

Uso de Alimentos Artificiales con Hidrolizados Proteicos de Origen Marino en la Larvicultura de Camarones Peneidos: Efecto Sobre la Respuesta Nutrimental y Balance Energético.

Pedro P. Gallardo¹, Ruth Pedroza², Abelardo Brito³ Gérard Cuzon⁴ y Gabriela Gaxiola³

1.- Unidad multidisciplinaria de docencia e investigación, facultad de Ciencias, UNAM, Sisal, Yucatán, México. Estudiante del PCMyL, UNAM. E. Mail:

pedrogallardo01@yahoo.com.mx

2.- Universidad Iberoamericana

3.-Unidad multidisciplinaria de docencia e investigación, facultad de Ciencias, UNAM, Sisal, Yucatán, México.

4.- COP-Tahití. IFREMER, Francia

Resumen

Se presentan los últimos avances en la nutrición de larvas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* con respecto al uso de dietas microencapsuladas conteniendo hidrolizados proteicos de origen marino (CPSP 90% de proteína) en la sustitución parcial y total del alimento vivo con relación al efecto fisiológico y nutrimental. Se logró la sustitución total de las microalgas en el estadio de protozoa con una dieta microencapsulada de 3 micrómetros de tamaño de partícula. Valores de pesos, tiempos de desarrollo y supervivencias a PZIII fueron similares a los exhibidos por las larvas mantenidas con alimento vivo. En el estadio de mysis, las microcápsulas lograron sustituir totalmente a los nauplios de *Artemia*, obteniéndose supervivencias arriba del 80% y pesos secos y tiempos de desarrollos a PL1 en 144 horas después de iniciado el experimento (en PZIII). Una disminución del consumo de oxígeno referido al peso seco de los organismos es observado en todos los tratamientos de los tres experimentos realizados, habiendo picos de consumo en los subestadios de PZIII y MII, asociados a una estrategia de conservación de energía para afrontar los cambios críticos (PZIII – MI y MIII a PL1) identificados en el desarrollo ontogénico de larvas de peneidos. Los resultados de ingestión, respiración y crecimiento fueron trasladados a valores energéticos para estimar un modelo de balance incompleto y establecer las estrategias adoptadas ante los diferentes regímenes de alimentación. Así también, las eficiencias de asimilación, de respiración y de producción son presentadas. Una buena aceptación de las dietas microencapsuladas fue observada a través de los pesos secos y las supervivencias al final de los periodos experimentales por lo cual creemos que las dietas artificiales lograron cubrir las demandas energéticas y pueden ser consideradas como alimentos funcionales y sustitutas del alimento vivo, al mejorar los rendimientos de las larvas de *L. vannamei* al arribar a Postlarva.

Introducción

El reemplazo total del alimento vivo por microdietas artificiales en la larvicultura del camarón ha sido realizado durante mucho tiempo (Jones *et al.*, 1997; Jones *et al.*, 1998; Kovalenko, *et al.*, 2002). De acuerdo con Jones *et al.* (1998), el reemplazo total del alimento vivo resulta en pobres crecimientos, resaltando la importancia del uso de alimentos vivos. El uso de microcapsulas (con pared proteica) para el reemplazo de

nauplios de *Artemia* en la alimentación de larvas de *L. vannamei* por Jones *et al* (1987) fue logrado incluyendo levaduras y una mezcla de microalgas *Chaetoceros spp* (como inóculo inicial), y *Skeletonema* (adicionada diariamente) en el régimen de alimentación. Aunque la sustitución del alimento vivo (principalmente nauplios de *Artemia* o rotíferos) por dietas artificiales durante la fase larvaria ha sido realizada en muchas especies de camarón, sus efectos sobre las demandas energéticas y beneficios para los diferentes subestadios larvales han sido poco estudiados (Lemos y Phan, 2001).

Cuando los alimentos vivos son reemplazados por alimento inerte, ocurren cambios en el comportamiento alimentario de las larvas. En esta etapa del desarrollo se presentan una gran cantidad de cambios que repercuten en la forma de captura del alimento (inicio de hábitos raptorales, además de la filtración) asociados al desarrollo del aparato digestivo (Lovett y Felder, 1989; Jones *et al.*, 1997). Estos cambios pueden afectar al metabolismo (a través del consumo de oxígeno, Anger, 2001) y la tasa de ingestión de microalgas y nauplios de *Artemia* por las larvas. Una comparación en larvas alimentadas con mezclas de alimento vivo y alimento artificial o únicamente alimento artificial necesita ser evaluada. La conversión de valores de ingestión (I), respiración (R), metabolismo y crecimiento (P) en sus equivalentes de trabajo energético a través de la integración de un modelo de balance energético, permite visualizar las proporciones de energía que son canalizadas al crecimiento y el metabolismo, por lo tanto permitiría evaluar la eficiencia de la utilización de la energía de diferentes regímenes de alimentación.

El presente trabajo integra los resultados obtenidos en diferentes experimentos donde las dietas artificiales conteniendo un hidrolizado proteico CPSP 90% de proteína fueron utilizadas en la sustitución parcial y total de los alimentos vivos y que produjeron variaciones sobre el crecimiento, desarrollo y sobrevivencia, así como en la tasa de ingestión de las microalgas y los nauplios de *Artemia*, los consumos de oxígeno y el balance energético de las larvas de *L. vannamei*.

Elaboración de microdietas

La incorporación de dietas artificiales en la alimentación de larvas de camarón ha ido en aumento. Nuevos procesos de elaboración (Pedroza *et al*, 1999, 2000) y la incorporación de nuevas materias primas como los hidrolizados proteicos (Cahu *et al*, 1999; Gallardo *et al*, 2003) se ha reflejado en una mayor aceptabilidad por larvas de peces y crustáceos, mejorando en lo general la supervivencia y el desarrollo larvario hasta Postlarva. Considerando esto los alimentos microencapsulados pueden clasificarse como alimentos funcionales (Vega Villasante *et al*, 2004). Los alimentos funcionales actúan mejorando el estado fisiológico en general de los organismos, con la promoción de la actividad enzimática y los desordenes asociados con el uso de dietas artificiales que comúnmente se reflejan en indicadores clásicos del status nutrimental como el crecimiento, el desarrollo y la supervivencia (Vega – Villasante *et al*, 2004). Tanto en micropartículas o microcapsulas, las microdietas han permitido la sustitución parcial del alimento vivo, principalmente los nauplios de Artemia, utilizando dietas microparticuladas (Gallardo *et al*, 2002) y microencapsuladas (Gallardo *et al*, 2003, Pedroza *et al*, 2004). El empleo de nuevas materias primas dentro de la formulación de las microdietas, así como nuevas técnicas de microencapsulación han derivado en mejores productos potencialmente benéficos en la alimentación de larvas tanto de peces como crustáceos. Pedroza *et al* (1999, 2000) propone el uso de gomas como agentes encapsulantes en proporciones que van desde 1:1, 2:1 y 3:1 de agente encapsulante: dieta a través de secado por aspersión, generando una matriz donde los nutrimentos de la dieta tanto macro como micronutrientes se encuentran embebidos. Los resultados obtenidos con el uso de estas microcápsulas fueron satisfactorios en larvas de *L. vannamei*, obteniéndose supervivencias arriba del 80%, cuando fue utilizada como sustituto total de los nauplios de Artemia en el estadio de mysis a Postlarva (Pedroza *et al*, 2004).

Beneficios del uso de hidrolizados proteicos

Una de las principales dificultades observadas con el uso de microdietas en la larvicultura de camarones peneidos ha sido su baja aceptabilidad, lo que en consecuencia genera bajos rendimientos al final del periodo larval. Esto ha sido asociado principalmente al esfuerzo digestivo para digerir y aprovechar los macro y micronutrientes embebidos en las microdietas, intrínsecamente ligado a la maquinaria enzimática y al desarrollo del aparato digestivo que disponen las especies. Considerando esto, el uso de hidrolizados proteicos en microdietas para larvas de peces y camarones peneidos, se ha traducido en un efecto benéfico con su empleo (Cahu *et al*, 1999, Córdova y García, 2002, Ravallec – Ple, 2000). Se ha encontrado que los hidrolizados proteicos presentan propiedades relacionadas con la activación y promoción de enzimas digestivas, incremento del peristaltismo intestinal y como factores de crecimiento, además de los aminoácidos libres que pudieran funcionar como atrayentes (Ravallec – Ple, 2000).

Durante la fase larvaria de camarones peneidos, el sistema digestivo esta sujeto a un sinnúmero de transformaciones relacionadas con cambios digestivos, bioquímicos y de comportamiento de los organismos (Lovett y Felder, 1989, 1990; Rosas *et al*, 1995, Gallardo *et al*, 1995). En la fase de protozoa, las larvas presentan un tubo indiferenciado con tiempos de gastroevacuación muy elevados, habiendo un rápido transito del alimento (Lovett y Felder, 1989, Kumlu y Jones, 1995) con el objetivo de aprovechar al máximo las entidades alimenticias presentes. Sin embargo y durante esta fase del desarrollo larval, los organismos dependen en gran medida del alimento vivo, habiendo pocos trabajos donde la sustitución total por alimento artificial sea exitosa.

Efecto de la inclusión de hidrolizados proteicos en dietas artificiales sobre la tasa específica de crecimiento, índice de desarrollo y supervivencia larval

Galgani y Aquacop (1994), obtuvieron bajas supervivencias y retrasos en el desarrollo en protozoas de larvas de *L. vannamei* utilizando dietas microparticuladas, asociando estos resultados a la baja digestión de las partículas ingeridas. En larvas de peces, Cahu *et al* (1999) utilizaron dietas con CPSP 70% de proteína, mejorando la supervivencia y el tiempo de desarrollo con relación a organismos mantenidos con alimento vivo. Estos

autores encontraron una mayor actividad de enzimas proteolíticas que pudieron favorecer el proceso de digestión con las dietas conteniendo el hidrolizado. En camarón, a escala experimental, la sustitución total del alimento vivo (microalgas y nauplios de *Artemia*) ha sido lograda, encontrándose una mayor actividad de enzimas digestivas en larvas sometidas a dietas conteniendo hidrolizados proteicos. Esta mayor actividad coincidió con los resultados de crecimiento y desarrollo los cuales fueron similares a los obtenidos con alimento vivo (datos no publicados). Durante la fase de protozoa, un crecimiento, tiempo de desarrollo a PZIII (96 h) y supervivencia (alrededor del 80%) similar al obtenido con microalgas (Fig. 1), fue observado cuando las larvas fueron sometidas a una dieta de 3 micrómetros de tamaño de partícula, asociado a una mayor actividad proteolítica.

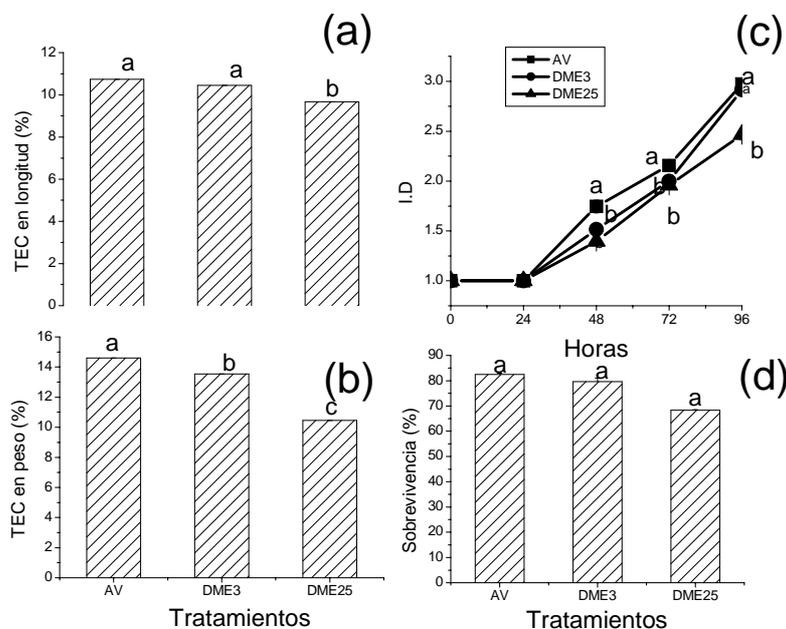


Fig. 1.- (a) Tasa Específica de Crecimiento en Peso y (b) longitud, (c) Índice de Desarrollo y (d) Supervivencia (%) de las larvas protozoas de *L. vannamei* alimentadas con dietas microencapsuladas de diferente tamaño de partícula con hidrolizado CPSP 90% de proteína como sustituta de alimento vivo.

AV = régimen de alimento vivo; DME3= Dieta microencapsulada de 3 µm y DME25= Dieta microencapsulada con 25 µm. Letras diferentes entre tratamientos señalan diferencias significativas.

Media ± E.S. N= 5.

El tamaño de partícula es un aspecto importante ha considerar en el suministro de microdietas, además de características optimas de tiempo de hidratación, flotabilidad y atractabilidad. Cuando comparamos las respuestas de crecimiento, desarrollo y supervivencias larvales, nosotros encontramos resultados significativamente mejores utilizando un tamaño de partícula promedio de 3 micrómetros, comparadas a las respuestas obtenidas en larvas alimentadas con tamaños de partículas de 25 micrómetros (datos no publicados) (Fig. 1).

En un experimento posterior de sustitución total del alimento vivo y utilizando una dieta microencapsulada con CPSP 90% (de 3 micrómetros para protozoa y de 25 micrómetros para mysis), un retraso de 24 horas en el paso de PZIII a MI fue observado con relación a las larvas mantenidas con el alimento vivo, manteniéndose hasta Postlarva (Fig. 2). Sin embargo este retraso no afecto la supervivencia final (arriba del 70 %). Valores altos de actividad trípica en PZI y en MI fueron observados en las larvas mantenidas con la dieta artificial, lo cual pudo haber favorecido al proceso digestivo y aprovechamiento de los nutrientes contenidos en las microdietas.

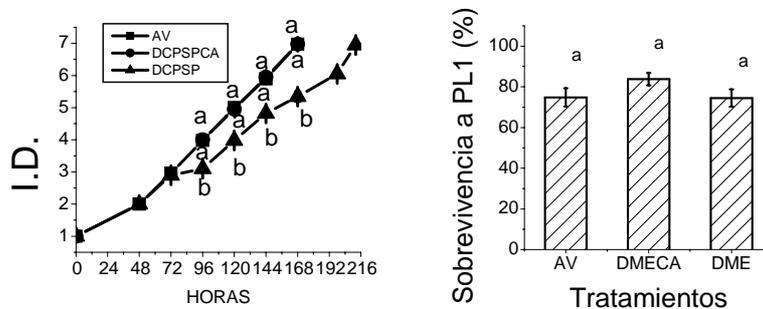


Fig. 2.- (a) Índice de Desarrollo (I.D.) y (b) supervivencia de las larvas de *Litopenaeus vannamei* mantenidas con dietas artificiales solas (DME) o combinadas con microalgas (DEMCA) y régimen de alimentos vivos (AV)

Durante el proceso de elaboración de las microcapsulas, el CPSP 90% de proteína fue incluido como agente encapsulante con el objetivo de incrementar el contenido proteico de la misma. Sin embargo, un efecto negativo del excesivo uso de hidrolizados en las dietas ha sido reportado por Cahu *et al* (1999) en larvas de peces, donde un retraso en el

desarrollo y supervivencias bajas han sido asociado a elevados porcentajes de inclusión de hidrolizados (arriba del 15%). Según Córdova y García (2002), la gran cantidad de péptidos de bajo peso molecular y aminoácidos presentes en los hidrolizados proteicos pudieran saturar los sitios de absorción en el tracto digestivo de las larvas, lo cual pudiera ir en detrimento del crecimiento, al no poder aprovecharse las proteínas de la dieta.

Efecto de la inclusión de hidrolizados proteicos en dietas artificiales sobre el consumo de oxígeno y balance energético en larvas de camarón

El consumo de oxígeno ha sido una herramienta útil para valorar las respuestas de los organismos cuando son sometidos a fluctuaciones de factores como salinidad, temperatura o bien regímenes y concentraciones de alimento (Agard, 1999, Ismael y Moreira, 1997, Rosas *et al*, 1995). Cuando es relacionado al peso se obtiene una mejor referencia de la ontogenia de los organismos en cuanto a las estrategias utilizadas para la repartición de energía y puede ser asociado a los cambios morfológicos, de comportamiento y de hábitos alimentarios durante la fase larvaria. Así también, asociándolo con otros indicadores energéticos como energía ingerida a través de la tasa de ingestión, la energía canalizada a la producción a través del crecimiento, es posible construir modelos energéticos que pudieran permitir comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en el procesamiento del alimento y predecir los rendimientos esperados en condiciones particulares (Rosas, 1995).

Pocos estudios han sido enfocados a entender la fisiología larval desde un punto de vista bioenergético. Destaca en los últimos años lo realizado en larvas de *F. paulensis* por Lemos y Phan (2001), aunque modelos de balance energético en larvas de *P. monodon* alimentadas con alimentos vivos han sido presentados anteriormente (Kurmaly *et al*, 1989). La valoración del consumo de oxígeno, el peso seco, la excreción nitrogenada) y la composición bioquímica proximal y contenido de energía en los primeros subestadios del desarrollo de larvas cultivadas de *F. paulensis* permitieron concluir que estos organismos utilizan diversas estrategias energéticas adecuadas a su desarrollo ontogénico (Lemos y Phan, 2001). En sus resultados, mayores incrementos en peso se

observaron en los primeros subestadios larvales, en tanto el consumo de oxígeno y la excreción amoniaca fueron aumentando conforme al desarrollo. En nuestros resultados, el consumo de oxígeno - expresado con relación al peso seco - aumenta conforme las larvas avanzan en los subestadios con las dietas artificiales en la fase de protozoa (Fig. 3). Asimismo empieza a disminuir para el estadio de mysis tanto con alimento vivo como con microcapsulas y la combinación de ambos, aun cuando este es referido sobre la base del peso seco. Agard (1999) señala que en larvas de *Macrobrachium rosenbergii* las fluctuaciones en el consumo de oxígeno están asociados a modificaciones morfológicas en la glándula digestiva, disminuyendo en los subestadios subsecuentes.

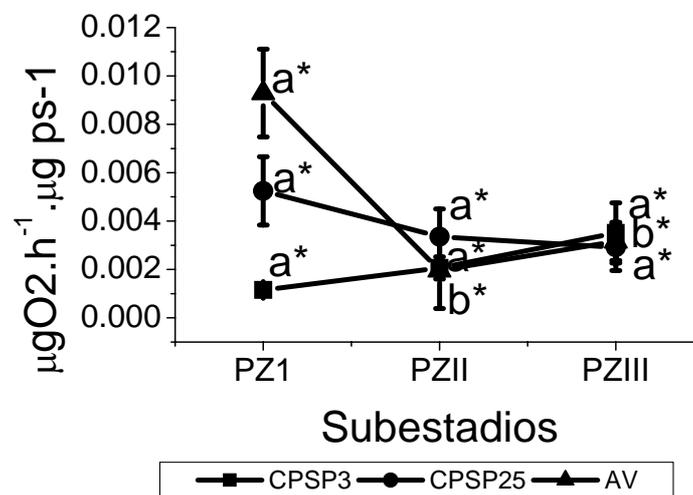


Fig. 3.- Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g dw}^{-1}$) para el metabolismo de rutina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: CPSP-3, CPSP-25 o AV. (Promedio \pm ES.) N=10.

Un mayor consumo de alimento, comúnmente microalgas, es observado en la fase de protozoa. El tránsito del alimento es muy rápido y ha sido asociado al incipiente desarrollo del tubo digestivo, el cual se presenta de manera indiferenciada (Lovett y Felder, 1990). Conforme las larvas se desarrollan, la eficiencia digestiva se incrementa con la aparición de la glándula digestiva a partir del subestadio de MI. En protozoas de *L. vannamei*, una mayor concentración de triacilglicéridos y colesterol (Palacios *et al*, 1999, Gallardo *et al*, datos no publicados), así como una mayor actividad proteolítica ha sido observada (Gallardo *et al*, datos no publicados).

La baja capacidad digestiva en el estadio de protozoa se traduce en una mayor canalización de energía en el procesamiento del alimento afectando diversos procesos en la fisiología digestiva, tanto en la producción de enzimas como en el proceso de transformación del tubo digestivo (formación de divertículos y posteriormente la formación de la glándula digestiva), asociados a la digestión, absorción y asimilación de los nutrientes contenidos en los alimentos. Estos cambios pueden ser observados a través del consumo de oxígeno, el cual es un reflejo de la utilización de energía y que permite explicar indicadores tales como el crecimiento y el desarrollo de los organismos (Kurmaly *et al*, 1989, Rosas *et al*, 1995, Gallardo *et al*, 2002).

El consumo de oxígeno también puede permitir explicar las respuestas nutrimentales asociadas a diferentes tipos o raciones de alimentos (Rosas *et al*, 1995). En larvas de *L. setiferus*, valores intermedios de consumo de oxígeno fueron observados con las dietas óptimas que produjeron los mayores valores de crecimiento, tiempos de desarrollo y supervivencia (Rosas *et al*, 1995).

La actuación de los hidrolizados en el proceso digestivo ha sido asociada estrechamente con la actividad enzimática, tanto por la estimulación como la secreción de enzimas (Gallardo *et al*, 2002, Ravallec – Ple, 2000). Su participación en la promoción enzimática ha sido benéfica en el desarrollo y supervivencia tanto en larvas de peces (Cahu *et al*, 1999) como de camarones peneidos (Ravallec – Ple, 2000, Gallardo, *et al* 2002). A través de dietas microencapsuladas nosotros hemos observado en larvas de *L. vannamei* actividades específicas promedio de proteinasas y carbohidrasas similares a cuando son suministrados alimentos vivos (microalgas y nauplios de *Artemia*), obteniéndose además crecimientos en peso (tasas específicas de crecimiento de 11 %) y supervivencias (arriba del 80%) con las dietas artificiales (Gallardo *et al*, 2002; Gallardo *et al*, 2003; Gallardo *et al*, datos no publicados).

Así también, en estos trabajos tanto de sustitución parcial como total, durante el desarrollo larvario, los consumos de oxígeno han resultado similares a los mostrados por las larvas mantenidas con régimen de alimentos vivos. Sin embargo en PZI, un

mayor consumo de oxígeno fue observado en las larvas mantenidas con el alimento vivo comparadas al mostrado por las larvas alimentadas con las dietas artificiales. Por tanto dentro de los beneficios con el uso de las microdietas se puede mencionar que existe un menor gasto energético en el proceso digestivo, en comparación a la que ocurre con las microalgas suministradas comúnmente en este subestadio. La proteína semidigerida que representan los hidrolizados presentes en las dietas microencapsuladas, pudiera ser la causa de los bajos consumos de oxígeno registrados en PZI, a través de un menor esfuerzo metabólico en el proceso digestivo.

Por otro lado, empleando dietas microencapsuladas conteniendo CPSP 90% de proteína y dirigidas para los subestadios de mysis como sustitutas de los nauplios de Artemia, menores tasas de ingestión de microalgas fueron observadas, cuando estas se combinan con la dieta artificial, a diferencia de cuando son acompañadas de los nauplios de Artemia (Gallardo *et al*, 2003) (Fig. 4).

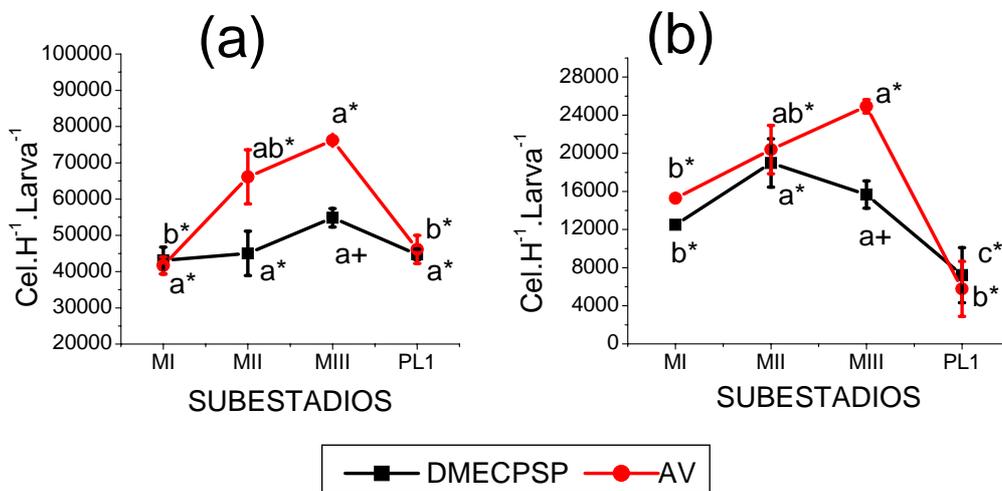


Fig. 4.- Tasas de ingestión (IR) ($\text{cel} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{larva}^{-1}$) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* para cada subestadio alimentados con las dietas: DMECPSP o AV. (a) IR de *Chaetoceros gracilis*, (b) IR de *Tetraselmis chuii* (Promedio \pm ES). Diferentes letras indican diferencias significativas entre subestadios en cada tratamiento ($P < 0.05$). (Promedio \pm ES) N=10.

Respuestas fisiológicas de larvas de *L. vannamei* ante microdietas con CPSP 90%.

El crecimiento es una respuesta fundamental en la valoración de un determinado tratamiento de alimentación. Ya sea con dietas solas o en combinación es resultado de diversos procesos físicos, químicos y biológicos involucrados para el aprovechamiento y utilización de los nutrientes de las diversas fuentes de alimentación (Kuban, 1989). El peso, como indicador de crecimiento, refleja estos procesos.

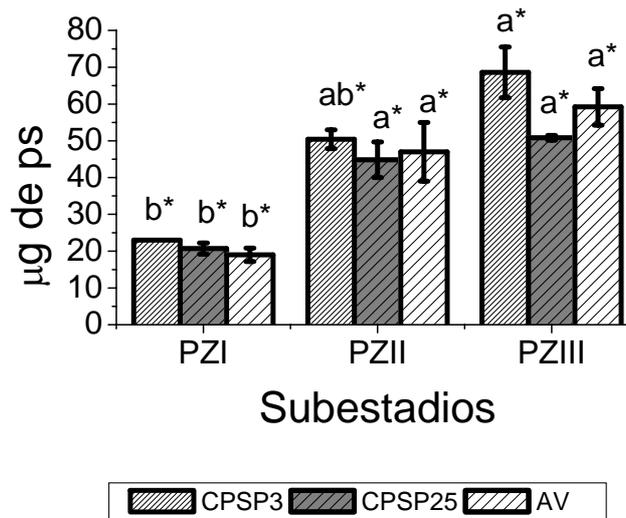


Fig. 5. Peso seco individual (μg) de las larvas protozoicas de *Litopenaeus vannamei* para cada subestadio alimentadas con diferentes dietas: CPSP-3, CPSP-25 o AV. Diferentes letras indican diferencias significativas entre Subestudios en cada tratamiento. (Promedio \pm ES) N=10.

En el caso de valoración de dietas artificiales, además de su pobre rendimiento en el desarrollo y la supervivencia al estadio de mysis o Postlarva, la baja aceptabilidad ha sido asociada a sus características fisicoquímicas y nutrimentales. Kumlu y Jones (1995), empleando dietas artificiales en larvas de palemonidos, observaron altas actividades de tripsina y lo asociaron a una estrategia de las larvas por aprovechar el bajo perfil nutrimental, mencionando principalmente que la proteína presente es menos digerible que la aportada por los nauplios de *Artemia*. Asimismo señalan que la participación de enzimas autolíticas en la digestión de los nauplios consumidos favoreciendo el proceso digestivo y por ende un mejor aprovechamiento del alimento y menor esfuerzo en la actividad enzimática. Así, señalan que la baja aceptabilidad de las dietas y la alta actividad proteolítica es observada en organismos que son alimentados en condiciones subóptimas a sus requerimientos nutrimentales (Kumlu y Jones, 1995;

Jones et al, 1997) y a la calidad de los nutrientes contenidos en ellas. En el estadio de protozoa, nosotros logramos la sustitución total de las microalgas a escala experimental empleando microcapsulas. Utilizando un tamaño promedio de partícula de 3 micrómetros y con CPSP 90% de proteína como una de las fuentes proteicas en la dieta y como agente encapsulante (además de goma arábica y maltodextrina), los valores promedio en peso seco resultaron mayores a los observados en las larvas mantenidas con las microalgas al final del experimento (subestadio de PZIII) (Fig. 5).

Balance energético

Con base en los resultados de consumo de oxígeno, tasas de ingestión y crecimiento en sus equivalentes energéticos de las larvas de *L. vannamei*, calculamos un balance energético, estimando indicadores tales como asimilación, producción y eficiencias energéticas que nos permiten entender la estrategia de repartición de energía adoptada por los organismos ante diferentes alimentos suministrados.

Ingestión (I)

Las tasas de ingestión de microalgas y nauplios de *Artemia* son convertidas en Joules de acuerdo a Lemos y Phan (2001), utilizando los siguientes valores: *Chaetoceros gracilis*, $30 \times 10^{-6} \mu\text{g dw cel}^{-1}$ y $9.66 \text{ J dw mg}^{-1}$; *Tetraselmis chuii*, $269 \text{ pg dw} \cdot \text{cel}^{-1}$ y $47.88 \text{ J dw} \cdot \text{mg}^{-1}$; *Artemia*, $2.42 \text{ J } \mu\text{g dw} \cdot \text{nauplio}^{-1}$ y $24.21 \text{ J} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ dw}$. El consumo de oxígeno consumido en cada subestadio larval es convertido a valores de energía utilizando $14.06 \text{ J} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ O}_2$ como factor de conversión (Gnaiger, 1983). Los valores energéticos de las microcápsulas ($13.94 \text{ J} \cdot \text{mg}^{-1}$) son estimados utilizando los coeficientes de digestibilidad aparente (ADC) reportados por Cuzon y Guillaume (1997).

Método de evaluación de parámetros del balance bioenergético crecimiento (P)

El peso seco individual de las larvas provenientes de las mediciones del consumo de oxígeno es convertido a Joules utilizando el modelo reportado para larvas de *Farfantepenaeus paulensis* por Lemos y Phan (2001). La ecuación es:

Gallardo, P., Pedroza, P., Brito, A., Cuzon, G. y Gaxiola, G. 2004. Uso de Alimentos Artificiales con Hidrolizados Proteicos de Origen Marino en la Larvicultura de Camarones Peneidos: Efecto Sobre la Respuesta Nutricional y Balance Energético. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. 2004. Avances en Nutrición Acuicola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

$$\text{Log}C = a + b * \log dw$$

donde: C es expresada en Joules y el peso seco (dw) en miligramos y las constantes son: a = 37.15 J • mg dw⁻¹ y b = 0.145 (r= 0.9), obtenidas de las mediciones calorimétricas de las larvas de *L. vannamei*.

Exuvia (Ex)

El contenido energético de la exuvia es calculado de acuerdo a Lemos y Phan (2001), considerado como el 5% del contenido de energía total del cuerpo.

Otros parámetros energéticos.

Con la conversión en Joules de los parámetros mencionados previamente, se estima un modelo de balance energético, incluyendo los siguientes parámetros de acuerdo a Lucas (1993) y Lemos y Phan (2001):

Asimilación (As) = Respiración (R) + Producción (P) + Exuvia (E_v)

Eficiencia de asimilación (As Ef) = (Asimilacion/Ingestion) X 100

Eficiencia de respiración (R Ef) = (Respiracion/asimilacion) X 100

Eficiencia neta de crecimiento (K₂) = [(P + E_v) / (P + R + E_v)] X100

Balance energético en el estadio de Protozoa: sustitución total de microalgas.

Los valores de las tasas de ingestión de las microalgas en el estadio de protozoa en términos energéticos representó 15.54 J, lo cual fue 4.6 veces mas de energía ingerida que las larvas alimentadas con las dietas CPSP-3 y CPSP-25 (1.11 J) (Tabla 1). Aun así, la asimilación total estimada para las larvas del AV (0.60 J) solo mostró una diferencia de 0.03 J en comparación a las larvas mantenidas con la dieta CPSP-3 (0.57 J) (Tabla 1).

Tabla 1. Energía total (joules) canalizada al crecimiento: Producción (P), metabolismo de rutina (R), exuvia (E_v) por las larvas de *L. vannamei* alimentadas con las dietas CPSP-3, CPSP-25 o AV desde PZI a PZIII. $A = P + R + E_v$.

	Ingestión	Respiración	Producción	Exuvia
CPSP-3	3	022	28	4
CPSP-25	3	041	23	5
AV	54	047	3	7

Con estos valores y en cuanto a la estrategia de repartición de energía, la eficiencia de asimilación de las larvas mantenidas con la dieta CPSP-3 (17%) resulto 2.4 veces más alta que la estimada para las larvas alimentadas con el AV (7%) (Tabla 2).

Tabla 2. Eficiencias energéticas estimadas para las protozoas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con las dietas CPSP-3, CPSP-25 O AV (%).

Tratamiento	Respiración	Asimilación	K₂
	%	%	%
CPSP-3	34	17	66
CPSP-25	34	14	66
AV	34	7	63

También la Eficiencia neta de producción K₂, mostró el valor mas alto con la dieta CPSP-3, con un valor promedio de 66 %, mientras que las larvas mantenidas con el AV exhibieron un 63 % (Tabla 2).

Balance energético en el estadio de mysis: sustitución total de nauplios de Artemia

En el experimento de sustitución total de los nauplios de Artemia durante el estadio de mysis, la disminución en la tasa metabólica reflejada en el consumo de oxígeno se presento tanto con el uso de la dieta artificial acompañada de microalgas como con un régimen de alimento vivo en las larvas de *L. vannamei*, siendo significativamente más baja en el subestadio de MIII con el tratamiento de AV (Fig. 6).

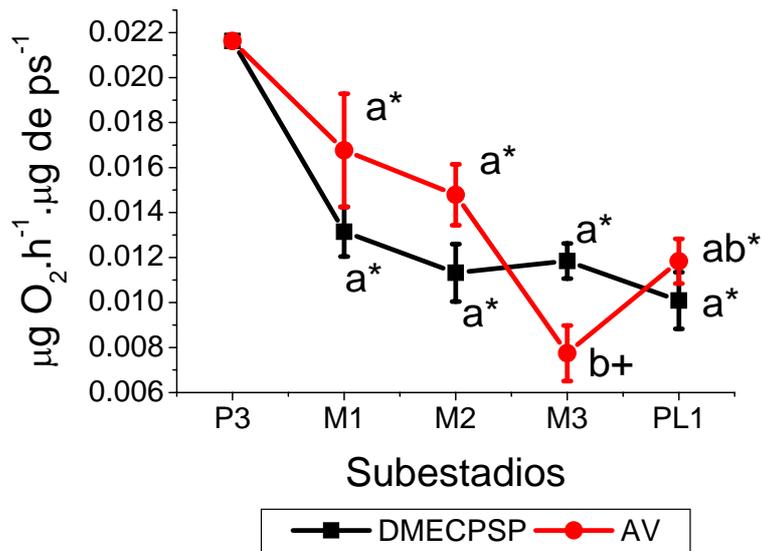


Fig. 6.- Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g dw}^{-1}$) para el metabolismo de rutina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: DMECPSP o AV. (Promedio \pm ES.) N=10.

Con relación al crecimiento, los valores de peso seco (obtenidos en PL1) resultaron similares (Fig. 7).

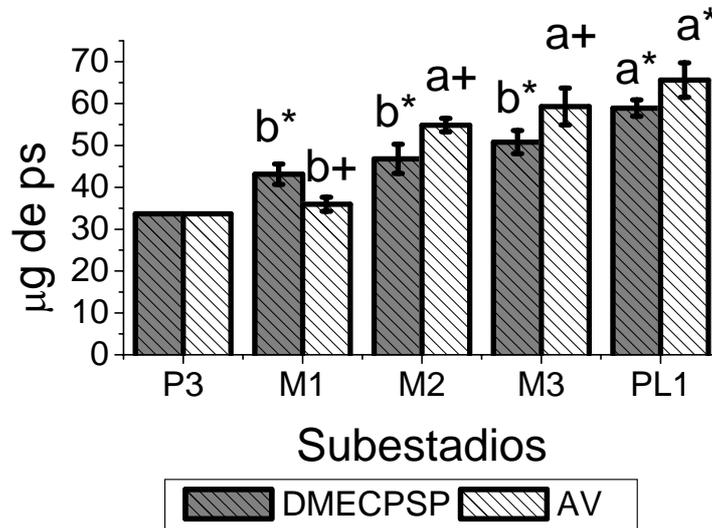


Fig. 7. Peso seco individual (μg) de las mysis de *Litopenaeus vannamei* para cada subestadio alimentadas con diferentes dietas: DMECPSP o AV. Diferentes letras indican diferencias significativas entre Subestadios en cada tratamiento. (Promedio \pm ES) N = 10.

Así también, los valores promedio de los indicadores (ingestión, respiración, exuvia, producción y asimilación) incluidos en el balance energético incompleto mostraron el mismo comportamiento, destacándose solo una mayor cantidad de energía hacia la respiración por parte de las larvas mantenidas con la dieta artificial (0.97 J.larva⁻¹.día⁻¹ por 0.89 J.larva⁻¹.día⁻¹ para el tratamiento AV) (Tabla 3). Esta mayor cantidad de energía puede ser producto del esfuerzo asociado con la captura y manipulación de los nauplios de *Artemia* presentes en este tratamiento.

Tabla 3. Energía total (joules) canalizada al crecimiento: Producción (P), metabolismo de rutina (R), exuvia (E_v) por las larvas de *L. vannamei* alimentadas con las dietas: DMECPSP o AV. A = P + R + E_v.

	estión	piración	ducción	ilación
DCPSP	7	7	18	5
AV	5	9	19	9

Las eficiencias de respiración y asimilación de las larvas de *L. vannamei* mostraron mayores valores con la dieta artificial y solo la eficiencia neta de producción fue mayor en las larvas mantenidas con el AV que con el tratamiento DCPSP (29.5% y 26.25% respectivamente) (Tabla 4).

Tabla 4. Eficiencias energéticas estimadas para las mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con las dietas: DMECPSP o AV (%).

Tratamiento	Respiración %	Asimilación %	K ₂ %
DCPSP	73.5	3.69	26.25
AV	70.7	3.61	29.5

Balance energético en toda la fase larval: sustitución total del alimento vivo (microalgas y nauplios de *Artemia*).

En este trabajo un grupo de larvas fue alimentado con la dieta artificial conteniendo CPSP y otro bajo un régimen de alimento vivo desde PZI hasta PL1. Del primer grupo una parte fue mantenida con solo dieta artificial (DCPSP) (5 replicas) y la otra fue complementada con microalgas a partir del subestadio de PZIII avanzado (5 replicas), sustituyendo así totalmente a los nauplios de *Artemia*. De acuerdo con este diseño, los

pesos secos obtenidos al final del periodo experimental en PL1 resultaron similares (Fig. 8). Con la dieta DCPSP los valores promedios fueron mas altos en el subestadio de PZIII (24 μ g) con relación a las PZI (4 μ g) y PZII (6 μ g) ($P < 0.05$) (Fig. 8). Las larvas alimentadas con la dieta microencapsulada sola tuvieron una disminución en el crecimiento en el paso de PZIII a MI (Fig. 8). Sin embargo, durante los subestadios de mysis las larvas alimentadas con las dietas artificiales incrementaron desde MI a PL1 2.8 veces su peso seco (20.2 a 57.4 μ g) (Fig. 8). El mismo patrón de comportamiento fue observado con las larvas mantenidas con el tratamiento AV, aunque el crecimiento en peso fue mínimo entre los subestadios de MI y MII (Fig. 8).

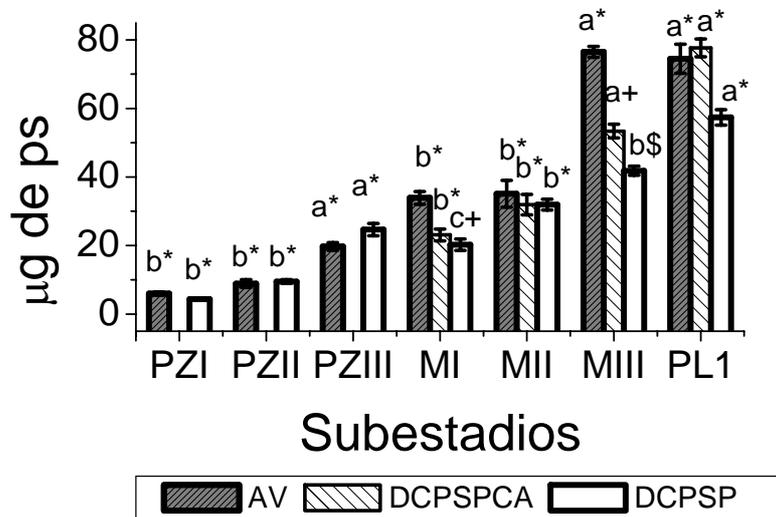


Fig 8. Peso seco individual (μ g) de las larvas mysis de *Litopenaeus vannamei* para cada subestadio alimentadas con diferentes dietas: AV, DCPSPCA O DCPSP. Diferentes letras indican diferencias significativas entre subestadios en cada tratamiento. Diferentes símbolos indican diferencias significativas entre tratamientos para cada subestadio (Promedio \pm ES) N=10. Nota: Para las comparaciones entre tratamientos: en PZI, PZII y PZIII, se realizó una prueba de T de Student, y en el caso de las mysis y primera postlarva se realizó un ANDEVA de una vía de clasificación.

Las mayores diferencias entre tratamientos fueron observadas en MIII, resultando las larvas mantenidas con la dieta AV (76 μ g) las de mayor valor promedio, seguidas por las larvas de la dieta DCPSPCA (48 μ g) y con el promedio mas bajo las de la dieta DCPSP (41 μ g) (Fig. 8). Sin embargo, mientras que las PL1 producidas con el tratamiento AV no aumentaron su peso sustancialmente después de MIII, las larvas alimentadas con las dietas artificiales incrementaron su biomasa a PL1, no habiendo diferencias estadísticas a las de la dieta con alimentos vivos (AV).

Con relación al consumo de oxígeno se presentó un incremento en la tasa de PZI a PZIII con ambos tratamientos, habiendo un pico en el subestadio de PZIII (Fig. 9). En el paso a MI una disminución en el consumo de oxígeno fue observada en estos dos tratamientos (DCPSP y AV), incrementándose en MII como un pico en este estadio. También el tratamiento DCPSPCA, mostró el mayor consumo de oxígeno en este subestadio. Rosas *et al.*, (1995) señala que las larvas de camarón muestran una acumulación de energía antes de los pasos críticos como una estrategia para su fase de vida bentónica y nuevos ambientes en Postlarva. Así los consumos de oxígeno en larvas bien alimentadas y referidos al peso se ven disminuidos al final del estadio de mysis y primera Postlarva (Fig. 9). Estos resultados coinciden con lo reportado para larvas de *P. monodon* por Kurmaly *et al.*, (1989), donde una disminución de consumo de oxígeno desde PZI a PL1 fue presentada por los organismos, cuando el mismo es referido al peso específico de las larvas, consistente con la disminución en la razón superficie: volumen (Conover, 1978). Así también en larvas de *M. rosenbergii*, una disminución general del consumo de oxígeno específico al peso durante la ontogenia larval fue observado por Agard (1999), donde no obstante señala una asociación en las modificaciones morfológicas del hepatopancreas (glándula digestiva) como la principal razón de los picos de consumo durante el desarrollo y la posterior disminución a la adaptación y equilibrio fisiológico que alcanzan los organismos.

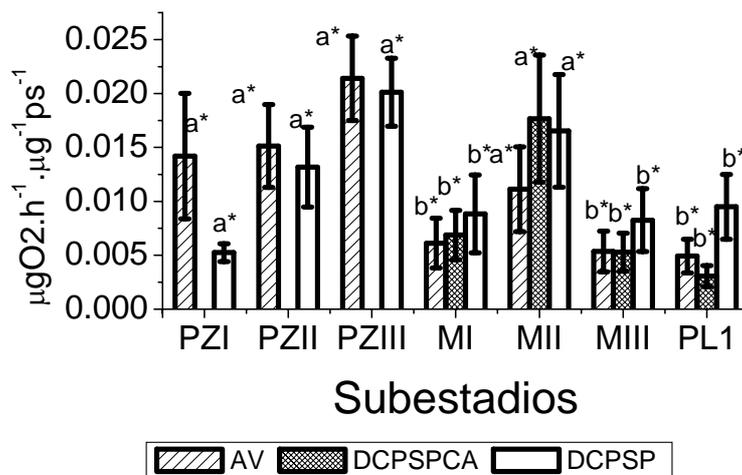


Fig. 9.- Consumo de oxígeno ($\mu\text{g O}_2 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \mu\text{g dw}^{-1}$) para el metabolismo de rutina de las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con diferentes dietas: AV, DCPSPCA O DCPSP. (Promedio \pm ES.) N=10.

Un valor mas alto de asimilación (2.47 J) fue estimado para las larvas mantenidas únicamente con la dieta artificial, aun con una menor entrada de energía (39.76) (Tabla 5). Esto resulta de la mayor cantidad de energía canalizada a la producción, la cual resultó 0.08 J más alta que la mostrada por las larvas mantenidas con el tratamiento de AV (1.28 J) (Tabla 5). La mayor cantidad de energía canalizada a la respiración fue observada en las larvas alimentadas con el AV (1.37 J) comparada a la mostrada en los otros dos tratamientos (0.97 J para DCPSPCA y 1.05 J para DCPSP) (Tabla 5).

Tabla 5. Energía total (joules \cdot larva $^{-1}$ \cdot día $^{-1}$) canalizada al crecimiento: Producción (P), metabolismo de rutina (R), exuvia (E_v) por las larvas de *L. vannamei* alimentadas con AV, DCPSPCA o DCPSP. A = P + R + E_v.

Tratamiento	Ingestión	Respiración	Exuvia	Producción	Asimilación
AV	47.66	1.37	0.06	1.28	2.7
DCPSPCA	41.65	0.97	0.055	0.64	1.6
DCPSP	39.76	1.05	0.06	1.36	2.4

En la tabla 6 observamos la repartición de energía a través de las eficiencias energéticas estimadas. Una mayor eficiencia respiratoria fue observada por las larvas alimentadas con el AV (promedio de 62.7 %), mientras que la dieta artificial utilizada como único alimento mostró la mayor eficiencia de asimilación (7.7 %). Los mayores valores de la eficiencia neta de producción (K₂) fueron mostrados por las larvas mantenidas con las dietas artificiales (41.5 % para la dieta DCPSPCA y 40.8 para la dieta DCPSP) (Tabla 6).

Tabla 6. Eficiencias energéticas estimadas para las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentados con AV, DCPSPCA o DCPSP (%).

Tratamiento	Respiración %	Asimilación %	K ₂ %
AV	62.7	5.5	36.2
DCPSPCA	58.4	4.31	41.59
DCPSP	44.8	7.7	40.8

Consideraciones finales

Los valores promedio de la energía invertida en la respiración por las larvas de *L. vannamei* resultaron mas bajos con las dietas artificiales conteniendo el CPSP 90 % de proteína de acuerdo a los resultados obtenidos en los experimentos en el estadio de protozoa (sustitución total de microalgas) y en toda la fase larval [sustitución parcial (nauplios de Artemia) y total de los alimentos vivos (microalgas y nauplios de Artemia)], no así en el experimento del estadio de mysis, donde los valores promedios fueron similares. Los valores de K2 (promedios de 66%) con las dietas artificiales en el estadio de protozoa, resultaron similares a los obtenidos por Lemos y Phan (2001) en larvas de *F. paulensis* y superiores a los reportados por Kurmaly *et al* (1989) en larvas de *P. monodon*, reflejando una eficiente transformación de la energía asimilada en crecimiento de acuerdo con los datos de peso obtenidos en este experimento.

El retraso en el desarrollo entre PZIII y MI observado en las larvas mantenidas únicamente con la dieta artificial puede deberse a los cambios a nivel digestivo que ocurren a partir de este subestadio, como una estrategia adaptativa en el aprovechamiento de nuevas fuentes de alimentación (cambio de herbívora a omnívora – carnívora) y de la vida planctónica en el estadio de protozoa a la vida bentónica en mysis y postlarvas. Así también, Lemos y Phan (2001) señalan que la disminución en la razón superficie:volumen en el aparato digestivo por la desaparición de los divertículos anteriores para la formación de la glándula digestiva (Lovett y Felder, 1989), puede ser asociada a una mayor retención de energía del alimento y que puede ser reflejada en un mayor costo metabólico a través del consumo de oxígeno. En nuestros resultados mayores gastos de energía en la respiración fueron observados en estos subestadios, disminuyendo gradualmente durante el estadio de mysis.

Las raciones de alimentos artificiales suministradas tanto en el experimento de sustitución total en protozoa y parcial en mysis fueron suficientes para alcanzar

crecimientos y supervivencias similares a los observados en larvas mantenidas con los alimentos vivos. En el caso de las protozoas, una menor energía fue suministrada con la dieta artificial mostrando una mayor eficiencia de conversión energética ya que resultó 4.6 veces menor a la energía aportada por las microalgas en las larvas de *L. vannamei*. Los valores de crecimiento, desarrollo y supervivencia, así como los indicadores energéticos obtenidos señalan que el tamaño de partícula (promedio de 3 micrómetros), así como el incremento en la cantidad de proteína (62 %) a través de la inclusión del CPSP como agente encapsulante y la ración suministrada ($0.08 \text{ mg larva}^{-1} \text{ día}^{-1}$) jugaron un papel clave en el éxito obtenido en la sustitución total de microalgas en este estadio. Así, experimentos a escala piloto - comercial son necesarios para confirmar la efectividad de las micro cápsulas.

Literatura citada

- Agard J.B.R. 1999. A four – dimensional response surface analysis of the ontogeny of physiological adaptation to salinity and temperature in larvae of the palaemonid shrimp *Macrobrachium rosenbergii* (de Mann). J. of Exp. Mar. Biol. and Ecol. 236: 209 – 233.
- Anger K. 2001. The biology of decapod crustacean larvae In: R. Vonk (ed). Crustacean Issues Vol 14, AA Balkema Publishers, Amsterdam Netherlands, 407 pp.
- Cahu C.L., Zambonino Infante, J.L. Quazuguel, Le Gall M.M. 1999. Protein hidrolisate Vs fish meal in compound diets for 10 day old sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. Aquaculture 171 : 109-119.
- Conover, R.J. 1978. Transformation of organic matter. In: O. Kinne (Editor), Marine Ecology. Vol. 4, Dynamics, Wiley and Sons. New York, NY, pp: 221 - 500.
- Cordova – Murueta J.L. and Garcia – Carreño F. L. 2002. nutritive value of squid and hydrolyzed protein supplement in shrimp feed. Aquaculture 210: 371 – 384.
- Cuzon, G. and Guillaume, J. 1997. Energy and Protein:Energy Ratio p 51-70. In: D’Abramo, L.R., Conklin, D.E., and Akiyama, D. M. Crustacean Nutrition, Advances in World Aquaculture Vol, 6, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, U.S.A.
- Galgani, M.L. and AQUACOP. 1988. Essais de remplacement des algues vivantes par des microparticules inertes pour l’alimentation des larves zoé des crevettes peneides. Aquaculture, 69: 115-117.
- Gallardo, P. P., Alfonso, E., Gaxiola, G., Soto, L. A. and Rosas, C. (1995). Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms (*Chaetoceros ceratosporum*), flagellates (*Tetraselmis chuii*) and Artemia nauplii. Aquaculture 131, 3-4.
- Gallardo, P.P., Pedroza-Islas, R., García-Galano, T., Pascual, C., Rosas, C., Sanchez, A., y Gaxiola, G. 2002. Replacement of live food with a microbound diet in feeding *Litopenaeus setiferus* (Burkenroad) larvae. Aquaculture Research; Volume 33, Issue 9, Page 681.
- Gallardo P.; Martínez G., Brito A., Barrera J., Pedroza R., Cuzon, G., Rosas C., and Gaxiola G. 2003. effect of Artemia nauplii replacement by and artificial feed containing krill hydrolysates on ingestion rate, oxygen consumption, and energetic budget in the mysis of *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Nauplius. 11 (2): 1 – 13.
- Gnaiger, E. 1983. Calculation on energetic and biochemical equivalents of respiratory oxygen consumption. p 337-345 In: Gnaiger, E., Forstner, H. (Eds), Polarographic oxygen Sensors. Springer, Berlin, Germany.
- Ismael D. and Moreira G.S. 1997. Effect of temperature and salinity on respiratory rate and development and early larval stages of *Macrobrachium acanthurus* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). Comp. Biochem. Physiol. Vol. 118A, No. 3, pp: 871 – 876.
- Gallardo, P., Pedroza, P., Brito, A., Cuzon, G. y Gaxiola, G. 2004. Uso de Alimentos Artificiales con Hidrolizados Proteicos de Origen Marino en la Larvicultura de Camarones Peneidos: Efecto Sobre la Respuesta Nutricional y Balance Energético. In: Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Nieto López, M.G., Villarreal, D., Scholz, U. y González, M. 2004. Avances en Nutrición Acuicola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 16-19 Noviembre, 2004. Hermosillo, Sonora, México

- Jones, D.A., Kumarly, K., and Arshard, A. 1987. Peneid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture*, 64: 133-146.
- Jones, D.A.; Yule, A.B. and Holland, D.L. 1997. Larval nutrition, p 353-389 *In: D'Abramo, L., Conklin, D.E., and Akiyama, D.M., (Eds), Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture, Vol 6. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.*
- Jones D.A. 1998. Crustacean larval microparticulated diets. *Reviews in Fisheries Science*, 6 (1 y 2): 41-54.
- Kuban F.D.; Lawrence A. D. and Wilkenfeld J.S. 1985. Survival, metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture*, 47 (1985): 151- 162.
- Kumlu M. y Jones D. 1995. Feeding and digestion in the caridean shrimp larva of *Palaemon elegans* Rathke and *Machobranchium rosebergii* De Mann (Crustacea : Palaemonidae) on live and artificial diets. *Aquaculture nutrition*, 1 : 3-12.
- Kurmaly, K., D. A. Jones, A. B. Yule and J. East. 1989. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa I to postlarva 1 on live feeds, artificial diets on combination of both. *Aquaculture*. 81: 27-45.
- Kovalenko, E.; D'Abramo, L.R.; Ohs, C.L. and Buddington, R.K. 2002. A successful microbound diet for the larval culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosebergii*. *Aquaculture*, 210: 385-395.
- Lemos D., y Phan V.N. 2001. Ontogenetic variation in metabolims, biochemical composition and energy content during the early life stages of *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). *Marine Biology* 138: 985-997.
- Lovett, D.L., & Felder, D.L. 1989 Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda; Penaeidae). *J. Morphol.* 201: 253-272.
- Lovett, D. L., Felder, D. L. 1990. Ontogenetic change in digestive enzyme activity of larval and postlarval white shrimp *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull.* 178: 144-159.
- Lucas, A. 1993. Bioenergétique des animaux aquatiques. Masson, Paris; 180 pp.
- Palacios E., Perez- Rostro, J. L., Ramírez A. M. Ibarra and I. S, Racotta. 1999. Reproductive exhaustion in shrimp (*Penaeus vannamei*) reflected in larval biochemical composition, survival, and growth. *Aquaculture* 171: 309 – 321.
- Pedroza - Islas, R, Vernon-Carter, E.J., Durán-Domínguez, C. and Trejo-Martínez, S. 1999. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff microencapsulation. I. Particle size, morphology and microstructure of microcapsules. *Food Res. Int.* 32 (5): 367-374.
- Pedroza - Islas, R.2000. Estudios difusionales en microencapsulados para larvas de crustáceos. Tesis de doctorado. UNAM.
- Pedroza-Islas R., Gallardo P., Vernon-Carter E.J., García-Galano, T. Rosas C. Pascual C. & Gaxiola G. 2004. Growth, survival, quality, and digestive enzymes activities of larval shrimp fed microencapsulated, mixed, and live diets. *Aquaculture Nutrition*. Vol. 10 (3): 167 – 173.
- Rosas – Vazquez C. 1995. Bioenergética de camarones peneidos: una forma de comprender los mecanismos fisiológicos involucrados en la nutrición. En II aspectos bioenergéticos en la nutrición acuícola. III Simposium Internacional de Nutrición acuícola, Monterrey Nuevo Leon, México. 81 – 97.
- Rosas, C., Sánchez, A., Gallardo, P., Quiroz, J., Gaxiola, G., Díaz-Iglesia, E. and Soto, L. A. 1995. Oxygen consumption and ingestion rate of *Penaeus setiferus* larvae fed *Chaetoceros ceratosporum*, *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. *Aquacult. Nutr.* 1:13-20.
- Ravallec-Plé, R. 2000. Valorisation d'hydrolysats d'origine marine: optimisation de la concentration en peptides apparentes aux facteurs de croissance et aux agents sécrétagogues. Essais *in vitro* et *in vivo*. Tesis de Docteur de L'Universite de Bretagne occidentale. 206 p.
- Vega – Villasante F., Nolasco – Soria H., Chong – Carrillo O., Fallarero A., and Carrillo – Farnes O. 2004. Functional feeds in shrimp nutrition: the new research? Theoretical concept and practical approach. *Panorama acuícola*. Vol. 9 (4): 22 – 27.