

Ritmo circadiano de la actividad enzimática digestiva del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* y su efecto en el horario de alimentación

Ramón Casillas-Hernández^{1*}, H. Nolasco-Soria², F. Lares-Villa¹, T. García-Galano³, O. Carrillo-Farnes⁴ y F. Vega-Villasante⁵

¹ Departamento de Ciencias Agronómicas y Veterinarias, Área de Acuicultura, Instituto Tecnológico de Sonora, 5 de febrero 818 Sur, Cd. Obregón, Sonora, México, CP: 85000

² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste A.C., La Paz, Baja California Sur, México

³ Centro de Investigaciones Marinas, La Habana, Cuba

⁴ Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba

⁵ CUCOSTA, Universidad de Guadalajara, Puerto Vallarta, Guadalajara, México

Recibido 21 Agosto 2006, revisado 19 Septiembre 2006, aceptado 3 Noviembre 2006

Circadian Rhythm of digestive enzymes and feeding schedules of white shrimp Litopenaeus vannamei

Abstract

Two experiments were carried out to determine the circadian changes of the digestive enzymatic activity (proteases), in different sizes of shrimp culture *Litopenaeus vannamei* (5, 10, 25 and 30 g), and evaluate the effect of feeding frequencies between: (a) to feed the shrimp two prior hours to the peak of activity enzymatic and (b) to feed during the peak of activity enzymatic. Growth, survival, food conversion rate and ingestion food rate were also evaluated. The experiment was designed and conducted in floating cages. The results shown that the four sizes of shrimp analyzed presented a biphasic circadian rhythm of the protease activity studied, with a period of 12 hours approximately. The first peak of enzyme activity in all sizes appeared at 10:00 hours approximately (diurnal peak) and second to the 20:00 hours (nocturnal peak). The lowest levels of activity enzymatic were present to the 00:00 hours in all sizes studied. The shrimp fed two hours before the enzymatic peak (08:00, 18:00 and 00:00 h), had significantly a greater growth rate, final size, survival and biomass, with regard to shrimps fed during the peaks of enzymatic activity. These results confirm the existence of a synchrony among the feeding activity, the enzymatic variation and the food use. To know the schedules of feeding prior to the peak of enzymatic activity have a prominent application for the semi-intensive culture of this specie.

Keywords: proteases, enzymatic activity, feeding, *Litopenaeus vannamei*.

* Autor para correspondencia

E-mail: rcasilla@itson.mx;

Tel. + 644-4100900; Fax: + 644-4100910

Introducción

México tiene una área total dedicada al cultivo del camarón de 52,648 ha, aproximadamente, de las cuales 51,059 (97%) están localizadas en el Golfo de California, en los Estados de Sinaloa y Sonora (SAGARPA/CONAPESCA, 2002). El sistema de cultivo más común en la región de Golfo California es el de tipo semiintensivo, el cual se practica en el 89% de las granjas, mientras que el sistema intensivo y extensivo se practica en el 2% y 9% de las granjas, respectivamente (Páez Osuna et al., 2003). Las prácticas de alimentación en la mayoría de estas granjas son al voleo, utilizando equipo de aspersión mecánica o embarcaciones pequeñas (Casillas et al., 2006). Los costos del alimento formulado y el trabajo asociado a la práctica de alimentación representan el mayor costo de producción del cultivo de camarón (Lee y Lawrence, 1997). De acuerdo con Cuzon et al. (1982) al utilizar un horario adecuado de alimentación el camarón consume más rápido el alimento, se reducen las pérdidas de nutrientes y mejoran las tasas de crecimiento. Seiffert, (1997) y Nunes y Parsons (1999), observaron que el camarón *Farfantepenaeus paulensis* y *Farfantepenaeus subtilis* busca activamente y consume las mayores cantidades de alimento a la misma hora cada día, después del amanecer y al atardecer. Los estudios realizados para el camarón blanco *L. vannamei*, indican que la mayor ingesta de alimento ha sido observada entre las 20:00h y 22:00h (Hernández et al., 1999), otro estudio señala que a las 12:00h (Molina et al., 2000). La alimentación circadiana referida al ciclo de luz-oscuridad ha tenido una creciente atención en la acuicultura, de acuerdo con Spieller, (2000) en al menos doce especies de peces la alimentación ha sido ajustada a la variación de luz-oscuridad, generando cambios significativos en la tasa de crecimiento, el almacenamiento de lípidos, la eficiencia en la conversión del alimento y el crecimiento gonadal. Días-Granda (1997), en su estudio sobre la alimentación circadiana del camarón *Litopenaeus schmitti* encontró que el mejor horario de alimentación para el crecimiento de esta especie es a las 10:00h de la mañana, adicionalmente encontró picos de actividad enzimática (proteolítica) asociados al horario de

alimentación. Las enzimas digestivas del camarón, particularmente las proteolíticas juegan un papel importante en la digestión y el aprovechamiento del alimento (Van Wormhoudt, 1977; Rosas et al., 2001), por esta razón consideramos que el ajustar los horarios de alimentación a la variación de las enzimas digestivas del camarón puede resultar en mejores prácticas de alimentación. El objetivo de este estudio es determinar los cambios circadianos de la actividad proteolítica en camarones de cultivo de diferentes tamaños (5, 10, 25 y 30 g) y evaluar el efecto de dos frecuencias de alimentación (1) alimentando los camarones dos horas antes del pico enzimático y (2) alimentándolos justo en los picos de actividad enzimática y determinar a su vez la tasa de crecimiento del camarón, biomasa, supervivencia y tasa de ingestión de alimento.

Material y métodos

a) Primer experimento

Material biológico y muestreo de organismos

Durante el ciclo de (marzo-noviembre de 2002), se colectaron de un mismo estanque ejemplares de *L. vannamei* producidos en laboratorio y cultivados bajo el sistema semiintensivo en la granja "Santa Margarita". Los camarones estudiados tuvieron un peso promedio: 5.0 ± 2.3 , 10.0 ± 2.8 , 25.5 ± 3.5 y 30.0 ± 4.3 . Para cada una de las tallas fue determinada la actividad enzimática digestiva circadiana, para lo cual fueron colectados 60 organismos en estadio de intermuda, según la clasificación propuesta para *Farfantepenaeus notialis* por Oliva et al. (1989). Los camarones se colocaron en una jaula de 1.0 m^2 de área de fondo por 1.8 m de altura y fueron mantenidos en reposo por 24 horas bajo condiciones de fotoperíodo natural y ayuno. Al finalizar esta etapa de aclimatación se muestrearon 5 camarones cada dos horas durante las 24 horas siguientes. Los organismos colectados se almacenaron a -40°C , para su posterior análisis.

Preparación del extracto

La glándula digestiva o hepatopáncreas, (HP) fue disectada, pesada y finalmente homogenizada en una solución amortiguadora de Tris-HCl (50 mM/L, pH 8.0), en una proporción de 1:4 (1 g de HP por 4 volúmenes de Tris-HCl). El extracto resultante se clarificó por centrifugación a 8,500 rpm por 5 minutos a 4°C , la fracción lipídica se

Tabla 1. Crecimiento, biomasa y supervivencia de *L. vannamei* (n=4 por tratamiento; valores promedio \pm error standard) alimentados en horarios ajustados a variación circadiana de la actividad proteolítica. (Tratamiento 1 alimentando los camarones dos horas antes del pico de actividad proteolítica. Tratamiento 2 alimentando los camarones durante los picos de actividad proteolítica.).

	<i>Tratamiento 1</i>	<i>Tratamiento 2</i>
Horarios de alimentación	08:00, 18:00 y 00:00h	10:00, 20:00 y 02:00h
Peso promedio inicial (g)	12.3 \pm 0.1	12.2 \pm 0.2
Peso promedio final (g)	17.8 \pm 0.15 (*)	15.9 \pm 0.5 (*)
Tasa de crecimiento (%)	44.7 \pm 0.57 (*)	30.3 \pm 1.0 (*)
Biomasa inicial (g)	246 \pm 0.74	244 \pm 1.74
Biomasa final (g/jaula)	334.5 \pm 10.2 (*)	283.0 \pm 26.1 (*)
Supervivencia (%) ^a	94 \pm 2.5 (*)	89 \pm 2.5 (*)
Tasa de ingestión de alimento (g/h/org)	0.263 \pm 0.01	0.265 \pm 0.01

a = valores transformados a log x; (*) = diferencias significativas $p < 0.05$

Tabla 2. Valores de calidad de agua (promedio \pm desviación standard) registrados durante los 60 días del bioensayo en jaulas.

Temperatura (°C)	Salinidad (mg/l)	Oxígeno (mg/l)	pH	NH ₄ -N (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)
26.9 \pm 2.1	41.6 \pm 2.0	4.06 \pm 0.3	8.3 \pm 0.3	0.04 \pm 0.04	0.002 \pm 0.0	0.6 \pm 0.4	0.55 \pm 0.01

recuperó se almacenó en congelación a -40°C hasta su análisis. Esta fracción fue considerada como el extracto enzimático.

Determinación de la Proteína

La determinación de proteínas de los extractos enzimáticos del HP se llevo a cabo por el método de Bradford (1976). La mezcla de reacción consistió en 40 μ l de extracto y 1.96 ml de reactivo de Bradford. Se agitó en el vortex y la solución se leyó en el espectrofotómetro a 595 nm. Se utilizó albúmina sérica bovina como estándar.

Determinación de la actividad proteolítica

La actividad proteolítica fue determinada de acuerdo a Hernández (1993), usando azocaseína como sustrato. La mezcla de reacción consistió en 20 μ l de extracto, añadiendo 230 μ l de Tris-HCl (50 nM/L, pH 8.0) y 500 μ l de azocaseína (0.5% en Tris-HCl). La mezcla se incubó a 35°C durante 30 min. Después de la incubación la reacción se detuvo con 500 μ l de ácido tricloroacético al 20% (TCA) y se clarificó por centrifugación (8500 rpm/10 min). La absorbancia fue registrada a 440 nm (Spectronic 2000 Baush & Lomb). La actividad específica se expresó como el número de unidades

de enzima por miligramo de proteína (U/mg). (Una unidad de actividad proteolítica se definió como la cantidad de enzima requerida para incrementar por minuto 0.01 unidades de densidad óptica (DO) a 440 nm). Todas las determinaciones fueron hechas por triplicado.

b) Segundo experimento

Para determinar el efecto del horario de alimentación ajustado a la variación proteolítica, sobre la producción del camarón, se desarrolló un experimento en la granja para el cultivo semiintensivo de camarón "Santa Margarita", ubicada en el sistema estuarino "La Atanasia-Santo Domingo", localizado entre los 110°16' y 110°13' de longitud Oeste y los 27°08' y 27°10' de latitud Norte del Estado de Sonora, México.

c) Diseño experimental y material biológico

Se establecieron dos tratamientos tomando como base la actividad proteolítica observada en los camarones de 10 g (Fig. 1); tratamiento 1, alimentando los camarones dos horas antes del pico

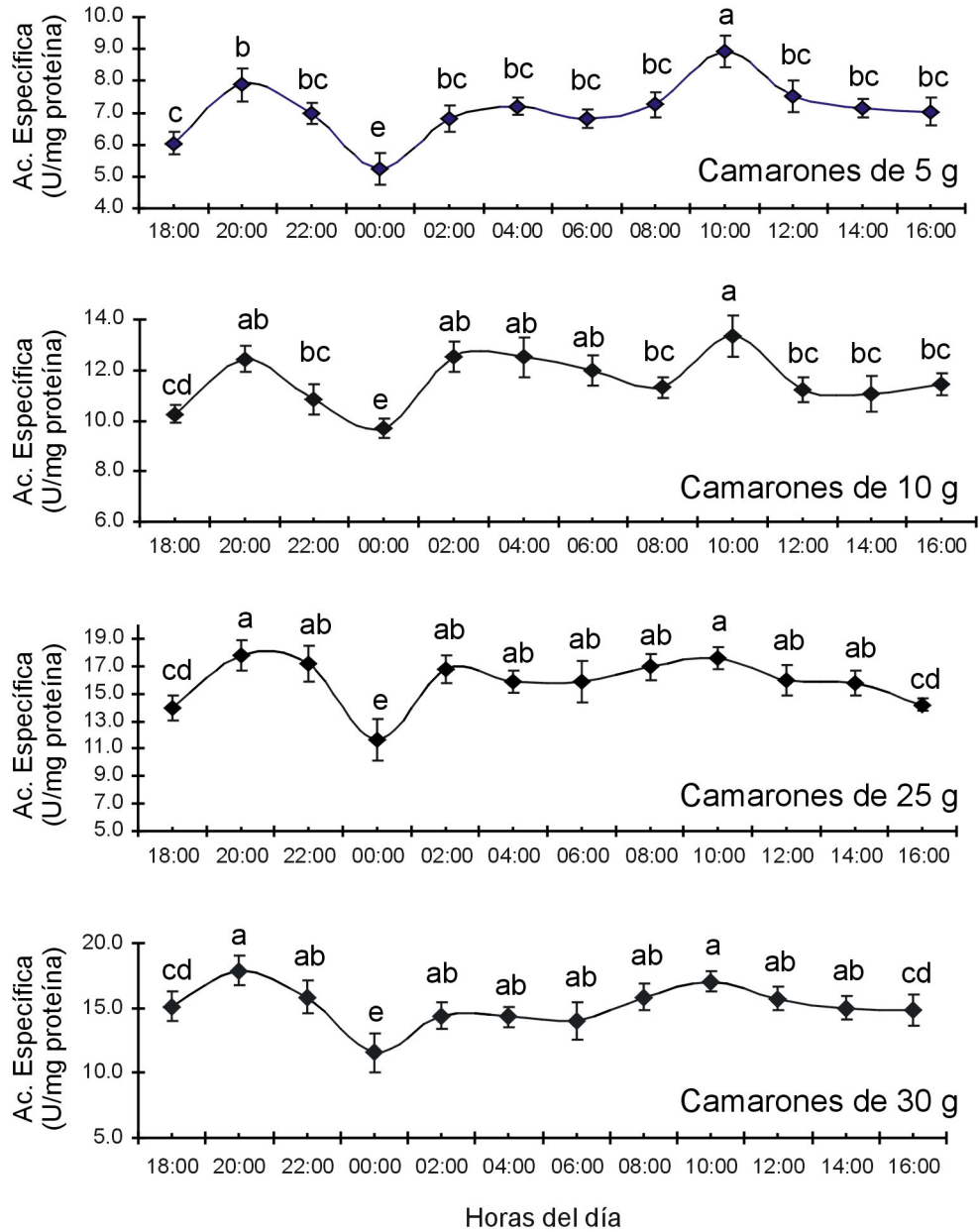


Figura 1. Variación circadiana de la actividad proteolítica, en camarones de diferentes tallas mantenidos en condiciones de fotoperíodo natural y ayuno.

enzimático (08:00, 18:00 y 00:00h), y tratamiento 2, alimentando durante los picos de actividad enzimática (10:00, 20:00 y 02:00h). El experimento se desarrolló durante 60 días, utilizando cuatro jaulas por cada tratamiento distribuidas en bloques al azar. En cada jaula se colocaron al azar 20 camarones de *L. vannamei* con un peso de 12.0 ± 0.9 g. El alimento utilizado fue Camaronina-35 (Agribands PurinaMR) que contenía un 88% de materia seca, 8% de lípidos y 35% de proteína cruda. El alimento fue suministrado tres veces al día. Fueron utilizados comederos de 20 cm de diámetro (uno por cada jaula), contruidos con malla de 500 micras y material de PVC de acuerdo a lo recomendado por Seiffert (1997). El alimento fue agregado *ad libitum* (a disposición durante 2 horas) considerando los criterios de consumo establecidos por Cruz (1991). Al término de las 2 horas el sobrante del alimento en los comederos fue retirado cuidadosamente y empacado en bolsas de plástico y congelado a -20°C para su posterior análisis. La cantidad diaria de alimento fue ajustada de acuerdo al criterio visual de consumo (Seiffert y Foes, 2002).

La tasa de ingestión de materia seca en gramos/hora fue calculada de acuerdo a Sick et al. (1973):

$$I = \frac{M_i - M_f - M_p}{T} \quad (1)$$

donde:

I= tasa de ingestión de materia seca en gramos por hora, M_i = peso inicial de la materia seca de la ración en gramos colocada en cada unidad experimental, M_f = peso final de materia seca del sobrante de la ración en gramos de cada unidad experimental, M_p = pérdida de la materia seca (14%) obtenida a través del cálculo establecido por Seiffert, (1997) y T= tiempo de permanencia de la ración en la unidad experimental.

d) Crecimiento, sobrevivencia y factor de conversión alimenticia

Al final del bioensayo todos los camarones de cada una de las jaulas fueron pesados individualmente utilizando una balanza analítica OHAUS con una precisión de 0.01 g. Para evaluar el creci-

miento de los camarones se empleó la expresión $TC = (P_f - P_i / P_i) \times 100$, donde P_f es el peso al final del período y P_i el peso al iniciar la evaluación (D'Abramo y Castell, 1997). La producción de biomasa de camarón en cada uno de los tratamientos fue calculada al final del experimento en gramos/jaula. El factor de conversión alimenticia se calculó de acuerdo a la fórmula $FCA = AFI_{DM} / W_{t_w}$; donde AFI_{DM} = alimento que ingresó en base seca (g) y W_{t_w} = peso ganado como biomasa de camarón (g). El porcentaje de supervivencia fue calculada de manera directa considerando el número final de organismos cosechados en cada jaula.

e) Calidad de agua

Durante el bioensayo fueron tomadas lecturas diarias in situ de los parámetros tales como: oxígeno disuelto y temperatura (tomados dos veces por día a las 06:00 y 14:00 h) utilizando un equipo portátil (Oxímetro YSI-B55). La salinidad y pH fueron medidos una vez por día (14:00 h) utilizando un refractómetro portátil y un medidor de pH (Bio-Marine). Semanalmente se tomaron muestras de agua en el lugar donde se encontraban las jaulas de acuerdo a lo establecido en (Casillas et al., 2006a), la determinación de amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$), nitrato ($\text{NO}_3\text{-N}$) nitritos ($\text{NO}_2\text{-N}$), fosfatos ($\text{PO}_4\text{-P}$), se realizó de acuerdo a la metodología (APHA-AWWA-WPCF, 1989). La precisión de las determinaciones expresada como el coeficiente de variación fue de 10% para el amonio, 5% para los nitratos, 4% para los nitritos, 3% para los fosfatos.

f) Tratamiento estadístico

A los datos de talla final del camarón, producción, alimento suministrado, tasa de ingestión, factor de conversión alimenticia y variación de la actividad proteolítica se les comprobó la normalidad mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de varianza mediante la prueba de Levene, posteriormente se realizó un análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y una prueba de rangos múltiples de Tukey (Sokal y Rohlf, 1984). Los datos de sobrevivencia fueron transformados a log x, (Reyes, 1985).

En todas las pruebas se utilizó un nivel de significación $p < 0.05$. Se empleó el software

STATGRAPHICS versión 7.0.

Resultados

a) Primer experimento

Ritmo circadiano de la actividad enzimática proteolítica

La variación circadiana de la actividad proteolítica se muestra en la Fig. 1. En los camarones de 5 y 10 g la variación fue muy similar con dos picos máximos; uno a las 10:00 h (cuatro horas después del amanecer) y el otro a las 20:00 h (dos horas después de la caída de la tarde), y un valor mínimo a las 00:00 h. En los camarones de 25 y 30 g la fluctuación es muy similar, particularmente durante el periodo de oscuridad (de las 18:00 a las 06:00 h), donde la actividad se incrementa entre las 18:00 a las 20:00 h, para posteriormente disminuir significativamente.

b) Segundo experimento

Efecto del horario de alimentación ajustado al ritmo circadiano de la actividad proteolítica: crecimiento, producción y supervivencia

En la Tabla 1 se muestra el crecimiento, la biomasa y la supervivencia del camarón. Los camarones alimentados dos horas antes del pico de actividad proteolítica (08:00, 18:00 y 00:00 h), tuvieron al final del bioensayo el mayor peso (17.8 ± 0.15 g), tasa de crecimiento (35.9 ± 0.57 %), biomasa de (313.5 ± 10.2 g por jaula) y una supervivencia 94 ± 2.5 %, significativamente superior a los camarones que fueron alimentados durante los picos de actividad enzimática. La tasa de ingestión de alimento fue muy similar entre ambos tratamientos (0.265 g/h y 0.263 g/h). (Tabla 1).

c) Calidad de agua

En la Tabla 2 se muestran los valores de calidad de agua registrados durante el bioensayo. En general se observa que la calidad de agua se mantuvo dentro de lo recomendado para camarones peneidos (Chamberlain, 1988) y en particular para la especie *L. vannamei* (Villalón, 1991).

Discusión

Ritmo circadiano de alimentación

Las variaciones de marcadores bioquímicos en los invertebrados, a lo largo de un día solar han sido del interés científico desde el inicio del siglo pasado. Estos ciclos han sido reconocidos como una parte importante de la fisiología de los crustáceos donde la luz juega un papel preponderante (Fanjul-Moles et al. 1992). Muchas especies utilizan las variaciones estacionales de la duración del día (fotoperiodo) como un botón externo temporal para desencadenar muchos procesos bioquímicos y fisiológicos. Los primeros estudios de la actividad circadiana de enzimas digestivas fueron desarrollados por Hirsch y Jacob (1929). El desarrollo de este aspecto de la fisiología de los invertebrados alcanzó un gran avance cuando se demostró que las condiciones ambientales influenciaban la actividad enzimática digestiva de los crustáceos (Vega-Villasante et al. 1999). De acuerdo con Van Wormhoudt (1977), dos grandes factores pueden participar en los ritmos de secreción de enzimas digestivas: el factor trófico y el ritmo interno. Ambos pueden ser ajustados por variaciones de los factores ambientales, particularmente las condiciones de luminosidad. Este mismo autor sugiere que los patrones de variación de las enzimas digestivas en camarón se mantienen incluso en condiciones de ayuno.

Algunos autores han encontrado que la síntesis y activación de algunas moléculas tales como: el contenido de proteína, lípidos y esteroides en la hemolinfa, poseen un comportamiento cíclico diario (Moureau et al., 1984; Vázquez-Boucard et al., 1989). De igual forma se ha comprobado que la actividad locomotora y la alimentaria (incluida la actividad de enzimas digestivas) poseen un ritmo generalmente influenciado por los diversos patrones de luz que ocurren durante un día (Díaz-Granda, 1997; González et al., 1997; Seiffert, 1997; Molina et al., 2000).

De acuerdo con los resultados de este trabajo la actividad proteolítica de *L. vannamei* posee un rit-

mo circadiano bifásico, con un periodo aproximado de 12 horas entre los dos picos de máxima actividad enzimática. Un patrón similar fue observado por González et al., (1995) para la actividad de las proteasas generales en camarones adultos de *Litopenaeus schmitti* mantenidos en ayuno de 72 horas. De igual forma Vega-Villasante et al. (1999) encontraron en *Callinectes arcuatus* un ritmo bifásico de actividad de proteasas, amilasas y lipasas, durante las primeras horas de la noche y después del amanecer. La actividad proteolítica más baja en nuestro trabajo se registró a las 00:00h en todas las tallas estudiadas. Este comportamiento difiere del registrado en *Litopenaeus schmitti* el cual registra su actividad más baja a las 12:00h y 02:00, lo cual posiblemente esté relacionado con la latitud del sitio de estudio. De igual forma los picos de máxima actividad registrados en nuestro trabajo (10:00h, 20:00h), no coinciden con lo reportado para *Litopenaeus schmitti* (González et al., 1995), no obstante, tienen similitud con los registrados en juveniles de *L. vannamei* estudiados en Baja California Sur, México, (Nolasco et al., 1997).

El conocimiento de los ritmos de actividad de las enzimas digestivas en los camarones puede aportar información que ayude a establecer la hora y la frecuencia de la alimentación para los organismos en cultivo. Lo anterior debido a que al establecer el tiempo que demoran las enzimas digestivas en alcanzar su máxima actividad, después de la ingestión del alimento, se pueden inferir las horas en que esta especie se alimenta (González et al., 1995).

Molina et al., (2000) reportaron para *L. vannamei* que la máxima actividad de proteasas, amilasas y lipasas ocurría dos horas después (14:00 h) de la mayor tasa de ingestión de alimento (12:00h). De acuerdo con el resultado de nuestro trabajo y considerando los antecedentes señalados, podríamos asumir que las tasas de ingestión con el mayor aprovechamiento del alimento de *L. vannamei* ocurren preferentemente al atardecer (18:00h), media noche (00:00h) y durante la mañana (8:00h).

Horario de alimentación y variación circadiana de las enzimas proteolíticas

En nuestro trabajo los camarones alimentados dos horas antes del pico de actividad proteolítica (18:00h, 00:00h y 10:00h) tuvieron significativamente una mayor tasa de crecimiento, sobrevivencia y biomasa final. Basándonos en los resultados obtenidos, se sugiere que el suministro del alimento dos horas antes del pico de actividad enzimática favoreció una mayor asimilación de los nutrientes. Durante el período de ingestión de alimento algunos crustáceos realizan una descarga inicial de células B, mediante un mecanismo holócrino, posteriormente estas células sostienen una secuencia de actividades para el procesamiento de los nutrientes como; absorción, condensación, digestión intracelular y asimilación (Gibson y Barker, 1977; Gibson, 1981). Recientemente se ha encontrado que algunas enzimas digestivas como la tripsina se sintetiza en forma de su zimógeno (tripsinógeno), el cual activa el proceso enzimático y la acción proteolítica (Sainz et al., 2004). Estos mismos autores señalan que la activación de la tripsina es casi siempre estimulada por el alimento ya que el tripsinógeno esta asociado a las partículas del mismo, encontradas en el hepatopáncreas de *L. vannamei*.

El alimento ofrecido dos horas antes del pico de actividad proteolítica de *L. vannamei* generó significativamente mayores tasas de crecimiento, biomasa y sobrevivencia, lo cual pudo deberse de acuerdo con Rosas et al. (2001) a una transformación importante en el metabolismo de las proteínas de la dieta. Estos autores observaron que dos horas después de haber ingerido el alimento *L. vannamei* incrementó significativamente el consumo de oxígeno hasta en un 174%, la excreción de nitrógeno un 170% y el incremento aparente de calor un 92%. Este aumento significativo del metabolismo del camarón, dos horas después de haber ingerido el alimento, es originado por los procesos involucrados en las transformaciones mecánicas y bioquímicas de la ingesta de alimento, tales como el metabolismo de las proteínas de las

dietas como fuente de energía y la excreción de amonio como resultado principal del catabolismo de aminoácidos de origen alimenticio y metabólico.

Los resultados del presente trabajo sugieren que, aunado a los factores de índole metabólico, ofrecer el alimento dos horas antes del pico máximo de actividad proteolítica permite una más eficiente humectación del pelet, lo que permite la liberación de moléculas atractantes para su quimiodetección y la adquisición de una mejor consistencia para la masticación o reducción mecánica de las partículas, previamente al proceso de ingestión del camarón. Además se evitan las pérdidas excesivas de nutrientes por lixiviación al favorecer la incorporación del alimento al tracto digestivo muy cerca del horario donde el camarón presenta su máxima capacidad digestiva, incrementando la velocidad de hidrólisis y por tanto favoreciendo la digestión completa de los polímeros alimentarios para su absorción y metabolismo. Las tasas de ingestión de alimento registradas en nuestro trabajo no mostraron diferencias significativas entre los distintos horarios de alimentación evaluados, lo cual sugiere que *L. vannamei* puede consumir alimento de forma intermitente a lo largo del día, al igual que otras especies como *F. paulensis* (Seiffert, 1997), sin embargo, en nuestro trabajo los mejores resultados observados en términos de un mayor crecimiento, sobrevivencia y biomasa, fue para los camarones alimentados dos horas antes del pico de actividad proteolítica, lo cual sugiere que en dichos horarios de alimentación el camarón pudo alinear sus ritmos internos y consecuentemente incorporar una mayor cantidad de material alimenticio para el crecimiento. En un trabajo de revisión realizado por Nolasco-Soria y Vega-Villasante (2000) fue posible apreciar que en los camarones, a pesar de contar con un ritmo generalmente bifásico de actividad enzimática, es posible ejercer una estimulación exógena a través de los diferentes horarios de alimentación y de esta manera ajustar tales actividades a la programación de alimentación del estanque. Sin embargo no está claro si la modificación de los ritmos fisiológicos de alimentación puede influenciar negativamente el crecimiento o salud de los organismos. En nuestro experimento el efecto de la variación de los parámetros fisicoquímicos registrados pudiera con-

siderarse como mínimo, debido a que las variaciones de calidad de agua y los flujos químicos registrados durante el experimento se encuentran en el intervalo óptimo para esta especie (Villalón, 1991; Casillas et al., 2006a). De todo lo analizado, resulta evidente que el camarón tiene un mayor aprovechamiento del alimento, según el momento del día en que es consumido, lo cual podría tener un impacto favorable para la producción semi-intensiva de *L. vannamei*.

Conclusiones

Se logró evaluar el efecto del fotoperíodo natural sobre los cambios circadianos de la actividad proteolítica en el camarón blanco *L. vannamei* en diferentes tallas de cultivo. El ritmo observado sugiere una sincronía con picos y valles definidos que permitieron establecer horarios de alimentación prácticos para el cultivo semiintensivo de la región.

Se confirma la existencia de una sincronía entre la actividad alimentaria del camarón y la variación enzimática, demostrándose que los horarios de alimentación ajustados a la variación proteolítica tienen un efecto significativo sobre el aprovechamiento del alimento, expresado en términos de crecimiento y producción de biomasa de camarón.

Bibliografía

- APHA-AWWA-WPCF. 1989. American Public Health Association, American Water Works Association and Water Pollution Control Federation. Standard Methods for the examination of water and wastewater. 17th ed. American Public Health Association, Washington D.C 325 pp.
- Barker, P.L. y R. Gibson. 1977. Observation on the feeding mechanism, structure of the gut and digestive physiology of the European lobster *Homarus gammarus* L. (Decapoda:Nephropidae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 26: 297-324.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analyt. Biochem., 72: 248-254.
- Casillas-Hernández, R., F. Magallón-Barajas., G. Portillo Clark., y F. Páez-Osuna. 2006. Nutrient mass balances in semi-intensive shrimp ponds from Sonora, México using two feeding strategies: Trays and mechanical dispersal. Aquaculture, 258: 289-298.
- Casillas-Hernández, R., H. Nolasco-Soria., T. García-Galano.,

- O. Carrillo-Farnes, y F. Páez-Osuna. 2006a. Water quality, chemical fluxes and production in semi-intensive Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) culture ponds utilizing two different feeding strategies. *Aquacultural Engineering* (en prensa).
- Chamberlain, G.W. 1988. Rethinking shrimp pond management. *Coastal Aquaculture, Texas Agricultural Extension Service, Sea Grant College Program*, 5: 1-19.
- Cruz, P.S. 1991. Shrimp feeding management: Principles and practices, Inc. 440-442 R. Magsaysay Avenue Davao City, Philippines. p. 1-57.
- Cuzon, G. M. Hew; D. Cognie y P. Solectchnik. 1982. Time lag effect of feeding on growth of juvenile shrimp *P. japonicus* Bate. *Aquaculture*, 29: 33-44.
- Díaz-Granda, A.E., 1997. Horarios de alimentación del camarón *Penaeus schmitti* en condiciones de cultivo semi-intensivo. Tesis de Maestría, Centro de Investigaciones Marinas, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, Cuba.
- Fanjul-Moles, M.L., M. Miranda-Anaya y B. Fuentes-Pardo. 1992. Effect of monochromatic light upon the ERG circadian rhythm during ontogeny in crayfish *Procambarus clarkii*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 102A: 99-106.
- Gibson, R., 1981. Feeding and digestion in decapod crustaceans. En Garry D. Pruder, Christopher J. Langdon y Douglas E. Conklin (Eds), *Proceedings of the second international conference on aquaculture nutrition: biochemical and physiological approaches to shellfish nutrition*, Baton Rouge Louisiana, 1982. pp 59-70.
- Gibson, R. y P.L. Barker. 1979. The decapod hepatopancreas. *Oceanog. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 17: 285-346.
- González, R.V., A. Suárez y O. Carrillo. 1997. Ritmo circadiano de las proteasas generales en adultos de *Penaeus schmitti*. I. Efecto del horario de alimentación. *Revista de Investigaciones Marinas*, 18: 162-168.
- González, R.V., M. Gómez, y O. Carrillo. 1995. Variaciones cronobiológicas en la actividad de las principales enzimas proteolíticas de *Penaeus schmitti* y *P. notialis*. *Revista de Investigaciones Marinas*, 16: 177-183.
- Hernández, C.M. P. 1993. Crustacean protease characterization biochemical and molecular consideration. *Comprehensive summary Ph D thesis*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, la Paz, B.C.S. México, p. 26.
- Hernández, C.M.P., W. Cuadros-Seiffert., M.A. Navarrete Del Toro., G. Portillo., G. Colado y F.L. García-Carreño. 1999. Rate of ingestion and proteolytic activity in digestive system of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, during continual feeding. *Journal of Applied Aquaculture*, 9: 35-45.
- Hirsch, G.C. y W. Jacob. 1929. Der arbeiterrhythmus der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. *Zetisch. F. Vergl. Physiol.*, 8: 102-144.
- Lee, P.G., y A.L. Lawrence., 1997. Effects of diet and size on growth, feed digestibility and digestive enzyme activities of the marine shrimp, *Penaeus setiferus* Linnaeus. *Journal World Aquaculture Society*, 16: 275-287.
- Molina, P.C., E. Cadena y F. Orellana. 2000. Alimentación de camarones en relación a la actividad enzimática como una respuesta natural al ritmo circadiano y ciclo de muda. In: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A., y Civera-Cerecedo. R. (Eds). V Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 19-22 nov. De 2000. Mérida Yuc. México.
- Moureau C.E., C.G. Boucard. y H.J. Ceccaldi. 1984. Variations circadiennes des activites esterases de l'hémolymphe de *Penaeus japonicus*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 12: 103-107 p.
- Nolasco, H., Tovar-Ramírez, D., Flores-Bravo, M.A., García-Aboites, C., Vega-Villasante, F., Oliva, M. y I. Fernández. 1997. Digestive enzymatic activity of shrimp and relation with the circadian rhythm and bacterial flora. *La Bioquímica en la Biotecnología Marina, Universidad de La Habana*. (ED). pp 44.
- Nolasco-Soria., H. y F. Vega-Villasante. 2000. Actividad enzimática digestiva, ritmos circadianos y su relación con la alimentación del camarón. pp 149-165 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) *Avances en Nutrición Acuicola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.
- Nunes, A.J.P. y G.J. Parsons. 1999. Feeding levels of the Southern brown shrimp *Penaeus subtilis* in response to food dispersal. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30: 331-348.
- Oliva, M., I. Fernández y L. Ramos. 1989. Descripción de los estadios y sub-estadios del ciclo de muda en el camarón rosado *Penaeus notialis*, Pérez Farfante, 1967. *Rev. Invest. Mar.*, 9: 91-101.
- Páez-Osuna, F., García, A., Flores-Verdugo, F., Lyle-Fritch, L.P., Alonso-Rodríguez, R., Roque, A., y Ruíz-Fernández A.C. 2003. Shrimp aquaculture development and the environment in the Gula of California ecoregion. *Marine Pollution Bulletin*, 46: 806-815.
- Reyes, P.C. 1985. Diseño de experimentos aplicados; agronomía, biología, química, industrias, ciencias sociales, ciencias de la salud. México. Editorial Trillas. 348 pp.
- Rosas, C., G. Cuzon., G. Gaxiola., Y. Le Priol., C. Pascual., J. Rossignol., F. Contreras., A. Sánchez., y A. Van Wormhoudt. 2001. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: effect of salinity and dietary carbohydrate levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259: 1-22.
- SAGARPA-CONAPESCA (2002) www.sagarpa.gob.mx/pesca/anuario2002.
- Sainz, J.C., F. García-Carreño., A. Sierra-Beltrán., y P. Hernández-Cortes. 2004. Trypsin synthesis and storage as zymogen in the midgut gland of the shrimp *Litopenaeus vanamei*. *Journal of Crustacean biology*, 24: 266-273.
- Seiffert, Q.W. 1997. Efeito do horario de distribuicao de alimento sobre o consumo de matría seca no cultivo do camarao "rosa" *Penaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967). Tesis Mestre. Universidad Federal de Santa Catarina. Brasil. 85 pp.
- Seiffert, Q.W. y G.K. Foes. 2002. Manejo alimentar a través de bandejas de alimentacao. Programa Estadual de Cultivo de Camarao marinho. EPAGRI-UFSC. 4 pp.
- Sick, L. V., D. White y G.T. Baptist. 1973. The effect of duration of feeding amount of food, light intensity, and animal size on rate of ingestion of pelleted food by juvenile penaeid shrimp. *The Progressive Fish-Culturist*, v.1 n. 35. p

- 22-25.
- Sokoal, R.R. y F.J. Rohlf. 1984. Biometry. Freeman Co. (Eds). San Francisco Cal. USA. 776 pp.
- STATGRAPHICS. 1999. Statgraphics-Statical Graphics System. Statical Graphics System. Statical Graphics Corporation. MD, USA.
- Van-Wormhoudt, A. 1977. Activités, enzymatiques digestives chez *Palemon serratus* variations annuelles de l'acrophase des rythmes circadiens. Biochem. System. Ecol., 5: 301-307.
- Vázquez-Boucard C., R. Galois y H.J. Ceccaldi. 1989. Variations circadiennes des lipides et lipoprotéines de l'hémolymphe, et des lipides de l'hépatopancréas, ches la crevette *Penaeus japonicus*. Archives Internatioinales de Physiologie et de Biochimie, 97: 87-93.
- Vega-Villasante, F., Fernández, I., Oliva, M., Preciado, M. y H. Nolasco. 1999. The activity of digestive enzymes during the molting stages of the arched swimming *Callinectes arcuatus* Ordway, 1863 Bulletin of Marine Science, 65: 1-9.