentación.

En todos los parámetros de evaluación empleados, se obtuvieron mejores respuestas en los tratamientos con vitamina B12, y de ellos, el correspondiente a la concentración de 0,4 mg de vitamina, no habiendo diferencia significativa entre tratamientos al emplear tukey al $P > 0,05$ entre sí, en tal sentido, los resultados obtenidos en la presente experiencia, permiten afirmar que la vitamina B12 funciona como un excelente aditivo en la dieta del “langostino blanco” *L. vannamei*, mejorando su crecimiento, supervivencia y calidad postlarval.

“Effect of four concentrations B12 vitamin in the diet of postlarvae of *Litopenaeus vannamei*, on the growth, survival and postlarval quality under conditions controlled in the company Biolarva S.A. Saline Sector Brave Sea - Ecuador”

ABSTRACT

The present experience had like objective to prove the effect of four concentrations of the B12 vitamin: 0,0; 0,1; 0,2 and 0.4 mg/kg of food; on the growth, survival and postlarval quality of *Litopenaeus vannamei* in the Company Biolarva S.A. Sector Brave Sea Salt mine-Ecuador enters the months of January May of the 2007.

12 pools of concrete of 5.79 m x 2.03 m x 2.0 m, with 23,000 l¹ of water handling and with constant ventilation. The bacteriological agents was acquired like nauplio 3, maintained in tanks of concrete until postlarva 1, with which the experience began. 156 were seeded org.l-1 making a total of 3 588 000 by treatment. The temperature and the salinity stayed between 32-33°C and the salinity in 24 ‰ or, respectively. The B12 vitamin was applied by gram of microcapsulado food.

The growth by means of the PL/gramo technique was evaluated daily by treatment; the survival was realised in PL15, the larval quality post became according to the proposed Ching (1999), considering itself: Resistance to stress osmotic, branchial development, content of the digestive tract, condition of the hepatopáncreas and pigmentation.

In all the used parameters of evaluation, better answers in the treatments with B12 vitamin, and of them, the corresponding one to the concentration of 0.4 vitamin mgs were obtained, , being no significant difference between treatments when using tukey to the $P > 0,05$ entre yes. In such sense, the results obtained in the present experience, allow to affirm that the B12 vitamin works like an excellent additive in the diet of “white prawn” *L. vannamei*, improving their growth, survival and postlarval quality.

INTRODUCCION

La acuicultura es una actividad que sigue creciendo en los últimos años más rápido que cualquier otro sector de producción de alimentos de origen animal, siendo su tasa de crecimiento mundial del 8,8% al año desde 1970 hasta el 2006. En América latina, la acuicultura tiene una tasa de crecimiento de 22% anual, mientras que la pesca de captura sólo ha crecido a razón del 1,2 % al año y los sistemas de producción de carne de cría en tierra, un 2,8 % (Fao, 2006).

Se menciona también a la acuicultura como la “*Revolución Azul*” y en países como China, Japón, Chile y Ecuador, es considerada como una actividad prioritaria, pues su importancia radica en que es fuente generadora de divisas, empleo y alimento. En el Perú, el crecimiento de la acuicultura es lento, no obstante el gran potencial que posee (Luján, 2005).

El producto acuícola más importante del mundo y que representa alrededor del 20% del comercio internacional en valor agregado, es el langostino blanco *Litopenaeus vannamei* (Fao, 2006).

Ecuador es el primer productor del hemisferio occidental y quinto productor a nivel mundial de langostino blanco *L. vannamei* en cautiverio, ya que ha tenido un desarrollo acelerado y dinámico con respecto a la acuicultura camaronera, lo que le ha permitido poseer actualmente una de las infraestructuras más grandes y altamente especializadas de laboratorios de larvas y de industrias de alimento para especies acuícolas (Marriot & Baquero, 2003). A pesar de este crecimiento, este país aún afronta problemas en los cultivos los cuales han reducido los niveles de producción y exportación del langostino blanco (Fenucci & Fernández. 2004).

En la actualidad, en Ecuador existen aproximadamente 2400 camaroneras sobre 178000 ha, destinadas a la producción de camarón. Además, cuentan con 400 laboratorios (entre maduración y producción de larvas) distribuido en las diferentes provincias, con 36 empacadoras y 30 plantas industriales productoras de alimentos balanceados; los cuales a pesar de la elevada especialización también presentan problemas en la producción de larvas y post larvas (Marriot & Baquero, 2003).

El mayor desarrollo de la actividad langostinera, ocasionó el aumento constante de la demanda de larvas de *L. vannamei*, lo que obligó a los laboratorios de producción de post larvas a plantearse como objetivo la obtención de organismos de buena calidad en el menor tiempo posible, mediante el desarrollo y la aplicación de nuevas técnicas de crianza larvaria, además de poner en práctica nuevos protocolos de alimentación (Soluap, 2001).

La alimentación es un factor muy importante para el crecimiento, supervivencia y maduración de los crustáceos, sobre todo cuando los organismos se mantienen en cautiverio (Cahu, 1995); pues en estas condiciones los animales sólo dependen del alimento que se les proporciona, por lo que, la supervivencia y la salud de los crustáceos dependen directamente de la calidad y aceptación de la dieta, incluyéndose como criterio de calidad, tanto a los ingredientes que la conforman, como a la forma física del alimento (Achupallas, 1997).

Asimismo, la alimentación es un problema fundamental en la producción de larvas. La etapa más crítica del desarrollo del camarón, es cuando las larvas agotan sus reservas vitelinas y empiezan a capturar e ingerir alimento, presentándose los mayores índices de mortalidad. Para que las larvas sobrepasen con éxito esta etapa,

deben disponer del alimento nutritivamente ideal, en la concentración adecuada y la calidad respectiva, que garantice una óptima supervivencia (Soluap, 2001).

Fenucci & Fernández (2004), señalan que en el campo de la nutrición, los aditivos como las vitaminas están considerados como factores de crecimiento y de supervivencia; al ser incorporados a la dieta en pequeñas cantidades, logrando así la aceleración del crecimiento en los organismos, reflejado en aumento de talla y peso corporal.

Para ser efectivas las vitaminas, deben mantener su integridad durante el proceso de digestión y lograr ser absorbidas de forma eficaz para ejercer su función en los tejidos (Fernández, 2004); disminuyendo la concentración de radicales libres y los trastornos que se derivan de su presencia en el organismo (Carrillo, 2000).

Los numerosos estudios realizados utilizando vitaminas en la preparación de alimentos balanceados para peneidos concluyen que éstas deben ser incorporadas directamente en la alimentación, debido a las pérdidas que sufre en el procesamiento de la elaboración de las dietas (Cahú, 1995). Ello motivó, a que se llevaran a cabo con mayor énfasis, una serie de investigaciones con muchas vitaminas de importancia comercial; dentro de ellas, las vitaminas liposolubles, para determinar las cantidades requeridas por los camarones peneidos y que no se perdieran durante la preparación de las dietas (Fenucci & Fernández, 2004).

En las primeras dietas formuladas para crustáceos, al comienzo de los años setenta, se utilizaban cantidades empíricas de vitaminas como aditivo alimenticio, basadas fundamentalmente en investigaciones previas con vertebrados terrestres y peces (Fenucci & Fernández, 2000). A pesar del alto costo que implicaba el suplemento de estos nutrientes en la dieta, las investigaciones continuaron buscando

la formulación de dietas adecuadas para cada especie, que incluyeran los requerimientos cualitativos y cuantitativos de varias vitaminas (Carrillo, 2000), obteniéndose los primeros resultados sobre requerimiento de vitaminas para *Artemia* sp y *Moina macrocopa*.

Cahú (1995), demostró que la incorporación de 130 mg de vitamina A en la dieta, asegura el normal crecimiento de *L. vannamei*; sin embargo trabajos realizados con el camarón argentino *Artemisia longearis*, demostraron que niveles inferiores a 200 mg.Kg⁻¹, ocasionaron lesiones severas en el hepatopáncreas, evidenciándose que el requerimiento de vitamina A varía ampliamente entre las distintas especies de camarones peneidos; probablemente por la diferencia biológica y ecológica que determinan la tasa metabólica propia de cada especie.

Las investigaciones correspondientes al grupo de vitaminas hidrosolubles, se dio inicio con la incorporación de la vitamina C en 0,3% y 0,6% en las dietas del camarón argentino *A. longearis*, presentando buenos valores de incremento en peso (Cruz, 2000).

Las vitaminas hidrosolubles del complejo B, abarca un gran número de sustancias que forman parte del metabolismo de todas las células vivas, actuando como coenzimas juntamente con las proteínas en varios de los sistemas enzimáticos de los organismos. Si bien las vitaminas del complejo B trabajan en conjunto, cabe destacar algunas propiedades individuales entre ellas las de la vitamina B12 o Cobalamina por ser la única que presenta cobalto.

Las funciones principales de la vitamina B12 en general, son el crecimiento celular a través de la mitosis; también es esencial para la conversión de la metilmalonil coenzima A (CoA) a succinil CoA y regeneración del folato; así

mismo, interviene en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, en la transformación de los ácidos grasos en energía, en el buen funcionamiento del sistema inmune y en la síntesis de los neurotransmisores; además, resulta indispensable para la formación de glóbulos rojos, el crecimiento corporal y la regeneración de los tejidos (Curtis, 1998).

Los estudios sobre requerimientos de vitamina B12 en crustáceos decápodos de importancia comercial tales como *Carcinus maenas* y *Homarus americanus* realizados en 1980, demuestran que se establecieron cantidades sugeridas para prevenir signos causados por deficiencias; estableciéndose que el nivel de la vitamina B12 debe aumentar de 2 a 5 veces y debería ajustarse *in situ* dependiendo de la estabilidad de la dieta en el agua, sugiriendo concentraciones en la dieta para post larva 1 a post larva 25, de 1g a 10 g de vitamina B12. Sin embargo, no se cuentan con resultados muy exactos, debido a que en la formulación de dietas comerciales, las vitaminas tienden a perderse durante la fabricación; llevando ello a seguir investigando los requerimientos vitamínicos dietarios *in situ* para los camarones peneidos (Cahu, 1995).

Investigaciones hechas en los laboratorios ecuatorianos de producción de larvas de *L.vannamei* y en especial en el laboratorio Biolarva S.A., evidenciaron problemas en la producción que oscila entre 40% y 60% como máximo de supervivencia; teniendo como antecedente que la principal causa de las mortalidades es en el manejo de la alimentación siendo uno de ellos la calidad, por lo que se hizo un preensayo utilizando vitamina B12 en concentraciones de 0,2 mg como prueba y se obtuvo como resultado supervivencias del 90% y 70% hasta el estadio de post larva 5, no llegando a terminar la experiencia por problemas de cosecha. Debido a esto y con la finalidad de observar la acción y concentración de la vitamina B12, se

realizó el presente trabajo que tiene como propósito aportar en la producción de postlarvas de “langostino blanco” *Litopenaeus vannamei*; planteándose el siguiente problema de investigación ¿Cuál será el efecto de cuatro concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mgKg⁻¹) de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval bajo condiciones controladas en la empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador?

1.1 Objetivo General

- Evaluar el efecto de cuatro concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mgKg⁻¹) de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad postlarval bajo condiciones controladas en la empresa Biolarva S.A. Sector Mar Bravo Salinas – Ecuador.

1.2 Objetivos Específicos

- Determinar el crecimiento de postlarvas de *L. vannamei*, a través de la técnica de PL gramo.
- Determinar la supervivencia de postlarvas de *L. vannamei* en cada uno de los tratamientos.
- Determinar el efecto de la vitamina B12 sobre la calidad postlarval de *L. vannamei* a través de la evaluación directa (resistencia a la prueba de estrés, desarrollo branquial, contenido del tracto digestivo, condición del hepatopáncreas y pigmentación).
- Determinar la mejor concentración de vitamina B12 en todos los parámetros de evaluación, durante la producción de postlarvas *L. vannamei*.

1.3 HIPÓTESIS

- **Hipótesis de investigación:**

Si se tienen cuatro concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mgKg⁻¹) de vitamina B12 en la dieta de postlarvas de *Litopenaeus vannamei*; con la concentración de 0,2 mgKg⁻¹ se obtendrá un mejor crecimiento, supervivencia y calidad postlarval.

- **Hipótesis estadística:**

$$H_0 : T1 = T2 = T3 = T4$$

$$H_a : T1 < T2 < T3 > T4$$

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de investigación, se realizó en la empresa Biolarva S.A. ubicada en el sector Mar Bravo Salinas - Ecuador, entre los meses de enero a mayo del 2007, empleándose el diseño experimental completamente al azar con sub muestreo (Hernández *et al*, 2000), con 4 grupos experimentales y 3 repeticiones cada uno (Tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental utilizado en el presente estudio.

Tratamientos concentraciones de vitamina B12	Repeticiones	Indv. / estanque	Nivel Proteico
T1: 0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta	r ₁ , r ₂ , r ₃	3,588 000	55
T2: 0,1 mg Vitamina B12/Kg. de dieta	r ₁ , r ₂ , r ₃	3,588 000	55
T3: 0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta	r ₁ , r ₂ , r ₃	3,588 000	55
T4: 0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta	r ₁ , r ₂ , r ₃	3,588 000	55

Se utilizaron 12 estanques de concreto de 5,79 m x 2,03 m x 2,0 m, con 23000 l⁻¹ de agua y aireación constante. El aire fue abastecido por un blower de 2,5 HP. (Foto 1).

El agua para la experiencia se almacenó en un reservorio de concreto, previamente pasada por un filtro mecánico y un filtro de celulosa de 4 μ , posteriormente tratada con cloro en concentraciones de 5 ppm y declorinada con vitamina C y diluida a 2 ppm por 48 horas.

El material biológico fue adquirido como nauplio 3, del Laboratorio de Maduración Texcumar S.A., mantenido en tanques de concreto hasta que alcanzaron el estadio postlarva 1, con el cual se inició la experiencia. Se sembraron 156 org.l⁻¹ haciendo un total de 3 588 000 organismos por tratamiento, siendo la población estudiada de 43 056 000 postlarvas.

La temperatura fue medida cada dos horas con un termómetro simple de 0,001 grado de

sensibilidad y rango 0° C a 100 ° C, con la finalidad de mantener estable la temperatura (entre 32° C a 33°C), se empleó un sistema de calefacción que consistió en la recirculación de agua caliente por todo el estanque.

La salinidad fue registrada una vez al día con un refractómetro marca Veege con ± 0,1 ‰ de sensibilidad y de rango de 0 a 100 ‰, conservándose en 24‰ desde PL1 a PL9 y en 33‰ de PL10 a PL15.

El alimento balanceado utilizado fue microencapsulado de la marca Super Larva, cuya composición nutricional se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición nutricional del alimento microencapsulado Súper larva

Análisis Químico (%)	
Proteína	55
Grasa	16
Fibra	2
Calcio Min.	1,0
Fosforo Min.	1
Ceniza Max.	11
Humedad máx.	10
*ED M Cal /Kg. mín.	3450
<i>*Energía Digerible (Mili Calorías)</i>	

La vitamina B12 fue aplicada en la alimentación 2 veces al día, según las concentraciones por gramo de alimento microencapsulado, previamente diluida con 500 ml de agua dulce, y esparcida junto con la dieta en los horarios de 8:00 am y 3:00 pm.

Las post larvas fueron alimentadas cada dos horas según la tabla de dietas para larvas formulada por Soluap (2001), como se especifica en la Tabla 3.

A) Crecimiento post larval

Se evaluó diariamente el crecimiento a partir de PL2, mediante la técnica PL/gramo por tratamiento, propuesta por Soluap (2001); para ello, se hizo una cosecha homogénea y se tomó 1 g de muestra, la cual fue determinada usando una balanza digital Model de 0,01g de sensibilidad; procediéndose luego a contar el número total de larvas en la muestra y calculándose el peso de cada organismo presente por regla de tres simple.

B) Supervivencia post larval

Se determinó por el método volumétrico, el cual consistió en extraer 3 muestras de 180ml en tres profundidades de agua de los estanques donde se encontraban las post larvas y se procedió a contar el número de postlarvas presente en cada muestra. Los datos fueron reemplazados en la siguiente formula:

$$\text{Población Total} = \frac{\bar{X} \text{ del N}^{\circ} \text{ larvas en la muestras} + \text{Volumen del tanque}}{\text{Volumen de muestra}}$$

C) Evaluación de calidad post larval

La calidad postlarval se comprobó mediante el método propuesto por Ching (1999) que consistió en examinar 50 organismos al azar en estadio PL1 de cada tratamiento, considerándose los siguientes parámetros: Resistencia al estrés osmótico, desarrollo branquial, contenido del tracto digestivo, condición del hepatopáncreas y pigmentación. Excepcionalmente, la prueba de resistencia al estrés osmótico, fue trabajada con 100 organismos como muestra.

En la Tabla 4, se muestran las consideraciones tomadas en cuenta para la evaluación de los parámetros de calidad larval, manifestándose que sólo se consideró para cada uno de ellos, el máximo valor. Cuando hubo necesidad de observación microscópica de las post larvas, ésta se hizo utilizando un microscopio marca Nikon.

Tabla 4. Características biológicas para determinar la calidad de la post larva del “langostino blanco” *L. vannamei* (Tomado de Ching, 1999)

CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS A EVALUAR	
Resistencia a la prueba de estrés osmótico	
70% o menos	malo
71% - 79%	regular
80% - 89%	bueno
90%-99%	muy bueno
100%	excelente
Desarrollo branquial	
PL5 o menos	1-2 láminas branquiales
PL6	2-3 láminas branquiales
PL7 a PL8	3-4 láminas branquiales
PL9 a PL10	4-5 láminas branquiales
PL11 a mas branquiales	6-8 láminas
Contenido del tracto digestivo	
Vacío	
Casi vacío, poco movimiento peristáltico	
Moderadamente lleno, poco movimiento peristáltico	
Lleno, mayor movimiento peristáltico	
Lleno y presencia fecal terminal, activo movimiento peristáltico.	
Condición del hepatopáncreas	
Descamado (tubos recogidos), sin lípidos.	
No piramidal, color blanquecino opaco	
Piramidal opaco, con bajo contenido de lípidos	
Piramidal claro, moderado contenido de lípidos	
Piramidal, brillante, alto contenido de lípido	
Pigmentación (coloración)	
No se observa cromatóforos o color aparente	
Muy baja apenas perceptible	
Menor, ubicación muy localizada de cromatóforos	
Moderada, cromatóforos en toda parte del cuerpo	
Completa, cromatóforos bien distribuidos (Rojo-Naranja).	

a) Resistencia a la prueba de estrés osmótico

Fue determinada colocando los organismos directamente en agua dulce durante 30 minutos, pasado este tiempo, se los colocó nuevamente en agua con salinidad de 34‰ por 30 minutos, para luego determinar el índice de natación larval (INL%), es decir, el número de larvas que nada en la columna de agua. Los datos fueron reemplazados en la siguiente formula:

$$\text{INL (\%)} = \frac{(L \times 100)}{n}$$

Donde: L: Número de larvas que nadan en la columna de agua y
n: Número total de larvas

b) Desarrollo branquial

Consistió en relacionar la edad larval con el desarrollo de la branquia observando el último lóbulo branquial y sus ramificaciones, las cuales caracterizan a cada estadio larval. Se montó láminas en fresco observándose así las branquias al microscopio, reportándose los resultados sobre la base de la uniformidad de los estadios.

c) Contenido del tracto digestivo

Se determinó observando en el microscopio óptico, el aspecto del tracto digestivo ubicado a lo largo del abdomen. Se verificó la llenura del intestino, con movimientos peristálticos activos y buena relación músculo tracto. Esta última característica se evaluó en el sexto segmento abdominal, esperándose una relación mínima de 4:1 músculo tracto, respectivamente.

d) Condición del hepatopáncreas

Se observaron larvas vivas utilizando un microscopio óptico, considerándose como buen estado nutricional que el hepatopáncreas tenga forma piramidal y esté brillante, además de la presencia de un alto contenido de lípidos (presencia de vacuolas lipídicas). La mala apariencia se notó por un color blanquecino opaco con los túbulos recogidos y sin lípidos.

e) Pigmentación

La pigmentación sana y completa fue evaluada montando láminas en fresco de larvas para su observación al microscopio óptico. Se consideró normal cuando los cromatóforos estaban bien distribuidos por toda la superficie del cuerpo del animal y con coloración rojo - naranja.

Los resultados fueron sometidos a análisis de varianza, completamente al azar $p < 0,05$; una para cada variable dependiente. Cuando las diferencias generales eran significativas a menos del 5%, se usó la prueba de Tukey para comparar los valores medios entre los tratamientos individuales. Los cálculos estadísticos fueron realizados con el software Sigma Stat for Windows, versión 3.10.

RESULTADOS

a) Crecimiento de las post larvas

En la Tabla 5 y Figura 1, se reporta el efecto del crecimiento en peso de las post larvas de “langostino blanco” *L. vannamei*, y su respectiva desviación estándar durante la experiencia con los diferentes tratamientos: T1 (0,0mg de vitamina B12), T2 (0,1mg de vitamina B12), T3 (0,2mg de vitamina B12) y T4 (0,4mg de vitamina B12)

Tabla 5. Promedios del peso diario de las post larvas del “langostino blanco” *L. vannamei*, en cada tratamiento.

Estadios	Tratamientos			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1	-	-	-	-
PL2(w)	0.066±0,01	0.066±0,01	0.067±0,01	0.068±0,01
PL3(w)	0.070±9,68	0.072±8,96	0.075±4,51	0.078±1,53
PL4(w)	0.078±10	0.081±1,15	0.085±2,89	0.09±2
PL5(w)	0.09±37,53	0.12±2,89	0.14±4,16	0.17±2,52
PL6(w)	0.13±20,03	0.15±3,21	0.18±5,77	0.21±2,52
PL7(w)	0.15±10,41	0.16±4,73	0.19±6,43	0.23±1,15
PL8(w)	0.17±6,03	0.19±2,52	0.22±1,15	0.25±2,31
PL9(w)	0.19±7,09	0.21±1,73	0.23±2,52	0.27±1,73
PL10(w)	0.22±5,51	0.24±7,64	0.26±1,00	0.30±2,52
PL11(w)	0.25±17,79	0.27±1,73	0.32±5,86	0.33±4,04
PL12(w)	0.28±1,00	0.29±3,06	0.32±3,00	0.35±4,31
PL13(w)	0.31±2,89	0.32±2,89	0.35±1,53	0.37±3,51
PL14(w)	0.33±2,52	0.35±5,51	0.37±1,53	0.39±2,52
PL15(w)	*0.37±7,21	*0.39±5,51	*0.42±3,06	*0.44±2,52

(*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

W: peso en gramos

Los datos representan los valores promedio de las replicas y su desviación estándar.

En la Fig. 1 se observa el crecimiento en función al peso por estadios de las post larvas “langostino blanco” *L.vannamei*, obteniéndose mejores resultados con el tratamiento T4 seguido del T3 a partir del día 5 que corresponde al estadio de post larva 5, reportando pesos finales de 0,44g y 0,42g respectivamente, en comparación con el T1 y T2 que reportan pesos entre 0,37g y 0,39g respectivamente, encontrándose significancia al aplicar Tukey ($P>0,05$) a partir del día 3 siendo $T1<T2<T3<T4$, manteniéndose así hasta el final de la experiencia (Tabla 19, 26; Anexo 3).

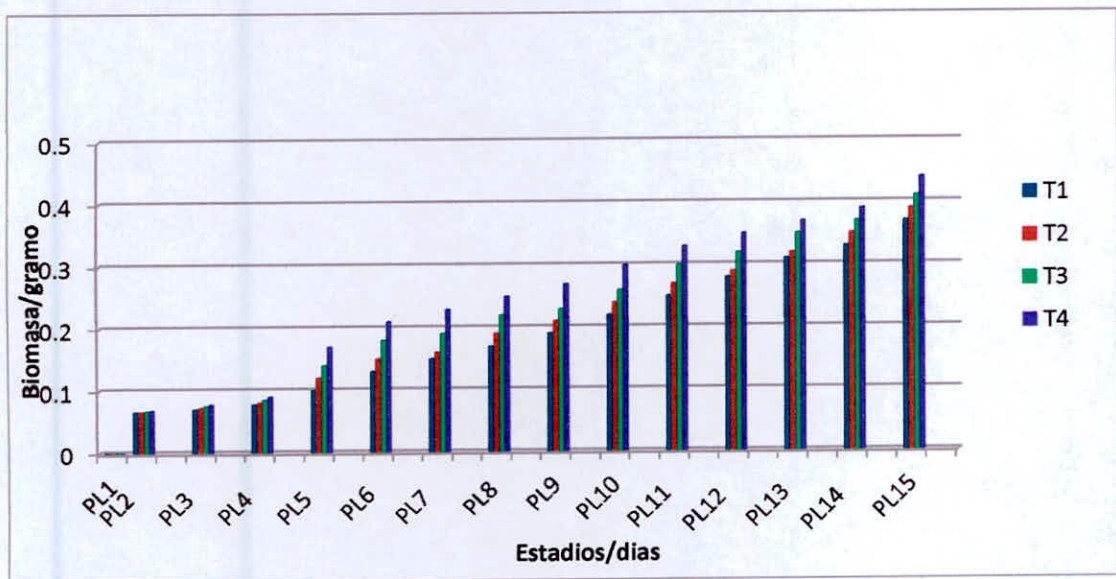


Fig1: Crecimiento en peso promedio individual (g) del “langostino blanco” *L.vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

b) Supervivencia de post larvas “langostino blanco” *L.vannamei*.

La supervivencia de las post larvas de “langostino blanco” *L.vannamei* disminuyó con el tiempo, obteniéndose mayor supervivencia con el T4, que alcanzó 90%, en tanto los tratamientos T3, T2 y T1 fue de 78%, 69%, y 55%, respectivamente (Tabla 6 y Fig. 2) y estadísticamente significativo ($p > 0,05$) a la prueba de Tukey siendo

T1<T2<T3<T4, manteniéndose esta diferencia hasta el final de la experiencia.

(Tabla 20, 26; Anexo 3)

Tabla 6. Supervivencia en porcentaje (%) de las post larvas del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Tratamientos	Estadios	
	PL1	PL15
T1 (0,0) N° S%	3 588 000±0,00 100±0,00	2 000 000±0,01 55±0,01
T2 (0,1) N° S%	3 588 000±0,00 100±0,00	2 510 000±0,04 69±0,04
T3 (0,2) N° S%	3 588 000±0,01 100±0,00	2 820 000±0,07 78±0,07
T4 (0,4) N° S%	3 588 000±0,01 100±0,00	*3 250 000±0,05 90±0,05

(*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

S (%): Porcentaje de supervivencia.

N°: Número de postlarvas total

Los datos representan los valores promedio de las replicas.

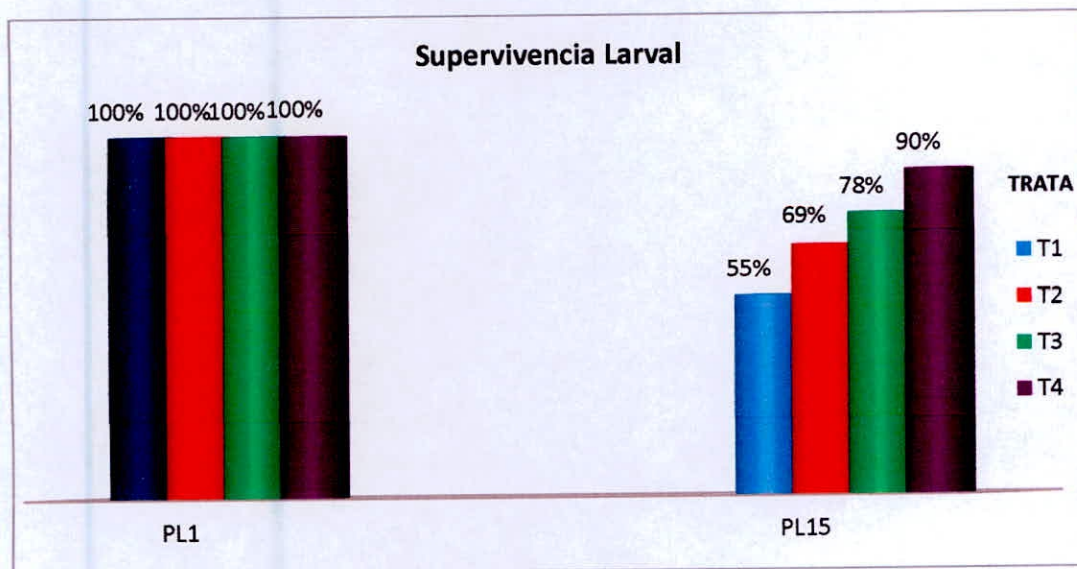


Fig2: Supervivencia en porcentaje (%) de las postlarvas del “langostino blanco” *L. vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

c) Evaluación de la calidad post larval.

1) Resistencia a la prueba de estrés osmótico

En la Tabla 7 y Figura 3, se observa que las post larvas de “langostino blanco” *L. vannamei*, respondieron en la prueba de estrés osmótico de manera satisfactoria al tratamiento de mayor concentración (0,4mg de vitamina B12), reportando 94% de supervivencia, respondiendo positivamente desde el día 3 de la experiencia (post larva 3), siendo estadísticamente significativa entre tratamientos ($p>0,05$) al aplicar Tukey siendo $T1<T2<T3<T4$; esta diferencia se conservó hasta el final de la experiencia (Tabla 21, Anexo 3)

Tabla 7. Resistencia a la prueba de estrés osmótico en porcentaje (%) en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Estadios	Tratamientos			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1	40 ±1,00	41±1,53	40±1,53	40±1,00
PL2	40±1,53	49±0,58	50±0,58	53±2,52
PL3	44±1,00	51±0,58	60±0,58	67±2,00
PL4	45±1,00	54±1,00	67±1,53	70±1,00
PL5	47±0,58	54±1,00	69±1,00	73±1,00
PL6	46±1,15	56±0,58	74±1,00	77±1,73
PL7	51±1,00	59±1,00	69±0,58	79±1,00
PL8	51±0,58	59±1,00	70±1,00	80±1,00
PL9	53±1,00	58±1,00	69±1,00	81±1,53
PL10	53±0,58	58±1,53	69±1,00	81±1,73
PL11	55±1,00	59±0,58	71±1,00	84±1,00
PL12	55±2,52	60±0,58	74±1,15	86±1,53
PL13	59±0,58	71±1,00	77±2,52	89±0,58
PL14	64±1,53	75±1,00	84±1,15	91,±1,53
PL15	*68±1,53	*80,±1,00	*87±1,15	*94±1,73

(*): Significativo al 0,05% de probabilidad T1 0,0: T tratamiento control
T2 0,1: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.
T3 0,2: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.
T4 0,4: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.
Los datos representan los valores promedio de las replicas y su desviación estándar.

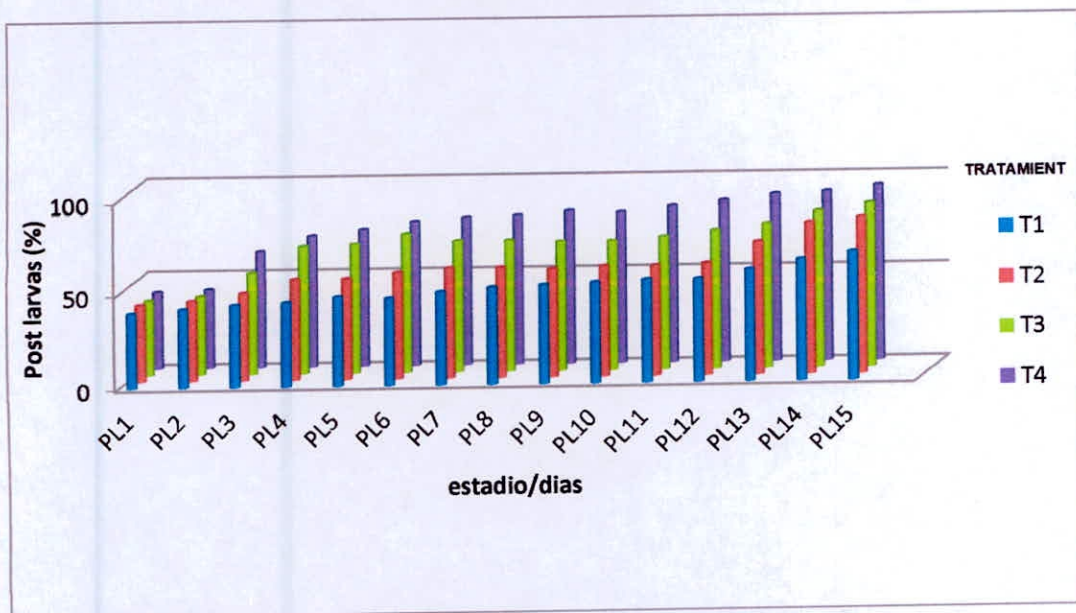


Fig3: Resistencia a la prueba de estrés osmótico en las postlarvas del “langostino blanco” *L. vannamei* , en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

2) Desarrollo branquial

En la Tabla 8, se demuestra que las branquias de las post larvas no se desarrollaron de la misma manera a lo largo de la experiencia, tanto en los diferentes estadios como en los diferentes tratamientos. Así, como se puede observar en la Figura 4, de todos los tratamientos en los que se utilizó vitamina B12, el que presentó mayor porcentaje de postlarvas con el desarrollo branquial acorde con el estadio fue el T4, (Foto 4, Anexo1), alcanzando el 100% a partir de PL12; siendo estadísticamente significativo entre tratamientos ($p > 0,05$) al aplicar Tukey, siendo $T1 < T2 < T3 < T4$, esta diferencia se mantuvo hasta el final de la experiencia (Tabla 22, Anexo 3)

Tabla 8. Promedios en el desarrollo branquial en los diferentes tratamientos por estadio del "langostino blanco" *L. vannamei*.

ESTADIOS	TRATAMIENTOS			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1 Org (%)	43 ±0,58	43±1,15	44±1,00	44±1,00
PL2 Org (%)	43 ±1,00	45±0,58	47±1,00	50±1,00
PL3 Org (%)	40±1,00	47±1,00	50±1,00	54±1,15
PL4 Org (%)	38 ±0,58	49±0,58	55±2,00	58±1,53
PL5 Org (%)	40± 1,53	51 ± 1,00	58 ± 0,58	63± 1,00
PL6 Org (%)	40 ± 1,53	53 ± 1,15	61 ± 1,00	56 ± 1,00
PL7 Org (%)	43 ± 1,00	56 ±1,15	64±1,00	60 ±1,00
PL8 Org (%)	48±1,53	58 ±1,53	67±1,00	68 ±1,00
PL9 Org (%)	54±1,15	64 ±1,53	70±1,53	78 ±0,58
PL10 Org (%)	64 ±1,00	74 ±1,53	80 ±0,58	86 ±1,00
PL11 Org (%)	66 ±1,53	82 ±1,15	88±1,53	98 ±1,53
PL12 Org (%)	66 ±1,00	86 ±0,58	92 ±0,58	98 ±0,58
PL13 Org (%)	70 ±1,00	86 ±0,58	92 ±1,00	99 ±1,15
PL14 Org (%)	72 ±2,08	88±2,08	94 ±2,00	99±1,15
PL15 Org (%)	*72 ±1,53	*88 ±1,00	*94 ±0,58	*100 ±0,58

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

T1 0,0: T tratamiento control

T3 0,2: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.

Org (%): Porcentaje de uniformidad de estadios /branquias

Los datos representan los valores promedio de las replicas y su desviación estándar

T2 0,1: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.

T4 0,4: Tratamiento con 0,1 mg de vitamina B12/g de dieta.

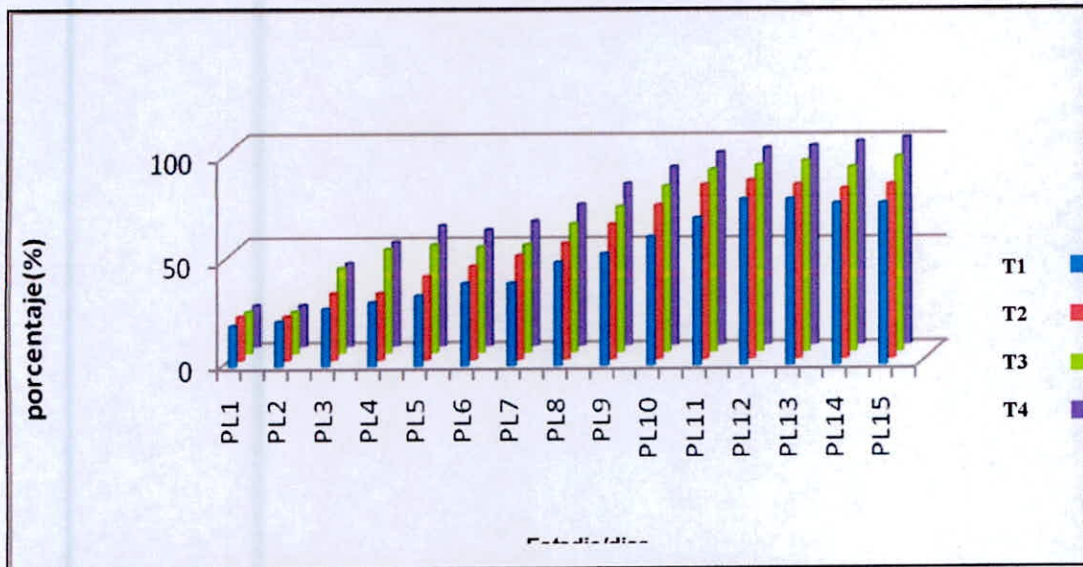


Fig.4. Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre el desarrollo branquial en las postlarvas del “langostino blanco” *L. vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

3) Contenido del tracto digestivo

En la Tabla 9 y Figura 5, se muestra el porcentaje de organismos con llenura de tractos digestivos de las post larvas de “langostino blanco” *L. vannamei*, y sus respectiva desviación estándar durante la experiencia con los diferentes tratamientos.

Tabla 9. Resultados del contenido del tracto digestivo en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

ESTADIOS	TRATAMIENTOS			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1	55±1,00	54±1,00	55±1,53	54±1,00
PL2	53±0,58	58±1,00	63±1,00	68±0,58
PL3	53±1,00	65±1,00	71±1,00	76±1,00
PL4	55±0,58	72±1,00	80±0,58	82±1,53
PL5	57±0,58	72±1,15	84±1,53	94±0,58
PL6	57±1,15	72±0,58	90±1,00	94±1,00
PL7	60±1,00	70±0,58	90±1,00	97±1,00
PL8	60±1,53	70±1,00	91±1,15	97±1,00
PL9	60±0,58	72±1,00	91±1,73	97±1,15
PL10	63±1,00	78±1,00	92±1,53	97±1,00
PL11	65±0,58	78±0,58	92±1,00	97±0,58
PL12	65±1,00	80±1,00	93±0,58	98±0,58
PL13	67±2,00	80±1,00	93±1,15	98±1,00
PL14	67±1,00	80±1,15	93±1,00	98±1,00
PL15	*67±1,00	*84±2,08	*93±1,15	*98±1,00

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

Las post larvas de *L. vannamei* sometidas a concentraciones de 0,2 mg y 0,4 mg de vitamina B12, respectivamente, muestran respuestas casi iguales al alimentarse, lo cual demuestra que hubo buena aceptación del alimento, reportando porcentajes altos que oscilan entre 93% y 98% de organismos con mayor aceptabilidad al alimento (Foto 9, Anexo 1), seguidamente el T2 con 84% y T1 con un 67% de aceptabilidad, observándose así el efecto de la concentración de la vitamina B12. Los resultados fueron estadísticamente significativos entre tratamientos ($p < 0,05$) al aplicar Tukey a partir del primer día siendo $T1 < T2 < T3 < T4$ (Tabla 23, Anexo 3).

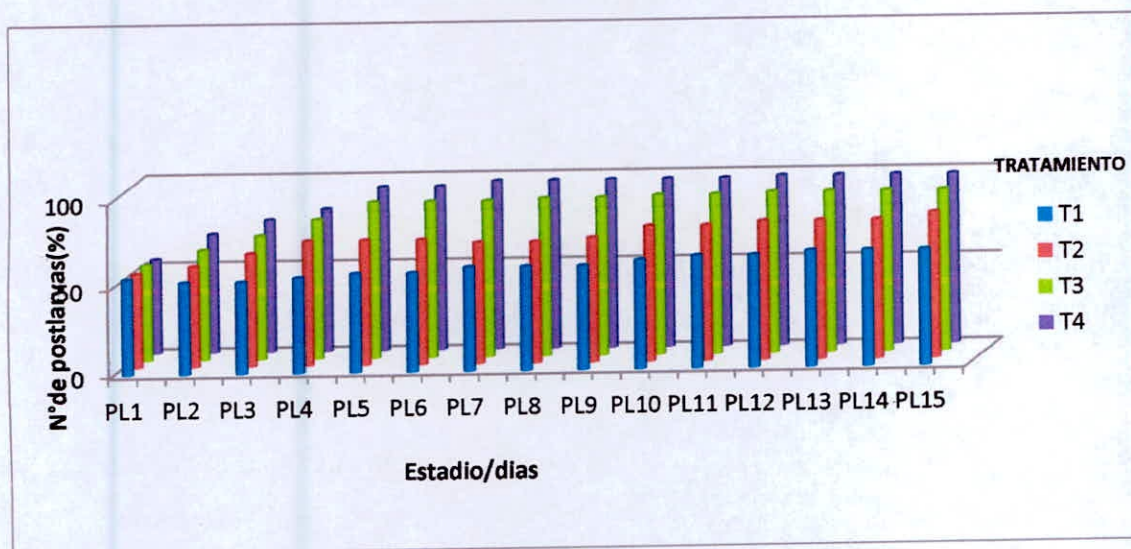


Fig5: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre el contenido del tracto digestivo en las postlarvas del “langostino blanco” *L. vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

4) Condición del hepatopáncreas

En la Tabla 10 y Figura 6, se observa que las larvas a las que se les aplicó 0,4 mg de la vitamina B12 (T4), fue la que presentó 98% de organismos con alto contenido de lípidos y con buena distribución de los mismos (Foto 10, Anexo 1). Con resultados estadísticamente significativos al aplicar la prueba de Tukey ($p > 0,05$) a partir del primer día $T1 < T2 < T3 < T4$ (Tabla 24, Anexo 3)

Tabla 10. Resultados de la condición del hepatopáncreas en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

ESTADIOS	TRATAMIENTOS			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1	38±1,00	39±0,58	38±0,58	38±1,00
PL2	39±1,00	40±0,58	41±1,15	41±0,58
PL3	42±1,00	43±1,00	45±3,21	47±1,00
PL4	44±1,00	45±1,00	50±1,00	52±0,58
PL5	44±1,15	49±1,00	56±1,00	60±1,00
PL6	47±1,00	58±0,58	62±1,53	69±1,15
PL7	47±0,58	58±1,15	74±1,00	79±0,58
PL8	49±1,00	60±0,58	76±0,58	86±0,58
PL9	49±0,58	60±1,00	78±1,00	97±4,93
PL10	52±0,58	62±2,08	80±1,00	97±1,00
PL11	52±1,00	62±2,52	80±0,58	98±0,58
PL12	54±0,58	65±0,58	82±1,00	98±1,53
PL13	57±1,53	65±1,00	82±1,00	98±1,15
PL14	61±1,00	67±0,58	82±1,15	97±0,58
PL15	*63±1,00	*70±1,00	*85±1,53	*98±1,00

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

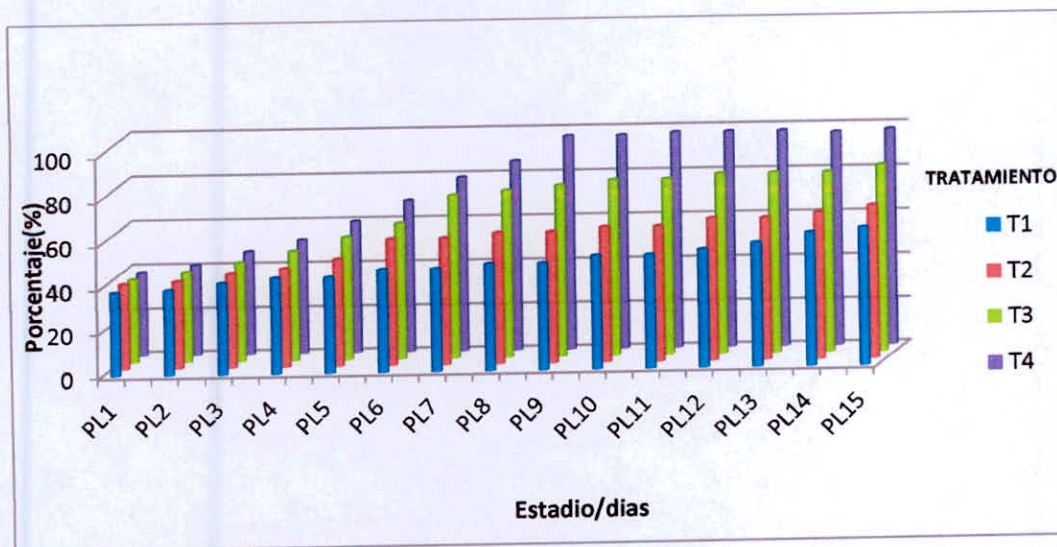


Fig6: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre la condición de la hepatopáncreas en las postlarvas del “langostino blanco” *L. vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

5) Pigmentación

Las post larvas alimentadas con 0,4 mg de vitamina B12 del T4, muestra un 94% de organismos con la pigmentación bien distribuida en la superficie corporal (Foto 8, Anexo1), lo cual garantiza un buen estado de los organismos; a diferencia del T2 Y T3 que reportan solo 66% y 78% de organismos con esta condición. (Tabla 11 y Fig.7). Siendo estadísticamente significativo entre tratamientos ($p < 0,05$) al aplicar Tukey a partir del primer día $T1 < T2 < T3 < T4$ manteniéndose hasta el final de la experiencia (Tabla 25, Anexo3)

Tabla 11. Resultados de la pigmentación en los diferentes tratamientos por estadio del "langostino blanco" *L. vannamei*.

ESTADIOS	TRATAMIENTOS			
	T1 (0,0 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T2 (0,1 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T3 (0,2 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)	T4 (0,4 mg Vitamina B12 /kg. de dieta)
PL1	32±1,00	32±0,58	33±0,58	32±0,58
PL2	34±0,58	35±0,58	37±1,00	39±1,00
PL3	36±0,58	37±0,58	40±1,00	43±1,00
PL4	36±1,00	40±0,58	44±1,58	48±0,58
PL5	38±0,58	44±1,00	48±0,58	52±0,58
PL6	42±0,58	48±1,00	55±1,00	60±1,00
PL7	42±0,58	48±0,58	60±1,00	68±1,00
PL8	45±1,53	50±0,58	62±1,00	72±1,00
PL9	45±1,00	56±1,00	64±0,58	76±0,58
PL10	48±1,53	56±1,00	68±1,15	76±1,00
PL11	48±1,00	60±1,00	70±1,00	82±1,00
PL12	48±1,00	62±0,58	72±0,58	86±0,58
PL13	52±1,00	62±1,00	72±0,58	90±0,58
PL14	54±1,15	62±1,53	78±0,58	94±1,00
PL15	*56±1,00	*66±1,53	*78±1,00	*94±1,53

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

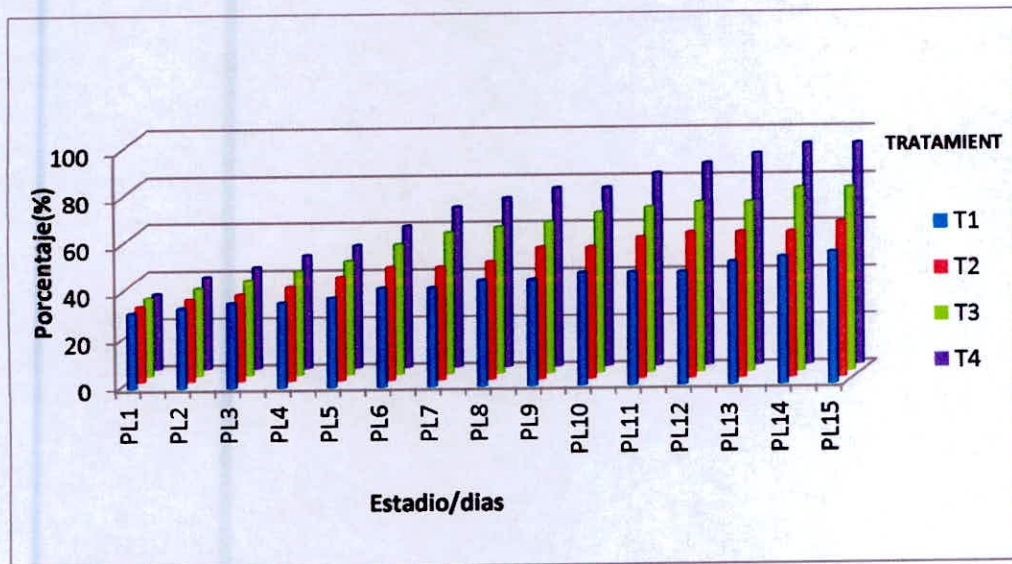


Fig7: Efecto de las concentraciones de vitamina B12 sobre la pigmentación en las postlarvas del “langostino blanco” *L.vannamei*, en diferentes concentraciones (0,0; 0,1; 0,2 y 0,4 mg de vitamina B12)

Es indiscutible que las vitaminas son esenciales para el crecimiento de las especies acuícolas explotadas comercialmente, en tanto pocos son los trabajos de investigación que han sido publicados sobre la necesidad de las vitaminas bajo diferentes sistemas de producción; extensivas , semintensivas o intensivos.

En los últimos años, algunos trabajos de investigación han sido desarrollados sobre el uso de diferentes premezclas de vitaminas en dietas para camarones y peces mas no incorporadas directamente en la alimentación es por ello el escaza información con respecto a las vitaminas no se encuentra mucha información disponible sobre los requerimientos del camarón; sin embargo la adición de mezclas de vitaminas en el alimento a producido un marcado aumento en el crecimiento y sobrevivencia de los camarones.

Señala que el camarón requiere de vitaminas en cantidades trazas para su crecimiento normal, metabolismo y reproducción.

Alga mac-2000

DISCUSIÓN

Las técnicas de diagnóstico temprano empleadas para detectar deficiencias nutricionales en crustáceos de interés comercial, incluye en algunos casos, técnicas sofisticadas aunque más precisas, como es la medición de los niveles en hemolinfa en sangre, sin embargo, actualmente lo más usado es evaluar de manera directa, controlada y específica, el efecto sobre la morfología y estructura celular de órganos vitales para el animal, como son el hepatopáncreas, las branquias, el exoesqueleto, además de medir su crecimiento y supervivencia (Fenucci & Fernández, 2004); así como someter a los organismos a pruebas de estrés para evaluar la calidad de las larvas tras ser sometidas a tratamientos con algún compuesto (Forrelat, 1998).

En tal sentido, los resultados obtenidos en este estudio, permiten afirmar que la vitamina B12 funciona como un excelente aditivo en la dieta del “langostino blanco” *L. vannamei*, mejorando su crecimiento, supervivencia y calidad postlarval (Tabla 5 y Tabla 6), corroborando lo manifestado por Fenucci & Fernández (2004) que refieren que en el campo de la fisiología nutricional, las vitaminas están consideradas como factores de crecimiento y supervivencia.

En la presente investigación, en todos los parámetros de evaluación empleados, se obtuvieron mejores respuestas en los tratamientos con vitamina B12, y de ellos, el correspondiente a la concentración de 0,4 mg de vitamina fue el que logró mejores resultados; rechazando la hipótesis alternativa formulada; que proponía que el tratamiento con 0,2 mg de vitamina B12 sería el que presentaría los mejores resultados.

Tacón (1998), manifiesta que los requerimientos vitamínicos en las dietas para camarones y peces, se han determinado mediante pruebas de alimentación con dietas

purificadas o semipurificadas, conteniendo niveles graduales de cada vitamina en condiciones de laboratorio y considerando el punto de inflexión, como el requerimiento dietético en base a la respuesta en el crecimiento observado, la eficiencia alimenticia o la concentración de la vitamina en el tejido.

Respecto al crecimiento, está demostrado que la ausencia de vitaminas de la serie B, colina e inositol en la dieta de varias especies de camarones peneidos, produce disminución de la tasa de crecimiento y supervivencia. Esta función puede ser realizada, porque tal como lo menciona Curtis (1998), la vitamina B12 juega un importante papel en el mantenimiento celular, al intervenir en la síntesis de *novoo* de las bases nitrogenadas necesarias para la síntesis de una nueva molécula de ADN durante la división celular; acción necesaria para el crecimiento corporal y la regeneración de los tejidos. Además, esta vitamina también es esencial para la conversión de la metilmalonil coenzima A (CoA) a succinil CoA y regeneración del folato para el buen funcionamiento del sistema neurológico, en la síntesis de ARN y proteínas, en el catabolismo de los ácidos grasos y buen funcionamiento del sistema inmune, en la síntesis de los neurotransmisores y la formación de glóbulos rojos, entre otras funciones.

El mayor crecimiento de las postlarvas alcanzado en la presente investigación es ligeramente superior al reportado por Cano (1997) para la misma especie, si se compara el estadio de postlarva 6, que fue el estadio alcanzado por el referido autor donde se encontró diferencia significativa entre tratamientos al utilizar dos dietas enriquecidas para larvas de *L.vannamei*.

Los resultados de supervivencia obtenidos del 90% y del 55% para el tratamiento con mayor y menor concentración de vitamina B12 respectivamente,

(Fig.2), es bastante más alto que el 66% obtenido alimentando a postlarvas de *Penaeus vannamei* con alimento seco fortalecido con *Chaetoceros gracilis* (Cano, 1997) y el 60% alcanzado por Piña *et al.* (2004) para la misma especie, alimentada con nauplio de *Artemia* y *Brachionus plicatilis*. Preston & Buford, (1992), señalan que un rango entre 30 y 86% de supervivencia es aceptable cuando la alimentación de la postlarva bioquímicamente cumple con los requisitos nutritivos para el desarrollo y sobrevivencia de ésta.

La Fig. 3 permite observar además, que a medida que las larvas están más avanzadas en su desarrollo, la resistencia al estrés osmótico fue mayor; Cano (1997) reporta resultados similares.

Los camarones tienen la característica de ser consumidores lentos y tener la capacidad de detectar el alimento a distancia mediante los apéndices asociados al sentido del olfato y del gusto, que les permiten aceptar o rechazar el alimento (Sánchez, 1992). En respuesta a un estimulante alimenticio, se ha identificado varias fases: orientación, iniciación, continuación y terminación de la alimentación, lo que significa que si el camarón se ha dirigido al alimento, lo degusta dando como respuesta la aceptación o rechazo del mismo, permitiendo que los alimentos puedan ser considerados como atractantes si hay movimiento hacia el mismo, incitantes si se inicia el consumo y estimulantes si se continúa comiendo; comportamiento que puede variar dependiendo de la etapa de vida del animal.

Como quiera que en las etapas larvales los crustáceos en su alimentación dependen más de encuentros casuales con el alimento (Kurmary *et al.*, 1990 in Álvarez, 2007), debe suponerse que la vitamina B12 no actuó como attractante, sino más bien como incitante y estimulante del apetito, corroborado por el mayor grado de llenura de

los tractos digestivos, sobre todo del tratamiento con mayor concentración de esta vitamina (0,4 mg de vitamina B12).

El hecho de que se haya presentado una buena aceptación del alimento, repercutió además en la buena apariencia del hepatopáncreas, órgano que tal como lo reporta Cano (1997), es uno de los principales órganos monitores de la salud de los organismos en cultivo, siendo el análisis histopatológico del hepatopáncreas ampliamente usado en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, parasitarias o de origen nutricional. La presencia de abundante vacuolas lipídicas muestra un alto grado de almacenamiento de sustancias de reserva, necesarios para el crecimiento en muda que presenta este crustáceo (Foto 10).

Sánchez (1992), señala que un alimento nutricionalmente incompleto suministrado durante la etapa larval, puede causar mortalidades, y si la larva sobrevive su desarrollo suele ser parcial y se ve afectado; incluyéndose en este desarrollo estructuras propias de cada estadio como son las branquias. En relación a esto, el análisis permite demostrar que el desarrollo en términos generales es el adecuado para el estadio en todos los tratamientos, aunque es en el de mayor concentración de la vitamina, donde el 100% de organismos alcanzó el desarrollo de branquia de acuerdo al estadio larval.

Los crustáceos al igual que los vertebrados, poseen cromatóforos consistentes en células muy ramificadas en los que los gránulos de pigmento pueden estar dispersos o concentrados (Wilson, 1989; Barrington, 1979). Su aparición a lo largo del crecimiento larval indica el normal desarrollo que los organismos están presentando. Así, generalmente, la condición de los cromatóforos ventrales en la cola de PL, se usa como indicador de estrés, en tanto que las PL sanas, activas, tal como lo reportan Fegan

et al. (1996), tienen cromatóforos que pueden ser vistos bien distribuidos en todo el cuerpo como puntos claramente oscuros, rojos o azules, como se puede evidenciar en la Foto 8, que muestra cromatóforos con un índice de melanóforo de 1 y 2, de acuerdo a la propuesta hecha por Hogben & Slome (Barrington, 1979). Si las postlarvas estuvieran estresadas en algunos de los tratamientos, los cromatóforos hubieran presentado un índice de 5 y los animales se hubieran visto totalmente rojos.

Es importante señalar que una buena alimentación durante los primeros estadios larvales se verá reflejada en una larva resistente a diferentes factores externos e internos a los que sea sometida, como se demostró en la prueba de estrés osmótico. Así, el mayor porcentaje de postlarvas nadando en la columna de agua después de ser sometidas a estrés osmótico, prueba el efecto de una mayor concentración de vitamina B12, además de presentar diferencia significativa entre todos los tratamientos. Al respecto, Bray (1994) menciona que valores inferiores al 60% de sobrevivencia no son considerados como aceptables, por lo que el 94% en estadio PL15, encontrado con el tratamiento de 0,4 mg de vitamina B12, está muy por encima de este valor (Foto 6). Se observa que la mayor sobrevivencia, refleja una mayor resistencia a cambios abruptos en el sistema fisiológico de la larva lo que es resultado de una alimentación nutricionalmente completa.

CONCLUSIONES

- La hipótesis alternativa propuesta por el proyecto, contempla que el T3 (0,2mg de vitamina B12) sería el que presentaría mejor performance que el T1 (0,0mg de vitamina B12), T2 (0,1mg de vitamina B12) y T4 (0,4mg de vitamina B12) , por lo que se rechaza en la experiencia.
- El mejor crecimiento en peso de postlarvas de “langostino blanco” *L. vannamei*, se obtuvo con el T4 (0,44g) y T3 (0,42g) en comparación al tratamiento T2 (0,39g) y T1(0,37g).
- La supervivencia (%) de las postlarvas de “langostino blanco” *L. vannamei* que se obtuvo fueron muy favorables por las diferentes concentraciones de vitamina B12, obteniéndose lo siguiente: T4: 90 %; T3: 78 %; T2: 69 %; y el T1: 55 %.
- El incremento de vitamina B12 influye gradualmente en la calidad larval, teniendo su mejor efecto en el desarrollo branquial obteniéndose hasta 100% en respuesta positiva, tracto digestivo y condición de hepatopáncreas un 98%, pigmentación y estrés osmótico un 94% .
- La concentración de 0,4mg de vitamina B12 por kg de alimento balanceado, fue la que mejores resultados presentó en cuanto al crecimiento, supervivencia y calidad postlarval de *L. vannamei*, con resultados estadísticamente significativos con respecto a los demás tratamientos.

RECOMENDACIONES

- Comprobada la eficiencia que tiene la vitamina B12 en concentraciones de 0,4mg.kg-1 de alimento, sobre el crecimiento, supervivencia y calidad post larval del langostino blanco *L. vannamei*; se recomienda realizar otras investigaciones utilizando concentraciones superiores a las aplicadas en la presente investigación, para determinar la concentración óptima que se requiere para el cultivo de esta especie.
- Continuar la investigación en la siguiente etapa (engorde) hasta talla comercial para observar el efecto de la vitamina B12 en las diferentes etapas de desarrollo.
- Desarrollar investigaciones en esta especie, aplicando métodos de inmunología de camarones, para determinar de qué manera influye la vitamina B12 en el sistema inmunológico y además evaluar la caracterización histopatológica de *L. vannamei*.
- Incorporar la vitamina B12 diluida, directamente en la dieta ya que en los procesos de manufactura de la elaboración de los alimentos balanceados, pierde su propiedad química.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achupallas, J. 1997. Aspectos Nutricionales de los Alimentos para Camarones. Editorial Diamasa. Guayaquil - Ecuador. 24 p.
- Barrigton, E. 1979. Introducción a la endocrinología general y comparada. Editorial Blume. Madrid-España. 303 p.
- Bray, W. & A. Laurence. 1994. The effect on the interaction of IHHN virus and salinity aquaculture. **122**(2-3): 133-146.
- Ching, A. 1999. Evaluación post larval y siembra de postlarvas de *L.vannamei*. Edición Tumpis. Centro de investigación Nicovita. Tumbes- Perú. 15p.
- Cahu, G. & P. Quazuguel. 1995. Effect of highly unsaturated fatty acids, alpha-tocopherol and ascorbic acid in broodstock diet on egg composition and development of *Penaeus indicus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **112**(3-4): 417-424.
- Cano, M. 1997. Efecto del alimento seco algaMac-2000 como complemento de las diatomeas *Chaetoceros gracilis* en la sobrevivencia de post larvas del camaron *Penaeus vannamei*. Universidad de Centro América - Nicaragua. 65p

Carrillo, O.; F. Vega; H. Nolasco & N. Gallardo. 2000. Aditivos alimentarios como estimuladores del crecimiento de camarón *Penaeus*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Yucatán, México. 50 p.

Curtis, M. 1998. Farmacología integrada. 1ra. Edic. Edit. Harcourt Brace de España, S.A. Madrid-Barcelona. 606p.

Cruz, L. 2000. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, programa Maricultura. Nuevo León, México. 35 p.

Fao, 2006. El estado mundial de la pesca y la acuicultura.

<http://www.fao.org>.>Accesado 15/06/2009

Fegan, D. T. Fleguel. & A. Waiyakhruttha. 1996 Boletín Nicovita. Método práctico para la determinación de calidad de postlarvas de *L. monodon fabricius*. 5 - 8p.

Fenucci, J. & R. Fernández. 2004. Acción de las Vitaminas en la dieta de camarones peneidos. Departamento de ciencias marinas Universidad Nacional de Mar de Plata - Argentina. 1-6p

Forrelat, A. 1998. El Hepatopáncreas de camarón: fuente de enzimas digestivas para la camaronicultura. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad de La Habana, Cuba. 15-22p

- Hernández, R. & C. Fernández. 2000. Metodología de la Investigación. Ed. Mc Graw-Hill. México. 501p.
- Kurmaly, K. & D. Jone. 1990. Acceptability and digestion of diets fed to larval stages of *Homarus samarus* and the role of dietary conditioning behavior. **106**(5-7): 181-190
- Lujan M. 2005. Tendencias de la acuicultura mundial y potencialidades del Perú. IV Seminario virtual. Seminario virtual de las ciencias del mar. Disponible en: http://www.oannesmar.org/seminario/2005_PescayAcuicultura/Tendenciasypotencialdelaacuicultura.htm
- Marriot, F. & M. Baquero. 2003. Análisis del sector camaronero, apuntes de economía. (29). Disponible en: <http://www.bce.fin.ec.15/06/2009>.
- Mendoza, A. 2000. Requerimientos Vitamínicos para Camarones Peneidos. Texas A&M University System. Texas, Usa. 14-16p
- Preston, N. & M. Burford. 1992. The suitability of pond phytoplankton for in situ rearing of prawn larvae. Aquaculture nutrition workshop. 191p
- Piña, P. & M. Nieves. 2004. Crecimiento, Desarrollo y Supervivencia de mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con nauplios de *artemia* y con el rotífero *Brachionus plicatilis*. Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Ciencias del Mar. Mazatlán- Sinaloa. **25**(3):245-251.
- Sánchez, M. 1992. Efecto nutricional relativo de cuatro especies de algas como alimento de larvas de *Penaeus vannamei*. pp.113 – 116 in: Larvicultura de

camarones Peneidos. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Edit. Cited-D. Madrid-España. 281p

Sigma Stat for Windows. 2004. Version 3.10. Software, Inc. Copyright.

Soluap, E. 2001. Nuevo compendio del Manejo y engorde de camarones *Penaeus* en cautiverio. ESPOL, Facultad de Ing. Marina y Ciencias del Mar. Guayaquil-Ecuador. 4-9p

Tacón, A. Fermín O, & Piña. 1998. Global trends and challenges in aqua feeds for marine shrimp. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, México. 12-15 p.

Wilson, J. 1989. Fundamentos de Fisiología Animal. Editorial Limusa S.A. de C.V. Mexico. 984 p

ANEXO 1



Foto1. Instalaciones de las unidades experimentales en la empresa Biolarva S.A.



Foto 2. Preparación de las dietas y vitamina B12 para la alimentación del "langostino blanco" *L. vannamei*.



Foto 3. Alimentación de las post larvas de “langostino blanco” *L. vannamei*, con el microencapsulado Super larva y la vitamina B12 en las unidades experimentales de la empresa Biolarva.



Foto 4. Muestras para determinar crecimiento y supervivencia de post larvas de “langostino blanco” *L. Vannamei*.



Foto 5. Análisis de la calidad post larval de “langostino blanco” *L. vannamei*.



Foto 6. Prueba de resistencia al estrés osmótico en post larvas estadio 13 de “langostino blanco” *L.vannamei*

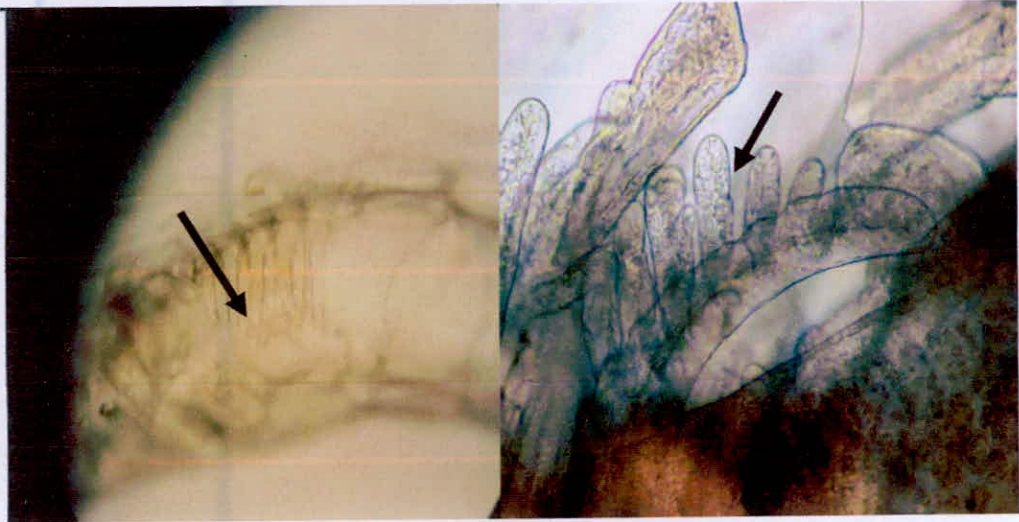


Foto 7. Branquias en desarrollo de post larva en estadio 6 y 12 del "langostino blanco" *L. vannamei*

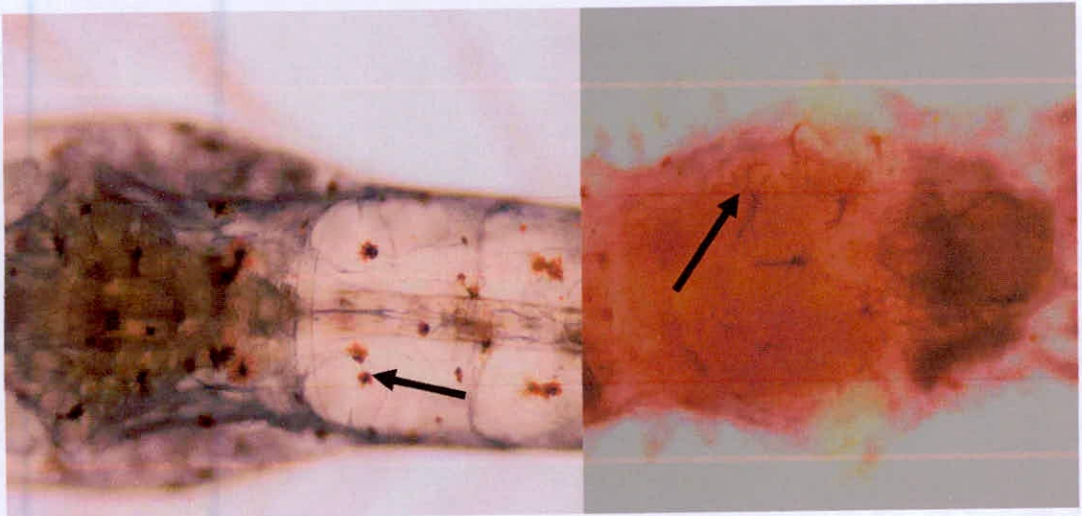


Foto 8. Cromatóforos punteado y expandido en toda parte del cuerpo de las post larvas de "langostino blanco" *L. vannamei*

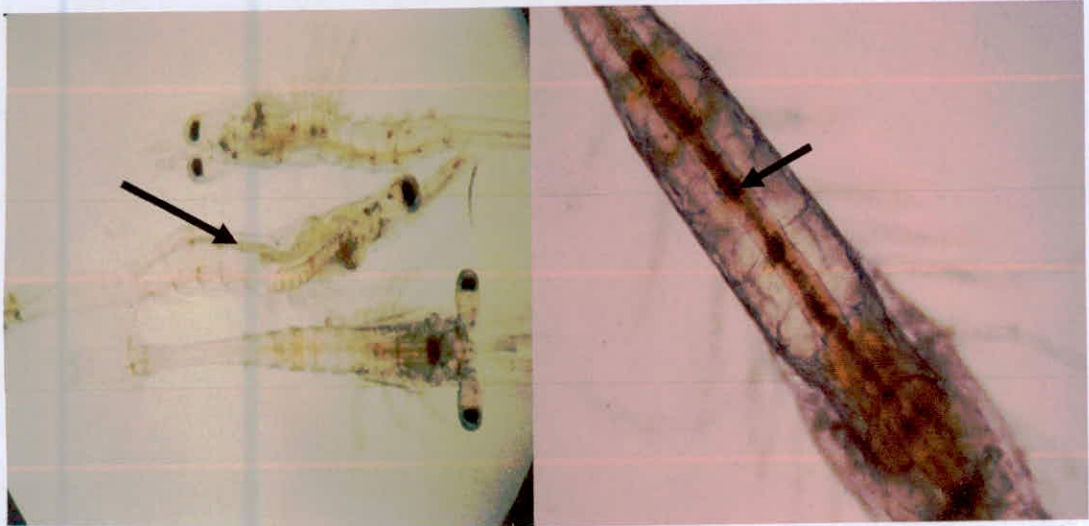


Foto 9. Tractos digestivos llenos indicador de buena asimilación del alimento de las post larvas 12 del "langostino blanco" *L. vannamei*.

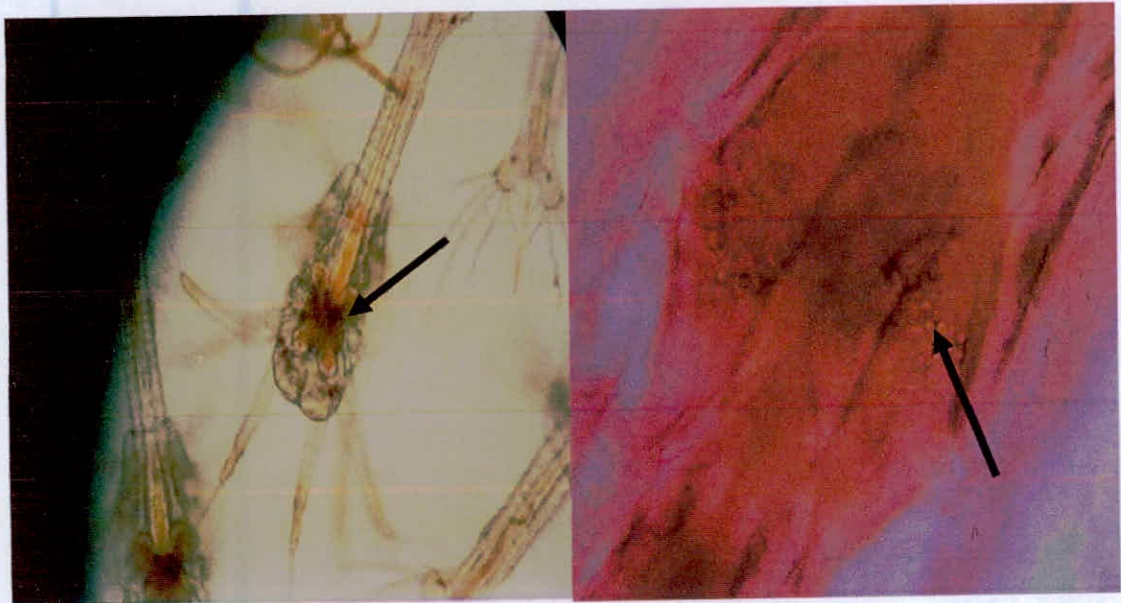


Foto 10. Hepatopáncreas en buen estado nutricional observándose vacuolas lipídicas expandida en las post larva de "langostino blanco" *L. vannamei*

Anexo 2

Tabla 12. Análisis de varianza del crecimiento en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día2 (estadio PL2)					
Fuente de variación	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	52.951.333	17.650.444	38.405	0,51
Error	8	3.676.667	459.583		
Total	11	56.628.000			
Día3 (estadio PL3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	47.580.250	15.860.083	323.675	16.803
Error	8	392.000	49.000		
Total	11	47.972.250			
Día4 (estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	73.600.917	24.533.639	863.354	12.796
Error	8	227.333	28.417		
Total	11	73.828.250			
Día5 (estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	81.885.583	27.295.194	75.802	45.552
Error	8	2.880.667	360.083		
Total	11	84.766.250			
Día6 (estadio PL6)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	107.888.333	35.962.778	318.725	25.499
Error	8	902.667	112.833		
Total	11	108.791.000			
Día7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	68.503.000	22.834.333	526.946	15.802
Error	8	346.667	43.333		
Total	11	68.849.667			

Día8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	75.913.000	25.304.333	2.051.703	8.430
Error	8	98.667	12.333		
Total	11	76.011.667			
Día9(estadio PL9)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	133.486.917	44.495.639	2.840.147	9.501
Error	8	125.333	15.667		
Total	11	133.612.250			
Día10 (estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	131.900.667	43.966.889	1.831.954	11.760
Error	8	192.000	24.000		
Total	11	132.092.667			
Día11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	110.860.250	36.953.417	399.496	23.087
Error	8	740.000	92.500		
Total	11	111.600.250			
Día12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	54.898.667	18.299.556	3.721.944	5.323
Error	8	39.333	4.917		
Total	11	54.938.000			
Día13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	55.060.250	18.353.417	2.342.989	6.719
Error	8	62.667	7.833		
Total	11	55.122.917			
Día14 (estadio P14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	52.137.000	17.379.000	1.533.441	8.081
error	8	90.667	11.333		
Total	11	52.227.667			

Día 15 (estadio P15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	39.308.667	13.102.889	534.812	0,11
Error	8	196.000	24.500		
Total	11	39.504.667			

g. l: grados de libertad. *SC:* suma de cuadrados. *CM:* cuadrado medio.
Fc: valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 13. Análisis de varianza de la supervivencia en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	0.001	0.000	0.708	0.054
Error	8	0.004	0.001		
Total	11	0.005			
Día 15(estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	2.501	0.834	338.636	0.119
Error	8	0.020	0.002		
Total	11	2.521			

g. l: grados de libertad. *SC:* suma de cuadrados. *CM:* cuadrado medio.
Fc: valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 14. Análisis de varianza del estrés osmótico en los diferentes tratamientos por estadio del "langostino blanco" *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	375.583	125.194	75.117	3.099
Error	8	13.333	1.667		
Total	11	388.917			
Día 2 (estadio PL2)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	912.250	304.083	130.321	3.667
Error	8	18.667	2.333		
Total	11	930.917			
Día 3 (estadio PL3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	924.917	308.306	217.627	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	936.250			
Día 4 (estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.251.000	417.000	312.750	2.772
Error	8	10.667	1.333		
Total	11	1.261.667			
Día 5 (estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.304.250	434.750	521.700	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.310.917			
Día 6 (estadio PL6)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.867.583	622.528	439.431	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	1.878.917			
Día 7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.348.000	449.333	539.200	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.354.667			

Día 8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.391.000	463.667	556.400	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.397.667			
Día 9 (estadio PL9)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.458.250	486.083	364.563	2.772
Error	8	10.667	1.333		
Total	11	1.468.917			
Día 10 (estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.317.583	439.194	263.517	3.099
Error	8	13.333	1.667		
Total	11	1.330.917			
Día 11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.522.000	507.333	608.800	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.528.667			
Día 12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.807.000	602.333	233.161	3.858
Error	8	20.667	2.583		
Total	11	1.827.667			
Día 13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.410.917	470.306	235.153	3.395
Error	8	16.000	2.000		
Total	11	1.426.917			
Día 14 (estadio PL14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.148.667	382.889	218.794	3.176
Error	8	14.000	1.750		
Total	11	1.162.667			

Día 15 (estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.043.583	347.861	181.493	3.323
Error	8	15.333	1.917		
Total	11	1.058.917			

g. l: grados de libertad. SC: suma de cuadrados. CM: cuadrado medio.
 Fc : valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 15. Análisis de varianza del desarrollo branquial en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	463.333	154.444	168.485	2.298
Error	8	7.333	0.917		
Total	11	470.667			
Día 2 (estadio PL2)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	324.250	108.083	129.700	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	330.917			
Día 3 (estadio PL3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	321.000	107.000	98.769	2.499
Error	8	8.667	1.083		
Total	11	329.667			
Día 4 (estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	285.667	95.222	54.413	3.176
Error	8	14.000	1.750		
Total	11	299.667			
Día 5 (estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	270.917	90.306	77.405	2.593
Error	8	9.333	1.167		
Total	11	280.250			

Día 6 (estadio PL6)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	99.583	33.194	23.431	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	110.917			
Día 7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	153.000	51.000	47.077	2.499
Error	8	8.667	1.083		
Total	11	161.667			
Día 8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	136.917	45.639	27.383	3.099
Error r	8	13.333	1.667		
Total	11	150.250			
Día 9 (estadio PL9)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	206.250	68.750	43.421	3.021
Error	8	12.667	1.583		
Total	11	218.917			
Día 10 (estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	200.333	66.778	57.238	2.593
Error	8	9.333	1.167		
Total	11	209.667			
Día 11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
Entre tratamientos	3	367.583	122.528	58.813	3.465
Error replicas	8	16.667	2.083		
Total	11	384.250			
Día 12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	181.667	60.556	121.111	1.697
Error r	8	4.000	0.500		
Total	11	185.667			

Día 13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	205.583	68.528	74.758	2.298
Error replicas	8	7.333	0.917		
Total	11	212.917			
Día 14 (estadio PL14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	230.917	76.972	21.992	4.491
Error	8	28.000	3.500		
Total	11	258.917			
Día 15 (estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	192.917	64.306	64.306	2.400
Error	8	8.000	1.000		
Total	11	200.917			

g. l: grados de libertad. SC: suma de cuadrados. CM: cuadrado medio.
 Fc: valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 16. Análisis de varianza del contenido del tracto digestivo en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.484.250	494.750	371.062	2.772
Error	8	10.667	1.333		
Total	11	1.494.917			
Día 2 (estadio PL2)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.579.583	526.528	789.792	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	1.584.917			
Día 3 (estadio P3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.614.917	538.306	807.458	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	1.620.250			

Día 4(estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.431.000	477.000	477.000	2.400
Error	8	8.000	1.000		
Total	11	1.439.000			
Día 5(estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.371.333	457.111	421.949	2.499
Error	8	8.667	1.083		
Total	11	1.380.000			
Día 6 (estadio PL16)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.244.667	414.889	452.606	2.298
Error	8	7.333	0.917		
Total	11	1.252.000			
Día 7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.448.250	482.750	579.300	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.454.917			
Día 8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.469.333	489.778	345.725	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	1.480.667			
Día 9 (estadio PL9)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.189.583	396.528	279.902	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	1.200.917			
Día 10(estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.106.250	368.750	276.562	2.772
Error	8	10.667	1.333		
Total	11	1.116.917			

Día 11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	986.917	328.972	657.944	1.697
Error	8	4.000	0.500		
Total	11	990.917			
Día 12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.051.583	350.528	525.792	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	1.056.917			
Día 13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	872.000	290.667	158.545	3.250
Error	8	14.667	1.833		
Total	11	886.667			
Día 14 (estadio PL14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
Entre tratamientos	3	704.250	234.750	216.692	2.499
Error replicas	8	8.667	1.083		
Total	11	712.917			
Día 15 (estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	850.667	283.556	147.942	3.323
Error	8	15.333	1.917		
Total	11	866.000			

g. l: grados de libertad. SC: suma de cuadrados. CM: cuadrado medio.
 Fc: valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 17. Análisis de varianza del hepatopáncreas en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.224.667	408.222	612.333	1.960
Error replicas	8	5.333	0.667		
Total	11	1.230.000			
Día 2 (estadio PL2)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.212.667	404.222	538.963	2.079
Error	8	6.000	0.750		
Total	11	1.218.667			
Día 3 (estadio PL3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.192.000	397.333	119.200	4.383
Error	8	26.667	3.333		
Total	11	1.218.667			
Día 4 (estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.182.250	394.083	472.900	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	1.188.917			
Día 5 (estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.168.250	389.417	359.462	2.499
Error	8	8.667	1.083		
Total	11	1.176.917			
Día 6 (estadio PL6)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.154.917	384.972	307.978	2.684
Error r	8	10.000	1.250		
Total	11	1.164.917			
Día 7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.195.667	398.556	531.407	2.079
Error r	8	6.000	0.750		
Total	11	1.201.667			

Día 8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	1.324.667	441.556	883.111	1.697
Error	8	4.000	0.500		
Total	11	1.328.667			
Día 9 (estadio PL9)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	915.333	305.111	45.767	6.198
Error replicas	8	53.333	6.667		
Total	11	968.667			
Día 10 (estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
e tratamientos	3	1.072.917	357.639	214.583	3.099
Error replicas	8	13.333	1.667		
Total	11	1.086.250			
Día 11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	982.250	327.417	163.708	3.395
Error	8	16.000	2.000		
Total	11	998.250			
Día 12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	910.917	303.639	303.639	2.400
Error	8	8.000	1.000		
Total	11	918.917			
Día 13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	881.333	293.778	207.373	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	892.667			
Día 14 (estadio PL14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	995.667	331.889	442.519	2.079
Error	8	6.000	0.750		
Total	11	1.001.667			

Día 15 (estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	854.250	284.750	213.562	2.772
Error	8	10.667	1.333		
Total	11	864.917			

g: F: grados de libertad. SC: suma de cuadrados. CM: cuadrado medio.
 Fc: valores calculados de Fisher (n. s.): no significativo (*): Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 18. Análisis de varianza de la pigmentación en los diferentes tratamientos por estadio del “langostino blanco” *L. vannamei*.

Día 1 (estadio PL1)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	278.917	92.972	185.944	1.697
Error	8	4.000	0.500		
Total	11	282.917			
Día 2 (estadio PL2)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	260.917	86.972	130.458	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	266.250			
Día 3 (estadio PL3)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	276.667	92.222	138.333	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	282.000			
Día 4 (estadio PL4)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	312.917	104.306	156.458	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	318.250			
Día 5 (estadio PL5)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
Entre tratamientos	3	289.667	96.556	144.833	1.960
Error replicas	8	5.333	0.667		
Total	11	295.000			

Día 6 (estadio PL6)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	360.250	120.083	144.100	2.191
Error	8	6.667	0.833		
Total	11	366.917			
Día 7 (estadio PL7)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	357.667	119.222	178.833	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	363.000			
Día 8 (estadio PL8)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	476.917	158.972	136.262	2.593
Error	8	9.333	1.167		
Total	11	486.250			
Día 9 (estadio PL19)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	491.333	163.778	245.667	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	496.667			
Día 10 (estadio PL10)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	505.583	168.528	118.961	2.857
Error	8	11.333	1.417		
Total	11	516.917			
Día 11 (estadio PL11)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	644.250	214.750	214.750	2.400
Error	8	8.000	1.000		
Total	11	652.250			
Día 12 (estadio PL12)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	560.250	186.750	373.500	1.697
Error	8	4.000	0.500		
Total	11	564.250			

Día 13 (estadio PL13)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	573.667	191.222	286.833	1.960
Error	8	5.333	0.667		
Total	11	579.000			
Día 14 (estadio PL14)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	674.917	224.972	179.978	2.684
Error	8	10.000	1.250		
Total	11	684.917			
Día 15 (estadio PL15)					
	gl	S.C.	M.C.	F.	D
tratamientos	3	732.917	244.306	146.583	3.099
Error	8	13.333	1.667		
Total	11	746.250			

g. l: grados de libertad. SC: suma de cuadrados. CM: cuadrado medio.
 Fc : valores calculados de Fisher (n. s.) : no significativo (*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

ANEXO 3

Tabla 19. Prueba Tukey del crecimiento y supervivencia al final de la experiencia de las post larva de “langostino blanco” *L. vannamei*

A los 15 días			
Comparación	Diferencias	Valor Tukey	Significancia
crecimiento			
T1 vsT2	0,45	>0,12	*
T1 vsT3	0,88	>0,12	*
T 1 vsT4	0,101	>0,12	*
T2 vs T3	0,90	>0,12	*
T2 vsT4	0,112	>0,12	*
T3 vs T4	0,21	>0,12	*
Supervivencia			
T1 vsT2	0,22	>0,13	*
T1 vsT3	0,19	>0,13	*
T 1 vsT4	0,16	>0,13	*
T2 vs T3	0,18	>0,13	*
T2 vsT4	0,32	>0,13	*
T3 vs T4	0,20	>0,13	*

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

Tabla 20. Prueba Tukey en la calidad postlarval al final de la experiencia de las post larva de "langostino blanco" *L. vannamei*

A los 15 días			
Comparación	Diferencias	Valor Tukey	Significancia
Prueba de estrés osmótico			
T1 vsT2	9,04	>3,62	*
T1 vsT3	6,89	>3,62	*
T 1 vsT4	15,78	>3,62	*
T2 vs T3	3,67	>3,62	*
T2 vsT4	10,00	>3,62	*
T3 vs T4	6,33	>3,62	*
Desarrollo branquial			
T1 vsT2	5,75	>2,62	*
T1 vsT3	4,42	>2,62	*
T 1 vsT4	3,36	>2,62	*
T2 vs T3	4,67	>2,62	*
T2 vsT4	7,67	>2,62	*
T3 vs T4	3,00	>2,62	*
Tracto digestivo			
T1 vsT2	9,85	<3,62	*
T1 vsT3	7,40	>3,62	*
T 1 vsT4	5,10	<3,62	*
T2 vs T3	6,82	<3,62	*
T2 vsT4	6,67	>3,62	*
T3 vs T4	6,79	<3,62	*
Hepatopáncreas			
T1 vsT2	10,01	>3,02	*
T1 vsT3	5,89	>3,02	*
T 1 vsT4	4,63	>3,02	*
T2 vs T3	8,33	>3,02	*
T2 vsT4	18,00	>3,02	*
T3 vs T4	9,67	>3,02	*
Pigmentación			
T1 vsT2	18,13	>3,38	*
T1 vsT3	6,21	>3,38	*
T 1 vsT4	14,89	>3,38	*
T2 vs T3	7,67	>3,38	*
T2 vsT4	15,33	>3,38	*
T3 vs T4	7,67	>3,38	*

(*) : Significativo al 0,05% de probabilidad.

ANEXO 4

Tabla 28. Presupuesto para la producción de postlarvas con vitamina B12 y de rutina hasta el estadio de PL15 de "langostino blanco" *L.vannamei*.

PRODUCCION				
Descripción	Rutina		Vitamina B12	
	Costo Unitario	Costo para 12 TQ	Costo Unitario	Costo para 12 TQ
	(\$)	(\$)	(\$)	(\$)
a)Gastos de Producción: US\$		5,500		5,500
• Responsable (1)	1,000	2,000	1,000	2,000
• Técnico (2)	500	500	500	500
• Personal administrativo(2)	1,000	1,600	1,000	1,000
• Obreros(7)	800	1,400	800	1,400
b)Gastos de inversiones: US\$		11,900		11,650
• Alquiler de Empresa		1,500		1,500
• Aditivos(attractantes,probióticos,etc)	50	300		-----
• Alimento(Kg.)		4,500		4,500
• Semilla(millar)	0,12	5,600	0,12	5,600
• Vitamina B12				75
c)Gastos de Operación: US\$		4,100		4,100
• Combustible(Gas, petróleo)		2,600		2,600
• Luz eléctrica		1,500		1,500
d)Otros		1,000		1,000
• Otros	1,000		1,000	
		1,000		1,000
TOTAL		22,500		22,250

Cuadro de balance de producción de postlarvas hasta el estadio de PL15 de "langostino blanco" *L.vannamei*

Descripción	Producción de rutina 60% de supervivencia	Producción con vitamina B12 al 90% de supervivencia.
Producción (\$)	26,184	39,400
Gastos (\$)	22,500	22,300
Ganancia (\$)	3,684	17,150