

SUSTITUCION DE *Artemia* POR NEMATODOS EN LA ALIMENTACION DE POSTLARVAS (PL 6 A PL 10) DEL CAMARON MARINO (*Penaeus vannamei* BOONE 1936)

Gerardo Emigdio Palacios Martínez y Edward Jerry Vega Luengas

Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano

Seccional Caribe, Cartagena, Colombia

RESUMEN

Con el fin de determinar la viabilidad de una cepa nativa de nemátodo en la alimentación de estados postlarvales avanzados (PL 6 – PL 10) de *Penaeus vannamei*, se realizó un experimento con tres regímenes alimenticios. En el primero se alimentaron postlarvas con un peso húmedo determinado de nauplios de *Artemia*, en el segundo se alimentó con la misma ración pero con nemátodos y en el tercero se alimentó con nemátodos con el doble de la ración.

Al final de la prueba se comparó la calidad de las postlarvas analizando talla, sobrevivencia, desarrollo branquial, prueba de estrés y dispersión de talla, obteniéndose como resultado que las postlarvas alimentadas con *Artemia* tuvieron las mejores tallas ($6,4 \pm 0,8$ mm) y sobrevivencias promedio (89 %), en comparación con el segundo ($6,2 \pm 0,8$ mm y 75 %) y el tercer tratamiento ($5,9 \pm 0,7$ mm y 69 %). En las pruebas de desarrollo branquial y prueba de estrés no se observó ninguna diferencia significativa entre tratamientos. La dispersión de tallas en ninguno de los tratamientos superó el máximo límite fijado por CLIFFORD (1992) del 15 %. Se concluye que la cepa nativa de nemátodo puede sustituir a la *Artemia* sp. en la alimentación de postlarvas (PL 6 a PL 10) del camarón *P. vannamei*.

ABSTRACT

A test was made to determine the viability of one native nematod strain as feed for advanced postlarval stages (PL 6 – PL 10) of *Penaeus vannamei*. The test consisted of three treatments: in the "artemia treatment" the postlarvae were fed with a known fresh weight of *Artemia* nauplii, in the second treatment the same ration was applied using the native nematodes and in the third treatment the nematode ration was doubled.

Postlarval quality was then compared by means of size, survival, branquial development, stress test and size dispersion. Postlarvae fed with *Artemia* had the best average size ($6,4 \pm 0,8$ mm) and survival of 89 %, against both nematod treatments ($6,2 \pm 0,8$ mm and 75 % and $5,9 \pm 0,7$ mm and 69 %, respectively). Stress and branquial development tests showed no significant differences between the treatments. Size dispersion in all three treatments did not exceed the maximum limit of 15 % proposed by CLIFFORD (1992). It is concluded that the native nematod strain can be used as a substitute of *Artemia* spp. in the feeding of postlarval stages (PL 6 – PL 10) of *P. vannamei*.

INTRODUCCIÓN

Una dieta adecuada es un requisito básico para obtener postlarvas de peneidos de alta calidad (RONZANI 1989, BIEDENBACH *et al.* 1989). A partir de zoea II el consumo de zooplancton aumenta hasta alcanzar los niveles más altos en la etapa de postlarva, por lo que la proteína animal se vuelve muy importante dentro del equilibrio de la dieta (LIAO 1985 en RONZANI 1989). La *Artemia* es una de las fuentes de proteína de mayor utilización (KITAKA 1975, LIAO 1984, BAUTISTA 1988, SORGELOOS *et al.* 1986, BIEDENBACH *et al.* 1989 y RONZANI 1989), debido a su fácil manejo, pero presenta algunos problemas como son: el consumo de algas en el tanque, su rápido crecimiento si no es consumida prontamente, y su alto costo (FONTAINE *et al.* 1982, AKAMINE 1985 y BIEDENBACH *et al.* 1989).

Uno de los organismos que ha mostrado posibilidades como fuente de proteína animal son los nemátodos, principalmente la especie *Panagrellus redivivus*, que fue reportada por SAMOCHA y LEWISON (1977, en AKAMINE 1985) como alimento para larvas de camarones peneidos. KAHAN y APPEL (1975), FONTAINE *et al.* (1982) y WATANABE *et al.* (1978 en AKAMINE, 1985), reconocen el alto contenido proteico de los nemátodos y su similitud con composición nutricional de la *Artemia*. Por su pequeño tamaño adecuado para las postlarvas, su bajo costo de producción comparado con la *Artemia* y su ciclo reproductivo rápido, AKAMINE (1985) los considera un alimento promisorio para larvas de camarón.

La alimentación de larvas de peneidos con nemátodos ha sido investigada por varios autores. FONTAINE *et al.* (1982) reportaron un método sencillo para el cultivo de *Panagrellus redivivus* y lo utilizaron a nivel experimental en la alimentación de estadíos larvales de *P. stylirostris*. WILKINFELD *et al.* (1984 en RONZANI 1989), reportaron resultados satisfactorios con la misma especie de nemátodo en 3 especies de peneidos. AKAMINE (1984 en AKAMINE 1985) alimentó con *Panagrellus redivivus* en combinación con *Artemia* y algas, logrando mejor sobrevivencia al combinar nemátodos con *Artemia*, que al ofrecer

esta última sola. Akamine (1985) utilizó *P. redivivus* en forma masiva en producciones comerciales de postlarvas de *P. vannamei* y *P. stylirostris*, concluyendo que puede sustituir total o parcialmente a la *Artemia*. RONZANI (1989) no halló diferencias significativas entre larvas de *Penaeus paulensis* alimentadas con *Artemia* o con *Panagrellus redivivus*. BIEDENBACH *et al.* (1989) tampoco encontraron diferencias en la alimentación de larvas de *P. vannamei* con el mismo nemátodo o *Artemia*, aunque insisten en que hay que mejorar los métodos de cultivo para hacerlos más eficientes.

En Colombia sólo existe un reporte del laboratorio "Inamar" de Cartagena sobre pruebas realizadas en 1985 con *P. redivivus* y larvas de *P. vannamei*. El nemátodo fue cultivado en condiciones de temperatura controlada (cuarto de microalgas) y fue consumido por las larvas, pero se optó por *Artemia* por la mayor facilidad de manejo (RAMÍREZ com. pers.). Sin embargo, en ciudades como Cartagena, donde la temperatura promedio es de 27,9°C (PAGLIARDINI *et al.* 1982), *Panagrellus redivivus* ha mostrado altas mortalidades al no poder resistir estas temperaturas. Por esta razón se quiso determinar si nemátodos nativos, adaptados a las condiciones locales, pueden utilizarse al igual que *P. redivivus* como sustituto de la *Artemia*.

La alimentación larvaria se refleja en su calidad, que a su vez incide en la producción de la finca (FEGAN 1992). Los métodos para evaluar la calidad de las larvas son por lo general subjetivos y de difícil cuantificación y dependen más de los criterios de las camarónicas (FEGAN 1992). Se han utilizado la longitud del sexto segmento abdominal, la fórmula o número de espinas rostrales, la talla o edad de las postlarvas, la distribución de tallas y las pruebas de estrés, entre otras.

En el presente estudio, realizado en el laboratorio de Biología Marina de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, Seccional Caribe, se utilizó una cepa nativa de nemátodos en dos diferentes dosis alimenticias, así como *Artemia* sp. en la alimentación de postlarvas PL6 a PL10 del camarón marino *P. vannamei*. Como parámetros de calidad de larvas se usaron la talla, distribución de tallas, porcentaje de sobrevivencia, grado de desarrollo branquial y respuesta a pruebas de salinidad.

MATERIAL Y METODOS

Nemátodos

Se colocó una muestra de tierra del jardín de la Universidad Jorge Tadeo Lozano (Seccional Cartagena) en un cilindro de PVC de 4 cm de alto y 4 pulgadas de diámetro cerrado en el fondo con una malla plástica y sobre ésta un papel absorbente (marca: Kleenex®). El tubo se colocó sobre un plato al que se adicionó agua hasta humedecer la tierra. Al cabo de 24 h se observó el agua al estereoscopio para detectar la presencia de nemátodos (modificación de la técnica de BAERMAN en PARRA y VIZCAINO (1979). Por medio de un capilar se extrajo una sola hembra en estado de gravidez, que se colocó en una caja de Petri con avena humedecida. Quince días después había en la caja un gran número de nemátodos con los que se inició el cultivo.

Los nemátodos se cultivaron en los mismos cilindros de PVC utilizados para el aislamiento. Se colocó harina de avena húmeda sobre el papel absorbente, manteniendo la humedad diariamente (agua microfiltrada y ozonizada) por medio de un atomizador. Para evitar la llegada de insectos se taparon los tubos de PVC con trozos de tela.

Se cosecharon los nemátodos de 7 a 10 días después de la siembra, cuando se observaba un gran número de ellos sobre las avena, lavándolos con agua tratada. Se centrifugó la mezcla de agua, nemátodos y restos de avena, tomando los nemátodos del tubo de centrifugación por medio de una pipeta Pasteur. Se separaron luego del agua dejándolos por 30 min sobre papel filtro. Finalmente se

pesaron en balanza analítica con precisión de $\pm 0,0001$ g descontando el peso del papel filtro.

Camarones

Para el experimento se utilizaron postlarvas PL6 de *Penaeus vannamei* con una longitud estándar promedio de $4,51 \pm 0,58$ mm. Las postlarvas habían sido alimentadas previamente con la microalga *Chaetoceros* sp., *Artemia* sp. y un flan a base de huevo, aceite de hígado de bacalao y camarónina. En general las postlarvas estaban limpias y mostraban buena actividad, presentando desarrollo branquial de primer grado.

El experimento se realizó en nueve frascos Erlenmeyer de 1 L capacidad, en los que se sembraron 100 postlarvas en cada uno. Se utilizó agua marina microfiltrada y clorinada durante 12 horas, con neutralización posterior con tiosulfato. Los frascos se mantuvieron con aireación continua y recambios diarios del 100 %, la mitad en la mañana y la otra en la tarde. Todos los recipientes se limpiaron diariamente mediante sifón. La prueba tuvo una duración de 5 días hasta el estadio PL 10 o postlarvas de 10 días.

Tres tratamientos, con tres réplicas, se distribuyeron al azar entre los recipientes. En el primer tratamiento (A) las postlarvas se alimentaron con una ración definida de *Artemia* (tabla 1), en el segundo tratamiento (N1) con la misma ración en peso húmedo, pero de nemátodos, y el tercer tratamiento (N2) con el doble de la ración anterior de nemátodos. Las raciones diarias fueron divididas en 8 partes iguales y suministradas con intervalos de 3 horas para todos los tratamientos.

Cuadro 1.
Raciones utilizadas en la alimentación de postlarvas de *Penaeus vannamei*

Estadio	Tratamiento	<i>Artemia</i>	Nemátodo 1	Nemátodo 2
		Ind/ml/día=g/l/día	g/l/día	g/l/día
POSLARVA 6		20 = 0,2891	0,2891	0,5782
POSLARVA 7		20 = 0,2891	0,2891	0,5782
POSLARVA 8		21 = 0,3036	0,3036	0,6072
POSLARVA 9		21 = 0,3036	0,3036	0,6072
POSLARVA 10		21 = 0,3036	0,3036	0,6072

Raciones

Las raciones se suministraron como indica el cuadro 1. Para la alimentación de *Artemia* se eclosionaron diariamente nauplios de la marca "Crystal Artemia Cysts". Se mantuvieron recipientes con densidad de nauplios conocida a una temperatura de 2°C, de los que se obtenían volumétricamente las raciones requeridas.

Para obtener la equivalencia número de nauplios - peso húmedo se filtraron 6 muestras de cantidades conocidas de nauplios por 30 min en papel filtro y se pesaron con balanza de precisión $\pm 0,0001$ g, descontando el papel del filtro. De esta forma se calculó la ración equivalente en peso fresco (cuadro 1) que se utilizó como ración de nemátodos. Los nemátodos se pesaron de la misma forma que la *Artemia*, y se colocaron luego pesos conocidos en recipientes a 2°C, de los que se obtenían las raciones deseadas volumétricamente.

Datos registrados

Se registró diariamente la temperatura (am y pm, $\pm 1^\circ\text{C}$) y la salinidad (refractómetro) en los recipientes. La sobrevivencia se obtuvo del número de postlarvas vivas al finalizar el ensayo. La talla se midió como longitud estándar, desde la base del pedúnculo ocular hasta el extremo del telson, utilizando el nonio ($\pm 0,1$ mm) que está adaptado al carro del microscopio, ubicando el extremo del animal en el inicio del campo visual y recorriéndolo hasta el final. La dispersión de tallas se calculó como coeficiente de variación (HARBER y RUNYON 1973, SPIEGEL 1991).

La prueba de estrés, con el fin de verificar la resistencia de las larvas a condiciones extremas, se realizó según KUBAN *et al.* (1985, en GALLARDO *et al.* 1995). Consiste en trasladar los organismos a un recipiente con salinidad de 5 ppt por espacio de una hora, devolverlos luego a la salinidad original y determinar la sobrevivencia.

El estado de desarrollo branquial, básicamente el número de ramificaciones branquiales, es un criterio utilizado por las fincas camaroneras locales como parámetro de calidad larval (BUITRAGO, com. pers.). Este parámetro se reconoció al microscopio, clasificando según la escala siguiente:

Estado 1: ramas branquiales sin ramificaciones

Estado 2: ramas branquiales con ramificaciones primarias, excepto las dos últimas.

Estado 3: todas las ramas branquiales con ramificaciones primarias y algunas con ramificaciones secundarias.

Análisis estadístico

Los datos paramétricos (sobrevivencia, talla y número de larvas resistentes a la prueba de salinidad) se analizaron mediante análisis de varianza, previa prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (STEEL y TORRIE 1985). A los datos sobre desarrollo branquial se les aplicó un test no paramétrico denominado Dócima de Kruskal-Wallis (SCHEFLER 1981).

RESULTADOS Y DISCUSION

Parámetros físico-químicos

La temperatura con un valor de 29° C tanto como la salinidad con 30 ppt permanecieron constantes durante todo el bioensayo, por lo que su posible influencia fue igual para todos los grupos.

Sobrevivencia

Con relación a este parámetro el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F = 11,7$; $P L 0,008$; $GL = 2,6$). El mejor resultado se obtuvo con el tratamiento de *Artemia* (89 ± 4 individuos sobrevivientes) seguido por nemátodo 1 (75 ± 5) y nemátodo 2 (69 ± 6). El test de Student Newmann-Keuls mostró que existen diferencias significativas entre el tratamiento *Artemia* y los de nemátodos ($P < 0,05$), sin que entre estos últimos se encuentren diferencias ($P > 0,05$).

Los valores menores de sobrevivencia para los tratamientos nemátodo 1 y 2 podrían estar justificados en la alta carga de materia orgánica que fue adicionada al medio junto con los nemátodos al momento de la alimentación. La metodología de limpieza de los nemátodos no permitió eliminar totalmente la avena acompañante. Se observó durante el experimento la persistencia de un color lechoso y de aglomerados blancos en los tratamientos de nemátodos, y además una mayor incidencia

de protozoos. Los aglomerados de materia orgánica ensucian las branquias y las setas, beneficiando grandemente a los parásitos al proporcionarles un sustrato de fijación (SAN FELIU 1986). Asimismo LIAO (1984) reporta enfermedades con bajas mortalidades o no letales debido a infecciones ocasionadas por protozoos, especialmente cuando se deteriora la calidad del agua.

KITTAKA (1964) en KITTAKA (1975) encontró que la sobrevivencia de los estadios iniciales de postlarva (PL1 – PL2) fue muy pobre (60 %) tanto con alimentación de nemátodos como con *Artemia*. El autor lo explica con el deterioro de la calidad del agua. FONTAINE *et al.* (1982) reporta sobrevivencias similares a las de este trabajo, alimentando *P. stylirostris* desde mysis I a postlarva V con el nemátodo *P. redivivus*. Otros autores como RONZANI (1989) y BIEDENBACH *et al.* (1989), no observaron diferencias significativas de sobrevivencia en larvas alimentadas con *Artemia* o con *P. redivivus*. Por el contrario AKAMINE (1984) en AKAMINE (1985) observó mayor sobrevivencia en *P. stylirostris* (M I a PL I) alimentados con *P. redivivus* que con *Artemia*. Estos resultados parecen mostrar que la alimentación con el nemátodo *P. redivivus* no es el factor determinante en la sobrevivencia, si no que ésta debe estar siendo influida por otros factores que no se han tenido en cuenta.

Talla

La longitud estándar inicial promedio fue de $4,51 \pm 0,58$ mm ($n = 30$). Al finalizar la prueba el análisis de varianza con el test de Student Newman-Kuels detectó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre todos y cada uno de los tratamientos. La mayor talla se obtuvo para el tratamiento *Artemia* ($6,4 \pm 0,8$ mm, $n=158$), seguido de N1 ($6,2 \pm 0,8$ mm, $n=133$) y N2 ($5,9 \pm 0,7$ mm, $n = 128$). También aquí, la mayor contaminación orgánica por exceso de alimento y material orgánico acompañante (avena), que se dió en los tratamientos con nemátodos, puede haber contribuido al menor crecimiento de las postlarvas (SÁNCHEZ 1986).

Otra posible causa para la diferencia entre tratamientos podría ser la atracción del alimento

para las postlarvas. Mientras que la *Artemia* resistió el enfriamiento a 2°C y se mantuvo viva, los nemátodos murieron, pudiendo esto haber influenciado su consumo por las postlarvas.

El enfriamiento podría también haber afectado al contenido nutricional de los nemátodos, ya que según KRUNSBURG (1971, en AKAMINE (1985), pierden proteínas al ser congelados.

DE LA CRUZ (1989) reporta que los diferentes subestadios larvales del camarón *Penaeus schmitti*, seleccionan las partículas alimenticias de acuerdo a su tamaño. Dado que los nemátodos ofrecidos presentaban un amplio rango de tallas (observación cualitativa realizada antes de suministrar el alimento), podría ser que una parte no haya podido ser consumida por las postlarvas..

Dispersión de tallas

FEGAN (1992) afirma que dispersiones de talla amplias pueden conllevar a canibalismo y diferencias de tallas en las fincas, además de dificultar el manejo tanto en la larvicultura, como en los procesos de producción. En este trabajo se obtuvieron dispersiones de talla del 12,50 % en el tratamiento con *Artemia*, 12,90 % en nemátodos 1 y 11,86 % en nemátodos 2, valores menores al 15 % recomendado como valor máximo por CLIFFORD (1992). Asimismo, los finqueros de la región consideran un rango entre 10 – 15 % como valor máximo de dispersión de talla que indica todavía buena calidad, para aceptar un lote de postlarvas (BUITRAGO com. pers.).

Prueba de estrés

La sobrevivencia obtenida a través de una prueba de estrés salino es un buen indicador del régimen alimenticio (GALLARDO *et al.* 1995). La prueba de estrés salino se efectuó con una muestra de 25 larvas de cada recipiente. La sobrevivencia a la prueba de estrés fue mayor en los tratamientos con nemátodos (N1: $41,3 \pm 4,9$ %, N2: $44 \pm 11,7$ %) que en el tratamiento con *Artemia* (A: $37,3 \pm 1,8$ %), pero el análisis de varianza mostró que no existen diferencias significativas entre tratamientos ($F = 0,4$; $P = 0,684$; $GL = 2,6$). Sin embargo, al no haberse establecido un dato inicial de las postlarvas con res-

Cuadro 2.
Distribución de postlarvas de *P. vannamei* en %, alimentadas con *Artemia* o con nemátodos según el grado de desarrollo branquial

Desarrollo branquial \ Tratamiento	Artemia	Nemátodo 1	Nemátodo 2
Postlarvas en desarrollo branquial 1	13,4	9,26	7,7
Postlarvas en desarrollo branquial 2	61,86	44,44	63,10
Postlarvas en desarrollo branquial 3	24,74	46,3	29,2
Tamaño muestral (n)	97	54	59

pecto a la prueba de estrés salino, no es posible saber si esta condición se deterioró durante el ensayo. Varios autores (KANASAWA *et al.* 1979 a, b; MARTIN 1980; READ 1981; PETRIELLA *et al.* 1984; LEGER *et al.* 1985, 1987; LEGER 1989; ABELIN 1991 en REES *et al.* 1994), han sostenido que un nivel apropiado de HUFAS (ácidos grasos altamente insaturados) es muy importante para la resistencia de las larvas a choques osmóticos y que la alimentación con *Artemia* suministra estos nutrientes. Al no haber diferencia en la prueba de estrés al alimentar con nemátodos, podría considerarse que éstos también suministran los HUFAS necesarios. Por otra parte, dada la corta duración del experimento, también podría ser que las postlarvas se hubieran mantenido con una reserva de HUFAS provenientes de la alimentación anterior. Por lo anterior, no es posible concluir que los nemátodos hayan suministrado los HUFAS necesarios.

Desarrollo branquial

El cuadro 2 muestra la distribución de las postlarvas entre los 3 estadios de desarrollo branquial. La prueba no paramétrica efectuada no mostró diferencias significativas entre los tratamientos ($H=4,735$; $P=0,094$; $GL=2$). Ello permite concluir que la cepa nativa de nemátodos, al igual que la *Artemia*, aporta los nutrientes necesarios para continuar con el desarrollo branquial de las postlarvas.

Los resultados de crecimiento y sobrevivencia se vieron probablemente afectados tanto por la contaminación con avena, como por el exceso de alimento en el tratamiento nemátodo 2. Las pruebas de calidad postlarval indican que no hay diferencia entre la alimentación con *Artemia* y la alimentación con el nemátodo nativo. Se concluye

que la cepa nativa de nemátodos puede, al igual que el nemátodo *P. redivivus*, constituirse en un alimento sustituto de *Artemia* en la cría de postlarvas de *P. vannamei*.

REFERENCIAS

- Akamine, Y. 1985. Cría de larvas de camarones peneidos *P. vannamei* y *P. stylirostris* usando nemátodos *Panagrellus redivivus* y rotíferos *Brachionus plicatilis* en un laboratorio comercial. ESPOL. Guayaquil. 12p.
- Bautista, C. 1988. Crustáceos. Tecnología de cultivo. Mundi-Prensa, Madrid. 180p.
- Biedenbach, J., L. Smith, T.K. Thomsen y A.L. Lawrence. 1989. Use of the nematode *Panagrellus redivivus* as an artemia replacement in a larval penaeid diet. J. World Aquac. Soc. 20:61-71.
- Buitrago Vera, Alex Rolando. 1996 (Comunicación personal).
- Clifford, H. 1992. Marine Shrimp Pond Management: A review En: Proceedings of the special session on shrimp farming, The World Aquaculture Society, 110-136p.
- De La Cruz, S.A. 1989. La selección del tamaño de las partículas alimenticias por las larvas del camarón blanco *Penaeus schmitti*. En: Larvicultura de camarones peneidos. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento. Vol I. CYTED-D. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnologías para el Desarrollo. Subprograma II: Acuicultura. 151-159p.
- Fegan, D. 1992. Recent development and issues in the penaeid shrimp hatchery industry En: Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming. The World Aquaculture Society. 55-70p.
- Fontaine, C.T., D.B. Revera, H.M. Morales y R. Mock. 1982. Observations on the mass propagation of the common soil nematode *Panagrellus redivivus* for use as foodstuff in penaeid shrimp hatcheries. NOAA. Technical Report, National Marine Fisheries Service, Galveston Laboratory, Texas, USA. 23p.

- Gallardo, P., E. Alonso, G. Gaxiola, L. Soto y C. Rosas. 1995. Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and *Artemia* naupli. *Aquaculture*. 131:239-252.
- Harber, A. y R. Runyon. 1973. *Estadística general*. Fondo Educativo Interamericano. México. 568p.
- Kahan, D. y Z. Appel. 1975. The value of *Panagrellus* (Nematoda) as food for fish. The Hebrew University of Jerusalem. Israel.
- Kittaka, J. 1975. Food and growth penaeid shrimp Proceedings of the First International Conference on Aquaculture Nutrition. 249-285p.
- Liao, C. 1984. A brief review on the larval rearing techniques of penaeid prawns. *Tungkang Marine Laboratory*, 25p.
- Pagliardini, J., M. Gómez, H. Gutiérrez, S. Zapata, A. Jurado, J. Garay, Y G. Vernet. 1982. Síntesis del proyecto Bahía de Cartagena. *Bol. Cient. CIOH*. 4: 49-110.
- Parra, D. y O. Vizcaino. 1979. *Manual de técnicas del programa de parasitología y entomología veterinaria*. ICA. Tibaitata.
- Rees, J.F., K. Cure, S. Piyatiratitivorakul, P. Sorgeloos y P. Menasveta. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Penaeus monodon* postlarvae. An experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture* 122:193-207.
- Ronzani, V. 1989. Sobrevivencia, metamorfose e crescimento da larva do camarão rosa *Penaeus paulensis*, alimentada com o nematodo *Panagrellus redivivus*. *Bol. Red. Acuicultura*. 3:13-16.
- San Feliu, J.M. 1986. Cría de langostino *Penaeus kerathurus* (Forsk., 1775). En: *Larvicultura de camarones peneidos. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento*. Vol. I. CYTED-D. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnologías para el Desarrollo. Subprograma II. Acuicultura 89-93p.
- Sánchez, M. R. 1986. Efecto nutricional relativo de cuatro especies de algas como alimento de la larva de *Penaeus vannamei*. En: *Larvicultura de camarones peneidos. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento*. Vol I. CYTED-D. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnologías para el Desarrollo. Subprograma II Acuicultura. 113-123p.
- Scheffler, W. 1981. *Bioestadística*. Fondo Educativo Interamericano. México. 267p.
- Sorgeloos, P., P. Lavens, P. Leger, W. Tackaert y D. Versileche. 1986. *Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in Aquaculture*. Facultad of Agriculture. State University of Ghent, Belgium. 319p.
- Spiegel, W. 1991. *Estadística*. McGraw Hill. México. 556p.
- Steel, R. y J. Torrie. 1985. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. Segunda edición. Ed. McGraw-Hill, Bogotá, 622p.