



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

**Adición de *Arthrospira platensis* (Cyanobacteria: Cyanophyceae) como alimento funcional en la dieta de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus vannamei***

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Bióloga en Hidrobiología y  
Pesquería

**AUTOR**

Bach. Nora Juana TAIPE ALVA

**ASESOR**

MSc. Liliana del Rosario TAPIA UGAZ

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Taibe, N. (2021). *Adición de Arthrospira platensis (Cyanobacteria: Cyanophyceae) como alimento funcional en la dieta de postlarvas y juveniles de Litopenaeus vannamei*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---

## Hoja de Metadatos complementarios

|   |   |
|---|---|
| Código ORCID del autor                                    | <a href="https://orcid.org/0000-0001-7992-5740">https://orcid.org/0000-0001-7992-5740</a>   |
| DNI o pasaporte del autor                                 | 75911856  |
| Código ORCID del asesor                                   | <a href="https://orcid.org/0000-0001-6966-4161">https://orcid.org/0000-0001-6966-4161</a>   |
| DNI o pasaporte del asesor                                | 33262515  |
| Grupo de investigación                                    | Acuicultura y nutrición de organismos acuáticos - ACUINOA   |
| Agencia financiadora                                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Vicerrectorado de Investigación y Posgrado. Proyectos de investigación con financiamiento para Grupos de Investigación - Año 2019. B19101601.</li> <li>• Perú. Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura - PNIPA. Subproyecto de Investigación Aplicada y Desarrollo Experimental (SIADE) - Convocatoria 2017 – 2018. PNIPA-ACU-SIADE-PP-000067.</li> </ul> |
| Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Edificio: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Laboratorio de Acuicultura “La Huaca”</li> <li>• País: Perú</li> <li>• Departamento: Lima</li> <li>• Provincia: Lima</li> <li>• Distrito: Lima</li> <li>• Latitud: -12.0588743</li> <li>• Longitud: -77.0868011</li> </ul>  |
| Año o rango de años en que se realizó la investigación    | 2019  |
| Disciplinas OCDE  | <p>Otros temas de biología</p> <p><a href="https://purl.org/perepo/ocde/ford#1.06.16">https://purl.org/perepo/ocde/ford#1.06.16</a></p>   |



# Universidad Nacional Mayor de San Marcos

(Universidad del Perú, Decana de América)

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

### ACTA DE SESION PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA CON MENCIÓN EN HIDROBIOLOGÍA Y PESQUERÍA (MODALIDAD: SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS)

Siendo a las 17:05 horas del 14 de julio de 2021, en el Salón de Grados Virtual de la Facultad de Ciencias Biológicas cuya dirección electrónica fue <https://meet.google.com/dzc-iify-vkj>, y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Título Profesional Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería** de **NORA JUANA TAIPE ALVA**.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° UNMSM-20200029236, la titulando expuso su tesis: “**ADICIÓN DE *Arthrospira platensis* (CYANOBACTERIA: CYANOPHYCEAE) COMO ALIMENTO FUNCIONAL EN LA DIETA DE POSTLARVAS Y JUVENILES DE *Litopenaeus vannamei*”**”, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 18, calificativo: **APROBADO CON MENCIÓN HONROSA**.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería** a **NORA JUANA TAIPE ALVA** y se eleve lo actuado Rectorado para conferir el respectivo título conforme a ley.

Siendo las 18:45 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 14 de julio de 2021.



Firmado digitalmente por TAPIA  
UGAZ Liliana Del Rosario FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Doy V° B°  
Fecha: 14.07.2021 18:36:36 -05:00

**Dra. HAYDEE MONTOYA TERREROS**  
(PRESIDENTA)

**Mg. LILIANA TAPIA UGAZ**  
(ASESORA)

Firmado digitalmente por JARA PEÑA  
Enoc Efer FAU 20148092282 soft  
Motivo: Soy el autor del documento  
Fecha: 14.07.2021 18:33:14 -05:00

**Dr. ENOC JARA PEÑA**  
(MIEMBRO)



Firmado digitalmente por BAYLON  
CORITOMA Maribel FAU  
20148092282 soft  
Motivo: Doy V° B°  
Fecha: 14.07.2021 18:39:38 -05:00

**Mg. MARIBEL BAYLON CORITOMA**  
(MIEMBRO)

*A mis padres, mi hermana Ana y mi hermano Hernán: mi familia, que estuvo siempre presente y me apoyó incondicionalmente en mis retos académicos. Para ellos todo.*

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa Nacional en Pesca y Acuicultura (PNIPA) por el financiamiento de la implementación y puesta en marcha de mi tesis a través del subproyecto PNIPA-ACU-SIADE-PP-000067 “Desarrollo y estandarización de un paquete tecnológico de cultivo para Langostino Blanco (*Litopenaeus vannamei*), basado en la administración de Spirulina (*Arthrospira platensis*) en el departamento de Tumbes”.

Al Vicerrectorado de Investigación por el financiamiento de mi tesis a través del proyecto “*Arthrospira platensis* (Gomont, 1892) como alimento funcional durante las fases de pre-cría y engorde y su respuesta inmune en *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)” con código B19101601, por su apoyo económico para el análisis de las muestras.

A mi padre Hernán Taipe y a mi tío Javier Taipe, por el apoyo logístico en la implementación del sistema eléctrico y el sistema de aireación del diseño experimental del presente trabajo, en el laboratorio de Acuicultura “La Huaca”.

A Yang José Juárez, bachiller de Biología y amigo incondicional, quien colaboró en la biometría realizada a los organismos.

A mis compañeros integrantes del grupo de investigación ACUINOA: Jhoel Huamanraime, Jesús Salazar, Isabel Solís y María José Zevallos, por su apoyo en el registro de datos.

Al Dr. Mauro Mariano, M.Sc. Liliana Tapia y al Dr. Dante Espinoza por su apoyo en el desarrollo y revisión de la tesis.

## ÍNDICE GENERAL

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN .....   | 1  |
| 2. MARCO TEÓRICO .....  | 3  |
| 2.1 Acuicultura en el mundo y en América Latina y el Caribe .....   | 3  |
| 2.2 Acuicultura en el Perú .....  | 4  |
| 2.3 Cultivo de <i>L. vannamei</i> en el Perú .....  | 4  |
| 2.4 <i>Litopenaeus vannamei</i> .....   | 7  |
| 2.4.1 Clasificación taxonómica .....  | 7  |
| 2.4.2 Hábitat y ciclo de vida de <i>L. vannamei</i> .....   | 7  |
| 2.4.3 Morfología externa de <i>L. vannamei</i> .....  | 8  |
| 2.5 <i>Arthrospira platensis</i> .....  | 10 |
| 2.5.1 Clasificación taxonómica .....  | 10 |
| 2.5.2 Hábitat y ciclo de vida .....   | 10 |
| 2.5.3 Morfología .....  | 11 |
| 2.5.4 Composición bioquímica .....  | 12 |
| 2.6 Cultivo de <i>Arthrospira platensis</i> .....   | 13 |
| 2.7 Parámetros inmunológicos utilizados como indicadores de salud en camarones peneidos                             | 13 |
| 2.8 Las microalgas como alimentos funcionales en la acuicultura .....   | 14 |
| 2.9 Uso de alimentos funcionales en camarones peneidos .....  | 15 |
| 3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....  | 18 |
| 3.1 Hipótesis .....   | 18 |
| 3.1.1 Hipótesis de investigación .....  | 18 |
| 3.1.2 Hipótesis nula .....  | 18 |
| 3.2 Objetivos .....   | 18 |
| 3.2.1 Objetivo general .....  | 18 |
| 3.2.2 Objetivos específicos .....   | 18 |
| 4. MATERIAL Y MÉTODOS .....   | 19 |
| 4.1 Lugar y periodo de ejecución .....  | 19 |
| 4.2 Diseño experimental .....   | 19 |
| 4.3 Cultivo de <i>A. platensis</i> .....  | 21 |
| 4.4 Aclimatación de postlarvas de <i>L. vannamei</i> .....  | 22 |
| 4.5 Alimentación de <i>L. vannamei</i> .....  | 23 |
| 4.6 Adición de <i>A. platensis</i> al alimento comercial (T <sub>1</sub> y T <sub>3</sub> ) .....                   | 24 |
| 4.7 Adición de <i>A. platensis</i> como alimento vivo a <i>L. vannamei</i> (T <sub>2</sub> y T <sub>3</sub> ) ..... | 25 |
| 4.8 Limpieza y mantenimiento del cultivo .....  | 28 |
| 4.9 Control de parámetros fisicoquímicos del agua .....   | 28 |
| 4.10 Tasa de crecimiento de <i>L. vannamei</i> .....  | 29 |

|   |    |
|---|----|
| 4.11 Evaluación de la sobrevivencia de <i>L. vannamei</i> ..... | 30 |
| 4.12 Recuento total de hemocitos (THC).....                     | 30 |
| 4.13 Análisis estadísticos.....                                 | 33 |
| 5. RESULTADOS.....  | 34 |
| 5.1 Parámetros fisicoquímicos del agua.....                     | 34 |
| 5.2 Crecimiento de <i>L. vannamei</i> .....                     | 36 |
| 5.3 Sobrevivencia.....  | 39 |
| 5.4 Recuento total de hemocitos (HTC).....                      | 39 |
| 6. DISCUSIÓN.....   | 41 |
| 7. CONCLUSIONES.....  | 48 |
| 8. RECOMENDACIONES.....   | 49 |
| 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                              | 50 |
| 10. ANEXOS.....   | 60 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  | <b>Pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>Tabla 1</b> Rangos aceptados de parámetros fisicoquímicos en el cultivo de <i>L. vannamei</i> .<br>FUENTE: Cuéllar et al. (2010)                                  | 6           |
| <b>Tabla 2</b> Diseño experimental en bloques al azar con tres tratamientos y un control, cada uno con tres repeticiones   | 20          |
| <b>Tabla 3</b> Especificaciones nutricionales del alimento balanceado <i>Nicovita Origin Camarón</i>   | 24          |
| <b>Tabla 4</b> Volumen utilizado de <i>A. platensis</i> para ser filtrado y agregado a los tratamientos T <sub>2</sub> y T <sub>3</sub> por unidad experimental      | 26          |
| <b>Tabla 5</b> Longitud promedio $\pm$ desviación estándar de organismos de <i>L. vannamei</i> de los tratamientos T <sub>2</sub> y T <sub>3</sub>                   | 27          |
| <b>Tabla 6</b> Media y desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos durante toda la prueba   | 34          |
| <b>Tabla 7</b> Valores finales de la media $\pm$ desviación estándar de diferentes parámetros evaluados en <i>L. vannamei</i> alimentado con diferentes tratamientos | 39          |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                  |   | Pág. |
|------------------|---|------|
| <b>Figura 1</b>  | Ciclo de vida de <i>L. vannamei</i> . FUENTE: Hendrickx Michel E. (2002)  | 8    |
| <b>Figura 2</b>  | Morfología externa de <i>L. vannamei</i> . FUENTE: Hendrickx Michel E. (2002)   | 9    |
| <b>Figura 3</b>  | Ciclo de vida de <i>A. platensis</i> . FUENTE: Sánchez et al. (2003)  | 11   |
| <b>Figura 4</b>  | Laboratorio de Acuicultura "La Huaca"   | 19   |
| <b>Figura 5</b>  | Sistema experimental (izquierda: T <sub>C</sub> y T <sub>1</sub> ; derecha: T <sub>2</sub> y T <sub>3</sub> )   | 20   |
| <b>Figura 6</b>  | Cultivo de <i>A. platensis</i> (izquierda: cultivo inicial en matraz de 500 mL; derecha: cultivo final en bidón de 6L)  | 21   |
| <b>Figura 7</b>  | Aclimatación de postlarvas de <i>L. vannamei</i>  | 23   |
| <b>Figura 8</b>  | Adición de la harina de <i>A. platensis</i> en el alimento (izquierda: pasta seca de <i>A. platensis</i> ; derecha: alimento comercial adicionado con <i>A. platensis</i> )   | 24   |
| <b>Figura 9</b>  | Izquierda: Alimento comercial; derecha: alimento adicionado con <i>A. platensis</i>   | 25   |
| <b>Figura 10</b> | Biomasa filtrada de <i>A. platensis</i> (a: volumen de la microalga a agregar, b: biomasa obtenida, c: lavado de la biomasa, d: adición a los acuarios)   | 27   |
| <b>Figura 11</b> | Biometría de <i>L. vannamei</i>   | 29   |
| <b>Figura 12</b> | Flujograma de la metodología utilizada para la obtención de la hemolinfa de <i>L. vannamei</i> y el Recuento total de hemocitos (THC)   | 32   |
| <b>Figura 13</b> | Diagrama de cajas de los distintos parámetros fisicoquímicos como temperatura, saturación de O <sub>2</sub> , pH y salinidad por tratamiento: T <sub>C</sub> (caja ploma), T <sub>1</sub> (caja roja), T <sub>2</sub> (caja verde), T <sub>3</sub> (caja azul)    | 34   |
| <b>Figura 14</b> | Peso promedio por individuo de <i>L. vannamei</i> (g) por tratamiento (T <sub>C</sub> : negro, T <sub>1</sub> : rojo, T <sub>2</sub> : verde, T <sub>3</sub> : azul). La desviación estándar por cada tratamiento también es representada en las áreas sombreadas | 35   |
| <b>Figura 15</b> | Diagrama de cajas del peso promedio final por tratamiento (T <sub>C</sub> : negro, T <sub>1</sub> : rojo, T <sub>2</sub> : verde, T <sub>3</sub> : azul)  | 36   |
| <b>Figura 16</b> | Datos observados y modelados del crecimiento de <i>L. vannamei</i> bajo diferentes tratamientos de alimentación   | 37   |
| <b>Figura 17</b> | Diagrama de cajas de la tasa de crecimiento por tratamiento (T <sub>C</sub> : negro, T <sub>1</sub> : rojo, T <sub>2</sub> : verde, T <sub>3</sub> : azul)  | 37   |
| <b>Figura 18</b> | Diagrama de cajas de la tasa instantánea de mortalidad (izquierda) y la sobrevivencia (derecha) por tratamiento (T <sub>C</sub> : negro, T <sub>1</sub> : rojo, T <sub>2</sub> : verde, T <sub>3</sub> : azul)  | 38   |
| <b>Figura 19</b> | Diagrama de cajas del HTC por tratamiento (T <sub>C</sub> : negro, T <sub>1</sub> : rojo, T <sub>2</sub> : verde, T <sub>3</sub> : azul)  | 39   |

## RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar la inclusión de la cianobacteria *Arthrospira platensis* en la alimentación de postlarvas y juveniles de *Litopenaeus vannamei*, durante 42 días. Para ello se diseñó un sistema experimental con cuatro tratamientos y tres réplicas cada uno, cada unidad experimental estuvo conformada por un acuario con agua de mar filtrada y esterilizada, donde se sembraron 241 postlarvas (PL20) de *L. vannamei* ( $0.006 \pm 0.003$  g). En el tratamiento control ( $T_C$ ) la dieta consistió de alimento comercial (45% proteína); en el primer tratamiento experimental ( $T_1$ ) los organismos fueron alimentos con la harina de *A. platensis* adicionada en los piensos; en el segundo tratamiento experimental ( $T_2$ ) la dieta fue de *A. platensis* filtrada como alimento vivo, además del alimento comercial; y el último tratamiento experimental ( $T_3$ ) consistió en la inclusión de *A. platensis* en el pienso comercial y como alimento vivo. Se evaluó el peso promedio final, tasa de crecimiento ( $r$ ), la sobrevivencia, y el recuento de hemocitos totales (HTC). Al final del experimento, el  $T_2$  fue 17.65 % superior que el  $T_C$  en el peso promedio final, y el  $T_3$  fue 80.67 % superior que el  $T_C$  en el recuento de hemocitos totales (HTC); sin presentar diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). De manera similar, el  $T_1$  fue 15.74 % superior que el  $T_C$  con respecto a la sobrevivencia ( $p > 0.05$ ). La administración de la *A. platensis* como alimento vivo ( $T_2$  y  $T_3$ ) resultó en valores significativamente mayores en los parámetros de crecimiento de *L. vannamei* (peso promedio final y tasa de crecimiento) en contraste con su inclusión como harina en el alimento comercial ( $T_1$ ) ( $p < 0.05$ ).

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, *Arthrospira platensis*, crecimiento, hemocitos.

## ABSTRACT

The purpose of this work was to evaluate the inclusion of the cyanobacteria *Arthrospira platensis* in the feeding of postlarvae and juveniles of *Litopenaeus vannamei* for 42 days. For this, an experimental system was designed with four treatments and three replicates each one; each experimental unit consisted of an aquarium with filtered and sterilized seawater, where 241 postlarvae (PL20) of *L. vannamei* ( $0.006 \pm 0.003$  g) were placed. In the control treatment ( $T_C$ ), the diet consisted of commercial food (45% protein); in the first experimental treatment ( $T_1$ ) the organisms were fed *A. platensis* flour added to the feed; in the second experimental treatment ( $T_2$ ), the diet consisted of the inclusion of filtered *A. platensis* as live food, in addition to commercial food; and the last experimental treatment ( $T_3$ ) consisted of the inclusion of *A. platensis* flour in the commercial feed and as live food. Final average weight, growth rate ( $r$ ), survival, and total haemocyte count (HTC) were evaluated. At the end of the experiment,  $T_2$  was 17.65% higher than  $T_C$  in final mean weight, and  $T_3$  was 80.67% higher than  $T_C$  in total hemocyte count (HTC); without presenting significant differences ( $p > 0.05$ ). Similarly,  $T_1$  was 15.74% higher than  $T_C$  with respect to survival ( $p > 0.05$ ). The inclusion of *A. platensis* as live food ( $T_2$  and  $T_3$ ) resulted in significantly higher values in the growth parameters of *L. vannamei* (final average weight and growth rate) in contrast to its inclusion as flour in commercial food ( $p < 0.05$ ).

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, *Arthrospira platensis*, growth, haemocytes.

## 1. INTRODUCCIÓN

La producción acuícola en el mundo se ha ido incrementando en los últimos años gracias a su aporte al suministro de alimento y a la generación de empleo, con un menor impacto en las poblaciones naturales, lo que se traduce en la mejor opción frente a la explotación de los recursos pesqueros (FAO, 2018). Sin embargo, como toda actividad productiva presenta problemas, siendo la principal las elevadas mortalidades en las primeras etapas de crecimiento de los organismos en cultivo, debido principalmente a las enfermedades que contraen en cautiverio, lo que genera grandes pérdidas económicas para el productor (Ahmed, Thompson y Glaser, 2019). Actualmente se vienen implementando nuevas estrategias de bioseguridad durante el cultivo e innovaciones tecnológicas; así como el uso de biotecnologías en la nutrición acuícola (FAO, 2018).

Precisamente, los investigadores han centrado su interés en la nutrición de organismos acuáticos con la finalidad de mejorar el alimento suministrado, considerando que además de cumplir con los requerimientos básicos del organismo; este debe de mejorar el estado de salud de los organismos (Wells et al., 2016). En consecuencia, actualmente se ha incrementado el uso de las microalgas como alimento funcional, esto gracias a los múltiples beneficios que presenta su ingesta, entre ellos su efecto antioxidante y estimulador del sistema inmune (Cañavate, 2013; 2011; Gómez-Ariza et al., 2010). Entre las microalgas más utilizadas tenemos las cianobacterias *Arthrospira platensis* y *Arthrospira máxima*, y algunas clorofíceas como *Chlorella* spp., *Dunaliella* spp. y *Haematococcus pluvialis* (Buono et al., 2014). Destacando *Arthrospira platensis* por su alto valor nutricional y alto porcentaje de proteína (55-70% de peso seco) (Habib et al., 2008; Hoseini, Khosravi-Darani y Mozafari, 2013; Sánchez et al., 2003).

En el Perú, el cultivo de *Litopenaeus vannamei* representa una de las principales industrias acuícolas, lo que se ve reflejado en los grandes porcentajes de cosecha y el alto valor de sus divisas en las exportaciones (Ministerio de la Producción, 2018). Sin embargo, a pesar de la importancia de la industria camaronera en la economía nacional, uno de los puntos críticos en el cultivo de *L. vannamei* es el alto porcentaje de mortalidad, que alcanza hasta un 60% por campaña (Ministerio de la Producción, 2010).

En ese sentido, la inclusión de *A. platensis* en la nutrición de los estadios iniciales de vida de *L. vannamei*, caracterizada por una alimentación filtradora, representa una alternativa para la industria camaronera, al proveer de un alimento natural que por sus elevados porcentajes de carotenoides beneficiaría el sistema inmunológico de los organismos haciéndolos más resistentes ante la presencia de enfermedades, y en consecuencia a su crecimiento.

Por consiguiente, el proyecto tiene como objetivo incluir la cianobacteria *A. platensis* en la dieta de post larvas y juveniles de *L. vannamei*, como aditivo en los piensos comerciales y como alimento vivo en la columna de agua, y evaluar el efecto de su inclusión en el crecimiento, sobrevivencia y recuento de hemocitos totales.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Acuicultura en el mundo y en América Latina y el Caribe

La acuicultura representa uno de los sectores productivos de alimentación de mayor perspectiva, al alcanzar en el año 2016 una producción mundial de 80 millones de toneladas (54.1 millones Tm de peces de aleta, 17.1 millones Tm de moluscos, 7.9 millones Tm de crustáceos y 938 500 Tm de otros animales acuáticos), lo que representó un 47 % del total de la producción pesquera mundial (171 millones Tm). Esto sin considerar la producción de plantas acuáticas que alcanzó un total de 30,1 millones Tm, donde predominan las algas marinas, de las cuales 89 000 Tm fueron registros de microalgas. De acuerdo, al registro de especies producidas a nivel mundial de la FAO, 369 especies corresponden a peces de aleta, 109 a moluscos, 64 a crustáceos, siete a anfibios y reptiles, nueve a invertebrados acuáticos y 40 a algas acuáticas. De las principales especies de crustáceos producidos mundialmente, *Penaeus vannamei* “Camarón patiblanco” alcanzó un 53 %, seguido de *Penaeus monodon* “Langostino jumbo”, cuya producción fue 9 % (FAO, 2018).

En cuanto a la producción acuícola en América Latina y el Caribe (ALC), registra un avance significativo para el año 2017, 2.9 millones Tm, lo que representa un 20.8 % del total de la producción pesquera (14.1 millones Tm) en la región; y un aporte del 3.7 % a los cultivos mundiales. De todos los países de la región, Chile y Brasil, concentran el 61 % de la producción acuícola regional; y el Perú se encuentra en sexto lugar, con un volumen de producción de 97 000 Tm, lo que representa un 3.5 % del total de la producción en ALC. Además, *Penaeus vannamei* “Camarón patiblanco” constituye la especie más producida en la región con un total de 742.2 miles Tm en el periodo 2015-2017 (27 % del total de especies) (Wurmann G., 2019).

En general, la producción acuícola en ALC presenta buenas perspectivas debido sobre todo a que, a comparación con otras regiones del mundo, esta región presenta sitios y condiciones naturales para el desarrollo de la acuicultura. Sin embargo, este crecimiento debe ir de la mano con la mejora de directivas públicas que inviertan en tecnología acuícola y mayor capacidad del capital humano involucrado en la industria acuícola (Wurmann G., 2019).

## **2.2 Acuicultura en el Perú**

Si bien es cierto, el desarrollo de la acuicultura en Perú es incipiente en comparación con los demás países de ALC, en la última década esta industria alcanzó un incremento del 13 % en su producción (Saldarriaga y Regalado, 2017). Y para el año 2017 produjo una cosecha total de 100 455 Tm con un incremento del 0.26 % con respecto al año 2016 (Ministerio de la Producción, 2018). Esta producción se orienta básicamente al cultivo de 3 especies: *Oncorhynchus mykiss* en acuicultura continental; *Litopenaeus vannamei* y *Argopecten purpuratus*, en acuicultura marina (Ruiz Ríos, 2012). En lo referente a la acuicultura marina, esta alcanzó en el año 2017 una producción total de 39 427 Tm, lo que representó el 39.2 % de la producción acuícola nacional, siendo los productos con mayor producción *Litopenaeus vannamei* con 27 492 Tm y *Argopecten purpuratus* con 11 927 Tm (Ministerio de la Producción, 2018).

## **2.3 Cultivo de *L. vannamei* en el Perú**

El cultivo de *Litopenaeus vannamei* se viene desarrollando desde inicios de 1970 principalmente en la zona próxima a los manglares, cerca al Ecuador (Yépez, 2012), y en la actualidad también se desarrolla en Piura (Baltazar, Palacios y Mina, 2014).

La cadena productiva se inicia con la producción de semillas o la importación de postlarvas 12 (PL 12) de laboratorios certificados en Ecuador. Estas postlarvas son aclimatadas aproximadamente 15 días en tanques raceways, para luego ser trasladadas a los estanques de precría durante 30 días, esto en caso de que la empresa cuente con estos estanques, sino fuese de esta manera, la etapa de aclimatación en los estanques raceways se extiende a 45 días en total. La siguiente etapa es el cultivo propiamente dicho donde se siembran los juveniles de *L. vannamei* en estanques de tierra de 1 a 20 hectáreas de superficie hasta su cosecha cuando alcanza su peso comercial (10-25 g) al cabo de 3 o 4 meses de cultivo. Cabe precisar, que en muchas empresas se prefiere realizar la siembra directa de las postlarvas a los estanques de tierra, para reducir la mortalidad del traslado. El siguiente eslabón es la industria del procesamiento del producto y finalmente su posterior venta en el mercado (Baltazar, Palacios y Mina, 2014; Mendoza, Berger y Berger, 2016)

En lo referente a la producción, este sector ha podido superar grandes adversidades (Mendoza, Berger y Berger, 2016); muestra de ello es lo sucedido en el año de 1999, cuando la industria de langostinos alcanzó una producción de 4312 Tm que cayó a 615 Tm en el año 2000 debido a la enfermedad de la mancha blanca; sin embargo, gracias a las innovaciones en el cultivo y las medidas sanitarias impuestas, la actividad se recuperó (Ruiz Ríos, 2012). En la actualidad, esta industria presenta un crecimiento notable y viene generando grandes producciones, por ejemplo, el año 2017 la cosecha de langostinos representó el 27,37 % de la producción acuícola nacional, con un total de 27 492 Tm, lo que significó un incremento del 34.5 % respecto al año anterior donde la cosecha fue de 20 441 Tm (Ministerio de la Producción, 2018).

Respecto a las condiciones óptimas de la calidad de agua en el cultivo de *L. vannamei* es fundamental el seguimiento de los parámetros químicos, físicos y biológicos en el sistema. Es necesario el seguimiento diario del oxígeno disuelto (mg/L), temperatura (°C), salinidad (ups) y pH, para que se mantengan dentro de los rangos aceptables para evitar problemas en la tasa crecimiento y la proliferación de enfermedades (Cuéllar-Angel et al., 2010; Fenucci, 1988). En el caso del oxígeno disuelto el rango normal es entre 4 y 12 mg/L, y debe ser siempre superior a 2 mg /L (Tabla 1). La temperatura del agua debe estar entre 20 y 32°C, con un óptimo entre 22 y 30°C (Tabla 1). En cuanto a la salinidad, *L. vannamei* presenta un amplio rango de tolerancia que está entre 0.5 y 45 ups (Tabla 1); esta condición ha permitido que se extienda su cultivo a condiciones de baja salinidad, sobre todo como una alternativa a la contaminación que se presenta en los ambientes costeros (Godínez, Chávez y Gómez, 2011). El valor de pH debe ser cercano al neutro o ligeramente alcalino (entre 7 y 9 unidades) (Tabla 1); sin embargo, valores de 5 unidades han demostrado no ser nocivos para los langostinos (Cuéllar-Angel et al., 2010).

**Tabla 1.** Rangos aceptados de parámetros fisicoquímicos en el cultivo de *L. vannamei*.

| <b>Parámetro</b> | <b>Rango</b> |
|------------------|--------------|
| Oxígeno          | 4 - 12 mg/L  |
| Temperatura      | 20 - 32 °C   |
| Salinidad        | 0.5 - 45 ups |
| pH               | 7 - 9        |

FUENTE: Cuéllar et al. (2010)

Los sistemas de cultivo de *L. vannamei* se pueden dividir, según la densidad de siembra, expresada en cantidad de organismos o biomasa (kg) por unidad de área (ha o m<sup>2</sup>) o volumen (m<sup>3</sup>), en extensivo, semi-intensivo, intensivo y super-intensivo. En Perú se maneja el cultivo semi-intensivo, el cual considera densidades entre

10 y 30 PL/Litro en viveros o raceways, y entre 20 y 30 organismos/m<sup>2</sup> en estanques de engorde (Yépez, 2012).

## 2.4 *Litopenaeus vannamei*

### 2.4.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo al «World Register of Marine Species» (2020) la posición taxonómica de esta especie es la siguiente:

- REINO: Animalia
- PHYLUM: Arthropoda
- SUBPHYLUM: Crustacea
- SUPERCLASE: Multicrustacea
- CLASE: Malacostraca
- SUBCLASE: Eumalacostraca
- SUPERORDEN: Eucarida
- ORDEN: Decapoda
- SUBORDEN: Dendrobranchiata
- FAMILIA: Penaeidae
- GÉNERO: *Litopenaeus*
- ESPECIE: *Litopenaeus vannamei* (Bone, 1931)
- NOMBRE COMÚN: "Camarón Patiblanco", "Langostino"

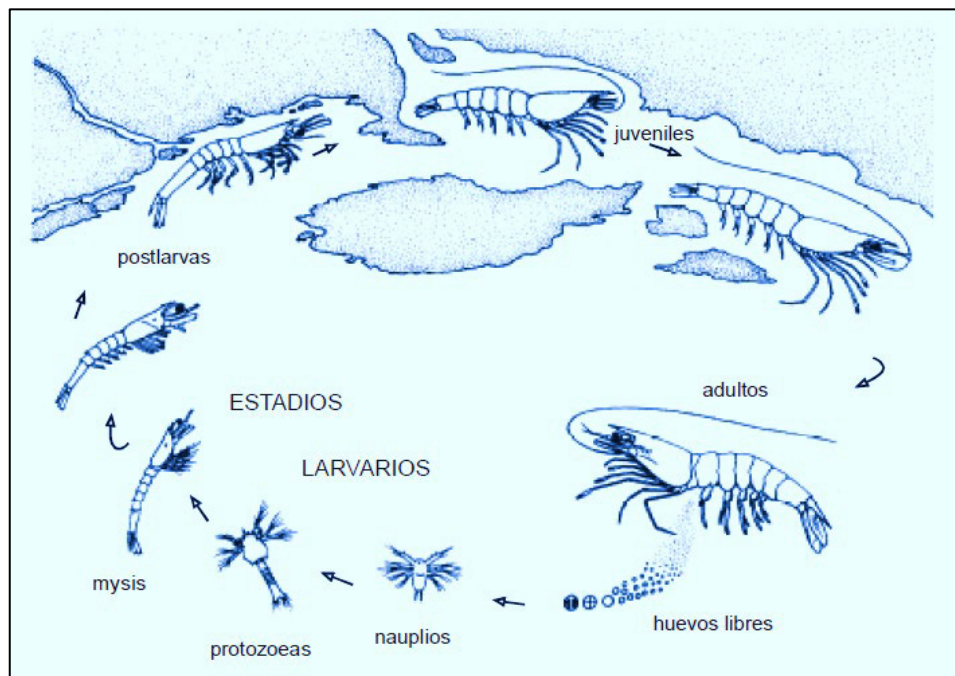


### 2.4.2 Hábitat y ciclo de vida de *L. vannamei*

*L. vannamei* es nativo de la costa Oriental del Océano Pacífico, desde Sonora en México hasta Tumbes en Perú, cuyas aguas tropicales normalmente superan los 25° C todo el año (FAO, 2016).

El ciclo de vida de esta especie es complejo, ya que transcurre entre las aguas someras y oceánicas del Pacífico. Los especímenes adultos viven y desovan en mar abierto, mientras que la postlarva (PL) migra a las aguas costeras (estuarios, lagunas costeras o manglares) para desarrollar la etapa juvenil hasta la etapa pre adulta. Cuando las hembras maduras (30-45 g) desovan (100 000 - 250 000 huevos), la incubación sucede aproximadamente 16 horas después de la fertilización (externa). Luego de la eclosión, la primera etapa

larval es denominada nauplio; esta es planctónica y se nutren de su reserva embrionaria. Las siguientes etapas larvarias son: protozoa, mysis y postlarva temprana; estas continúan siendo planctónicas por algún tiempo, se alimentan del plancton y son transportados a la costa por las corrientes del mar. Las postlarvas cambian su alimentación por detritos y organismos del bentos (Dugassa y Gaetan, 2018; FAO, 2016).

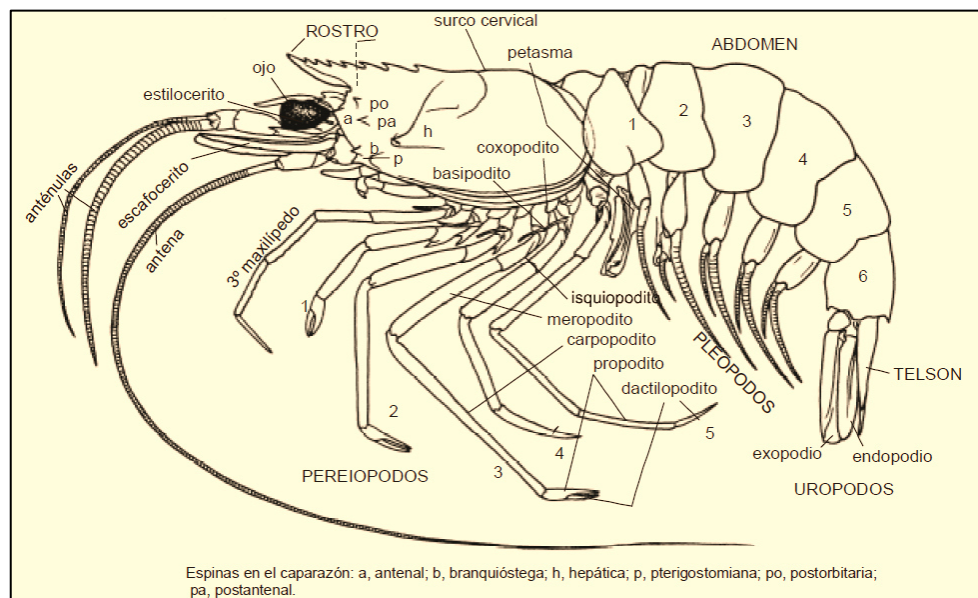


**Figura 1.** Ciclo de vida de *L. vannamei*. FUENTE: Hendrickx Michel E. (2002)

### 2.4.3 Morfología externa de *L. vannamei*

El cuerpo de un individuo desarrollado de *L. vannamei* se divide en un cefalón (5 segmentos), un tórax (8 segmentos), y un abdomen (6 segmentos). El cefalón y el tórax están unidos en un cefalotórax. Cada uno de los segmentos del cuerpo posee un par de apéndices. Presenta un par de ojos pedunculados y un par de anténulas (primer par de antenas) y un par de antenas (segundo par de antenas). Los apéndices bucales son: las mandíbulas, las maxilulas

(primeras maxilas) y las maxilas (segundas maxilas). Los 8 segmentos torácicos están divididos en 2 grupos: los maxilípedos (los 3 primeros pares) y los pereiópodos (los 5 pares restantes). Los maxilípedos, funcionalmente, se incorporan a los 3 pares de apéndices bucales. Los pereiópodos tienen una función principalmente locomotora o prensil, y están cada uno de ellos consta de un exopodito y un endopodito; este último conformado por 7 artejos (coxopodito, basipodito, isquiopodito, meropodito, carpopodito, propodito y el dactilopodito). Los apéndices de los primeros 5 segmentos abdominales son los pleópodos, que son generalmente biramificados, y los apéndices del sexto segmento abdominal son los urópodos, que se componen de un protopodio y de dos ramas (exopodio y endopodio); además este último segmento presenta una estructura de forma triangular: el telson (Hendrickx Michel E., 2002).



**Figura 2.** Morfología externa de *L. vannamei*. FUENTE: Hendrickx Michel E. (2002)

## 2.5 *Arthrospira platensis*

### 2.5.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo a «Algaebase» (2020) la posición taxonómica de *Arthrospira platensis* es la siguiente:

- IMPERIO: Procariota
- REINO: Eubacteria
- SUBREINO: Negibacteria
- PHYLUM: Cyanobacteria
- CLASE: Cyanophyceae
- SUBCLASE: Oscillatoriophycidae
- ORDEN: Oscillatoriales
- FAMILIA: Microcoleaceae
- GÉNERO: *Arthrospira*
- ESPECIE: *Arthrospira platensis* (Gomont, 1892)
- NOMBRE COMÚN: "Spirulina"

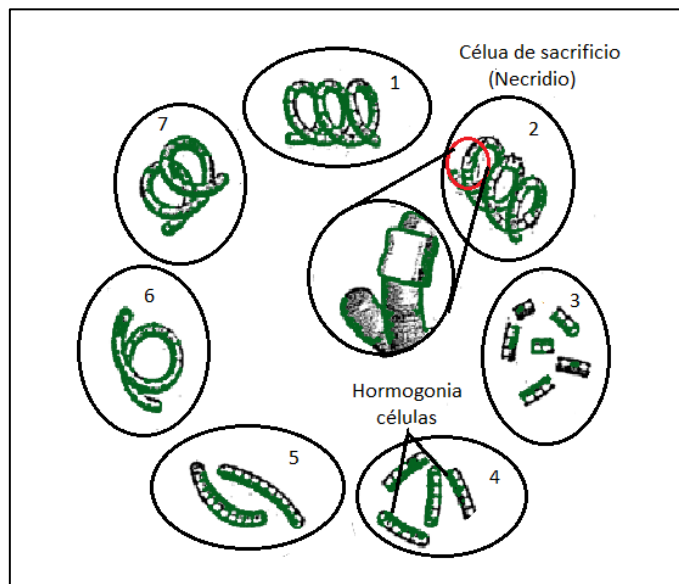


### 2.5.2 Hábitat y ciclo de vida

*Arthrospira platensis* se encuentra en una gran variedad de hábitats como el suelo, pantanos, agua dulce, agua salobre, agua de mar y aguas termales; sin embargo, hay condiciones que favorecen su crecimiento: agua salina alcalina (> 30 g/L), pH alto (8.5 - 11.0 unidades), con un alto nivel de radiación solar en altitud en los trópicos. Algunos de los lugares que presentan estas condiciones, y donde podemos encontrar naturalmente a *A. platensis* son los lagos altamente alcalinos de África y México (Habib et al., 2008).

Respecto al ciclo de vida celular de *A. platensis*, Janson (1998) y Sánchez et al. (2003) señalan que este inicia con un tricoma (filamento) maduro que se divide en varios filamentos pequeños (hormogonios), los cuales crecen con el tiempo y se convierten nuevamente en un tricoma espiral. Este ciclo se puede caracterizar en 4 etapas fundamentales: la fragmentación del tricoma, crecimiento de la célula de hormogonia, el proceso de maduración y la

elongación del tricoma. La multiplicación de la microalga ocurre solo por fragmentación, donde el tricoma maduro se divide en filamentos pequeños llamados hormogonios gracias a la destrucción de una célula intercalaria (célula de sacrificio o necridio). En los hormogonios, la división celular ocurre por fisión binaria en un plano en ángulo recto con el eje largo del tricoma. El crecimiento es longitudinal hasta la elongación.



**Figura 3.** Ciclo de vida de *A. platensis*. FUENTE: Sánchez et al. (2003)

### 2.5.3 Morfología

Esta cianobacteria presenta una característica morfológica propia de su género: la disposición de los tricomas cilíndricos multicelulares en una hélice abierta a lo largo de toda su longitud (forma helicoidal de los filamentos o tricomas), que se mantiene solo en un ambiente líquido o medio de cultivo. Los tricomas presentan un color verde azulado (debido a que su principal pigmento fotosintético es la ficocianina), están envueltos por una vaina delgada y están compuestos de células vegetativas. Estos tricomas son

solitarios, flotan libremente y muestran motilidad de deslizamiento (Habib et al., 2011; Janson, 1998). Los tricomas tienen una longitud de 50 a 500  $\mu\text{m}$  y un ancho de 3 a 4  $\mu\text{m}$ . Además, una característica importante es que las cianobacterias tienen una pared celular que contienen peptidoglucano, un heteropolímero sensible a la lisozima, que confiere forma y protección osmótica a la célula (Habib et al., 2011).

#### **2.5.4 Composición bioquímica**

*Arthrospira platensis* presenta un alto valor de proteína (55-70 % en peso seco) con todos los aminoácidos esenciales, lípidos (6-13% en peso seco), entre los que predominan los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) principalmente el ácido  $\gamma$ -linolénico (36 % del total de PUFA), además contiene vitaminas como la B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (nicotinamida), B6 (piridoxina), B9 (ácido fólico), B12 (cianocobalamina), vitamina C, vitamina D y vitamina E; pigmentos como la clorofila a, xantófila y el  $\beta$ -caroteno, además de las ficobiliproteínas c-ficocianina y aloficocianina; y es una fuente rica de potasio, entre otros minerales (Habib et al., 2011; Hoseini, Khosravi-Darani y Mozafari, 2013; Sánchez et al., 2003). Si bien es cierto, el crecimiento y la composición bioquímica de las microalgas pueden variar dependiendo de las condiciones del cultivo, el uso extendido *A. platensis* como alimento funcional se debe principalmente a su alto grado de digestibilidad por la ausencia de celulosa en la pared celular y la facilidad de su cultivo (Habib et al., 2011; Vitón y Macías, 2016).

## **2.6 Cultivo de *Arthrospira platensis***

El cultivo comercial de *A. platensis* tuvo su origen en el lago Texcoco en México, a inicios de la década de 1970. Desde entonces su cultivo se fue extendiendo en el mundo debido a su rápido crecimiento y gran aporte como insumo de proteína, en comparación con la producción agrícola.

La producción de "Spirulina" puede realizarse en sistemas cerrados (biorreactores de laboratorio, el cual no supone una producción industrial) y abiertos (elegidos para la producción industrial). Este último consiste en la utilización de estanques con un islote central donde opera un sistema de paletas para la agitación constante de la microalga (Sánchez et al., 2003).

Los medios de cultivo para el crecimiento óptimo de cianobacterias son el BG11, Zarrouk, entre otros. Además, factores ambientales como la luminosidad (fotoperiodo 12/12, 4k luxes), temperatura (35- 37 °C), tamaño de inoculación, velocidad de agitación, sólidos disueltos (10 - 60 g/L), pH (8.5 - 10.5), calidad del agua, presencia de macro y micronutrientes (C, N, P, K, S, Mg, Na, Cl, Ca y Fe, Zn, Cu, Ni, Co, W); influyen de gran manera en la productividad de esta microalga. En cuanto a la temperatura, si bien es cierto el rango óptimo en laboratorio es entre 35 y 37 °C, al aire libre puede ser cultivada hasta en 39 °C por unas horas, sin mostrar daños en la microalga, siendo su temperatura mínima de cultivo a 15 °C durante el día e inferior a esta durante la noche (Habib et al., 2008).

## **2.7 Parámetros inmunológicos utilizados como indicadores de salud en camarones peneidos**

El uso de parámetros inmunológicos es común para evaluar las condiciones de salud de los organismos. Entre los parámetros más utilizados en camarones están el recuento total de hemocitos (HTC), tiempo de coagulación de hemolinfa,

concentración de proteínas totales, etc. El HTC representa uno de los parámetros más utilizados en camarones peneidos para evaluar el efecto de diferentes condiciones ambientales. Los valores de HTC son muy variables dependiendo los diferentes estados del camarón, sin embargo, los autores concuerdan en que el aumento de HTC proporciona una mayor protección al individuo, debido a que estos son los principales efectores de las respuestas inmunitarias (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

## **2.8 Las microalgas como alimento funcional en acuicultura**

En la actualidad, los investigadores han centrado su interés en la nutrición de organismos acuáticos con la finalidad de mejorar el alimento suministrado, en ese sentido el concepto de alimento funcional ha cobrado relevancia. Olmos et al. (2015) definen los alimentos funcionales como los alimentos que promueven el crecimiento y la salud de los organismos cultivados, que sean sostenibles con el medio ambiente y económicamente viables. Además, los alimentos funcionales son referidos también como aditivos alimentarios (por ser añadidos a la mezcla base del alimento) y algunos de ellos como inmunoestimuladores (por modular la respuesta inmunitaria); y en general estos incluyen a los prebióticos, probióticos, simbióticos, extractos de plantas, nucleótidos, inmunoestimulantes como el  $\beta$ -glucano, además de hongos, macroalgas, microalgas y sus derivados. Además, su uso representa un alternativa frente a los antibióticos, que podrían transferir la inmunidad de especies bacterianas patógenas a los humanos (Van Doan et al., 2019; Miranda, López-Alonso y García-Vaquero, 2017; Encarnaçã, 2016; Ringø et al., 2012; Dawood, Koshio y Esteban, 2018).

Las microalgas son consideradas alimentos funcionales porque contiene compuestos bioactivos o fitoquímicos que benefician la salud de los organismos más allá de su nutrición básica (Wells et al., 2016). Algunos de los beneficios que

presenta su ingesta son el efecto antioxidante y estimulador del sistema inmune (Cañavate, 2011; 2013; Gómez-Ariza et al., 2010).

Es así que en los últimos años la producción de microalgas ha presentado un gran crecimiento en comparación con otras fuentes naturales, debido a que pueden desarrollarse en sistemas eficientes y controlados lo que hace posible cultivarlas en diferentes partes del mundo, incluso en regiones que presentan condiciones climáticas adversas donde no prosperan otros cultivos, además presentan un metabolismo flexible lo que hace posible la producción de moléculas específicas (Buono et al., 2014; Christaki, Florou-Paneri y Bonos, 2011).

Las microalgas pueden ser añadidas a la dieta de diferentes maneras: como alimento vivo y como insumo en la producción de piensos; específicamente en el cultivo de peces y crustáceos, esta biomasa se utiliza como aditivo alimentario (Cañavate, 2011; Gómez-Ariza et al., 2010).

Entre las microalgas más utilizadas, debido a su valor nutritivo, destacan las cianobacterias *Arthrospira platensis* y *Arthrospira máxima*, y algunas clorofíceas como *Chlorella* spp., *Dunaliella* spp. y *Haematococcus pluvialis* (Buono et al., 2014). Siendo la cianobacteria más utilizada *Arthrospira platensis* como ingrediente complementario y como suplemento de proteínas y vitaminas para las dietas de organismos acuáticos (Andrade et al., 2018).

## **2.9 Uso de alimentos funcionales en camarones peneidos**

El uso de inmunoestimuladores en el cultivo del camarón conlleva a la reducción del riesgo de contraer enfermedades cuando se presenten situaciones de estrés propias del cultivo, como las manipulaciones por muestreos o sifones, cosechas parciales, transferencias; o por variaciones ambientales por recambio de agua, inclusión de químicos al agua, etc. (Berger, 2000).

La mayoría de los reportes científicos sobre los beneficios del uso de alimentos funcionales en el cultivo de camarones peneidos, mencionan principalmente el uso de componentes biológicos que hacen el papel de moléculas de alarma que activan el sistema inmune (inmunostimuladores), tales como fragmentos de péptidos muramil, lipopolisacáridos (LPS), lipopéptidos, aciloligopéptidos, extraídos de las paredes celulares de bacterias, y  $\beta$ -glucanos, extraído de la pared celular de levaduras y hongos (Moullac et al., 1998; Rodriguez, 2017); los cuales administrados de diferentes formas muestran un incremento de los parámetros inmunitarios (Campa-Córdova et al., 2010; Setyawan et al., 2018; Peña-Navarro, Vargas-Cordero y Varela-Mejías, 2013; Luna Gonzalez et al., 2013; Rivera L.M., Trujillo L.E., Pais-Chanfrau J.M., Núñez J., Pineda J., Romero H., Tinoco O., Cabrera C., 2018).

Además, un menor número de estudios en camarones peneidos describen los beneficios del uso de las microalgas como alimentos funcionales en los organismos cultivados cuando se consumen directamente o través de sus derivados (compuestos activos). Es así que López-Elías et al. (2016) evaluaron los parámetros inmunológicos y sobrevivencia en organismos de *Litopenaeus vannamei* que fueron alimentados con dietas con 1 % (T1) y 2 % (T2) de *Dunaliella* sp. (cultivada en condiciones de estrés para contener una mayor concentración de carotenos), otro grupo de camarones fueron infectados con el virus del síndrome de mancha blanca (WSSV) y no fueron alimentados con *Dunaliella* sp. (T3) y un blanco (camarones sin alimentación con *Dunaliella* sp. y no infectados). Los resultados muestran un incremento de la actividad de la lisozima, aglutinina, fenoloxidasa y profenoloxidasa, así como la resistencia a infecciones cuando *L. vannamei* fue alimentado con *Dunaliella* sp.

Por su parte, Ge et al. (2016) evidencian que el uso de *Platymonas helgolandica*, *Chlorella vulgaris* y *Chaetoceros mulleri* en un sistema de cocultivo con *L. vannamei* sin intercambio de agua tiene efectos positivos en la calidad del agua (incremento del OD, mantenimiento del pH, disminución del TAN y menores valores en el recuento de *Vibrio* en el agua del tanque y en el estómago e intestino del camarón) y en la productividad del cultivo (mayor peso promedio final, rendimiento y supervivencia), en comparación con el control, el cual no presentaba microalgas.

Una atención importante en la temática de estos estudios en camarones peneidos lo representa *Arthrospira (Spirulina) platensis*, gracias a su alto valor en proteína. Al respecto, Tayag et al. (2010) comprobaron que la administración del extracto de agua caliente de *Spirulina platensis* mediante inyección e inmersión en *Litopenaeus vannamei* mejoró su respuesta inmunitaria (recuento de hemocitos totales, la actividad de la fenoloxidasa, generación de aniones superóxido, actividad de la superóxido dismutasa, actividad de la glutatión peroxidasa y la actividad de la lisozima) y aumentó la actividad fagocítica, la eficiencia de eliminación y su resistencia cuando fue expuesto a *Vibrio alginolyticus*.

Además, Silva-Neto et al. (2012) evaluaron la preferencia alimenticia y la tasa de crecimiento de *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas suplementada con harina de *Spirulina*, presentado como resultados que la harina de *Spirulina* agregada al 0.5% en una dieta completa para juveniles de *L. vannamei*, con un 14% de harina de soya, fue significativamente más preferida que la dieta control (dieta complementada con 0,5% de un atrayente comercial), además no hubo diferencias significativas en la tasa de crecimiento.

### **3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1 Hipótesis**

##### **3.1.1 Hipótesis de investigación**

La adición de *Arthrospira platensis* como alimento funcional en la dieta de *Litopenaeus vannamei* mejora el crecimiento, sobrevivencia y el recuento total de hemocitos.

##### **3.1.2 Hipótesis nula**

La adición de *Arthrospira platensis* como alimento funcional en la dieta de *Litopenaeus vannamei* no mejora el crecimiento, sobrevivencia y el recuento total de hemocitos.

#### **3.2 Objetivos**

##### **3.2.1 Objetivo general**

Evaluar la adición de *Arthrospira platensis* como alimento funcional en la dieta de *Litopenaeus vannamei* y su efecto en el crecimiento, sobrevivencia y el recuento total de hemocitos.

##### **3.2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la adición de *Arthrospira platensis* como alimento vivo y aditivo en los piensos de *Litopenaeus vannamei*.
- Determinar el peso promedio final, la tasa de crecimiento y sobrevivencia de *Litopenaeus vannamei*.
- Evaluar el recuento total de hemocitos de *Litopenaeus vannamei*.

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Lugar y periodo de ejecución

El ensayo se realizó en el Laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. La prueba inició el 2 de noviembre del 2019 y culminó el 14 de diciembre del 2019, lo que comprendió una duración total de 43 días (6 semanas).



**Figura 4.** Laboratorio de Acuicultura "La Huaca"

### 4.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental en bloques al azar que contó con tres tratamientos y un control, con tres repeticiones cada uno. La unidad experimental consistió de un acuario con agua de mar, alimento comercial con o sin *A. platensis*, *A. platensis* filtrada y postlarvas de *L. vannamei*.

El tratamiento experimental N°1 ( $T_1$ ) consistió en la harina de *A. platensis* añadida en una proporción de 5g/Kg de alimento comercial. El tratamiento experimental N°2 ( $T_2$ ) consistió en la adición de *A. platensis* como alimento vivo y el alimento comercial. El tratamiento experimental N°3 ( $T_3$ ) consistió en la harina de *A. platensis* añadida en una proporción de 5g/Kg de alimento comercial

y la adición de *A. platensis* como alimento vivo. El control (T<sub>C</sub>) consistió en el alimento comercial que usualmente utiliza la langostinera para la alimentación de las postlarvas de *L. vannamei* (Tabla 2).

**Tabla 2.** Diseño experimental en bloques al azar con tres tratamientos y un control, cada uno con tres repeticiones

| Réplicas       | Tratamientos     |                  |                  |                  |
|----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|                | T <sub>C</sub>   | T <sub>1</sub>   | T <sub>2</sub>   | T <sub>3</sub>   |
| R <sub>1</sub> | T <sub>C.1</sub> | T <sub>1.1</sub> | T <sub>2.1</sub> | T <sub>3.1</sub> |
| R <sub>2</sub> | T <sub>C.2</sub> | T <sub>1.2</sub> | T <sub>2.2</sub> | T <sub>3.2</sub> |
| R <sub>3</sub> | T <sub>C.3</sub> | T <sub>1.3</sub> | T <sub>2.3</sub> | T <sub>3.3</sub> |

El sistema experimental consistió de un total de 12 acuarios de vidrio rectangulares de 60 L de capacidad total (59 cm de largo x 29 cm de ancho x 39 cm de alto). Todas las unidades experimentales contaron con un sistema de aireación constante que consistió en una manguera microporosa conectada a un blower de 2 HP a través de una red de tuberías que las abastecía de aireación a los acuarios. La temperatura en el acuario se mantuvo constante a 30° C, mediante la utilización de termostatos de 300 W.

En cada unidad experimental se sembraron aleatoriamente 241 postlarvas de 20 días (PL20) de *L. vannamei* (0.006 ± 0.003 g) en un volumen efectivo de 15 L de agua marina filtrada y esterilizada (16 PL/L), hasta el día 37 de cultivo (cuarta semana) cuando se incrementó el volumen de agua a 30 L (8 PL/L).

El agua de mar requerida para la limpieza diaria de los acuarios y para el recambio de agua fue traída del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) y almacenada en bidones con aireación constante.



**Figura 5.** Sistema experimental (izquierda: T<sub>c</sub> y T<sub>1</sub>; derecha: T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>)

### 4.3 Cultivo de *A. platensis*

El cultivo de *A. platensis* se realizó en el Laboratorio de Acuicultura de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La cepa utilizada fue traída del Instituto del Mar del Perú, donde fue cultivada con medio Guillard f/2.

El cultivo inicial se realizó en matraces de 500 mL donde se utilizó 250 mL de cepa de *A. platensis* y 250 mL de medio de cultivo Bg11. El desdoble del cultivo se hizo cada 7 días, siendo trasvasado a matraces de 1 L (cultivo intermedio), bidones de 4 L (cultivo intermedio), y posteriormente a bidones de 6 L (cultivo final), completando el volumen total con agua de mar artificial (preparada con agua destilada y sal marina comercial), a una salinidad de 30 g/L. Para estas tres últimas fases se utilizó medio de cultivo Bayfolan en una cantidad de 0.3 mL, 0.4 mL y 0.5 mL para los volúmenes de 1, 4 y 6 L, respectivamente. Este sistema de cultivo se mantuvo bajo condiciones de laboratorio, con aireación constante, a una temperatura ambiental de 25 °C, fotoperiodo de 24:0 h e intensidad lumínica de 4500 lux.



**Figura 6.** Cultivo de *A. platensis* (izquierda: cultivo inicial en matraz de 500 mL; derecha: cultivo final en bidón de 6L)

#### **4.4 Aclimatación de postlarvas de *L. vannamei***

Las postlarvas de 12 días (PL12) fueron trasladadas desde la Langostinera Tumbes SAC hasta Lima, vía aérea. Antes de su traslado, el agua donde se encontraban las postlarvas fue inyectada con oxígeno para asegurar su sobrevivencia durante el viaje. A su arribo al aeropuerto fueron transportadas inmediatamente al Laboratorio de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM.

La aclimatación se realizó en un acuario de vidrio rectangular de 500 L (80 cm de largo x 120 cm de ancho x 60 cm de alto), con un volumen efectivo de 200 L de agua marina traída del litoral de Chancay en Lima. Previamente a llegada de las postlarvas, el agua de mar fue dejada para su maduración durante 7 días en un acuario con aireación constante y a temperatura de 30°C. Además, se agregó al agua de mar un mix del cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* (1L) y la microalga *Chlorella peruviana* (1L) para mejorar la productividad del agua.

Las postlarvas llegaron en una bolsa doble de plástico sellada herméticamente contenida en una caja de tecnopor. Para la aclimatación, se colocó la bolsa abierta en el acuario y se realizaron recambios de agua de ambos lados hasta que los valores de oxígeno disuelto y temperatura fueran iguales. En ese momento se facilitó la salida de los organismos hacia el acuario.

Durante la aclimatación los organismos fueron alimentados 6 veces al día con el alimento comercial *Nicovita Origin Camarón 0.3* (300 µm de calibre) de la marca *Nicovita*. La aclimatación tuvo una duración de 7 días, luego de este tiempo las postlarvas fueron trasladadas a los acuarios de experimentación de manera aleatoria. Previamente se realizó la primera biometría registrando 2900 postlarvas de *L. vannamei* con un peso promedio inicial de  $0.006 \pm 0.003$  g.



**Figura 7.** Aclimatación de postlarvas de *L. vannamei*

#### **4.5 Alimentación de *L. vannamei***

El alimento balanceado que se utilizó fue de la marca comercial *Nicovita* para camarones con 45 % de proteína, que fue proporcionado por la Langostinera Tumbes SAC (Tabla 3).

El alimento balanceado se adicionó a una frecuencia de 6 dosis durante los primeros 30 días de cultivo, luego la dosis fue reducida a un número de 5 para los días restantes. La cantidad de alimento proporcionado estuvo en función a la biomasa, con una tasa de alimentación inicial del 25 % de la biomasa, la cual fue disminuyendo 1 % por día. El alimento para los primeros 7 días fue *Nicovita Origen Camarón 0.5* (500 µm de calibre), y *Nicovita Origen Camarón 0.8* (800 µm de calibre) para los demás días.

Este alimento se agregó al control y al tratamiento T<sub>2</sub> sin adicionar la harina de microalga. Solo en los tratamientos T<sub>1</sub> y T<sub>3</sub> se le adicionó harina de microalgas.

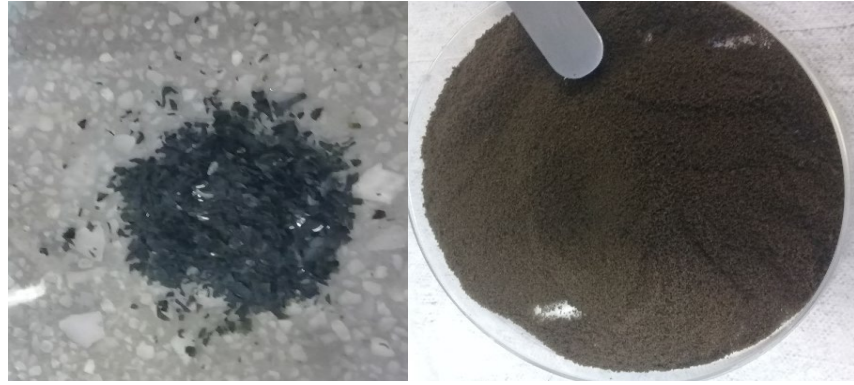
**Tabla 3.** Contenido nutricional del alimento balanceado de *Nicovita® Origin Camarón*

| <b>Nutriente</b> | <b>Contenido (%)</b> |
|------------------|----------------------|
| Proteína         | Mínimo 45            |
| Grasa            | Mínimo 10            |
| Humedad          | Máximo 12            |
| Ceniza           | Máximo 15            |
| Fibra            | Máximo 2             |

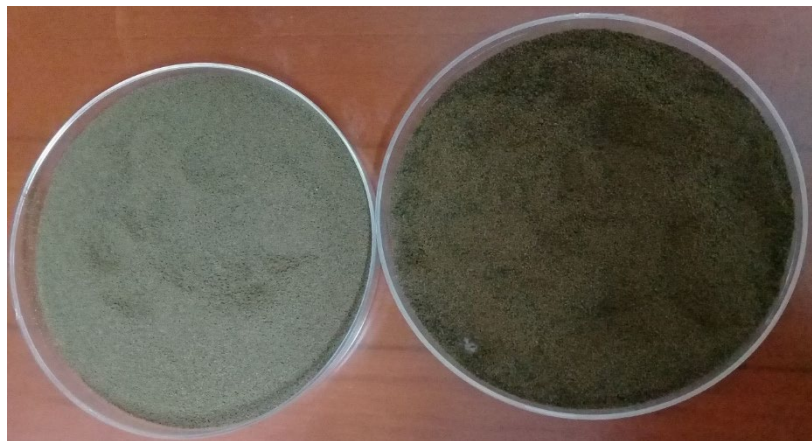
#### **4.6 Adición de *A. platensis* al alimento comercial (T<sub>1</sub> y T<sub>3</sub>)**

Para la obtención de la harina de *A. platensis* se filtró el cultivo líquido en fase de saturación con una malla de 75 µm, de esta manera se logró separar el agua y la pasta húmeda de la microalga. La pasta húmeda resultante se colocó en una estufa a 30°C durante 24 horas obteniéndose la pasta seca, la cual fue macerada para conseguir la harina.

La adición de la harina de *A. platensis* en una proporción de 5g/Kg de alimento comercial, se realizó diluyendo la harina de la microalga con agua destilada en un Becker y se homogenizó con ayuda de una bagueta. La harina disuelta se adicionó al alimento comercial y se homogenizó con una espátula. La fuente con el alimento se cubrió con papel aluminio y se colocó en una estufa a 30 °C durante 24 horas.



**Figura 8.** Adición de la harina de *A. platensis* en el alimento (izquierda: pasta seca de *A. platensis*; derecha: alimento comercial adicionado con *A. platensis*)



**Figura 9.** Izquierda: Alimento comercial; derecha: alimento adicionado con *A. platensis*

#### **4.7 Adición de *A. platensis* como alimento vivo a *L. vannamei* (T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>)**

El volumen utilizado se determinó en base a la tasa de filtración de *L. vannamei* alimentado con *A. platensis*, de acuerdo a la metodología de Brito, Brito y Pereira, 2010. Para ello se diseñó un sistema experimental en bloques al azar que contó con 3 tratamientos de 3 repeticiones y un control cada uno, el que fue acondicionado en un baño maría. Cada unidad experimental estuvo conformada por un beaker de 500 mL (agua de mar filtrada + cultivo líquido de *A. platensis*) que se mantuvo con aireación constante. El primer tratamiento (T<sub>1</sub>) consistió en 495 mL de agua de agua de mar filtrada y 5 mL de *A. platensis*; el segundo tratamiento (T<sub>2</sub>) consistió en 490 mL de agua de mar filtrada y 10 ml de *A.*

*platensis*; y el tercer tratamiento (T<sub>3</sub>) consistió de 485 mL de agua de mar filtrada y 15 mL de *A. platensis*. La prueba se realizó para dos tamaños diferentes (longitud total) de postlarvas de *L. vannamei*. En el primer grupo de tamaño (1.2 ± 0.0697 cm) el número de organismos por beaker fue de 6 y en el segundo grupo de tamaño (2.4 ± 0.1003 cm), de 4. En los beakers control no se colocaron postlarvas. Con una cámara Sedgewick Rafter se realizó el conteo de tricomas/mL contenidos en cada beaker, al inicio de la prueba (concentración inicial) y al transcurrir dos horas (concentración final).

El cálculo de la tasa de filtración se realizó mediante las siguientes operaciones (Peters y Downing, 1984):

$$TF \text{ (mL/individuo/hora)} = \frac{V(k - f)}{N}$$

donde *TF*: tasa de filtración, *V*: volumen de prueba, y *N*: número de animales.

$$k \text{ (coeficiente de crecimiento)} = \frac{\ln Cb_t - \ln Cb_o}{T}$$

donde *Ln*: logaritmo neperiano, *Cb<sub>t</sub>*: concentración celular en el control al tiempo *t*, *Cb<sub>o</sub>*: concentración celular inicial en el control, y *T*: período experimental.

$$f \text{ (coeficiente de alimentación)} = \frac{\ln C_t - \ln C_o}{T}$$

Una vez hallados los valores de tasa de filtración, se hizo una extrapolación de este valor considerando una concentración promedio del cultivo final de *A. platensis* de 45000 tricomas/mL.

Considerando que en esta etapa *L. vannamei* presenta una tasa de filtración acelerada, la obtención del valor final del volumen utilizado se realizó mediante regresión lineal simple (Tabla 4). Debido a que el volumen final de *A. platensis* para ser filtrado y agregado como alimento vivo se calculó en función de la longitud total de *L. vannamei*, este varió semanalmente de acuerdo con la biometría realizada a los organismos de los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> (Tabla 5).

**Tabla 4.** Volumen utilizado de *A. platensis* para ser filtrado y agregado a los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> por unidad experimental.

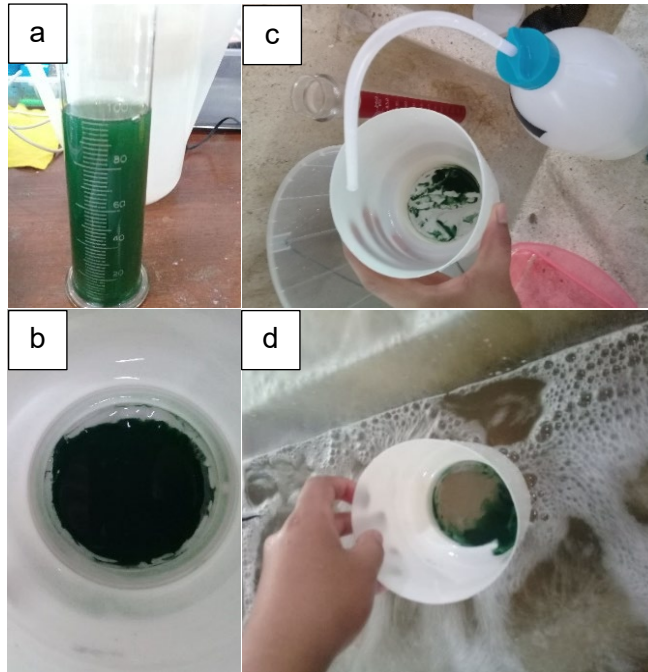
| Semana | Volumen de <i>A. platensis</i> (mL) |
|--------|-------------------------------------|
| 1      | 6                                   |
| 2      | 6                                   |
| 3      | 49                                  |
| 4      | 99                                  |
| 5      | 128                                 |
| 6      | 168                                 |

Cabe recalcar que se consideró agregar el volumen inicial de 6 mL para la primera y la segunda semana del cultivo para aclimatar a los postlarvas a su alimentación con *A. platensis*.

**Tabla 5.** Longitud promedio  $\pm$  desviación estándar de organismos de *L. vannamei* de los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>

| Semana | Longitud promedio (g) |
|--------|-----------------------|
| 1      | 0.84 $\pm$ 0.21       |
| 3      | 1.89 $\pm$ 0.17       |
| 4      | 2.69 $\pm$ 0.29       |
| 5      | 3.15 $\pm$ 0.36       |
| 6      | 3.79 $\pm$ 0.37       |

Para adicionar *A. platensis* como alimento vivo a las unidades experimentales de los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> se utilizó la metodología descrita por Macias-Sancho et al. (2017), la cual consistió en filtrar un volumen determinado del cultivo en fase de saturación en una malla de 10  $\mu$ m. La biomasa filtrada fue lavada con agua destilada y agregada a las unidades experimentales.



**Figura 10.** Biomasa filtrada de *A. platensis* (a: volumen de la microalga a agregar, b: biomasa obtenida, c: lavado de la biomasa, d: adición a los acuarios)

#### 4.8 Limpieza y mantenimiento del cultivo

Los acuarios fueron sifoneados a primera hora del día con la finalidad de eliminar los restos de heces y comida. Durante los 30 primeros días de cultivo el sifoneo fue diario, los días restantes el sifoneo se realizó interdiario. Inmediatamente después del sifoneo se agregó el agua necesaria para mantener el volumen de agua inicial, teniendo en cuenta también los niveles de evaporación del agua. Diariamente se realizó la limpieza de las paredes de los acuarios, y se eliminaron las mudas y los organismos muertos.

#### 4.9 Control de parámetros fisicoquímicos del agua

Los parámetros fisicoquímicos se midieron 3 veces al día (8:30; 13:30 y 18:30 horas). Con el multiparámetro *Ysi Professional Plus* se registraron los valores de temperatura (°C), concentración de oxígeno (mg/L) y pH (unidades); para medir la salinidad (ups) se utilizó el refractómetro portátil *Vee Gee STX-3*.

#### 4.10 Tasa de crecimiento de *L. vannamei*

Para la evaluación del crecimiento en peso (g) de los organismos se consideró una muestra del 25% de la población total (60 organismos por unidad experimental). La biometría se realizó semanalmente, para lo cual los organismos fueron capturados y agrupados en 6 beakers con 10 postlarvas cada uno; inmediatamente se filtró el contenido de los beakers y se pesaron las postlarvas utilizando una balanza analítica de 0.001 g de sensibilidad.

Para determinar la tasa de crecimiento de los organismos se utilizó el modelo planteado por Hernandez-llamas y Ratkowsky (2004), en el cual el peso promedio de un individuo ( $w$ ) en el tiempo ( $t$ ) está dado por:

$$w_t = w_i + (w_f - w_i) \left[ \frac{(1 - r^t)}{(1 - r^c)} \right]^3$$

Donde,  $w_i$  es el peso inicial,  $w_f$  es el peso final,  $r$  está relacionado a la tasa de crecimiento entre el inicio y el final del experimento y  $c$  es el tiempo del experimento.



**Figura 11.** Biometría de *L. vannamei*.

#### 4.11 Evaluación de la sobrevivencia de *L. vannamei*

Para la determinación de la sobrevivencia (%) se hizo un conteo total de los organismos por cada unidad experimental al final de la experimentación. Para ello se redujo el nivel del agua a 10 L y se extrajeron los organismos por grupos de 10 individuos. Al final del recuento los organismos fueron devueltos a los acuarios y se completó el agua hasta el nivel inicial (30 L).

La sobrevivencia fue calculada como:

$$S = 100 * N_t / N_i$$

Donde, S está expresado en porcentaje.

#### 4.12 Recuento total de hemocitos (THC)

Se consideró el recuento total de hemocitos (THC) como único parámetro inmunológico que permita conocer el estado de salud de los organismos. Para ello se extrajo individualmente la hemolinfa de 10 langostinos por cada unidad experimental considerando solo los organismos de mayor tamaño.

Previo a la toma de muestra se llevó a cabo el acondicionamiento de los organismos. En este procedimiento se colocaron los individuos seleccionados en un baño frío (5°C por debajo de la temperatura inicial) para reducir su metabolismo. Para ese fin se utilizó una caja de tecnopor, se llenó hasta la mitad con agua del mismo acuario y se colocaron placas congelantes dentro de bolsas ziploc. Cuando se registró la disminución de la temperatura, se colocaron los organismos durante 5 minutos (Pascual, Sánchez y Rosas, 2003); transcurrido este tiempo se tomó al individuo y fue secado con una franela.

Para la extracción de la hemolinfa se utilizó una jeringa hipodérmica desechable de 1 ml con 100 µL de solución anticoagulante fría (2-8 °C) (solución isotónica para camarón, SIC-EDTA), la cual se descartó justo antes de la extracción. La

hemolinfa se extrajo del seno ventrolateral del abdomen insertando la aguja suavemente a través de la membrana artrodial de la quinta pata. Seguidamente, la hemolinfa fue depositada en un trozo de parafilm, colocado sobre una placa congelante. Inmediatamente, con ayuda de una micropipeta, se tomó 10  $\mu\text{L}$  de hemolinfa y se colocó en un tubo Eppendorf que contenía 20  $\mu\text{L}$  de solución SIC-EDTA, considerando una proporción de 1:2 (Vargas-Albores, Guzmán y Ochoa, 1993). A esta mezcla, finalmente se agregó 90  $\mu\text{L}$  de formol al 5 %, considerando una proporción de 1:3 (Rubio-Gastélum et al., 2014).

Para el recuento total de hemocitos (THC) se introdujo la mezcla diluida en una cámara de Neubauer de 0,1 mm de profundidad y 0,0025 mm<sup>2</sup>, se dejó distribuir homogéneamente las células durante 1 minuto y posteriormente se realizó el conteo de hemocitos de 2 áreas de 1 mm<sup>2</sup>. El número total de hemocitos se determinó aplicando la siguiente fórmula:

$$THC \text{ (células/ml)} = PPC \times FD \times 10000$$

Donde, *PPC* es el promedio de las partículas contadas, *FD* es el factor de dilución.

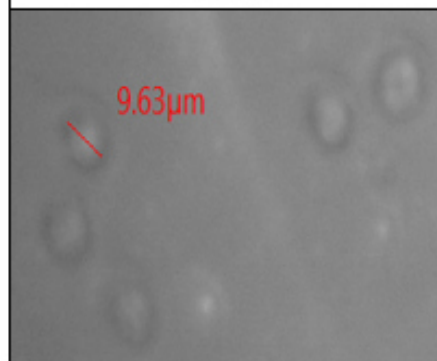
1. Acondicionamiento de los organismos



2. Extracción de hemolinfa



3. Recuento total de hemocitos en cámara Neubauer



**Figura 12.** Flujograma de la metodología utilizada para la obtención de la hemolinfa de *L. vannamei* y el recuento total de hemocitos (THC)

#### **4.13 Análisis estadísticos**

Se analizó si la media de las variables entre los tratamientos fue significativamente diferente. Para definir las diferencias entre los tratamientos, se utilizó diagramas de cajas y pruebas estadísticas. Debido a la cantidad de datos se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas. La prueba de Kruskal Wallis (KW) se utilizó para evidenciar si existió diferencia por lo menos en uno de los grupos; en el caso de existir diferencia, se aplicó la prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis (KWmc), para determinar cuáles de los grupos fueron diferentes entre sí. Se consideró como nivel de confianza un 95%, por lo que si el p-value es menor de 0.05 se evidencia que las diferencias son significativas tanto en la prueba de KW como para la prueba de KWmc. Los datos fueron procesados con el software estadístico R.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Parámetros fisicoquímicos del agua

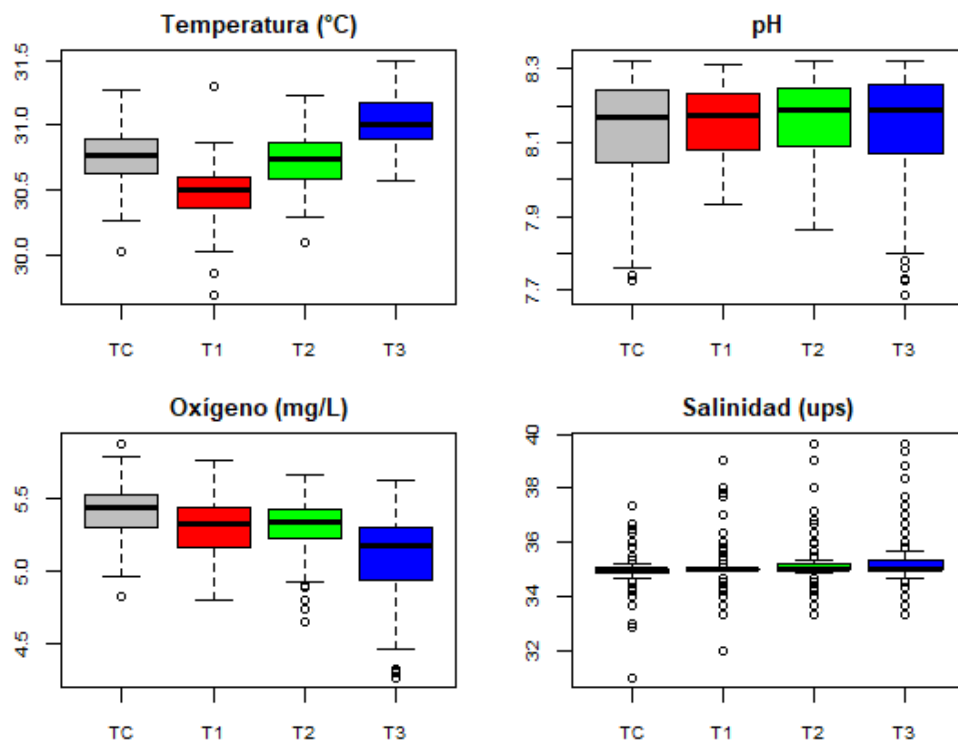
Durante el desarrollo de la prueba en todos los tratamientos la media de la temperatura fue de  $30.75 \pm 0.28$  °C, variando entre 29.7 a 31.5 °C, presentado su mínimo valor en el día 15 de la prueba en el T<sub>1</sub> a las 18:30 h, y su máximo valor en el día 6 en el T<sub>3</sub> a las 13:30 h.

Con respecto a la concentración de oxígeno (O<sub>2</sub>) y el pH, estos presentaron un comportamiento similar debido a que las variaciones de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> regularmente controlan el pH observado en el sistema. Es así, que la concentración de oxígeno disuelto en promedio fue de  $5.28 \pm 0.25$  mg/L, presentando un valor mínimo de 4.27 mg/L el día 36 de la prueba en el T<sub>3</sub> a las 13:30 h y un máximo valor de 5.88 mg/L el día 1 de la prueba en T<sub>C</sub> a las 18:30 h. Así mismo, el valor promedio del pH fue de  $8.15 \pm 0.13$  unidades, presentando un valor mínimo de 7.69 unidades el día 35 de la prueba en el T<sub>2</sub> a las 13:3 h y un máximo valor de 8.32 unidades el día 4 de la prueba en T<sub>1</sub> a las 08:30 h. En general, estos dos parámetros se mantuvieron constantes hasta el día 20 del experimento; sin embargo, entre el día 33 al 36 del experimento muestran un decaimiento, para luego recuperarse.

La salinidad en promedio fue de  $35.15 \pm 0.94$  ups, presentando un valor mínimo de 31 ups el día 21 de la prueba en el T<sub>C</sub> a las 8:30 h y un máximo valor de 39.67 el día 12 de la prueba en T<sub>2</sub> a las 13:30 h.

Gráficamente, los parámetros fisicoquímicos, no presentan diferencias marcadas; sin embargo, se pueden observar leves diferencias para los parámetros de temperatura y oxígeno; es así que las pruebas estadísticas evidencian que hubo diferencias significativas entre los tratamientos para el caso de la temperatura, a excepción de los tratamientos T<sub>C</sub> Y T<sub>2</sub> (p.value<0.05), de igual manera hubo diferencias entre los tratamientos para el oxígeno disuelto, con excepción de T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>.

El pH y la salinidad no presentaron diferencias entre los tratamientos ( $p.value > 0.05$ ) (Figura 13).



**Figura 13.** Diagrama de cajas de valores de temperatura, saturación de O<sub>2</sub>, pH y salinidad por tratamiento: T<sub>c</sub> (caja ploma), T<sub>1</sub> (caja roja), T<sub>2</sub> (caja verde), T<sub>3</sub> (caja azul).

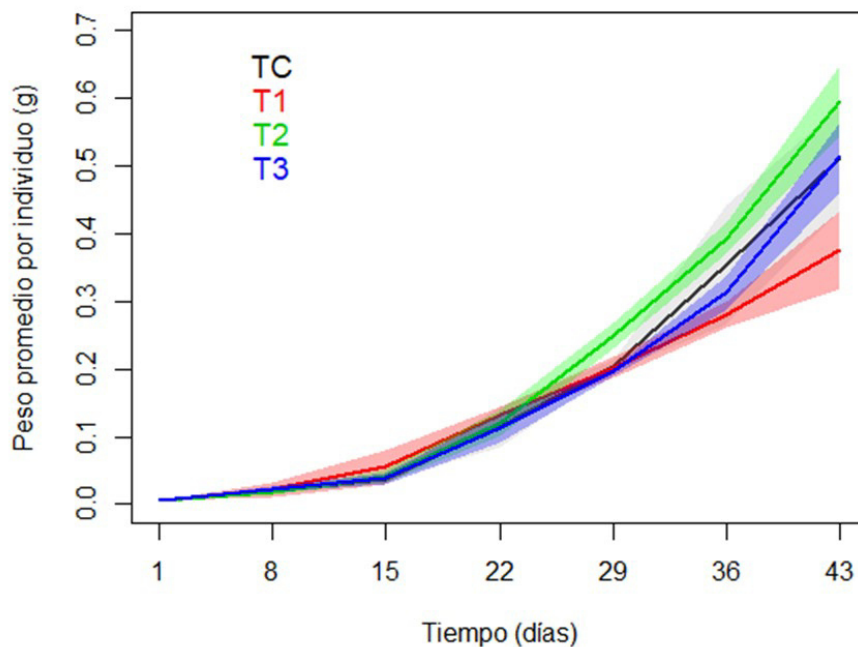
Finalmente, los valores medios para los parámetros fisicoquímicos del agua se muestran en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Media y desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos durante toda la prueba

| Parámetro               | Media ± desviación estándar |
|-------------------------|-----------------------------|
| Temperatura (°C)        | 30.75 ± 0.28                |
| Oxígeno disuelto (mg/L) | 5.28 ± 0.25                 |
| pH                      | 8.15 ± 0.13                 |
| Salinidad (ups)         | 35.15 ± 0.94                |

## 5.2 Crecimiento de *L. vannamei*

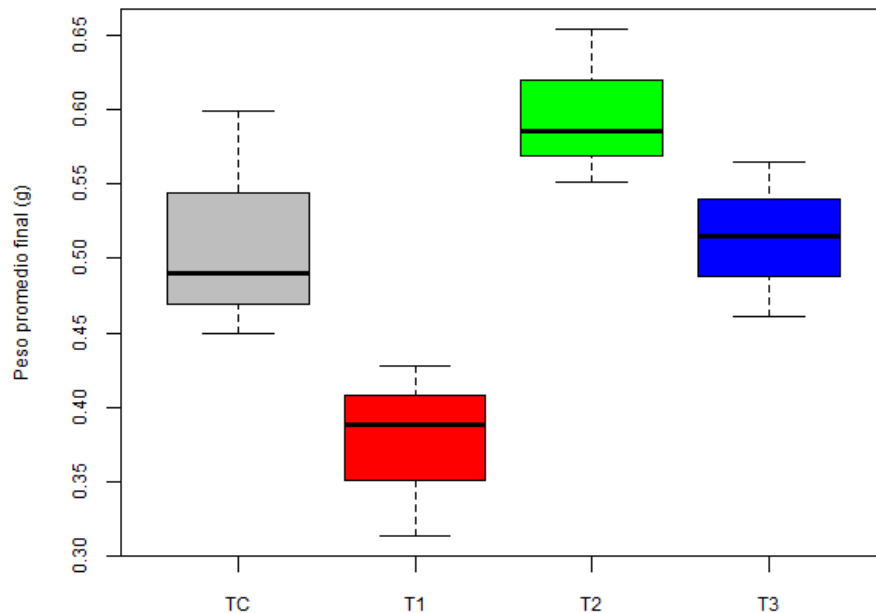
Los resultados de la evaluación del crecimiento en peso (g) de *L. vannamei* se presentan en la Figura 14, donde se puede observar que la variabilidad por tratamiento no es muy grande y que hasta el día 15 del experimento no existen diferencias marcadas entre los tratamientos, sin embargo, en el día 22 (tercera semana) se empieza a notar una diferencia en peso entre los tratamientos, a excepción de la prueba control y el tratamiento T<sub>2</sub> que siguen curvas muy similares. El tratamiento T<sub>2</sub> es el tratamiento en el cual el organismo se mantiene con mayor peso en el tiempo; mientras que el tratamiento T<sub>1</sub> es el que menos favorece al crecimiento.



**Figura 14.** Peso promedio por individuo de *L. vannamei* (g) por tratamiento (T<sub>c</sub>: negro, T<sub>1</sub>: rojo, T<sub>2</sub>: verde, T<sub>3</sub>: azul). La desviación estándar por cada tratamiento también es representada en las áreas sombreadas

Al finalizar la prueba se obtuvo el peso promedio final por cada tratamiento. Gráficamente se observan 3 grupos, el primero conformado por el T<sub>2</sub>, el cual obtuvo el mayor peso promedio final ( $0.60 \pm 0.05$  g), el segundo grupo conformado por T<sub>1</sub>, el cual presenta el menor valor ( $0.51 \pm 0.08$  g), y el tercer grupo conformado por T<sub>C</sub> y T<sub>3</sub> con un peso promedio final de  $0.51 \pm 0.08$  g y  $0.51 \pm 0.05$  g, respectivamente (Figura 15).

Las pruebas estadísticas evidencian que existe diferencia significativa únicamente entre T<sub>1</sub> y T<sub>2</sub>.

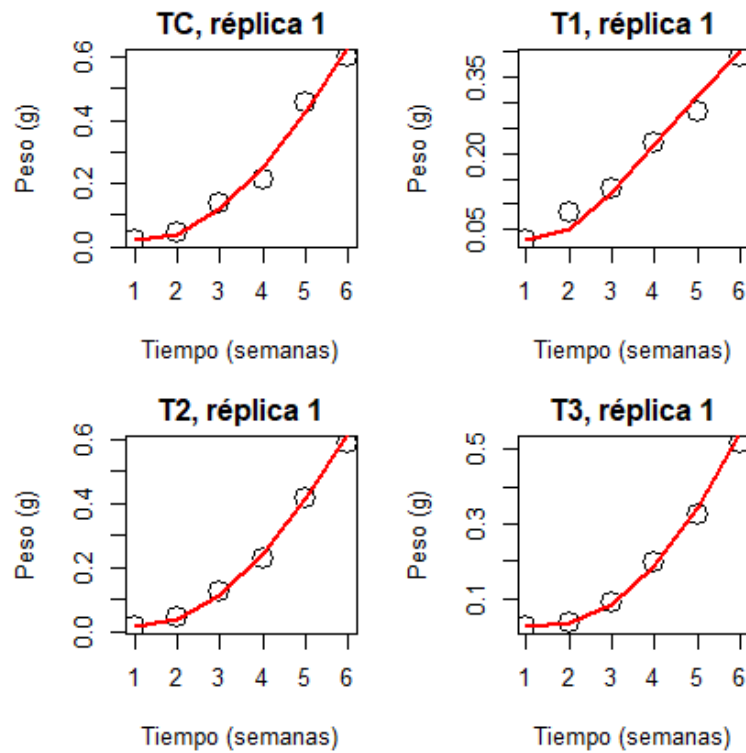


**Figura 15.** Diagrama de cajas del peso promedio final por tratamiento (T<sub>C</sub>: negro, T<sub>1</sub>: rojo, T<sub>2</sub>: verde, T<sub>3</sub>: azul)

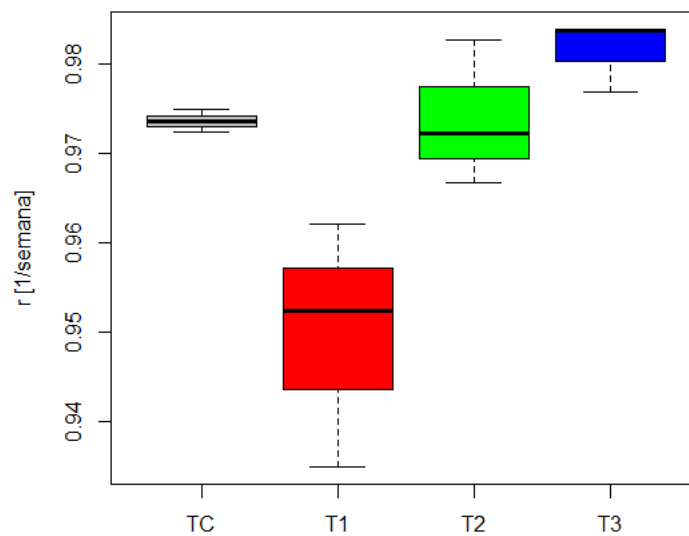
Además, los resultados de la evaluación del crecimiento mediante el modelo de Hernandez-Llamas y Ratkowsky (2004) muestran un buen ajuste en todas las réplicas (Figura 16).

Los resultados para  $r$  muestran 3 grupos definidos: uno conformado por T<sub>C</sub> y T<sub>2</sub>; y los otros 2, conformados por T<sub>1</sub> y T<sub>3</sub>. Asimismo, T<sub>3</sub> es el que presenta el mayor valor de  $r$  ( $0.982 \pm 0.004$  semana<sup>-1</sup>), seguido de T<sub>C</sub> y T<sub>2</sub> con un valor de  $0.974 \pm 0.001$  semana<sup>-1</sup> y  $0.974 \pm 0.008$  semana<sup>-1</sup>, respectivamente; mientras que el más menor valor lo representa T<sub>1</sub> con  $0.95 \pm 0.014$  semana<sup>-1</sup> (Figura 17).

Las pruebas estadísticas evidencian que existe diferencia significativa únicamente entre T<sub>1</sub> y T<sub>3</sub> ( $p.value < 0.05$ ).



**Figura 16.** Datos observados y modelados del crecimiento de *L. vannamei* bajo diferentes tratamientos de alimentación.

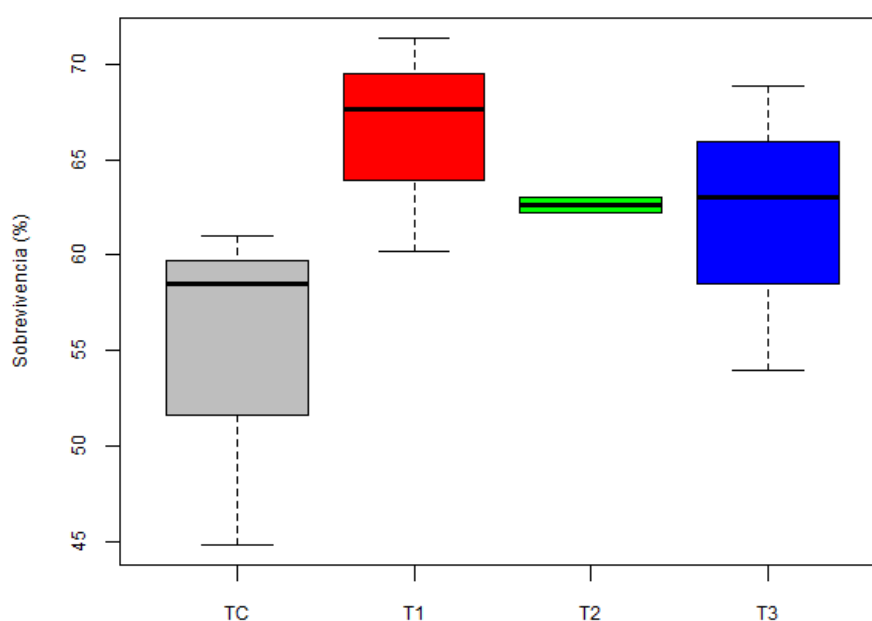


**Figura 17.** Diagrama de cajas de la tasa de crecimiento por tratamiento (Tc: negro, T1: rojo, T2: verde, T3: azul)

### 5.3 Supervivencia

Gráficamente, la supervivencia, presenta 2 grupos definidos: uno conformado por el T<sub>C</sub> y el otro grupo, por los demás tratamientos. El T<sub>C</sub> presenta la menor supervivencia con  $54.77 \pm 8.71$  %; el T<sub>1</sub>, la mayor supervivencia ( $66.39 \pm 5.70$  %), y el T<sub>2</sub> y el T<sub>3</sub> obtuvieron valores similares de  $62.66 \pm 0.59$  % y  $61.96 \pm 7.53$  %, respectivamente (Figura 18).

Estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos ( $p.value < 0.05$ ).

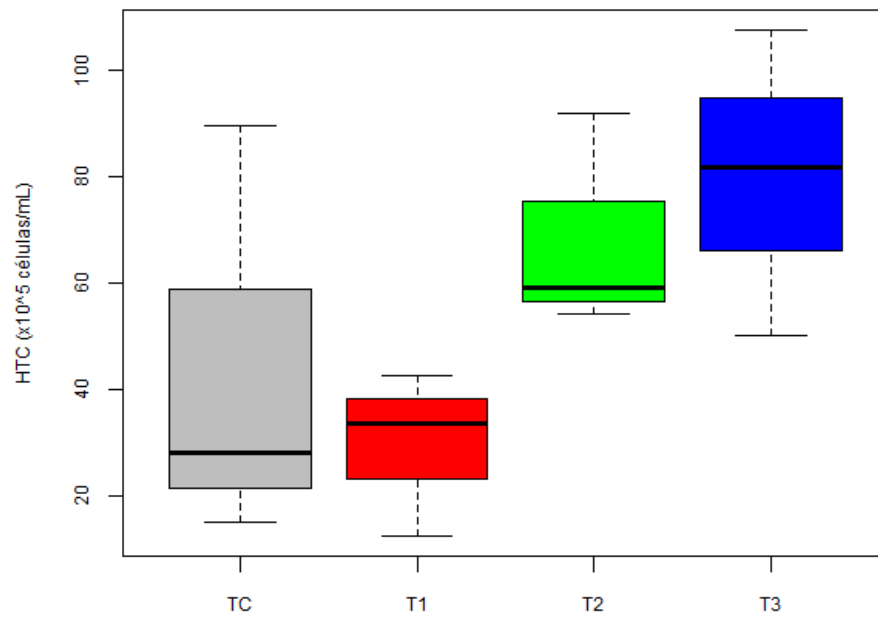


**Figura 18.** Diagrama de cajas de la tasa instantánea de mortalidad (izquierda) y la supervivencia (derecha) por tratamiento (T<sub>C</sub>: negro, T<sub>1</sub>: rojo, T<sub>2</sub>: verde, T<sub>3</sub>: azul)

### 5.4 Recuento total de hemocitos (HTC)

En el análisis del conteo total de hemocitos, los resultados muestran 2 grupos definidos: uno conformado por T<sub>C</sub> y T<sub>1</sub> y otro grupo integrado por T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>. El primer grupo presenta los menores valores con  $44.18 \pm 39.92$  y  $29.49 \pm 15.56$  para T<sub>C</sub> y T<sub>1</sub>, respectivamente; y en el segundo grupo se observan los valores mayores con  $68.31 \pm 20.43$  y  $79.82 \pm 28.76$  para T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>, respectivamente (Figura 19).

Estadísticamente no existen diferencias significativas entre los tratamientos (p.value<0.05).



**Figura 19.** Diagrama de cajas del HTC por tratamiento (T<sub>C</sub>: negro, T<sub>1</sub>: rojo, T<sub>2</sub>: verde, T<sub>3</sub>: azul)

**Tabla 7.** Valores finales de la media ± desviación estándar de diferentes parámetros evaluados en *L. vannamei* alimentado con diferentes tratamientos

| Tratamiento    | Peso final (g) | <i>r</i> (semana <sup>-1</sup> ) | <i>S</i> (%) | <i>HTC</i> (x10 <sup>5</sup> células/mL) |
|----------------|----------------|----------------------------------|--------------|--|
| T <sub>C</sub> | 0.51 ± 0.08    | 0.97 ± 0.001                     | 54.77 ± 8.71 | 44.18 ± 39.92                            |
| T <sub>1</sub> | 0.51 ± 0.08    | 0.95 ± 0.014                     | 66.39 ± 5.70 | 29.49 ± 15.56                            |
| T <sub>2</sub> | 0.60 ± 0.05    | 0.97 ± 0.008                     | 62.66 ± 0.59 | 68.31 ± 20.43                            |
| T <sub>3</sub> | 0.51 ± 0.05    | 0.98 ± 0.004                     | 61.96 ± 7.53 | 79.82 ± 28.76                            |

## 6. DISCUSIÓN

### Parámetros fisicoquímicos del agua y calidad del agua

Si bien es cierto los parámetros de temperatura y oxígeno tuvieron una variación significativa entre tratamientos durante el desarrollo del experimento, estos estuvieron siempre entre los rangos aceptados para el cultivo de *L. vannamei*, al igual que el pH y la salinidad, que no presentaron diferencias (Cuéllar-Angel et al., 2010).

Cabe resaltar que los acuarios estuvieron siempre con un termostato programado a una temperatura de 30 °C y cubiertos con una plancha de tecnopor, sin embargo, las variaciones de la temperatura ambiental y la disposición de los acuarios entre sí, repercutieron en los valores para cada tratamiento. Así mismo, las variaciones de oxígeno disuelto en el cultivo están sujetas al consumo de oxígeno de los organismos, que será mayor a medida que los organismos crezcan y podrán ser diferentes entre los tratamientos dependiendo de las variaciones de la biomasa por las mortalidades que se presenten durante el cultivo. Además, es importante mencionar que, si bien es cierto, todos los organismos utilizados provienen de un mismo lote, el crecimiento de las postlarvas varía, es así que en un mismo acuario se forman diferentes grupos de tamaño: grandes, medianos y pequeños (Departamento de Pesca, 1989); lo que conlleva también a un consumo de oxígeno diferente, incluso en los mismos tratamientos.

Durante el desarrollo del cultivo, con respecto a los parámetros de oxígeno disuelto y pH, estos tuvieron una tendencia a disminuir sus valores en el día 33 de la prueba, esto se debió a que el sistema llegó a su máxima capacidad de carga (Kubitza, 2016), lo que fue corregido con un aumento del volumen de agua (Meyer, 2004).

## Crecimiento

Los resultados de peso promedio final mostraron el mayor valor en el tratamiento experimental T<sub>2</sub>, por encima del tratamiento control (T<sub>C</sub>), siendo el menos favorecido T<sub>1</sub>. De manera similar, los resultados de la evaluación de la tasa de crecimiento (*r*) evidencian que el mayor valor lo obtuvo el tratamiento T<sub>3</sub>, por encima del tratamiento control (T<sub>C</sub>) y T<sub>1</sub> obtuvo el menor valor. Así mismo para ambos parámetros se observaron diferencias significativas únicamente entre los tratamientos experimentales T<sub>1</sub>-T<sub>2</sub> y T<sub>1</sub>-T<sub>3</sub>, para el peso promedio final y *r*, respectivamente. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Macias-Sancho (2015), quienes evaluaron el peso promedio final de *L. vannamei* cocultivado con *A. platensis* y obtuvieron los mayores valores en el tratamiento experimental donde fue incluida *A. platensis* (18,75% superior) sin presentar diferencias significativas respecto al tratamiento control. Además, en otro estudio realizado por Silva-Neto et al. (2012), quienes evaluaron el crecimiento de juveniles de *L. vannamei* alimentados con dietas suplementadas con harina de *Spirulina* y una reducción de la harina de pescado, demostraron que el peso corporal final de los camarones alimentados con los tratamientos experimentales no fue significativamente diferente de los observados para sus controles. Incluso, Jaime-Ceballos et al. (2005) obtuvieron una longitud total de larvas de *L. schmitti* alimentadas con dietas con *Spirulina* como aditivo, significativamente menores que la dieta control (larvas alimentadas con *Artemia*).

Parámetros zootécnicos como el peso promedio final por individuo considerado en el presente estudio, son importantes de considerar sobre todo por su utilidad en el cultivo de camarones, donde son utilizados como el principal indicador del crecimiento que permite la toma de decisiones en el manejo, por ejemplo, para transferencias o cosecha. Sin embargo, considerar modelos de crecimiento, como el de Hernandez-Llamas y Ratkowsky (2004), que se ajusten bien al tipo de especie en evaluación; permite realizar

predicciones de crecimiento más acertadas (Aragón-Noriega, 2016), y a su vez obtener parámetros de crecimiento válidos, sobre todo cuando el periodo de estudio se encuentra dentro de la fase exponencial del crecimiento del organismo y por lo tanto no cubre un intervalo amplio de tiempo que muestre la asíntota de la curva de crecimiento (Serna-Gallo, 2014), como fue el caso de del presente estudio. A pesar de ello, su aplicación en la evaluación del crecimiento en camarones peneidos tratados con alimentos funcionales, hasta ahora no ha sido considerado por los estudiosos en ese tema.

### **Sobrevivencia**

Los valores de sobrevivencia fueron relativamente bajos (entre  $54.77 \pm 8.71$  % y  $66.39 \pm 5.70$  %), y no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo, todos los tratamientos experimentales presentaron los más altos valores con respecto al tratamiento control.

El grado de mortalidad en el ensayo se debió a la disminución de los niveles de oxígeno en los acuarios presentada en el día 33 del cultivo (semana 4); lo que fue resuelto corrigiendo la densidad de cultivo, como se mencionó antes. Se debe de tener en cuenta que esa condición fue igual para todos los tratamientos.

De manera general, la mayoría de los estudios que evaluaron la inclusión de *A. platensis* en la dieta de *L. vannamei*, no mostraron diferencias significativas para la sobrevivencia cuando se compararon los tratamientos experimentales y el control (Silva-Neto et al., 2012; Jaime-Ceballos et al., 2005; Macias-Sancho, 2015); e incluso cuando sí presentaron diferencias significativas para otros parámetros como niveles de nitrógeno (Chuntapa, Powtongsook y Menasveta, 2003) y parámetros de crecimiento e inmunológicos (Chen et al., 2016; Macias-Sancho et al., 2014). Lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

## **Recuento total de hemocitos**

Los resultados para HTC mostraron los valores más altos en los tratamientos experimentales T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>, superiores al control, y el menor valor en el T<sub>1</sub>. Sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticamente válidas entre todos los tratamientos.

En otros estudios referidos a la misma temática sí se presentaron diferencias significativas para este parámetro, sin embargo, tuvieron otra metodología para la inclusión de la microalga. Es el caso de Tayag et al. (2010), quienes evaluaron la respuesta inmune de *L. vannamei* que recibieron extracto de agua caliente de *S. platensis* mediante pruebas de inyección e inmersión, encontrando valores significativamente mayores para el recuento total de hemocitos, recuento de células hialinas y el recuento de células granulares. Por otro lado, Macias-Sancho et al. (2014), encontraron diferencias significativas en el porcentaje de hemocitos hialinos y granulares en los camarones alimentados con dietas con al menos un 25% de reemplazo de harina de pescado.

Si bien es cierto el HTC es uno de los parámetros hemato-inmunológicos más utilizados como indicador del estado de salud de los organismos, sus valores pueden variar debido a las condiciones de cultivo, y el estadio de vida de los organismos. A esto se suma que no hay consenso entre los investigadores en estandarizar los métodos y unidades de conteo, lo que dificulta la comparación entre los diferentes estudios (Morales y Cuéllar-Anjel, 2014).

Por ello es fundamental considerar además otros parámetros inmunológicos que comprueben realmente el estado de salud de los organismos. Una alcance de ello, nos brinda el estudio realizado por Chen et al. (2016), quienes sugieren que la harina de *Spirulina*, y por consiguiente la inclusión de *Spirulina* en la dieta de los organismos en cultivo, “puede inducir un efecto positivo en el reconocimiento de patrones LGBP, y por consiguiente generar una activación del sistema inmune innato”, lo que se vio reflejado

en un aumento significativo en los valores de los parámetros inmunológicos como la actividad de la lisozima, desgranulación de los hemocitos, tamaño celular de los hemocitos, activación del sistema profenoloxidasa (actividad de la fenoloxidasa, actividad de la serina proteinasa, la liberación de aniones superóxidos), respecto a los tratamientos controles.

Como ya fue descrito, en el presente estudio los parámetros de crecimiento, sobrevivencia e inmune fueron mayores en los tratamientos experimentales (T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>), sin embargo, estadísticamente no se presentaron diferencias significativas respecto al tratamiento control.

Respecto a ello, es importante mencionar que los estudios que presentaron diferencias estadísticamente válidas para los parámetros evaluados entre los tratamientos experimentales y sus respectivos controles fueron aquellos donde se consideraron niveles de inclusión de *A. platensis* muy alto. Este es el caso de Macias-Sancho et al. (2014), quienes encontraron diferencias significativas en los parámetros de crecimiento e inmunológicos a niveles de 25%, 50%, 75% y 100% de sustitución de harina de pescado con harina de *A. platensis*; y de Chen et al. (2016), quienes solo encontraron diferencias significativas en el crecimiento en peso y la actividad de la lisozima de *L. vannamei* en los tratamientos donde se adicionó *Spirulina* en una proporción de 60g/Kg de alimento comercial, y de 30 g/kg y 60 g/kg, respectivamente.

Sin embargo, la inclusión de niveles muy altos de microalgas como aditivo en piensos comerciales, hasta la actualidad, es poco factible de replicarlo a gran escala, debido a su alto costo de producción. Por ello considerar niveles adecuados de adición y demostrar su eficiencia en el cultivo es de suma importancia. Referente a ello, ya quedó demostrado, que incluso, niveles bajos de inclusión de *A. platensis* (0.5 % de adición), en la dieta de *L. vannamei*, como el utilizado en este estudio, presenta una gran atractibilidad para estos organismos, sin embargo, no presenta mayores valores de

crecimiento y sobrevivencia (Silva-Neto et al., 2012), por lo que aún se deben considerar evaluar parámetros inmunológicos más representativos que verifiquen el estado de salud de los organismos.

Además, estudios demuestran que la inclusión de alimentos funcionales en la alimentación de los organismos presenta mejores resultados a nivel de parámetros como el crecimiento, sobrevivencia y factor de conversión alimenticia (FC) en los peces que en los crustáceos; esto debido principalmente al método de alimentación, ya que los peces comen los pellets completos y los camarones fragmentan los pellets, lo que resulta en una pérdida de los componentes alimenticios en el agua de cultivo y como consecuencia los aditivos no son aprovechados en su totalidad por los organismos (Olmos et al., 2015).

Otro aspecto importante es el gran tamaño que alcanza *Arthrospira platensis* (20-500  $\mu\text{m}$ ) lo que podría ser un factor negativo para que las postlarvas de *L. vannamei* la filtren con facilidad (Ghaeni et al., 2011). De lo anterior, se desprende que un mejor aprovechamiento de esta microalga como alimento vivo, y por consiguiente un incremento estadísticamente válido de parámetros de crecimiento e inmunológicos, se presenta en organismos de mayor tamaño a los experimentados en este estudio (0.06 g); tal como se demuestra en otros ensayos, donde se utilizaron camarones juveniles con un peso promedio inicial de 4.32 g (Sombatjinda et al., 2014) y 4.6 g (Chuntapa, Powtongsook y Menasveta, 2003). Además, limitar el alimento microalgal a concentraciones exactas según su tasa de ingestión, podría generar un mayor gasto de energía en el camarón al verse obligado a filtrar la microalga en grandes volúmenes de agua y por consiguiente un menor aprovechamiento del mismo.

Los resultados en el presente estudio muestran diferencias significativas entre los tratamientos experimentales  $T_1$  y  $T_2$  en peso promedio final y entre  $T_1$  y  $T_3$  en tasa de crecimiento, es decir, en cualquiera de los casos, se evidencia mejores resultados

cuando *L. vannamei* fue alimentado con *A. platensis* adicionada como alimento vivo a diferencia de cuando fue adicionada como harina en los pellets comerciales. Estos resultados pueden deberse a que no se incorporó algún tipo de ligante en la preparación de la dieta donde *A. platensis* fue adicionada en una proporción de 5g/kg, a esto se suma que los camarones fraccionan el alimento cuando se alimentan; lo que pudo ocasionar la lixiviación del componente microalgal de los pellets, su incorporación al cuerpo de agua, y por consiguiente una disminución de la calidad del agua, lo que se tradujo en un ambiente desfavorable para el crecimiento de los camarones.

En contraste, en el T<sub>2</sub> y T<sub>4</sub>, la microalga se encontraba disponible en el cuerpo de agua, y a pesar de las dificultades en su ingestión ya mencionadas, los camarones tenían un consumo real de la microalga, lo que favoreció el crecimiento de los camarones.

Los resultados provistos en este estudio son significativos para los trabajos sobre nutrición en camarones peneidos, y la metodología podrá ser considerada, con correcciones, para evidenciar en trabajos futuros la eficiencia en la adición de *A. platensis* en la dieta de *L. vannamei*.

En líneas anteriores se han descrito razones válidas para fundamentar la posición desfavorable del tratamiento T<sub>1</sub> con respecto a los demás tratamientos, sobre todo con los tratamientos T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> con los cuales las diferencias a nivel de parámetros de crecimiento y recuento de hemocitos totales (HTC) fueron significativamente menor. Sin embargo, es fundamental mencionar que el tratamiento T<sub>1</sub> fue el que obtuvo el mayor valor en sobrevivencia de los camarones. Y respecto a ello, se sabe que un sistema donde la sobrevivencia es mayor, se tiene una mayor biomasa la cual demanda mayores niveles del oxígeno disuelto en el agua, siendo esta condición limitante para el crecimiento de los camarones; por lo tanto, resulta lógico los valores obtenidos para el tratamiento T<sub>1</sub>.

## 7. CONCLUSIONES

- La adición de *A. platensis* como alimento funcional en la dieta de *L. vannamei* indujo valores similares para el peso promedio final, tasa de crecimiento, sobrevivencia y el recuento total de hemocitos en todos los tratamientos.
- El crecimiento de los organismos de *L. vannamei* expresado en peso promedio final (g), fue superior en los organismos alimentados con *A. platensis* incluida como alimento vivo y alimento comercial (T<sub>2</sub>); y el crecimiento expresado en tasa de crecimiento (semana<sup>-1</sup>) fue mayor cuando los organismos fueron alimentados con *A. platensis* como alimento vivo y alimento comercial (T<sub>3</sub>). Además, los tratamientos experimentales T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub> donde se incluyó a *A. platensis* como alimento vivo fueron significativamente mejores en comparación con el tratamiento experimental T<sub>1</sub> donde se adicionó la harina de la microalga en los pellets comerciales, a nivel de peso promedio final (17.65 % superior) y tasa de crecimiento (3.16 % superior), respectivamente.
- La sobrevivencia de los organismos de *L. vannamei* fue 15.74 % superior que el tratamiento control (T<sub>C</sub>) en los organismos alimentados con *A. platensis* adicionada al alimento comercial (T<sub>1</sub>); así mismo los demás tratamientos experimentales presentaron los porcentajes más altos de sobrevivencia con respecto al tratamiento control, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas.
- El recuento de hemocitos totales (HTC) en los organismos de *L. vannamei* fue 80.67 % superior que el tratamiento control (T<sub>C</sub>) en los organismos alimentados con *A. platensis* como alimento vivo y alimento comercial (T<sub>3</sub>), sin embargo, no presentó diferencias significativas.

## **8. RECOMENDACIONES**

- Se debe considerar incluir un ligante comercial en la preparación de las dietas cuando se adiciona la harina de microalgas al alimento comercial.
- Se necesita comprender mejor el mecanismo de acción de los componentes funcionales y nutricionales de *A. platensis* que se lleva a cabo a nivel molecular en el sistema inmune de los camarones, para así considerar los parámetros inmunológicos precisos que nos indiquen el estado de salud de los camarones.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED, N., THOMPSON, S. y GLASER, M., 2019. Global Aquaculture Productivity, Environmental Sustainability, and Climate Change Adaptability. *Environmental Management* [en línea], vol. 63, no. 2, pp. 159-172. ISSN 14321009. DOI 10.1007/s00267-018-1117-3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00267-018-1117-3>.
- Algaebase - *Arthrospira platensis* (Gomont,1892). [en línea], 2020. [Consulta: 9 abril 2020]. Disponible en: [https://www.algaebase.org/search/species/detail/?tc=accept&species\\_id=ad9f7b9e16f702455](https://www.algaebase.org/search/species/detail/?tc=accept&species_id=ad9f7b9e16f702455).
- ANDRADE, L.M., ANDRADE, C.J., DIAS, M., NASCIMENTO, C. y MENDES, M.A., 2018. Chlorella and Spirulina Microalgae as Sources of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements; an Overview. *MOJ Food Processing & Technology*, vol. 6, no. 1. DOI 10.15406/mojfpt.2018.06.00144.
- ARAGÓN-NORIEGA, E.A., 2016. Crecimiento individual de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) y camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874) (Decapoda: Penaeidae) con un enfoque multi-modelo. *Latin American Journal of Aquatic Research*, vol. 44, no. 3, pp. 480-486. ISSN 0718560X. DOI 10.3856/vol44-issue3-fulltext-6.
- BALTAZAR, P., PALACIOS, J. y MINA, L., 2014. Production , Marketing and Development Prospects of the Peruvian. , vol. 11, no. 2, pp. 118-133.
- BERGER, C., 2000. Aportes de la bio - tecnología a la alimentación y a la inmuno - estimulación de camarones peneidos. *Avances en Nutrición Acuícola. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.*, pp. 102-110.
- BRITO, D., BRITO, R. y PEREIRA, G., 2010. Evaluación de las tasas de filtración e ingestión de *dendrocephalus spartaenovae* (Crustacea: Anostraca:

- Thamnocephalidae) con pseudokirchneriella subcapita y chlorella vulgaris en condiciones de laboratorio. *Interciencia*, vol. 35, no. 2, pp. 126-130. ISSN 03781844.
- BUONO, S., LANGELLOTTI, A.L., MARTELLO, A., RINNAA, F. y FOGLIANO, V., 2014. Functional ingredients from microalgae. *The Royal Society of Chemistry*, DOI 10.1039/c4fo00125g.
- CAMPA-CÓRDOVA, A.I., HERNÁNDEZ-SALMERÓN, A., ASCENCIO-VALLE, F. y AGUIRRE-GUZMÁN, G., 2010. Respuesta inmune y antioxidante en camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, expuesto a inmunoestimulantes y probióticos. *Avances en Nutrición Acuícola*, vol. X, pp. 567-587.
- CAÑAVATE, J., 2011. Funciones microalgas en acuicultura. [en línea], no. March 2011. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/235960627\\_Funciones\\_microalgas\\_en\\_acuicultura](https://www.researchgate.net/publication/235960627_Funciones_microalgas_en_acuicultura).
- CAÑAVATE, J., 2013. Aspectos funcionales de las microalgas en la acuicultura. ,
- CHEN, Y.Y., CHEN, J.C., TAYAG, C.M., LI, H.F., PUTRA, D.F., KUO, Y.H., BAI, J.C. y CHANG, Y.H., 2016. Spirulina elicits the activation of innate immunity and increases resistance against *Vibrio alginolyticus* in shrimp. *Fish and Shellfish Immunology* [en línea], vol. 55, no. February 2019, pp. 690-698. ISSN 10959947. DOI 10.1016/j.fsi.2016.06.042. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2016.06.042>.
- CHRISTAKI, E., FLOROU-PANERI, P. y BONOS, E., 2011. Microalgae: A novel ingredient in nutrition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 62, no. 8, pp. 794-799. ISSN 09637486. DOI 10.3109/09637486.2011.582460.
- CHUNTAPA, B., POWTONGSOOK, S. y MENASVETA, P., 2003. Water quality control using *Spirulina platensis* in shrimp culture tanks. *Aquaculture*, vol. 220, no. 1-4, pp.

- 355-366. ISSN 00448486. DOI 10.1016/S0044-8486(02)00428-3.
- CUÉLLAR-ANGEL, J., LARA, C., MORALES, V., DE GRACIA, A. y GARCÍA, O., 2010. *MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANEJO PARA EL CULTIVO DEL CAMARÓN BLANCO *Penaeus vannamei**. S.l.: s.n. ISBN 9789962850069.
- DAWOOD, M.A.O., KOSHIO, S. y ESTEBAN, M.Á., 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, vol. 10, no. 4, pp. 950-974. ISSN 17535131. DOI 10.1111/raq.12209.
- DE GRAVE, S., 2013. WoRMS - World Register of Marine Species - *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). [en línea]. [Consulta: 9 abril 2020]. Disponible en: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=247789>.
- DEPARTAMENTO DE PESCA, 1989. CONSULTORIA EN CULTIVO DE CAMARON. *FAO* [en línea]. [Consulta: 3 agosto 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ac397s/AC397S00.htm#TOC>.
- DUGASSA, H. y GAETAN, D.G., 2018. Biology of White Leg Shrimp, *Penaeus vannamei*: Review. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, vol. 10, no. 2, pp. 5-17. ISSN 2078-4589. DOI 10.5829/idosi.wjfm.2018.05.17.
- ENCARNAÇÃO, P., 2016. Functional feed additives in aquaculture feeds. *Aquafeed Formulation*, pp. 217-237. DOI 10.1016/B978-0-12-800873-7.00005-1.
- FAO, 2016. FAO Fisheries & Aquaculture - Programa de información de especies acuáticas - *Penaeus vannamei* (Boone, 1931). [en línea]. [Consulta: 13 abril 2020]. Disponible en: [http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus\\_vannamei/es#tcNA0078](http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Penaeus_vannamei/es#tcNA0078).
- FAO, 2018. *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9789251306888. Disponible en: <http://www.fao.org/publications/es>.
- FENUCCI, J.L., 1988. Manual para la cria de camarones peneidos. *FAO documento*

- técnico de pesca* [en línea], vol. 8. [Consulta: 13 abril 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ab466s/AB466S02.htm#ch2.2>.
- GE, H., LI, J., CHANG, Z., CHEN, P., SHEN, M. y ZHAO, F., 2016. Effect of microalgae with semicontinuous harvesting on water quality and zootechnical performance of white shrimp reared in the zero water exchange system. *Aquacultural Engineering*, vol. 72-73, pp. 70-76. ISSN 01448609. DOI 10.1016/j.aquaeng.2016.04.006.
- GHAENI, M., MATINFAR, A., SOLTANI, M., RABBANI, M. y VOSOUGHI, A., 2011. Comparative effects of pure spirulina powder and other diets on larval growth and survival of green tiger shrimp, *Peneaus semisulcatus*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, vol. 10, no. 2, pp. 208-217. ISSN 15622916.
- GODÍNEZ, D.E., CHÁVEZ, M.C. y GÓMEZ, S., 2011. *Acuicultura epicontinental del camarón blanco del pacífico, litopenaeus vannamei (Boone, 1931)*. 2011. S.l.: s.n.
- GÓMEZ-ARIZA, J.L., GARCÍA-BARRERA, T., GÓMEZ-JACINTO, V., GARBAYO, I. y VÍLCHEZ, C., 2010. Las microalgas, nuevos caminos hacia alimentos funcionales. *Proyectos de Excelencia-Andalucía*, vol. P09-FQM-46, pp. 77-80.
- HABIB, M.A.B., PARVIN, M., HUNTINGTON, T.C. y HASAN, M.R., 2008. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular No . 1034 A REVIEW ON CULTURE, PRODUCTION AND USE OF SPIRULINA AS FOOD FOR HUMANS AND FEEDS FOR DOMESTIC ANIMALS AND FISH*. S.l.: s.n. ISBN 9789251061060.
- HABIB, M.A.B., PARVIN, M., HUNTINGTON, T.C. y HASAN, M.R., 2011. *A REVIEW ON CULTURE , PRODUCTION AND USE OF SPIRULINA AS FOOD FOR HUMANS AND FEEDS FOR* [en línea]. S.l.: s.n. ISBN 9789251061060. Disponible en: <http://agris.fao.org/agris-search/search/display.do?f=2010/XF/XF0906.xml;XF2009437877>.
- HENDRICKX MICHEL E., 2002. Taxonomía, Biología y Zoogeografía de los Peneidos de Importancia Comercial del Pacífico Mexicano. *Camaronicultura y Medio*

*Ambiente*, pp. 15-34.

HERNANDEZ-LLAMAS, A. y RATKOWSKY, D.A., 2004. Growth of fishes, crustaceans and molluscs: Estimation of the von Bertalanffy, Logistic, Gompertz and Richards curves and a new growth model. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 282, pp. 237-244. ISSN 01718630. DOI 10.3354/meps282237.

HOSEINI, S.M., KHOSRAVI-DARANI, K. y MOZAFARI, M.R., 2013. Nutritional and Medical Applications of Spirulina Microalgae. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, vol. 13, no. 8, pp. 1231-1237. ISSN 13895575. DOI 10.2174/1389557511313080009.

JAIME-CEBALLOS, B., VILLAREAL, H., GARCIA, T., PÉREZ-JAR, L. y ALFONSO, E., 2005. Effect of Spirulina platensis meal as feed additive on growth, survival and development in Litopenaeus schmitti shimp larvae. , no. July. ISSN 0252-1962.

JANSON, S., 1998. Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology. Avigad Vonshak. *The Quarterly Review of Biology* [en línea], vol. 73, no. 3, pp. 353-354. [Consulta: 15 abril 2020]. ISSN 0033-5770. DOI 10.1086/420339. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=6g9ydnbJKUYC&oi=fnd&pg=PA1&dq=arthrospira+platensis+morphology&ots=ELdSZYzGKV&sig=dTcVzDJ\\_O8Om7WGs3FlzHw8Az3s#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=6g9ydnbJKUYC&oi=fnd&pg=PA1&dq=arthrospira+platensis+morphology&ots=ELdSZYzGKV&sig=dTcVzDJ_O8Om7WGs3FlzHw8Az3s#v=onepage&q&f=false).

KUBITZA, F., 2016. LOS FUNDAMENTOS PARA UNA PRODUCCIÓN SEGURA DE PECES EN ESTANQUES: conceptos de biomasa y seguridad y económica. [en línea], vol. 25, no. 155, pp. 8000. Disponible en: <http://www.geog.com.cn/EN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=38245>.

LÓPEZ-ELÍAS, J.A., MEDINA-FÉLIX, D., CAMPA-CÓRDOVA, Á.I., MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.R., HERNÁNDEZ-LÓPEZ, J., MENDOZA-CANO, J.F. y RIVAS-

- VEGA, M.E., 2016. Optimización de la supervivencia y respuesta inmune de *Litopenaeus vannamei* alimentado con dietas ricas en carotenos e infectado con el Síndrome de Mancha Blanca. *Latin American Journal of Aquatic Research*, vol. 44, no. 2, pp. 305-312. ISSN 0718560X. DOI 10.3856/vol44-issue2-fulltext-11.
- LUNA GONZALEZ, A., MORENO HERRERA, J.T., CAMPA CORDOVA, A.I., GONZALEZ OCAMPO, H.A., FIERRO CORONADO, J.A., ALVAREZ RUIZ, P. y BUENO IBARRA, M.A., 2013. Respuesta inmune y expresion de genes en el camaron blanco (*Litopenaeus vannamei*) inducida por inmunoestimulantes microbianos. *Latin American Journal of Aquatic Research*, vol. 41, no. 5, pp. 898-907. ISSN 0718560X. DOI 10.3856/vol41-issue5-fulltext-10.
- MACIAS-SANCHO, J., 2015. Manutenção da qualidade da água num co-cultivo de microalga *Arthrospira platensis* e camarão branco *Litopenaeus vannamei* na fase de berçário. [en línea]. S.l.: s.n., [Consulta: 26 abril 2020]. DOI 10.13140/RG.2.1.3343.0806. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/293488949\\_Manutencao\\_da\\_qualidade\\_da\\_agua\\_num\\_co-cultivo\\_de\\_microalga\\_Arthrospira\\_platensis\\_e\\_camarao\\_branco\\_Litopenaeus\\_vannamei\\_na\\_fase\\_de\\_bercario](https://www.researchgate.net/publication/293488949_Manutencao_da_qualidade_da_agua_num_co-cultivo_de_microalga_Arthrospira_platensis_e_camarao_branco_Litopenaeus_vannamei_na_fase_de_bercario).
- MACIAS-SANCHO, J., HOLANDA, M., ROMANO, L.A., WASIELESKY, W., TESSER, M.B. y POERSCH, L.H., 2017. *Arthrospira platensis* filtrada como alimento complementario de juveniles del camarón blanco: Efectos sobre crecimiento y sistema inmune. *Boletim do Instituto de Pesca*, vol. 43, no. 4, pp. 593-604. ISSN 00469939. DOI 10.20950/1678-2305.2017v43n4p593.
- MACIAS-SANCHO, J., POERSCH, L.H., BAUER, W., ROMANO, L.A., WASIELESKY, W. y TESSER, M.B., 2014. Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: Effects on growth and

- immunological parameters. *Aquaculture* [en línea], vol. 426-427, pp. 120-125. ISSN 00448486. DOI 10.1016/j.aquaculture.2014.01.028. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.028>.
- MENDOZA, D., BERGER, C. y BERGER, K., 2016. La acuicultura peruana – una mirada al 2025. [en línea], vol. 2025, pp. 1-21. Disponible en: [http://www.ipcinfo.org/fileadmin/user\\_upload/red-icean/docs/Acuicultura Peruana - Una Mirada al 2025.pdf](http://www.ipcinfo.org/fileadmin/user_upload/red-icean/docs/Acuicultura Peruana - Una Mirada al 2025.pdf).
- MEYER, D.E., 2004. *Acuicultura*. S.l.: s.n.
- MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN, 2010. SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA EN EL PERU: ANÁLISIS DEL SISTEMA PRODUCTIVO DE LANGOSTINOS. [en línea]. S.l.: Disponible en: <http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/boletines/SITUACIÓN ACTUAL DE LA ACUICULTURA EN EL PERÚ.pdf>.
- MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN, 2018. Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2017. ,
- MIRANDA, M., LÓPEZ-ALONSO, M. y GARCÍA-VAQUERO, M., 2017. Macroalgae for Functional Feed Development: Applications in Aquaculture, Ruminant and Swine Feed Industries. *NOVA science publishers*,
- MORALES, V. y CUÉLLAR-ANJEL, J., 2014. *Guía técnica -Patología e inmunología de camarones penaeidos*. S.l.: s.n. ISBN 9789962850076.
- MOULLAC, G. Le, LABORIE, L.P. De, SAULNIER, D., GOARANT, C., DEHASQUE, M. y CALÉDONIE, N., 1998. Principios y Problemas Involucrados en la Evaluación de Inmunoestimulantes en Juveniles de Camarón . *Avances en Nutrición Acuícola IV*, pp. 509-519.
- OLMOS, J., PANIAGUA-MICHEL, J., LOPEZ, L. y OCHOA, L., 2015. *Functional Feeds in Aquaculture*. S.l.: s.n.

- PASCUAL, C., SÁNCHEZ, A. y ROSAS, C., 2003. Manual de métodos para la evaluación de componentes sanguíneos de camarones peneidos. [en línea], pp. 26. Disponible en: <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Camaron/Manual de metodos para la evaluacion de componentes sanguineos de camarones peneidos.pdf>.
- PEÑA-NAVARRO, N., VARGAS-CORDERO, R. y VARELA-MEJÍAS, A., 2013. Productos naturales como estimuladores del sistema inmunológico de *Litopenaeus vannamei*, infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agronomía Mesoamericana*, vol. 24, no. 1, pp. 133. ISSN 1021-7444. DOI 10.15517/am.v24i1.9790.
- PETERS, R.H. y DOWNING, J.A., 1984. Empirical analysis of zooplankton filtering and feeding rates. *Limnology and Oceanography*, vol. 29, no. 4, pp. 763-784. ISSN 19395590. DOI 10.4319/lo.1984.29.4.0763.
- RINGØ, E., ERIK OLSEN, R., GONZALEZ VECINO, J.L. y WADSWORTH, S., 2012. Use of Immunostimulants and Nucleotides in Aquaculture: A Review. *Journal of Marine Science: Research & Development*, vol. 02, no. 01. DOI 10.4172/2155-9910.1000104.
- RIVERA L.M., TRUJILLO L.E., PAIS-CHANFRAU J.M., NÚÑEZ J., PINEDA J., ROMERO H., TINOCO O., CABRERA C., and D. V., 2018. Functional Foods as stimulators of the immune system of *Litopenaeus vannamei* cultivated in Machala, Province of El Oro, Ecuador. *Italian Journal of Food Science*, vol. 31, no. 5, pp. 227-232.
- RODRIGUEZ, J., 2017. Información sobre el uso de inmunoestimulante en cultivo de camarón con particular referencia a los B-glucanos. , no. January.
- RUBIO-GASTÉLUM, D., VALENZUELA-QUIÑÓNEZ, W., PARRA-BRACAMONTE, G.M. y SANTAMARIA-MIRANDA, A., 2014. Respuesta de metabolitos en hemolinfa y desempeño productivo del camarón blanco del pacífico *Litopenaeus vannamei*

- cultivado a altas densidades en laboratorio. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, vol. 49, no. 3, pp. 601-606. ISSN 07181957. DOI 10.4067/s0718-19572014000300017.
- RUIZ RÍOS, L., 2012. Estado de la acuicultura en el Perú. *AquaTIC: revista electrónica de acuicultura*, no. 37, pp. 99-106. ISSN 1578-4541.
- SALDARRIAGA, M. y REGALADO, F., 2017. Potencial acuícola en el Perú. , pp. 34-39.
- SÁNCHEZ, M., BERNAL-CASTILLO, J., ROZO, C. y RODRÍGUEZ, I., 2003. Spirulina (Arthrospira): An edible microorganism. A review. *Universitas Scientiarum*, vol. 8, no. 1, pp. 7-24. ISSN 0122-7483.
- SERNA-GALLO, I., 2014. Growth and reproduction patterns of the winged pearl oyster, *Pteria sterna*, cultivated in tropical environments of Mexico: Implications for pearl farming. *Ciencias Marinas*, vol. 40, no. 2, pp. 75-88. ISSN 01853880. DOI 10.7773/cm.v40i2.2393.
- SETYAWAN, A., ISNANSETYO, A., MURWANTOKO, INDARJULIANTO, S. y HANDAYANI, C.R., 2018. Comparative immune response of dietary fucoidan from three Indonesian brown algae in white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *AAFL Bioflux*, vol. 11, no. 6, pp. 1707-1723. ISSN 18449166.
- SILVA-NETO, J.F., NUNES, A.J.P., SABRY-NETO, H. y SÁ, M.V.C., 2012. Spirulina meal has acted as a strong feeding attractant for *Litopenaeus vannamei* at a very low dietary inclusion level. *Aquaculture Research*, vol. 43, no. 3, pp. 430-437. ISSN 1355557X. DOI 10.1111/j.1365-2109.2011.02846.x.
- SOMBATJINDA, S., WANTAWIN, C., TECHKARNJANARUK, S., WITHYACHUMNARNKUL, B. y RUENGJITCHATCHAWALYA, M., 2014. Water quality control in a closed re-circulating system of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) postlarvae co-cultured with immobilized Spirulina mat. *Aquaculture International*, vol. 22, no. 3, pp. 1181-1195. ISSN 1573143X. DOI 10.1007/s10499-

013-9738-2.

- TAYAG, C.M., LIN, Y.C., LI, C.C., LIOU, C.H. y CHEN, J.C., 2010. Administration of the hot-water extract of *Spirulina platensis* enhanced the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, vol. 28, no. 5-6, pp. 764-773. ISSN 10959947. DOI 10.1016/j.fsi.2010.01.023.
- VAN DOAN, H., HOSEINIFAR, S.H., ESTEBAN, M.Á., DADAR, M. y THU, T.T.N., 2019. *Mushrooms, Seaweed, and Their Derivatives as Functional Feed Additives for Aquaculture: An Updated View*. S.l.: s.n. ISBN 9780444641854.
- VARGAS-ALBORES, F., GUZMÁN, M.A. y OCHOA, J.L., 1993. An anticoagulant solution for haemolymph collection and prophenoloxidase studies of penaeid shrimp (*Penaeus californiensis*). *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, vol. 106, no. 2, pp. 299-303. ISSN 03009629. DOI 10.1016/0300-9629(93)90516-7.
- VITÓN, D.E. y MACÍAS, M., 2016. UNA RESEÑA CORTA SOBRE EL VALOR NUTRITIVO DE LA ESPIRULINA (*Arthrospira platensis*) Y SU USO EN LA ALIMENTACIÓN PORCINA. , vol. 3, no. 1. ISSN 00219606.
- WELLS, M.L., POTIN, P., CRAIGIE, J.S., RAVEN, J.A., MERCHANT, S.S., HELLIWELL, K.E., SMITH, A.G., CAMIRE, M.E. y BRAWLEY, S.H., 2016. *Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding*. 2016. S.l.: s.n.
- WURMANN G., C., 2019. Acuicultura en América Latina y el Caribe: Progresos, oportunidades y desafíos. *Aquatechnica*, vol. 1, pp. 1-21.
- YÉPEZ, V., 2012. ESTADO SITUACIONAL DE LA MARICULTURA EN LA COSTA PERUANA. *Instituto del mar del Perú*, pp. 10.

## 10. ANEXOS

**ANEXO 1.** Pruebas de Kruskal Wallis y de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis para los diferentes parámetros ambientales (temperatura, salinidad, concentración de O<sub>2</sub> y pH). Nivel de confianza de 95%.

### TEMPERATURA

#### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |       |                    |   |         |         |
|--------------|-------|--------------------|---|---------|---------|
| Chi-cuadrado | 212.1 | Grados de libertad | 3 | p-value | 2.2e-16 |
|--------------|-------|--------------------|---|---------|---------|

#### Prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis (KWmc)

| Comparaciones                  | Diferencia observada | Diferencia crítica | Diferencia |
|--------------------------------|----------------------|--------------------|------------|
| T <sub>C</sub> -T <sub>1</sub> | 132.45495            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>C</sub> -T <sub>2</sub> | 19.01351             | 45.44138           | NO         |
| T <sub>C</sub> -T <sub>3</sub> | 117.46847            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub> | 113.44144            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub> | 249.92342            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub> | 136.48198            | 45.44138           | SÍ         |

### OXÍGENO DISUELTO

#### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |         |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|---------|
| Chi-cuadrado | 81.323 | Grados de libertad | 3 | p-value | 2.2e-16 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|---------|

#### Prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis (KWmc)

| Comparaciones                  | Diferencia observada | Diferencia crítica | Diferencia |
|--------------------------------|----------------------|--------------------|------------|
| T <sub>C</sub> -T <sub>1</sub> | 68.396396            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>C</sub> -T <sub>2</sub> | 58.842342            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>C</sub> -T <sub>3</sub> | 153.878378           | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>1</sub> -T <sub>2</sub> | 9.554054             | 45.44138           | NO         |
| T <sub>1</sub> -T <sub>3</sub> | 85.481982            | 45.44138           | SÍ         |
| T <sub>2</sub> -T <sub>3</sub> | 95.036036            | 45.44138           | SÍ         |

## pH

### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |        |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|
| Chi-cuadrado | 2.4837 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.4782 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|

## SALINIDAD

### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |       |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|-------|
| Chi-cuadrado | 5.9518 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.114 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|-------|

**ANEXO 2.** Prueba de Kruskal Wallis y de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis para el peso promedio final. Nivel de confianza de 95%.

## PESO PROMEDIO FINAL

### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |         |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|---------|
| Chi-cuadrado | 7.6154 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.05467 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|---------|

### Prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis (KWmc)

| Comparaciones | Diferencia observada | Diferencia crítica | Diferencia |
|---------------|----------------------|--------------------|------------|
| $T_C-T_1$     | 5                    | 7.766819           | NO         |
| $T_C-T_2$     | 3                    | 7.766819           | NO         |
| $T_C-T_3$     | 0                    | 7.766819           | NO         |
| $T_1-T_2$     | 8                    | 7.766819           | SÍ         |
| $T_1-T_3$     | 5                    | 7.766819           | NO         |
| $T_2-T_3$     | 3                    | 7.766819           | NO         |

**ANEXO 3.** Prueba de Kruskal Wallis y de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis para la tasa de crecimiento. Nivel de confianza de 95%.

## TASA DE CRECIMIENTO

### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |        |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|
| Chi-cuadrado | 8.7436 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.0329 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|

### Prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis (KWmc)

| Comparaciones | Diferencia observada | Diferencia crítica | Diferencia |
|---------------|----------------------|--------------------|------------|
| $T_C-T_1$     | 5.0000000            | 7.766819           | NO         |
| $T_C-T_2$     | 0.6666667            | 7.766819           | NO         |
| $T_C-T_3$     | 3.6666667            | 7.766819           | NO         |
| $T_1-T_2$     | 4.3333333            | 7.766819           | NO         |
| $T_1-T_3$     | 8.6666667            | 7.766819           | SÍ         |
| $T_2-T_3$     | 4.3333333            | 7.766819           | NO         |

**ANEXO 3.** Pruebas de Kruskal Wallis para la supervivencia. Nivel de confianza de 95%. No se aplicó la prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis debido a que no existen diferencias entre los tratamientos.

### SOBREVIVENCIA

#### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |        |                    |   |         |        |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|
| Chi-cuadrado | 3.7329 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.2918 |
|--------------|--------|--------------------|---|---------|--------|

**ANEXO 4.** Prueba de Kruskal Wallis para el recuento total de hemocitos (HTC). Nivel de confianza de 95%.

No se aplicó la prueba de Múltiple Comparación de Kruskal Wallis debido a que no existen diferencias entre los tratamientos.

### RECUESTO TOTAL DE HEMOCITOS

#### Prueba de Kruskal Wallis (KW)

|              |       |                    |   |         |        |
|--------------|-------|--------------------|---|---------|--------|
| Chi-cuadrado | 5.359 | Grados de libertad | 3 | p-value | 0.1473 |
|--------------|-------|--------------------|---|---------|--------|