

Effect of supplying four copepod densities (*Acartia* sp. and *Calanus pacificus*) on the productive response of *Litopenaeus vannamei* pregrown intensively at microcosm level

Efecto del suministro de cuatro densidades de copépodos (*Acartia* sp. y *Calanus pacificus*) en la respuesta productiva de *Litopenaeus vannamei* preengordado intensivamente a nivel microcosmos

LR Martínez-Córdova^{1*}, A Campaña-Torres², M Martínez-Porchas³

¹ Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, Luis Donaldo Colosio s/n, Hermosillo 83000, Sonora, México.

² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mar Bermejo #195, colonia Playa Palo de Santa Rita, La Paz 23090, Baja California Sur, México.

³ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, AC, Carretera a La Victoria Km 0.6, Hermosillo 83304, Sonora, México.

* Corresponding author. E-mail: lmtz@guaymas.uson.mx

ABSTRACT. A seven-week experiment was performed to evaluate the effect of supplying copepods (*Acartia* sp. and *Calanus pacificus*), as exogenous feed during the intensive pre-growout phase of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*), on the productive parameters and water quality. Five treatments were tested in which shrimp were fed formulated feed and the addition of 0 (control), 1, 2, 4, or 8 copepods mL⁻¹. Treatments with 1 and 4 copepods mL⁻¹ had higher ammonia nitrogen levels than the rest of the treatments (>4 mg L⁻¹). Nitrite levels were significantly higher in the treatment with 8 copepods mL⁻¹, whereas nitrate levels were higher in all treatments relative to the control. Phosphate concentration was higher in the treatments with 4 and 8 copepods mL⁻¹. Shrimp from the treatments with 2, 4, and 8 copepods mL⁻¹ showed a higher survival (>93%), weight (>3.1 g), and final biomass (>77 g). The treatment with 2 copepods mL⁻¹ had the best feed conversion ratio (1.19) compared with the rest (>1.7). The results suggest that the additional supply of copepods as exogenous feed during the intensive pre-growout phase of shrimp culture can have a negative effect on the water quality, although survival was not affected; however, the effect on the production parameters was positive, indicating that the use of copepods as exogenous live feed is feasible in the culture of white shrimp.

Key words: natural feed, water quality, growth, intensive production, zooplankton.

RESUMEN. Se realizó un experimento durante siete semanas para evaluar el efecto del suministro de copépodos (*Acartia* sp. y *Calanus pacificus*), como alimento exógeno durante la preengorda intensiva de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), en los parámetros de producción y la calidad del agua. Se probaron cinco tratamientos en los que el camarón fue alimentado con dieta formulada más la adición de 0 (control), 1, 2, 4 u 8 copépodos mL⁻¹. En los tratamientos con 1 y 4 copépodos mL⁻¹ se observaron niveles de nitrógeno amoniacal total superiores al resto de los tratamientos (>4 mg L⁻¹). El nivel de nitritos fue significativamente más alto en el tratamiento con 8 copépodos mL⁻¹, mientras que el de nitratos fue más elevado en todos los tratamientos en comparación con el control. La concentración de fosfatos fue superior en los tratamientos con 4 y 8 copépodos mL⁻¹. Los camarones en los tratamientos con 2, 4 y 8 copépodos mL⁻¹ presentaron mayor supervivencia (>93%), peso (>3.1 g) y biomasa final (>77 g). El tratamiento con 2 copépodos mL⁻¹ presentó el mejor factor de conversión alimenticia (1.19) en comparación con el resto (>1.7). Los resultados sugieren que la adición de copépodos como alimento natural exógeno durante la preengorda intensiva del camarón puede tener un efecto negativo sobre la calidad del agua, aunque esto no afectó la supervivencia; sin embargo, el efecto en los parámetros de producción fue positivo y se considera viable el uso de copépodos como alimento vivo para la etapa de preengorda en el cultivo de camarón blanco.

Palabras clave: alimento natural, calidad de agua, crecimiento, producción intensiva, zooplancton.

INTRODUCTION

The notable growth of shrimp aquaculture in the world, with production above four million tons at world scale and more than 130,000 t in Mexico (Juárez 2008, FAO 2009), has had a significant impact on the economy of the practicing

INTRODUCCIÓN

El crecimiento notable de la actividad camaronícola en el mundo, con producciones superiores a los cuatro millones de toneladas a nivel mundial y más de 130,000 t en México (Juárez 2008, FAO 2009), ha tenido un impacto

countries, especially on the generation of employment and currencies. It is important that such growth remain constant but sustainable; in other words, environmentally friendly but still profitable. There are several actions that can be taken to collaborate in this important purpose. One of them is the reduction in the use of formulated feeds, in particular those containing fish meal and other aquatic organisms as their main component, because they are not only expensive, but also negatively impact the fisheries from which they are obtained (Naylor *et al.* 2000). Moreover, these feeds contaminate both the culture systems and the water-discharge receiving ecosystems (Martínez-Córdova *et al.* 2009). The use of natural food has been suggested as one of the most viable strategies to reduce the amount of formulated feed (Campaña-Torres *et al.* 2009, Ballester *et al.* 2010, Porchas-Cornejo *et al.* 2010). It has been shown that this kind of food can contribute an appropriate amount of nutrients to cultured organisms (Bombero-Tuburan *et al.* 1993, Khatoon *et al.* 2009). Natural food can be both exogenous, that is, promoted and produced within the same culture systems (Cardozo *et al.* 2008, Martínez-Córdova 2009), and exogenous, that is, captured or cultured outside the culture systems and subsequently incorporated into them. The use of exogenous natural food has been implemented for some time, although it is mainly used in larval culture and occasionally in the nursery culture of diverse aquatic organisms; it is seldom used in the pre-growout phase and hardly ever in the growout phase. The organisms used as natural food include copepods (Rippingale and Payne 2005, Farhadian *et al.* 2009), rotifers (Campaña-Torres *et al.* 2009), cladocerans (Wiwattanapatapee *et al.* 2002, Martin *et al.* 2006), and brine shrimp (Faleiro and Narciso 2009, Campaña-Torres *et al.* 2010, González *et al.* 2010), among others.

Copepods are probably the most common and abundant zooplankton species used in shrimp culture ponds and are therefore easily obtained. They also form an important part of the penaeid shrimp diet (Martínez-Córdova and Peña-Messina 2005). Their nutritional value has been documented by diverse researchers including Watanabe *et al.* (1983) and Tho *et al.* (2011). Farhadian *et al.* (2009) found that the copepod *Apocyclops dengizicus* can be a protein and lipid source for cultured organisms, since they typically have 39–42% protein content and 16–19% lipid content, depending on the microalgae used to feed them.

Copepods, together with *Artemia*, are one of the most widely used organisms as natural food in larval fish and crustacean culture. Rippingale and Payne (2005) demonstrated the convenience of using *Gladioferens imparipes* for the intensive culture of fish larvae. Shields *et al.* (1999) found that *Eurytemora velox* has a better nutritional value than *Artemia* for the culture of *Hippoglossus hippoglossus* larvae. Chesney (2005) conducted an extensive revision of the role of copepods as live prey and the factors influencing their success as natural food for fish larvae. Nonetheless, despite the success that the use of copepods has had in aquaculture, their

significativo en la economía de las naciones que la practican, especialmente en la creación de empleos y generación de divisas. Es muy importante que este crecimiento se mantenga constante, pero de manera sustentable; es decir, ambientalmente amigable sin dejar de ser redituable. Existen diversas acciones que se puede tomar para colaborar en este importante propósito. Una de ellas es la reducción en la utilización de alimentos formulados, sobre todo de aquellos que usan harina de pescado y de otros organismos acuáticos como su ingrediente principal, ya que no solamente son costosos, sino que además implican un impacto negativo en las pesquerías de donde se obtienen (Naylor *et al.* 2000). Por otra parte, estos alimentos son contaminantes tanto de los mismos sistemas de producción acuícola como de los ecosistemas receptores de las descargas (Martínez-Córdova *et al.* 2009). El uso de alimento natural se ha sugerido como una de las estrategias más viables para reducir el suministro de alimento formulado (Campaña-Torres *et al.* 2009, Ballester *et al.* 2010, Porchas-Cornejo *et al.* 2010). Se ha demostrado que este tipo de alimento puede contribuir con una adecuada cantidad de nutrientes para los organismos cultivados (Bombero-Tuburan *et al.* 1993, Khatoon *et al.* 2009). El alimento natural puede ser tanto endógeno, aquél que se promueve y produce dentro de los mismos sistemas de cultivo (Cardozo *et al.* 2008; Martínez-Córdova 2009), como exógeno, aquél que se captura o cultiva fuera de los sistemas y se incorpora posteriormente a los mismos. El uso de alimento natural exógeno se ha implementado desde hace tiempo, aunque se usa principalmente en el cultivo larvario y, ocasionalmente, en la maternización de diversos organismos acuícolas; raramente se ha utilizado en la preengorda y menos aún en la engorda. Entre los organismos utilizados como alimento natural se encuentran los copépodos (Rippingale y Payne 2005, Farhadian *et al.* 2009), los rotíferos (Campaña-Torres *et al.* 2009), los cladóceros (Wiwattanapatapee *et al.* 2002, Martin *et al.* 2006), y las artemias (Faleiro y Narciso 2009, Campaña-Torres *et al.* 2010, González *et al.* 2010), entre otros.

Los copépodos son probablemente los organismos zooplanctónicos más comunes y abundantes en estanques de cultivo de camarón y, por lo tanto, fácil de conseguir. Además, forman parte importante de la dieta de camarones peneidos (Martínez-Córdova y Peña-Messina 2005). Su valor nutricional ha sido documentado por varios investigadores como Watanabe *et al.* (1983) y Tho *et al.* (2011). Farhadian *et al.* (2009) encontraron que el copépodo *Apocyclops dengizicus* puede ser una fuente de lípidos y proteína para organismos cultivados, ya que contienen niveles de proteína entre 39% y 42%, y de lípidos entre 16% y 19%, según la microalga con que son alimentados.

Por lo anterior, los copépodos son, además de la *Artemia*, uno de los organismos más utilizados ampliamente como alimento vivo en el cultivo larvario de peces y crustáceos. Rippingale y Payne (2005) demostraron la conveniencia del uso de *Gladioferens imparipes* para el cultivo intensivo

use in nursery, pre-growout, and growout phases is limited, particularly in crustacean culture.

The objective of this study was to evaluate the effect of the supply of different concentrations of copepods (*Acartia* sp. and *Calanus pacificus*) on the productive response of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) during the intensive pre-growout phase at microcosm level, as well as on the water quality of the system.

MATERIAL AND METHODS

This study was carried out during seven weeks at the Kino Experimental Unit of the Department of Scientific and Technological Research of the University of Sonora, located at Kino Bay (Sonora, Mexico).

The strain of *Acartia* sp. was obtained from the aquaculture facilities of the Autonomous University of Jalisco at Tomatlán (Jalisco, Mexico). The strain of *C. pacificus* was isolated from the shrimp culture ponds of the University of Sonora at Kino Bay. Strain maintenance and copepod culture were performed according to the methodology described by Fukusho (1989) and Fengqi (2003). Copepods were maintained in 2-L Erlenmeyer flasks at a temperature of 26 ± 1 °C and fed the microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Chaetoceros muellerii*. The culture was then scaled in indoor facilities using 19-L polyethylene terephthalate tanks, and finally transferred to 80-L fiberglass columns to guarantee the required production during the experiment. Copepod harvesting was carried out once the organisms achieved a concentration exceeding 300 organisms mL⁻¹, using a 60- μ m sieve. *Litopenaeus vannamei* postlarvae were obtained from a commercial laboratory (Maricultura del Pacífico SA), and nursed in the laboratory until they achieved the desired size.

The addition of copepods in the pre-growout phase of shrimp culture was evaluated at microcosm level using 40-L plastic tanks with an operational volume of 30 L. A simple, completely randomized design was used with three repetitions per treatment. Treatments consisted of five levels of daily inclusion (09:00 h) of copepods *Acartia* sp. and *C. pacificus* at a 1:1 ratio. The addition levels were 0 (control), 1, 2, 4, and 8 copepods mL⁻¹. Twenty-five juvenile shrimp weighing 0.1 ± 0.02 g were placed in each experimental unit (0.83 individuals L⁻¹). Additionally, shrimp were also supplied commercial feed containing 35% crude protein (Camaronina, Purina, Mexico) in two daily rations (09:00 and 20:00 h), corresponding to 5% of their total biomass.

Dissolved oxygen levels in the experimental units were maintained above 5 mg L⁻¹ using a 1-HP blower, and temperatures were maintained around 27 ± 1 °C using 150-W air heaters. No water exchange was carried out throughout the experiment, though water loss due to evaporation was compensated by adding previously aerated and dechlorinated fresh water. Physicochemical variables such as temperature, dissolved oxygen, pH, and salinity were registered daily (11:00 h) using a YSI 6600 multiparameter sensor (YSI Inc.,

de larvas de peces. Shields *et al.* (1999) encontraron que *Eurytemora velox* tiene un valor nutricional mejor que la *Artemia* para el cultivo larvario del pez plano *Hippoglossus hippoglossus*. Chesney (2005) hizo una revisión importante sobre los copépodos como presas vivas y los factores que influyen su éxito como alimento para larvas de peces. Sin embargo, a pesar del éxito que ha tenido el uso de copépodos en la acuicultura, su uso en maternización, preengorda y engorda es limitado, particularmente en el cultivo de crustáceos.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del suministro de diferentes concentraciones de copépodos (*Acartia* sp. y *Calanus pacificus*) en la respuesta productiva del camarón blanco del Pacífico, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) durante su preengorda intensiva a nivel microcosmos, así como en la calidad del agua del sistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo durante siete semanas en la Unidad Experimental Kino del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, ubicado en Bahía Kino (Sonora, México).

La cepa de *Acartia* sp. fue obtenida de las instalaciones de acuicultura de la Universidad Autónoma de Jalisco (Jalisco, México). La cepa de *C. pacificus* fue aislada de los estanques de cultivo de camarón de la Universidad de Sonora en Bahía Kino. El mantenimiento de la cepa y el cultivo de copépodos se llevaron a cabo según la metodología descrita para rotíferos por Fukusho (1989) y Fengqi (2003). Los copépodos se mantuvieron en matraces Erlenmeyer de 2 L a una temperatura de 26 ± 1 °C y se alimentaron con las microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muellerii*. Posteriormente, los cultivos se escalonaron en instalaciones bajo techo con garrafones de polietileno tereftalato de 19 L. y, finalmente, se transfirieron a columnas de fibra de vidrio de 80 L con el objetivo de garantizar la producción requerida en el experimento. Las cosechas de copépodos se realizaron una vez que los organismos alcanzaron una concentración superior a 300 organismos mL⁻¹, con un tamiz de 60 μ m. Las postlarvas *L. vannamei* se obtuvieron de un laboratorio comercial (Maricultura del Pacífico SA), y se criaron en el laboratorio hasta alcanzar la talla deseada.

La inclusión de los copépodos en la fase de preengorda de camarón se evaluó a nivel microcosmos en tinajas de plástico de 40 L con un volumen operacional de 30 L. Se diseñó un experimento simple con un arreglo completamente al azar y tres réplicas por cada tratamiento. Los tratamientos consistieron en cinco niveles de inclusión diaria (09:00 h) de los copépodos *Acartia* sp y *Calanus pacificus* en proporción 1:1. Los niveles de inclusión fueron: 0 (control), 1, 2, 4 y 8 copépodos mL⁻¹. En cada unidad experimental se colocaron 25 juveniles de *L. vannamei* con un peso de 0.1 ± 0.02 g (0.83 individuos L⁻¹). Además, a los camarones se les suministró alimento comercial con 35% de proteína cruda

Yellowspring, Ohio). Water quality parameters such as total ammonia nitrogen (TAN), nitrites, nitrates, and phosphates, were registered each week using a Hach DR 4000 programmable spectrophotometer and its respective kit of reagents (Hach Co., Loveland, Colorado).

Shrimp from each experimental unit were counted weekly and weighed on a digital balance. Biomass of each unit was calculated to estimate the following week's food ration. At the end of the experiment, the weight of each organism, survival rate, and biomass were obtained; also, the feed conversion ratio (FCR) was calculated by dividing the total of supplied food (including formulated feed and copepods on a dry weight basis) by the final shrimp biomass.

Water quality data were analyzed by a repeated measures analysis of variance using a statistical software (NCSS 2007). Final production data were analyzed by a one-way analysis of variance (Zar 1996). A Tukey test was used for mean comparisons among treatments. Survival was evaluated by a chi-square test. A confidence level of $\alpha = 0.05$ was considered for the statistical analyses.

RESULTS

No significant differences were found among treatments for temperature (25.8–28.1 °C), salinity (35–37.1), dissolved oxygen (5.4–7.7 mg L⁻¹), and pH (8.2–8.8).

Regarding water quality, differences were registered for some parameters (table 1); all treatments increased with the passage of time ($P_{time} < 0.05$, fig. 1). Higher TAN concentrations were recorded in the treatments with 1 and 4 copepods mL⁻¹, while lower values were recorded in the treatments using 2 and 8 copepods mL⁻¹. The concentration of nitrite was higher in the treatment with 8 copepods mL⁻¹ (>0.37 mg L⁻¹) than in the other treatments (<0.24 mg L⁻¹). Nitrate concentration was highest in the treatments using 1 and 8 copepods mL⁻¹, followed by the treatment using 2 copepods mL⁻¹; the lowest values were found in the treatments using 0 and 4 copepods mL⁻¹. The highest concentrations of phosphate were registered in the treatments with 4 and 8 copepods mL⁻¹.

(Camaronina de Purina, México) en dos raciones diarias (09:00 y 20:00 h), que en total correspondieron al 5% de su biomasa.

En las unidades experimentales se mantuvieron niveles de oxígeno disuelto superiores a 5 mg L⁻¹, mediante un soplador de 1 HP, y temperaturas en alrededor de 27 ± 1 °C mediante calentadores de ambiente de 150 W. No se realizó recambio de agua a lo largo del experimento, aunque la pérdida de agua por evaporación fue compensada por la adición de agua dulce previamente aireada y declorinada. Las variables fisicoquímicas como temperatura, oxígeno disuelto, pH y salinidad se registraron diariamente (11:00 h) con una sonda multi parámetros YSI 6600 (YSI Inc., Yellowspring, Ohio). Las concentraciones de nutrientes en el agua tales como nitrógeno amoniacal total (NAT), nitritos, nitratos y fosfatos se registraron semanalmente con un espectrofotómetro programable Hach DR 4000 y su respectivo kit de reactivos (Hach Co. Loveland, Colorado).

Cada semana se contaron y se pesaron en una balanza digital los camarones de cada unidad experimental. Se calculó la biomasa de cada unidad y, con base en ello, la ración de la siguiente semana. Al final del experimento se obtuvo el peso, la supervivencia y la biomasa de cada organismo; también se calculó el factor de conversión alimenticia (FCA) dividiendo el alimento total proporcionado (incluyendo el alimento formulado y los copépodos en base seca) entre la biomasa final de camarones.

Los datos de la calidad del agua fueron analizados por medio de un análisis de varianza de medidas repetidas con el software estadístico NCSS 2007. Los datos finales de los parámetros de producción se analizaron mediante un análisis de varianza de una sola vía (Zar 1996). Se utilizó una prueba de Tukey para la comparación de medias entre tratamientos. La supervivencia se evaluó con una prueba de chi cuadrada. Para los análisis estadísticos se consideró un nivel de confianza de $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias estadísticas entre tratamientos para los parámetros de temperatura (25.8–28.1 °C),

Table 1. Mean ± SD of water quality parameters in the five treatments.

Tabla 1. Promedio ± DE de los parámetros de la calidad del agua en los cinco tratamientos.

Treatment (copepods mL ⁻¹)	NH ₃ /NH ₄ (mg L ⁻¹)	N-NO ₂ (mg L ⁻¹)	N-NO ₃ (mg L ⁻¹)	P-PO ₄ (mg L ⁻¹)
0 (control)	2.17 ± 0.52 ^b	0.013 ± 0.001 ^a	5.63 ± 2.52 ^a	4.03 ± 1.16 ^a
1	3.08 ± 0.94 ^b	0.017 ± 0.001 ^a	10.01 ± 3.05 ^{bc}	4.13 ± 0.60 ^a
2	1.42 ± 0.29 ^a	0.017 ± 0.001 ^a	9.17 ± 0.58 ^{bc}	4.83 ± 0.35 ^a
4	3.08 ± 1.12 ^b	0.023 ± 0.002 ^a	6.67 ± 2.51 ^{ab}	6.03 ± 1.16 ^b
8	1.67 ± 0.38 ^a	0.370 ± 0.021 ^b	10.90 ± 1.53 ^c	6.03 ± 0.67 ^b

Different letters in the same column indicate significant differences among treatments at the 95% confidence level.

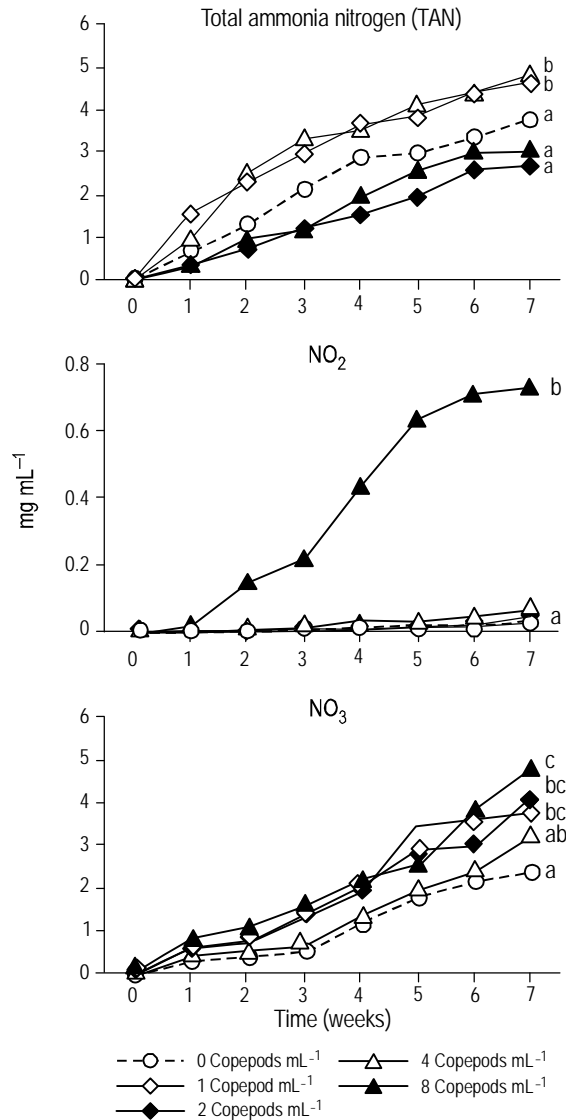


Figure 1. Water quality parameters recorded in the different treatments during the experiment. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) for the treatment factor. Time had a significant effect on all treatments.

Figura 1. Parámetros de la calidad del agua registrados en los diferentes tratamientos durante el experimento. Las letras distintas indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para el factor tratamiento. El tiempo tuvo un efecto significativo en todos los tratamientos.

Regarding the productive response, there were significant differences observed among treatments (table 2). Weekly growth showed a direct relation to the concentration of copepods supplied (fig. 2). The final weight was significantly higher in the treatments with 4 and 8 copepods mL⁻¹ compared to the control; however, there were no differences relative to the treatments with 1 and 2 copepods mL⁻¹. Compared to the control, the treatments using 4 and 8 copepods

salinidad (35–37.1), oxígeno disuelto (5.4–7.7 mg L⁻¹) y pH (8.2–8.8).

Respecto a la calidad del agua, se registraron diferencias en algunos parámetros (tabla 1); todos los tratamientos incrementaron con el paso del tiempo ($P_{tiempo} < 0.05$, fig. 1). La concentración de NAT fue mayor en los tratamientos con 1 y 4 copépodos mL⁻¹, mientras que los valores más bajos se registraron en los tratamientos con 2 y 8 copépodos mL⁻¹. La concentración de nitritos fue más alta en el tratamiento de 8 copépodos mL⁻¹ (>0.37 mg L⁻¹) en comparación con la registrada en el resto de los tratamientos (<0.24 mg L⁻¹). La concentración de nitratos fue la más alta en los tratamientos con 1 y 8 copépodos mL⁻¹, seguidas del tratamiento con 2 copépodos mL⁻¹; los valores más bajos se encontraron en los tratamientos con 0 y 4 copépodos mL⁻¹. Las concentraciones más altas de fosfatos se registraron en los tratamientos con 4 y 8 copépodos mL⁻¹.

Con relación a la respuesta productiva, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (tabla 2). El crecimiento semanal presentó una relación directa con la concentración de copépodos suministrados (fig. 2). La peso final fue significativamente mayor en los tratamientos con 4 y 8 copépodos mL⁻¹ que en el control; sin embargo, no hubo diferencia respecto a los tratamientos con 1 y 2 copépodos mL⁻¹. En comparación con el control, los tratamientos de 4 y 8 copépodos mL⁻¹ presentaron un peso 12% y 13% superior. La biomasa final fue significativamente mayor en el tratamiento con 8 copépodos mL⁻¹ en comparación con el control, mientras que no se registraron diferencias entre este tratamiento y aquellos con 1, 2 y 4 copépodos mL⁻¹. La supervivencia fue superior al 90% en todos los tratamientos en donde se suministraron copépodos. La supervivencia en los tratamientos con 2 y 8 copépodos mL⁻¹ fue superior a la registrada en el control, y no se registraron diferencias de estos dos tratamientos con respecto a los tratamientos de 1 y 4 copépodos mL⁻¹. El tratamiento con 2 copépodos mL⁻¹ presentó un FCA estadísticamente menor que todos los demás tratamientos.

DISCUSIÓN

Durante el experimento, la temperatura, la salinidad, y el oxígeno disuelto se mantuvieron dentro de los intervalos recomendados o al menos aceptables para la especie (Martínez-Córdova 2009), y no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos. Sin embargo, algunos parámetros de la calidad del agua se vieron afectados por la inclusión de copépodos en la dieta de los juveniles. En el caso del NAT, no se observó un patrón definido debido a que los valores más altos se registraron en los tratamientos con 1 y 4 copépodos y los más bajos en aquellos con 2 y 8 organismos.

Los niveles de NAT estuvieron, en algunos casos, por encima de los niveles observados comúnmente en granjas

mL⁻¹ showed 12% and 13% greater weight. Final biomass was significantly higher in the treatment with 8 copepods mL⁻¹ compared to the control, while no differences were registered among this treatment relative to those using 1, 2, and 4 copepods mL⁻¹. Survival was higher than 90% in all treatments in which copepods were supplied. Survival in the treatments with 2 and 8 copepods mL⁻¹ was greater than that recorded in the control treatment, while no differences were registered among these two treatments relative to those using 1 and 4 copepods mL⁻¹. The treatment with 2 copepods mL⁻¹ showed a statistically lower FCR than the other treatments.

DISCUSSION

During the experiment, temperature, salinity, and dissolved oxygen remained within the ranges recommended or at least acceptable for the species (Martínez-Córdova 2009), and no significant differences were found among treatments. Some water quality parameters, however, were affected by the inclusion of copepods in the diet of the juveniles. In the case of TAN, no defined pattern was observed because the highest values were recorded in the treatments using 1 and 4 copepods mL⁻¹ and the lowest values in those using 2 and 8 organisms.

The TAN levels were, in some cases, above the levels commonly found in commercial farms. These high levels can be attributed to the fact that this experiment was conducted using a system without water exchange and some of the metabolites may have accumulated during the course of it. The TAN concentrations were higher than those recommended for penaeid culture (Chen *et al.* 1990). Alcaraz *et al.* (2007) documented that shrimp exposed to NH₃ levels above 0.7 mg L⁻¹ had severe damage to the gills, which affected their respiratory rate, and that this concentration was lethal when there were low oxygen levels. However, Chen and Lin (1992) and Tsai and Chen (2002) reported dangerous levels of TAN, quite higher for *Penaeus monodon* postlarvae at different salinities. Li *et al.* (2007) found that the lethal concentration (LC₅₀) of TAN for *L. vannamei* was 9.33 mg L⁻¹ at 96 h. It is necessary to take into consideration that according to the maximum values of pH (8.8) and temperature (28 °C) registered during the present study, around 70% of this TAN was in the non-ionized form (NH₄⁺), which is less toxic for shrimp. Because of the above, there was no negative effect on the survival of the organisms. The concentrations of nitrates and nitrites remained considerably below the security limits recommended for shrimp and other crustaceans (Gross *et al.* 2004, Alcaraz *et al.* 2007, Seneriches-Abiera *et al.* 2007), though the treatment with the highest number of copepods showed a greater rate of increase relative to time, which could be a negative factor for shrimp growth.

Phosphate values were also directly related to the concentration of copepods supplied, higher levels occurring in the treatments with 4 and 8 copepods mL⁻¹. These values were

comerciales. Estos niveles altos podrían deberse a que el experimento se realizó con un sistema sin recambio de agua y algunos de los metabolitos pudieron haberse acumulado en el transcurso del mismo. Las concentraciones de NAT fueron superiores a las recomendadas para el cultivo de peneidos (Chen *et al.* 1990). Alcaraz *et al.* (2007) documentaron que los camarones expuestos a niveles superiores a 0.7 mg L⁻¹ de NH₃ tuvieron daños severos en las branquias, lo que afectó su tasa respiratoria, y que esta concentración fue letal cuando se presentaron bajos niveles de oxígeno disuelto. Sin embargo, Chen y Lin (1992) y Tsai y Chen (2002) documentaron valores peligrosos de NAT, mucho más elevados para postlarvas de *Penaeus monodon* a diferentes salinidades. Li *et al.* (2007) encontraron que la concentración letal (LC₅₀) de NAT para *L. vannamei* fue de 9.33 mg L⁻¹ a 96 h. Es necesario tomar en consideración que de acuerdo con los valores máximos de pH (8.8) y temperatura (28 °C) registrados durante el presente estudio, alrededor del 70% de este NAT estuvo en la forma no ionizada NH₄⁺, que es menos tóxica para el camarón. En virtud de lo anterior, no se observó un efecto negativo en la supervivencia de los organismos. Las concentraciones de nitratos y nitritos se mantuvieron muy por debajo de los límites de seguridad recomendados para camarones y otros crustáceos (Gross *et al.* 2004, Alcaraz *et al.* 2007, Seneriches-Abiera *et al.* 2007), aunque para el tratamiento con mayor número de copépodos se observó una mayor tasa de incremento con respecto al tiempo, lo cual podría llegar a ser un factor negativo para el crecimiento del camarón.

Los niveles de fosfatos también tuvieron una relación directa con la concentración de copépodos suministrados, observándose valores mayores en los tratamientos con 4 y 8 copépodos mL⁻¹. Estos valores fueron más altos que los registrados comúnmente para estanques camaronícolas (de la Lanza y Hernández 1998). Existe escasa información en la literatura respecto al efecto de los fosfatos en camarones cultivados. Ritvo (1999) encontró un efecto negativo del contenido alto de fósforo en el sedimento sobre la supervivencia de *L. vannamei*; no obstante, las concentraciones que encontró (183 mg L⁻¹) son mucho más altas que las encontradas en el presente estudio, donde no se observaron efectos negativos en la supervivencia de los juveniles. Méndez *et al.* (2004) encontraron que el crecimiento de postlarvas de camarón (*L. stylirostris*) era mayor cuando eran cultivadas en estanques con altos niveles de fósforo en el sedimento.

La respuesta productiva del camarón se vio favorecida por la inclusión de copépodos en la dieta, ya que la mayoría de los parámetros fueron mejores en aquellos tratamientos con mayor nivel de inclusión, en comparación con el control. Sun y Fleegeer (1995) demostraron que el copépodo harpacticóideo *Amphiascoides atopus* es una fuente importante de alimento vivo en la nutrición de peces y crustáceos, y argumentan que estos organismos son útiles no solamente en el cultivo larvario, sino en etapas posteriores (e.g., la preengorda), tal como en este experimento.

Table 2. Production parameters of *Litopenaeus vannamei* fed different concentrations of the copepods *Acartia* sp. and *Calanus pacificus*.**Tabla 2.** Parámetros de producción de *Litopenaeus vannamei* alimentado con diferentes concentraciones de los copépodos *Acartia* sp. y *Calanus pacificus*.

Treatment (copepods mL ⁻¹)	Final weight (g)	Final biomass (g)	Final survival (%)	Feed conversion ratio
0 (control)	2.91 ± 0.13 ^a	63.05 ± 3.65 ^a	86.7 ± 7.64 ^a	1.96 ± 0.08 ^b
1	3.05 ± 0.09 ^{ab}	69.90 ± 3.12 ^{ab}	91.7 ± 7.64 ^{ab}	1.90 ± 0.16 ^b
2	3.16 ± 0.05 ^{ab}	77.70 ± 6.54 ^{bc}	98.4 ± 2.89 ^b	1.19 ± 0.18 ^a
4	3.35 ± 0.26 ^{bc}	78.20 ± 3.59 ^c	93.3 ± 5.77 ^{ab}	1.73 ± 0.09 ^b
8	3.38 ± 0.09 ^c	81.70 ± 6.10 ^c	96.7 ± 2.89 ^b	1.81 ± 0.14 ^b

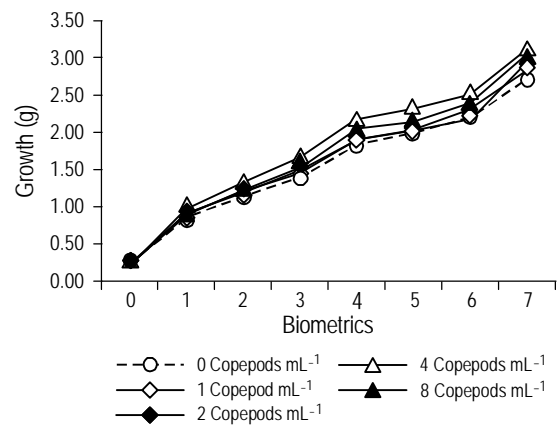
Different letters in the same column indicate significant differences among treatments at the 95% confidence level.

higher than those commonly reported for shrimp ponds (de la Lanza and Hernández 1998). Scant information is available in the literature concerning the effect of phosphate on cultured shrimp. Ritvo (1999) reported a negative effect of high phosphorous contents in sediments on the survival of *L. vannamei*; however, the concentrations found by this author (183 mg L⁻¹) are much higher than those recorded in the present study, which had no negative effects on the survival of juveniles. Méndez *et al.* (2004) found that the growth of postlarval shrimp (*L. stylirostris*) was greater when they were cultured in ponds with high levels of phosphorus in the sediment.

The productive response of shrimp was favored by the inclusion of copepods in the diet, because most of the parameters were better in the treatments with a higher inclusion level compared to the control. Sun and Fleeger (1995) showed that the harpacticoid copepod *Amphiascoides atopus* is an important source of natural food in fish and crustacean nutrition, and argued that these organisms are useful not only in larval culture, but also in subsequent phases (e.g., pre-growout), such as in this experiment.

In the present study, growth was directly related to the number of copepods supplied, although significant differences were only observed between the treatment using 8 copepods mL⁻¹ and the control. The growth obtained in the treatment using the highest number of copepods could be considered acceptable for commercial purposes, in particular because the pre-growout phase was carried out at intensive level (Martínez-Córdova 2009). Survival and FCR were as good as those reported in experimental intensive cultures (Reid and Arnold 1992), although the response of both parameters was inclusively better for the treatment with 2 copepods mL⁻¹. A higher than 90% survival rate in all treatments in which copepods were supplied is excellent, especially considering that it is an intensive system and that, in the pre-growout phase, survival is more important than growth and biomass, considering that the objective is to obtain the highest possible amount of organisms ready for the growout phase. During this latter phase, organisms may undergo compensatory growth, as has been shown in some

En el presente estudio, el crecimiento presentó una relación directa con el número de copépodos suministrados, aunque las diferencias significativas sólo se manifestaron entre el tratamiento con 8 copépodos mL⁻¹ y el control. El crecimiento obtenido en el tratamiento con el mayor número de copépodos suministrados puede considerarse como aceptable para propósitos comerciales, sobre todo si se toma en cuenta que la preengorda se llevó a cabo en nivel intensivo (Martínez-Córdova 2009). La supervivencia y el FCA fueron tan buenos como las que se reportan en cultivos intensivos experimentales (Reid y Arnold 1992), aunque para el tratamiento de 2 copépodos mL⁻¹ la respuesta de ambos parámetros fue mejor. Una supervivencia mayor que 90% en todos los tratamientos en que se suministraron copépodos es excelente, sobre todo si se considera que se trató de un sistema intensivo y que, en la etapa de preengorda, muchas veces es más importante la supervivencia que el crecimiento y la biomasa, ya que se intenta tener la mayor cantidad de organismos listos para la engorda. Durante esta última etapa, los organismos pueden tener un crecimiento compensatorio,

**Figure 2.** Growth of *Litopenaeus vannamei* juveniles fed different concentrations of copepods.**Figura 2.** Crecimiento de juveniles de *Litopenaeus vannamei* alimentados con diferentes concentraciones de copépodos.

studies (Stumpf *et al.* 2010). The FCR in the treatment with 2 copepods mL⁻¹ was 39% lower than that obtained in the control, which implies the possibility of great savings in formulated feed; however, this has to be evaluated by an economic study.

Our findings are similar to those reported in studies using copepods (Amaya-Jacho 1991) or other live organisms to feed postlarval and juvenile shrimp. Campaña-Torres *et al.* (2009, 2010) found a positive effect on the response of *L. vannamei* juveniles that were fed different concentrations of the rotifer *Brachionus rotundiformis* or the brine shrimp *Artemia franciscana*. Brito *et al.* (2000) reported that *L. vannamei* postlarvae fed a mixture of formulated feed (*Artemia* nauplii and microalgae) had a better productive response compared to postlarvae fed only one of these foods. Stottrup (2000) found that the use of copepods as live feed is highly beneficial in the culture of aquatic organisms, and that species belonging to the genera *Acartia* and *Calanus* can be cultured in an intensive manner to be used as live food. This also suggests that copepods form an important part of the diet of *L. vannamei* in the natural environment, at least in their postlarval and juvenile phases.

In summary, the use of copepods as exogenous natural feed in intensive shrimp pre-growout ponds is feasible, with no significant effect on water quality but with a positive effect on the production parameters. Nonetheless, it is necessary to seek strategies to reduce the concentration of TAN in case of an eventual increment. For a system operated with no water exchange, we recommend the induction of biotic communities that promote nutrient recirculation.

REFERENCES

- Alcaraz G, Espinoza V, Venegas C, Chiappa-Carrara X. 2007. Acute effect of ammonia and nitrite on respiration of *Penaeus setiferus* larvae under different oxygen levels. *J. World Aquacult. Soc.* 30: 98–100.
- Amaya-Jacho NF. 1991. Alimentación de larvas de camarón con copépodos cosechados en piscinas. MSc dissertation, Escuela Superior del Litoral, Guayaquil, Ecuador, 77 pp.
- Ballester ELC, Abreu PC, Cavalli RO, Emerenciano MAL, Wasielesky W. 2010. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in zero water exchange suspended microbial flocs intensive system. *Aquacult. Nutr.* 16: 163–172.
- Bombeo-Tuburan I, Guanzon NG, Schroeder GL. 1993. Production of *Penaeus monodon* (Fabricius) using four natural food types in an extensive system. *Aquaculture* 112: 57–65.
- Brito R, Chimal ME, Gaxiola G, Rosas C. 2000. Growth, metabolic rate, and digestive enzyme activity in the white shrimp *Litopenaeus setiferus* early postlarvae fed different diets. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 255: 21–36.
- Campaña-Torres A, Martínez-Córdova LR, Villarreal-Colmenares H, Hernández-López J, Ezquerro-Brauer JM, Cortés-Jacinto E. 2009. Efecto de la adición del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Tschugunoff 1921) sobre la calidad del agua y la producción, en cultivos superintensivos de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931). *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 44: 335–342.
- como se ha demostrado en algunos estudios (Stumpf *et al.* 2010). El FCA en el tratamiento con 2 copépodos mL⁻¹ fue 39% inferior al obtenido en el control, lo que implica la posibilidad de un gran ahorro en alimento formulado; sin embargo, esto debe ser evaluado mediante un estudio económico.
- Los resultados del presente estudio son similares a los encontrados en otros que utilizaron ya sea copépodos (Amaya-Jacho 1991) u otros organismos vivos para alimentar postlarvas o juveniles de camarón. Campaña-Torres *et al.* (2009, 2010) encontraron un efecto positivo en la respuesta de juveniles de *L. vannamei* alimentados con diferentes concentraciones del rotífero *Brachionus rotundiformis* o de la artemia *Artemia franciscana*. Brito *et al.* (2000) observaron que las postlarvas de *L. vannamei* alimentadas con una mezcla de alimento formulado, nauplios de *Artemia* y microalgas, tuvieron una mejor respuesta productiva en comparación con las postlarvas alimentadas con uno solo de estos alimentos. Stottrup (2000) encontró que el uso de copépodos como alimento vivo es benéfico en el cultivo de organismos acuáticos, y que las especies del género *Acartia* y *Calanus* pueden ser cultivados de manera intensiva para ser usadas como alimento vivo. Esto también sugiere que los copépodos forman parte importante de la dieta de *L. vannamei* en el medio natural, al menos en sus etapas de postlarva y juvenil.
- Como conclusión, se puede establecer que es viable la utilización de copépodos como alimento natural exógeno durante la preengorda intensiva del camarón blanco, sin que haya un efecto muy significativo en la calidad del agua, pero sí un efecto positivo en los parámetros de producción. No obstante, es necesario buscar estrategias para disminuir la concentración de NAT ante un incremento eventual. Para un sistema sin recambio de agua, se sugiere la inducción de comunidades bióticas que promuevan la recirculación de nutrientes.

- Campaña-Torres A, Martínez-Córdova LR, Villarreal-Colmenares H, Cortés-Jacinto E. 2010. Evaluation of different concentrations of adult live *Artemia franciscana*, Kellogs 1906) as natural exogenous feed on the water quality and production parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) intensively pregrown. *Aquacult. Res.* 42: 40–46.
- Cardozo AP, Bersano JGF, Amaral WJA. 2008. Composition, density and biomass of zooplankton in culture ponds of *Litopenaeus vannamei* (Decapoda: Penaeidae) in southern Brazil. *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.* 11: 13–20.
- Chen JC, Lin CY. 1992. Lethal effects of ammonia on *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 156: 139–148.
- Chen JC, Liu PC, Lei SC. 1990. Toxicity of ammonia and nitrite to *Penaeus monodon* adolescents. *Aquaculture* 89: 127–137.
- Chesney EJ. 2005. Copepods as live prey: A review of factors that influence the feeding success of marine fish larvae. In: Lee CS, O'Bryen PJ, Marcus NH (eds.), *Copepods in Aquaculture*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 133–150.

- De La Lanza EG, Hernández PS. 1998. Nutrientes y productividad primaria en estanques acuícolas. In: Martínez CL, Ecología de los Sistemas Acuícolas. AGT Editor, México, pp. 27–66.
- Faleiro F, Narciso L. 2009. *Brachionus* vs *Artemia* duel: Optimizing first feeding of *Upogebia pusilla* (Decapoda: Thalassinidea) larvae. *Aquaculture* 295: 205–208.
- FAO. 2009. The State of World Fisheries and Aquaculture 2008. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, 196 pp.
- Farhadian O, MdYuso F, Mohamed S. 2009. Nutritional values of *Apocyclops dengizicus* (Copepoda: Cyclopoida) fed *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis tetrathele*. *Aquacult. Res.* 40: 74–82.
- Fengqi L. 2003. Production and application of rotifers in aquaculture. *Aquacult. Mag.* 22: 16–22.
- Fukusho K. 1989. Biology and mass production of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Int. J. Aquacult. Fish. Technol.* 1: 232–240.
- González R, Celada JD, González A, García V, Carral JM, Sáez-Royuela M. 2010. Stocking density for the intensive rearing of juvenile crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Astacidae), using *Artemia* nauplii to supplement a dry diet from the onset of exogenous feeding. *Aquacult. Int.* 18: 371–378.
- Gross A, Abutbul S, Zilberg D. 2004. Acute and chronic effect of nitrite to shrimps, *Litopenaeus vannamei*, at low salinity water. *J. World Aquacult. Soc.* 35: 315–321.
- Juárez LM. 2008. Current status of shrimp aquaculture in Mexico. *Panorama Acuícola* 13: 49–53.
- Khatoon H, Banerjee S, Yusoff M, Shariff M. 2009. Evaluation of indigenous marine periphytic *Amphora*, *Navicula* and *Cymbella* grown on substrate as feed supplement in *Penaeus monodon* postlarval hatchery system. *Aquacult. Nutr.* 15: 186–193.
- Li E, Chen L, Zeng C, Chen X, Yu N, Lai Q, Qin JG. 2007. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities. *Aquaculture* 265: 385–390.
- Martin L, Arenal A, Fajardo J, Pimentel E, Hidalgo L, Pacheco M, García C, Santiesteban D. 2006. Complete and partial replacement of *Artemia* nauplii by *Moina micrura* during early postlarval culture of white shrimp (*Litopenaeus schmitti*). *Aquacult. Nutr.* 12: 89–96.
- Martínez-Córdova LR. 2009. Camaronicultura Sustentable. Editorial Trillas, México, 176 pp.
- Martínez-Córdova LR, Peña-Messina E. 2005. Biotic communities and feeding habits of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) and *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson 1974) in monoculture and polyculture semi-intensive ponds. *Aquacult. Res.* 36: 1075–1084.
- Martínez-Córdova LR, Martínez-Porchas M, Cortés Jacinto E. 2009. Camaronicultura mexicana y mundial: ¿Actividad sustentable o industria contaminante?. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 25: 181–196.
- Méndez LC, Racotta IS, Acosta B, Portillo-Clark G. 2004. Effect of sediment on growth and survival of post-larval *Litopenaeus stylirostris* (Boone 1931). *Aquacult. Res.* 35: 652–658.
- Naylor RL, Goldburg RJ, Primavera JH, Kautsky N, Beveridge MCM, Clay J, Folke C, Lubchenco J, Mooney H, Troell M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017–1024.
- Porchas-Cornejo MA, Martínez-Córdova LR, Ramos-Trujillo L, Hernández-López J, Martínez-Porchas M, Mendoza-Cano F. 2010. Effect of promoted natural feed on the production, nutritional, and immunological parameters of *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) semi-intensively farmed. *Aquacult. Nutr.* 17: 622–628.
- Reid B, Arnold CR. 1992. The intensive culture of the penaeid shrimp *Penaeus vannamei* Boone in a recirculating raceway system. *J. World Aquacult. Soc.* 23: 146–153.
- Rippingale RJ, Payne MF. 2005. Suitability of the copepod *Gladioferens imparipes* for intensive cultivation for aquaculture. In: Lee CS, O'Bryen PJ, Marcus NH (eds.), *Copepods in Aquaculture*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 209–223.
- Ritvo G. 1999. Elemental composition of shrimp pond soils, with emphasis on the potential negative effect of sulfur and its control. PhD thesis, Texas A&M University, College Station, Texas, 91 pp.
- Seneriches-Abiera ML, Parado-Esteva F, Gonzales GA. 2007. Acute toxicity of nitrite to mud crab *Scylla serrata* (Forsskal) larvae. *Aquacult. Res.* 38: 1495–1499.
- Shields RJ, Gordon Bell J, Luiz FS, Gara B, Bromage NR, Sargent JS. 1999. Natural copepods are superior to enriched *Artemia* nauplii as feed for halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus*) in terms of survival, pigmentation and retinal morphology: Relation to dietary essential fatty acids. *J. Nutr.* 129: 1186–1194.
- Stottrup JG. 2000. The elusive copepods: Their production and suitability in marine aquaculture. *Aquacult. Res.* 31: 703–711.
- Stumpf L, Calvo NS, Pietrokovsky S, López Greco LS. 2010. Nutritional vulnerability and compensatory growth in early juveniles of the “red claw” crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* 304: 34–41.
- Sun B, Fleeger JW. 1995. Sustained mass culture of *Amphiascoides atopus* a marine harpacticoid copepod in a recirculating system. *Aquaculture* 136: 313–321.
- Tho N, Merck R, Ut VU. 2011. Biological characteristics of the improved extensive shrimp system in the Mekong delta, Vietnam. *Aquacult. Res.*, doi:10.1111/j.1365-2109.2011.02858.x.
- Tsai SJ, Chen JC. 2002. Acute toxicity of nitrate on *Penaeus monodon* juveniles at different salinity levels. *Aquaculture* 213: 163–170.
- Watanabe T, Oowa C, Kitajima C, Fujita S. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture* 34: 115–143.
- Wiwattanapatapee R, Padoongsombat N, Choochom T, Tang S, Chaimongkol A. 2002. Water flea *Moina macrocopa* as a novel biocarrier of norfloxacin in aquaculture. *J. Contr. Release* 83: 23–28.
- Zar JH. 1996. *Biostatistical Analysis*. 3rd ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Received September 2010;
accepted May 2011.