

# Avances en el Uso de Alimentos Artificiales en la Larvicultura de Camarón

Gabriela Gaxiola<sup>1</sup>, Pedro Pablo Gallardo<sup>1</sup>, Rozenn Ravallec<sup>2</sup>, Claudia Durruty<sup>1</sup>, Tsai García T<sup>3</sup>, Gerard Cuzon<sup>4</sup>, Alain Van Wormhoudt<sup>2</sup> y Ruth Pedroza<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecología y Biología Marina Experimental, Fac de Ciencias, UNAM. Apdo Postal 69, Cd. Del Carmen, Campeche, México. Tel (938) 3828730, mggc@hp.fciencias.unam.mx

<sup>2</sup>Estación de Biología Marina Concarneau, Museo Natural de Historia Natural, Francia.

<sup>3</sup>Centro de Investigaciones Marinas, Universidad de La Habana, Cuba.

<sup>4</sup>Centro Oceanológico de Tahití, IFREMER, Francia.

<sup>5</sup>Departamento de Ingenierías, Universidad Iberoamericana, México

## RESUMEN

Se presentan resultados de estudios a nivel de laboratorio, para las larvas de los camarones blancos *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*. Todos los experimentos fueron realizados en las mismas condiciones experimentales y bajo los mismos procedimientos, por lo cual es posible comparar el desarrollo, la supervivencia, así como las actividades específicas de las enzimas digestivas, usando diversas variantes de dietas artificiales (purificadas y prácticas, microparticuladas y microencapsuladas). Al inicio del programa de investigación se usaron dietas purificadas basadas en caseína y con estas dietas fue posible determinar, de manera preliminar, el requerimiento relativo de proteína para las larvas de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*. Tratando de mejorar las condiciones de digestibilidad de la caseína se probaron hidrolizados proteicos de origen marino experimentales, resultando parcialmente benéficos para las Protozoas de *Litopenaeus vannamei*. Los hidrolizados proteicos se incluyeron con la finalidad de explotar su efecto secretagogue, al inicio de la maduración del tubo digestivo larval. A partir de esto y usando alimentos con multi-ingredientes se evidenció la reducción en el consumo de alimento vivo, especialmente de los nauplios de *Artemia* para las larvas de *L. setiferus*. La idea del uso de microcápsulas aunque no es nueva, se ha retomado, usando para ello una forma de encapsulación en la que los agentes microencapsulantes forman una matriz en la cual quedan embebidos todos los nutrientes, previamente homogenizados. Se obtuvo una microcápsula efectiva para la sustitución parcial y total del alimento vivo para las Mysis de *Litopenaeus vannamei*. Este

Gaxiola, G., Gallardo, P., Ravallec, R., Durruty, C., García, T., Cuzon, G., Van Wormhoudt, A., Pedroza, R., 2002. Avances en el uso de alimentos artificiales en la larvicultura de camarón. In: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M. G., Simoes, N. (Eds.). Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola. 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

trabajo provee información en dietas artificiales que pueden ser usadas para remplazar completamente alimento vivo o sólo *Artemia* a nivel de laboratorio que posteriormente deben ser escalados a nivel comercial, en el contexto de abaratar los costos de producción de postlarvas.

*Palabras clave:* larvas de camarón, enzimas digestivas, micropartículas, microcápsulas, hidrolizados.

## INTRODUCCIÓN

La producción masiva de larvas de camarón aún depende de los alimentos naturales, los cuales son muy variables en su valor nutricional (Kanazawa, 1989). Es por ello complicado determinar los requerimientos nutricionales de las larvas (Jones Yule & Holland, 1997). Debe entonces enfocarse este tipo de estudios a la confección de dietas artificiales en las que se controlen los niveles de inclusión de los nutrientes para determinar los requerimientos nutricionales (Kanazawa, 1989; Jones *et al.*, 1997). Los diferentes tipos de dietas microparticuladas reportadas están categorizadas en tres grupos: microencapsuladas, microligadas y microcubiertas (Kanazawa & Teshima, Kanazawa, 1985a, Kanazawa 1986a., Kanazawa & Teshima, 1988). Nuestro grupo de investigación ha realizado una serie de investigaciones básicas usando dietas microparticuladas purificadas y prácticas, así mismo ha probado una serie de dietas microencapsuladas en forma de micromatrices (Pedroza *et al.*, 2000 y 2001) usando mezclas de tres clases de polisacáridos- goma de mezquite, goma arábica y maltodextrina en la nutrición de larvas de dos especies de camarones. *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*.

## ALIMENTOS MICROPARTICULADOS PURIFICADOS

Tomando en cuenta los antecedentes presentados por Kanazawa y su escuela de nutrición de larvas, se decidió determinar el requerimiento relativo de proteína de las larvas de las dos especies de camarón blanco, *Litopenaeus setiferus* y *L.vannamei* (Tabla 2 y 3). Uno de los mayores intereses era constatar si la caseína (Tabla 1), podría ser verdaderamente una fuente de proteína universal para estudios comparativos de requerimientos nutricionales de camarón, como lo han puntualizado D'Abramo & Castell (1997) y Guillaume (1997).

Tabla 1.- Composición de las dietas purificadas usadas para determinar el requerimiento relativo de proteína de las Protozoas y Mysis de *L. setiferus* y *L. vannamei*

ingredientes	A1*	A2**	B1	B2	C1	C2	D1	D2
CASEINA	32	32	43	43	54	54	64	64.
arginina	1.7***	1.7	2.2	2.2	2.8	2.8	3.3	3.3
ALMIDON	5	15	5	15	5	15	5	15
A. de H.BAC	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
A. GIRASOL	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
colesterol	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
lecitina	1	1	1	1	1	1	1	1
Robimix C	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
vitamina	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
mineral	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8
ALGINATO	1	1	1	1	1	1	1	1
celulosa	51	41	40	30	28	18	17	7
proteína	30	30	40	40	50	50	60	60
lípidos	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5

\*El numeral 1 indica las dietas que fueron empleadas en los experimentos de las protozoas.

\*\* El numeral 2 indica las dietas que fueron empleadas en los experimentos de Mysis.

\*\*\* Se adicionó arginina para mejorar el balance amino acidico de las dietas

Tabla 2. Resultados de crecimiento, supervivencia e índice de desarrollo de las Protozoas y las Mysis de *Litopenaeus setiferus* alimentadas con alimentos microparticulados purificados con diferentes niveles de proteína.

Dieta	Proteína dietética %				Control
	30	40	50	60	
PI-PIII					
longitud (mm)	0.216±0.0001 <sup>b</sup>	0.208±0.0001 <sup>c</sup>	0.206±0.0001 <sup>c</sup>	0.201±0.0001 <sup>c</sup>	0.224±0.0001 <sup>d</sup>
STC (%)*	24 ± 7 <sup>a</sup>	41 ± 11 <sup>a</sup>	49 ± 14 <sup>a</sup>	39 ± 9 <sup>a</sup>	100
Indice de desarrollo (horas)	2.9±0	2.9±0.1	2.6±0.1	3±0.1	3.0±0.1
	(120)	(120)	(120)	(120)	(120)
MI-PI <sub>1</sub>					
longitud (mm)	0.14 ± 0.02	0.15 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.38 ± 0.06
STC (%)	21.7 ± 10 <sup>a</sup>	45.8 ± 16 <sup>a</sup>	46 ± 9 <sup>a</sup>	50.3 ± 11 <sup>a</sup>	100
Indice de desarrollo	6.2 ± 0.2	6.1 ± 0.1	6.2 ± 0.1	6.3 ± 0.2	6.6 ± 0.2
	(72)	(72)	(72)	(72)	(72)

\*Supervivencia relativa la tratamiento control (%).

Tabla 3. Resultados de crecimiento y supervivencia de las Protozoas y las Mysis de *L. vannamei* alimentadas con alimentos microparticulados purificados con diferentes niveles de inclusión de proteína.

proteína dietética %	30	40	50	60	Control
N					
Supervivencia	39	59	54	50	100
PI-PIII					
longitud (mm/día)	0.170±0.002 <sup>b</sup>		0.146±0.007 <sup>c</sup>	0.147±0.004 <sup>c</sup>	0.299±0.006 <sup>a</sup>
tasa de crecimiento (µg/día)	2.08±0.71 <sup>b</sup>		2.19±0.4 <sup>b</sup>	3.8±0.58 <sup>a</sup>	3.24±0.22 <sup>ab</sup>
supervivencia	13	7	40.	16	100
Índice de desarrollo	2.8		2.8	3	3
(horas)	(144)		(168)	(168)	(120)
MI-PI <sub>1</sub>					
longitud (mm/día)	0.115±0.01 <sup>b</sup>	0.125±0.01 <sup>b</sup>	0.143±0.012 <sup>b</sup>	0.096±0.012 <sup>b</sup>	0.214±0.02 <sup>a</sup>
Índice de desarrollo	6.8	6.8	6.7	6.6	7
(horas)	(120)	(96)	(96)	(96)	(96)

Los resultados obtenidos en los experimentos realizados, arrojaron diferencias evidentes en el crecimiento de las larvas alimentadas con alimento vivo (Control) y los alimentos artificiales microparticulados. *Litopenaeus vannamei* resultó más afectada por los alimentos artificiales purificados, lo cual se tradujo en retrasos evidentes en el desarrollo, mientras que en *L. setiferus* las deficiencias no impactaron de manera significativa al desarrollo. Más aún en términos de la supervivencia, se puede observar que las larvas de *L. vannamei* resultaron afectadas de manera significativa y en general se mantuvieron bajas en relación con el control (Tabla 3). Cabe señalar que el cómputo químico de las dietas con 60% de caseína, para las dos especies de camarón, señala como aminoácidos limitantes al triptofano (primer aminoácido limitante), y a la arginina (segundo aminoácidos limitante) (Tabla 4). La deficiencia de triptofano podría ser una causa de los bajos crecimientos y supervivencias de las larvas de ambas especies de camarón. La arginina que fue el segundo aminoácido limitante en la dieta, fue ajustada para compensar su bajo contenido en la caseína (Tabla 1).

Tabla 4. Cómputo de los alimentos purificados con 60% de proteína, usando caseína como principal fuente de proteína, previo a la inclusión del suplemento de arginina para *Litopenaeus setiferus* y *L. vannamei*

Aminoácidos	<i>L. setiferus</i>	<i>L. vannamei</i>
Arginina	36.31**	45.4**
Histidina	58.61	131.1
Isoleucina	179	133.2
Leucina	150	124.8
Lisina	79.1	103.7
Met + Cist.	119.8	112.14
Fenil+ Tir	187.1	242.2
Treonina	58.1	109.02
Triptofano	21.14*	40.4*
Valina	205.6	159.7

\*primer aminoácido limitante

\*\*segundo aminoácido limitante.

Guillaume (1997) ha señalado que uno de los principales problemas de la caseína como fuente única de proteína es su baja palatabilidad para los crustáceos. Además otros autores (Cowey & Foster, 1971; Deshimaru, 1982) señalan que aunque está muy pobremente explicado el bajo valor nutritivo de la caseína, puede estar relacionado con su bajo contenido de arginina. Este aminoácido además de ser esencial para la biosíntesis de la proteína, funciona como un componente de un fosfágeno para la contracción muscular en los crustáceos (Guillaume, 1997).

La caseína ha sido utilizada como una fuente de proteína principal en alimentos microparticulados para larvas desde inicios de los años 70'S (Kanzawa *et al.*, 1972). Los primeros estudios comparativos con caseína, incorporada dentro de unas microcápsulas de zeína, permitieron constatar que las supervivencias son buenas, pero los crecimientos permanecieron inferiores a las larvas que recibieron el alimento vivo. Los resultados en relación con el empleo de las micropartículas para las larvas de peneidos presentan muchas variaciones a pesar de todo. Así un régimen con 50% de caseína en una micropartícula con zeína y gluten produjo una supervivencia del 94% de postlarvas a los 8 días de cultivo, mientras que una micropartícula con 50% de caseína, pero usando agar produjo 34% de supervivencia (Teshima *et al.*, 1982).

Tomando en cuenta todos estos argumentos y para aumentar la eficiencia de las dietas microparticuladas purificadas, se procedió a incluir hidrolizados proteicos, con la finalidad de mejorar tanto la calidad proteica de la caseína, como la absorción de la proteína, como señaló Ravallae (2000). Los hidrolizados proteicos, no son solamente una fuente de enriquecimiento alimenticio, sino que las mezclas de péptidos permiten una mejor absorción a nivel intestinal que las proteínas, mejorando el rendimiento metabólico, comparado aún con las mezcla de aminoácidos libres, (Durand & Lagoin, 1983).

#### **ALIMENTOS MICROPARTICULADOS PURIFICADOS EXPERIMENTALES USANDO HIDROLIZADOS PROTEICOS**

Para cumplir con la hipótesis anterior, se procedió a incluir hidrolizados proteicos en dietas microparticuladas purificadas, usando caseína como fuente de proteína, para las protozoas y mysis de *L. vannamei* (Tabla 5). Los hidrolizados usados fueron heterolizados producidos por hidrólisis enzimática, en condiciones controladas, para mejorar las propiedades funcionales de esas mezclas que liberan péptidos que conservan su valor nutricional (Sikorski & Naczac, 1981). En particular se utilizó un heterolizado obtenido a partir de la hidrólisis controlada, usando la quimotripsina purificada obtenida de hepatopáncreas del camarón *L. vannamei* teniendo como proteína basal el músculo de bacalao (DPHQ). Como un control de este proceso se elaboró también un hidrolizado, con la misma proteína, pero con la intervención de la alcalasa, que es una enzima comercial de origen bacteriano (Ravallec-PLé, 2000a).

Tabla 5. Composición de las dietas purificadas, basal (DPB); con hidrolizado de quimotripsina (DPHQ), y con hidrolizado de alcalasa (DPHA), como control de hidrólisis, usando como fuente proteica para la hidrólisis músculo de bacalao.

INGREDIENTES	DPB	DPHA	DPHQ
Caseína	42	41	41
Arginina	2.2	2.2	2.2
<i>Hidrolizado de alcalasa</i>		1.7	
<i>Hidrolizado de quimotripsina</i>			1.7
Almidón	15	15	15
A. de hígado de Bacalao	2.5	2.5	2.5
A. de girasol	2.5	2.5	2.5
Colesterol	0.5	0.5	0.5
Lecitina	1	1	1
Robimix	1.42	1.42	1.42
Premezcla de vitaminas	1.7	1.7	1.7
Premezcla de minerales	0.8	0.8	0.8
Alginato	1	1	1
Celulosa	29	29	29
PROTEINA	40	40	40
LIPIDOS	6.5	6.5	6.5

Las protozoas de *L. vannamei* alimentadas con la DPHQ presentaron una tasa de crecimiento en peso similar al control de alimento vivo (Tabla 6), Sin embargo, las Mysis alimentadas con las dietas purificadas en general no alcanzaron la tasa de crecimiento de las larvas alimentadas con el alimento vivo, y no presentaron diferencias significativas respecto a los tratamientos (Tabla 6).

Respecto a la tasa de crecimiento en longitud, el tratamiento DPHQ, resultó significativamente mayor que los otros dos tratamientos dietéticos, aunque fue significativamente menor al control. Sin embargo las Mysis de *L. vannamei*, alimentadas con los diferentes tratamientos dietéticos no presentaron tasas de crecimiento mayores al control. En este caso, DPHQ presentó el valor significativamente menor (Tabla 6).

La supervivencia de las protozoas no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ), aunque se observó una tendencia a una disminución las larvas alimentadas con los alimentos artificiales. En las Mysis, la supervivencia más elevada se obtuvo con larvas alimentadas con DPB y el tratamiento control, mientras que los porcentajes significativamente menores se presentaron con las dietas con hidrolizados, ya sea de alcalasa o quimotripsina (Tabla 6).

Tabla 6. Crecimiento, supervivencia (%) de índice de calidad (%) de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con las dietas purificadas, basal (DPB) con hidrolizado de quimotripsina (DPHQ), y con hidrolizado de alcalasa (DPHA).

	Control	DPB	DPHA	DPHQ
tasa de crecimiento (ug/día)				
PI-PIII	4.86±0.33 <sup>a</sup>	3.32±0.4 <sup>b</sup>	3.32±0.21 <sup>b</sup>	5.3±0.7 <sup>a</sup>
MI-PL <sub>1</sub>	19.38±0.81 <sup>a</sup>	6.28±0.47 <sup>b</sup>	6.79±0.71 <sup>b</sup>	4.6±0.9 <sup>b</sup>
tasa de crecimiento (mm/día)				
PI-PIII	0.29±0.005 <sup>a</sup>	0.25±0.006 <sup>b</sup>	0.26±0.003 <sup>b</sup>	0.27±0.009 <sup>b</sup>
MI-PL <sub>1</sub>	0.38±0.007 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>c</sup>	0.25±0.009 <sup>b</sup>	0.16±0.015 <sup>d</sup>
supervivencia				
PI-PIII	40±12 <sup>a</sup>	16±15 <sup>a</sup>	16±9 <sup>a</sup>	19±9 <sup>a</sup>
MI-PL <sub>1</sub>	97±1 <sup>a</sup>	90±3 <sup>a</sup>	49±1 <sup>b</sup>	9±0.001 <sup>b</sup>
índice de calidad	100	100	100	80

Las larvas alimentadas con DPHQ produjeron el índice de desarrollo más elevado, respecto a los otros tres alimentos artificiales, aunque se presentó en todos los casos un retraso de 24 horas, respecto al control (Fig. 1a).

Por otra parte el desarrollo de las Mysis se vio afectado por los diferentes tratamientos dietéticos, el cual no fue significativo, excepto para la dieta que incluyó el hidrolizado de quimotripsina de pescado, el cual se vio retrasado en 24 horas respecto al control (Fig. 1b).

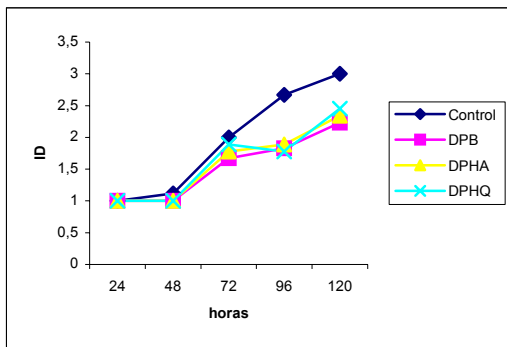


Fig 1 a

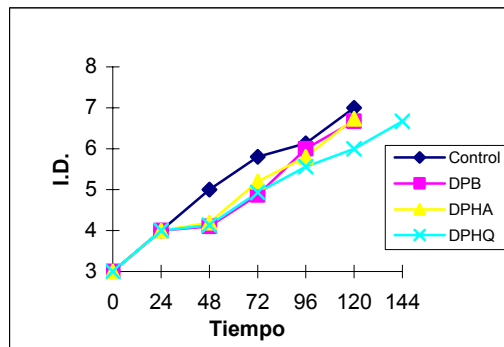


Fig 1. b

Figura 1. Índice de desarrollo de las Protozoas (a) y de la Mysis (b) de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con las dietas purificadas con hidrolizado de alcalasa y de quimotripsina

Aunque los resultados de supervivencia y desarrollo de las protozoas de *L. vannamei* alimentadas con la dieta DHPQ no rebasaron al control, la actividad específica de las enzimas proteinasas totales y de la tripsina si resultó estimulada por la presencia del hidrolizado de quimotripsina en la dieta (DPHQ) (Fig. 2a y b), lo cual podría relacionarse con la ganancia en peso de este tratamiento, que no resultó significativamente diferente al control. Ravallec-Plé (2000b) determinó que el hidrolizado de músculo de bacalao presenta algunas proteínas denominadas factor de crecimiento, y de efecto secretagogue tipo gastrina

y colesitoquinina (CCK), que exhiben una acción hormonal dentro del tubo digestivo a nivel metabólico. Van Wormhoudt (1996) señaló que en los crustáceos han sido identificadas hormonas gastrina/CCK (Favrel *et al.*, 1987) que juegan un papel importante en la síntesis de las enzimas digestivas, en su liberación e igualmente en la contracción del molino gástrico. La introducción del hidrolizado de bacalao, que presenta péptidos con acción secretagoga, podrá compensar la ausencia de estos durante las grandes transformaciones morfológicas del tracto digestivo de las larvas de camarón (Lovett & Földes, 1989). Este hidrolizado de bacalao fue presentado a las larvas en dos versiones, uno obtenido a partir de la acción de la enzima alcalasa de origen bacteriano, ampliamente usada en la fabricación de hidrolizados. La otra versión del hidrolizado se produjo a partir de la enzima quimotripsina de camarón, purificada a partir de hepatopáncreas de juveniles de *Litopenaeus vannamei*. La idea era ofrecer a las larvas de *L. vannamei* un hidrolizado con cualidades de digestibilidad y de aceptación mejor para las larvas. Los resultados que aquí se presentan demuestran que solamente para las Protozoas de *L. vannamei*, el hidrolizado de bacalao con quimotripsina, incluido en una dieta purificada con caseína, pudo producir un efecto secretagoga, visto a través la actividad enzimática (Fig. 2a b) y mejorar el crecimiento de los organismos (Tabla 6). Un elemento adicional a considerar en la fabricación del hidrolizado de bacalao con quimotripsina de camarón purificada, está relacionado con los costos de preservación de los hepatopáncreas de camarón para la obtención de este u otras enzimas digestivas. Para obtener 1 g de quimotripsina purificada de camarón se emplearon alrededor de 3000 hepatopáncreas de juveniles (Ravallec-Plé, 2000).

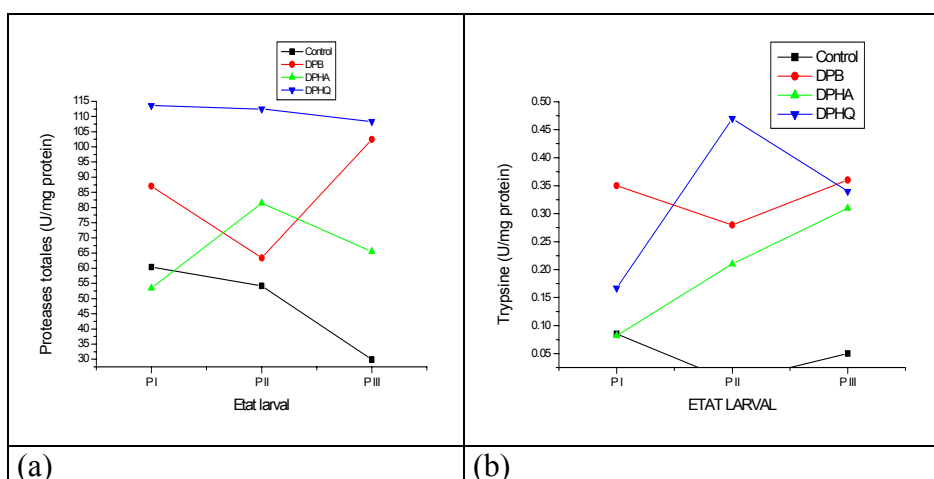


Figura 2 Actividad proteolítica total (a) y de tripsina (b) de las larvas *L.vannamei*

Aunque la inclusión del hidrolizado de bacalao con quimotripsina mejoró algunos indicadores de las protozoas de *Litopenaeus vannamei*, (tales como la ganancia en peso y la actividad enzimática) respecto a las larvas alimentadas con el alimento vivo, las mysis no presentaron ninguna mejoría en su crecimiento con este tipo de alimentos. Por el contrario, los resultados de las larvas alimentadas con el DPHQ, presentaron el crecimiento y supervivencia más pobres. Por lo tanto se llegó a la conclusión de que dietas purificadas no



cubren las necesidades de proteína mínimas que permitan sustituir el alimento vivo, ni para las Protozoas, ni para las Mysis de *Litopenaeus vannamei*.

## ALIMENTOS PRÁCTICOS

Debido a la marcada ineficiencia de las dietas purificadas con caseína para las larvas de camarón blanco, se decidió probar un alimento artificial microparticulado, con la finalidad de recomenzar los estudios relacionados con la obtención de dietas artificiales que sustituyan el alimento vivo para las larvas, tanto del camarón blanco del Golfo de México, *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*.

El primer paso consistió en evaluar las posibilidades de la sustitución de los nauplios de *Artemia* por un alimento microparticulado (AMD) (Tabla 7). Este estudio se llevó a cabo en las larvas de *Litopenaeus setiferus* (Gallardo *et al.*, 2002).

Tabla 7. Formulación de la dieta microparticulada (DM) Nivel de inclusión (g kg<sup>-1</sup>) de ingredientes y composición (%) energía DE (kJ g<sup>-1</sup>), para la alimentación de las Mysis de *Litopenaeus setiferus*.

Ingredientes	(g kg <sup>-1</sup> )
Harina de pescado <sup>a</sup>	270
Harina de calamar <sup>bl</sup>	170
Harina de camarón <sup>c</sup>	170
Levadura de cerveza	150
Harina de soya	140
Almidón de maíz	15
Aceite de hígado de bacalao	20
Aceite de girasol	20
Colesterol	5
Premezcla de vit y min <sup>d</sup>	25
Ácido ascórbico	5
Alginato	10
<i>Proteína</i>	53
<i>Lípidos</i>	14
<i>carbohidratos</i>	14
<i>energía digestible</i>	15

a) Harina de *Engraulis mordax*; b) *Loligo americana*; c) músculo de *L. setiferus*. d) premezcla donada por Ralston Purina de México, S.A. de C.V.

Aunque el crecimiento de las larvas de *Litopenaeus setiferus* alimentadas con DM fue significativamente menor al del control de alimento vivo (Tabla 8), el desarrollo (Tabla 9) y la supervivencia (Fig. 3), resultaron favorecidas con la sustitución parcial del 40% de los nauplios de *Artemia*. El reemplazo de los nauplios de *Artemia* puede efectuarse administrando a las larvas de *L. setiferus* 5.5 a 6.5 mg L día<sup>-1</sup> (sea 0.11-0.13 mg larva<sup>-1</sup>día). La dificultad del remplazo total de los nauplios de *Artemia* por el alimento microparticulado puede residir en problemas de asimilación derivadas del uso del alginato, cambiando con el almidón de maíz, lo cual pudo producir algun efecto sinérgico entre estos dos componentes de la dieta,

(Gallardo *et al.*, 2002). Pero a pesar de esto, la dieta probó ser eficiente para las larvas de camarón.

Tabla 8. Tasa de crecimiento ( $\mu \text{ día}^{-1}$ ) de las larvas de *L. setiferus* alimentadas AMD como sustituto de los nauplios de *Artemia* con la presencia de microalgas. Prom  $\pm$  ES.

	% de reemplazo de los nauplios de <i>Artemia</i> por AMD			
	0	40	60	100
<i>Tasa de crecimiento (<math>\mu \text{ día}^{-1}</math>)</i>				
P <sub>II</sub> -P <sub>III</sub>	680 $\pm$ 22 <sup>a</sup>	612 $\pm$ 30 <sup>b</sup>	327 $\pm$ 10 <sup>c</sup>	636 $\pm$ 21 <sup>b</sup>
M <sub>I</sub> -M <sub>III</sub>	456 $\pm$ 28 <sup>a</sup>	518 $\pm$ 32 <sup>b</sup>	458 $\pm$ 23 <sup>a</sup>	426 $\pm$ 18 <sup>c</sup>
P <sub>II</sub> -PL <sub>I</sub>	533 $\pm$ 19 <sup>a</sup>	405 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	458 $\pm$ 28 <sup>b</sup>	426 $\pm$ 30 <sup>b</sup>

Letras diferentes en el mismo renglón indican diferencias significativas (P>0.05).

Table 9. Índice de desarrollo (ID) de las larvas de *Litopenaeus setiferus* alimentadas con AMD como sustituto de nauplios de *Artemia* con la presencia de microalgas. Prom  $\pm$  ES.

Hours	% DE REEMPLAZO DE LOS NAUPLIOS DE ARTEMIA POR AMD			
	0	40	60	100
0	2.0	2.0	2.0	2.0
24	2.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.5 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	2.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
n	(15)	(15)	(15)	(15)
48	2.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	2.8 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	3.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
n	(14)	(13)	(15)	(16)
72	3.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.2 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	3.7 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>
n	(14)	(13)	(10)	(10)
96	4.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	4.5 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	4.4 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	4.5 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
n	(15)	(15)	(16)	(14)
120	5.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	5.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	4.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	5.5 $\pm$ 0.2 <sup>d</sup>
n	(15)	(16)	(15)	(13)
144	5.9 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	6.7 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	6.0 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>	6.1 $\pm$ 0.3 <sup>c</sup>
n	(15)	(14)	(16)	(15)

Letras distintas en el mismo renglón indican diferencias significativas (P>0.05).

P<sub>II</sub> = 2; P<sub>III</sub> = 3; M<sub>I</sub> = 4; M<sub>II</sub> = 5; M<sub>III</sub> = 6, PL<sub>I</sub> = 7.

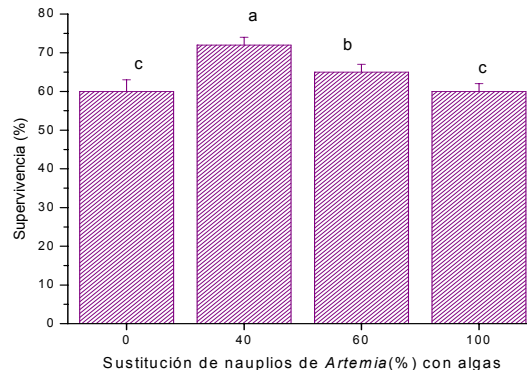


Figura 3. Supervivencia (%) de las larvas de *Litopenaeus setiferus* alimentadas con AMD, como sustituto de los nauplios de *Artemia* en presencia de microalgas.

## ALIMENTOS PRÁCTICOS MICROENCAPSULADAS

Se decidió microencapsular el alimento artificial MD, para disminuir la lixiviación, especialmente de las vitaminas. Pedroza *et al.* 1999, encapsuló la dieta práctica DM, con una pared constituida de una mezcla de biopolímeros: goma de mezquite, arábica y maltodextrina 10DE como constituyentes de la pared.

Dicha microcápsula fue probada en la sustitución total de los nauplios de *Artemia* para las Mysis de *Litopenaeus vannamei*. El diseño experimental seguido en este bioensayo se muestra en la Tabla 10. Se buscó probar la microcápsula, como sustituto de la *Artemia* (DM + algas) y como sustituto total del alimento vivo (DMIC).

Tabla 10. Descripción del diseño experimental para el experimento de sustitución del alimento vivo para las mysis de *Litopenaeus vannamei*

	Régimen alimenticio
DM	dieta miro encapsulada (DMIC) relación 3:1 de pared (66%AG-17%MG-17%MD) dieta pH=8
DM + algas	DMIC combinada con <i>C. ceratosporum</i> y <i>T. chuii</i>
Control	Combinación de <i>C. ceratosporum</i> , <i>T. chuii</i> y <i>Artemia</i> nauplii

GA= goma arábica, MG=goma de mezquite, MD=maltodextrina 10DE

La dieta microparticulada probada para *L. setiferus* fue microencapsulada de acuerdo con la metodología propuesta por Pedroza (1999, 2000 y 2001). En las Tablas 11 y 12 se muestran los análisis proximales y de composición aminoácídica de la microcápsula probada.

Tabla 11. Análisis proximal de la microcápsula (DMIC) del experimento de sustitución de alimento vivo en las mysis de *Litopenaeus vannamei*.

	%
Humedad	4.6
Proteína Cruda	18
Extracto etéreo	3.3
Cenizas	6
Fibra cruda	0.1
ELN	68
	100

Tabla 12. Composición aminoacídica de la microcápsula (DMIC) del experimento de sustitución de alimento vivo en las mysis de *Litopenaeus vannamei*.

Aa	Microcápsula
<i>Lisina</i>	1.97
<i>Arginina</i>	0.69
<i>Histidina</i>	0.93
Leuc-Isoleuc	1.55
Valina	0.48
Metionina	0.44
Fenil alanina	0.09
Treonina	0.95
Alanina	2.56
Glicina	1.30
Gluatamico	2.12
Asparatico	1.09
Tirosina	0.41
Prolina	0.63
Serina	2.14
<i>Total</i>	<i>17.32</i>
%prot Nx 6.25	21

Los resultados obtenidos en este experimento, muestran la eficacia de la microcápsula, en cuanto al desarrollo (Tabla 13) y supervivencia de las Mysis de *L. vannamei* (Tabla 14). La efectividad de la microcápsula es muy evidente, tanto el desarrollo, como la supervivencia, no mostraron diferencias significativas, respecto al control de alimento vivo. Aún la microcápsula adicionada como único alimento probó ser efectiva en la alimentación de las Mysis de *Litopenaeus vannamei*.

Tabla 13. Índice de desarrollo de las Mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la microcápsula tanto con algas, como sin algas. Prom.  $\pm$  ES. Letras distintas en cada renglón indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Horas	Control	DMIC +algas	DMIC
0	3	3	3
24	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	3.9 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>	4.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>
48	4.1 $\pm$ 0.9 <sup>ab</sup>	4.3 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	4.1 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>
72	4.8 $\pm$ 0.9 <sup>bc</sup>	5.4 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	5.0 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>
96	5.6 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	6.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	5.8 $\pm$ 0.1 <sup>ab</sup>
120	6.1 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	6.7 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	6.2 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>
144	7.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	7.0 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	6.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>

Pz<sub>3</sub>=3; M<sub>1</sub>=4; M<sub>2</sub>=5; M<sub>3</sub>=6; PL<sub>1</sub>=7

Tabla 14. Tasa de crecimiento específica (%/día) en longitud y peso, supervivencia (%), índice de calidad (IC) de las larvas *Litopenaeus vannamei*. Prom.  $\pm$  ES. Letras distintas en cada renglón indican diferencias significativas. ( $p < 0.05$ )

M <sub>1</sub> -PL <sub>1</sub>	Control	DMIC + algas	DMIC
longitud	2.76 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup>	2.96 $\pm$ 0.0001 <sup>a</sup>	2.55 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup>
peso	7.13 $\pm$ 0.033 <sup>a</sup>	7.03 $\pm$ 0.003 <sup>a</sup>	4.92 $\pm$ 0.103 <sup>a</sup>
supervivencia	96 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	99 $\pm$ 1 <sup>a</sup>	97 $\pm$ 3 <sup>a</sup>
índice de calidad	100 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	100 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	96.3 $\pm$ 13.0 <sup>a</sup>

Las tasas de crecimiento, tanto en longitud, como en peso no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos probados, con respecto al control del alimento vivo. Sin embargo, tanto para el peso, como la longitud se observó una tendencia a disminuir cuando las larvas fueron exclusivamente alimentadas con la microcápsula (Tabla 14).

En cuanto a la actividad de las enzimas digestivas, se observó un incremento de la actividad específica, tanto para las proteinasas totales, como la tripsina cuando las larvas fueron exclusivamente alimentadas con la microcápsula (Fig. 4a, b y c). Este incremento de la actividad de las proteinasas de las Mysis de *L. vannamei* alimentadas con la microcápsula puede estar relacionada con la inclusión de calamar en la dieta (Tabla 7). La dieta referida en la Tabla 7, presenta un nivel de inclusión de la harina de calamar del 17%. Cabe señalar que en la confección de la microcápsula, la proporción pared: dieta, es de 3:1, por lo que en la microcápsula se redujo la proteína de 50% a 18%, y el calamar pasó a ser 6.12%. Resultados similares a los aquí reportados, fueron obtenidos por Le Moullac *et al.* (1994) para larvas de la misma especie, pero con alimentos microparticulados. Sobre el alto valor biológico del calamar para los crustáceos, se ha señalado (Cruz & Guillaume, 1983) que está relacionado con un factor de crecimiento de origen proteico, pero no relacionado con su composición aminoacídica.

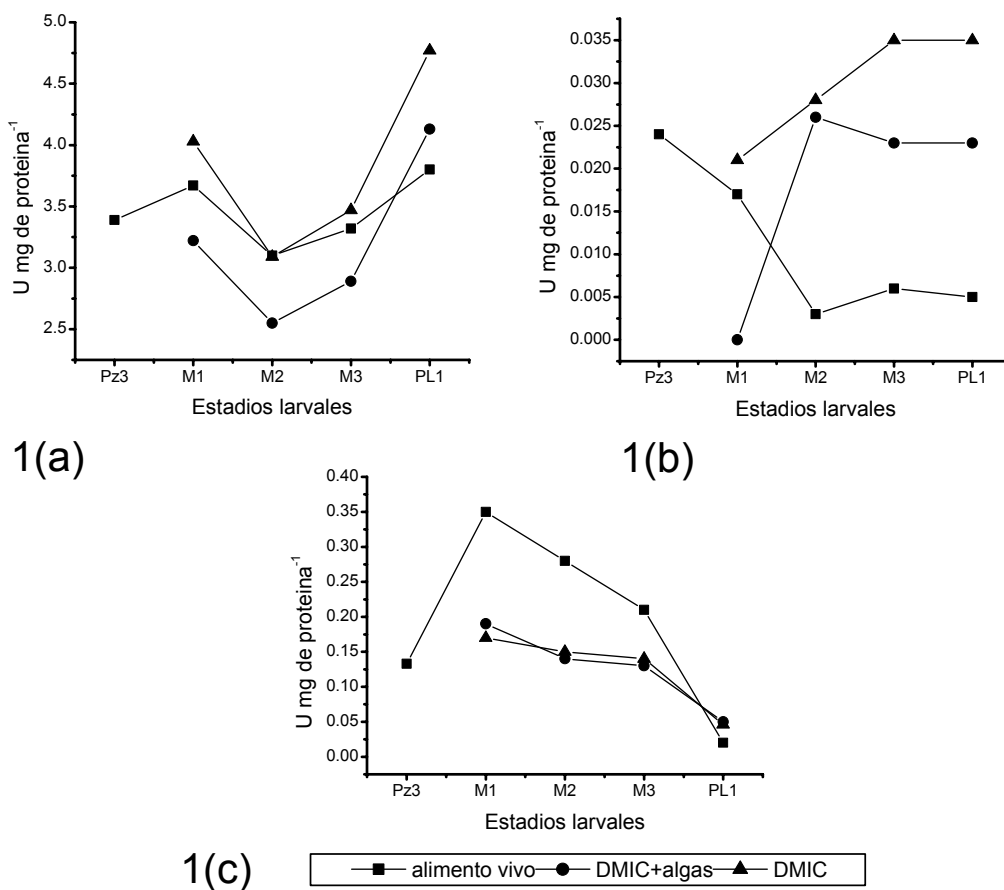


Figura 4 . Actividad específica de las enzimas proteinasas de las larvas de *L. vannamei* alimentadas con los tres regimenes alimentarios. (a) proteinasas totales, (b)tripsina, (c)quimotripsina. (U mg of protein<sup>-1</sup>).

Por otro lado, Deshimaru & Shigeno (1972), concluyeron que un nivel de inclusión de calamar en la dieta de 6 al 16%, presentó una composición aminoacídica muy cercana a la del músculo de *Marsupenaeus japonicus*. Para poder constatar estas conclusiones para el presente trabajo sería indispensable realizar un aminograma, para conocer la composición aminoacídica del calamar usado en este trabajo, y entonces estimar, por medio del cómputo químico.

La conclusión básica de este experimento es que si hay posibilidades de realizar una sustitución total de los nauplios de *Artemia* para las Mysis de *Litopenaeus vannamei* por medio de esta microcápsula, pero que para mejorar sus condiciones de digestibilidad es necesario probar con hidrolizados proteicos marinos, con la finalidad de mejorar la calidad proteica.

## CONSIDERACIONES FINALES

A lo largo de los experimentos realizados en relación con los alimentos artificiales para las larvas de camarón se puede señalar que los alimentos microparticulados purificados usando como fuente proteica a la caseína, dieron algunos elementos para la evaluación del requerimiento relativo de proteína para las Protozoas y Mysis de *Litopenaeus setiferus* y *Litopenaeus vannamei*. Sin embargo, las bajas supervivencias, aún usando hidrolizados, como el hidrolizado de pescado con quimotripsina de camarón, indican que este es un camino cerrado y que es mas bien a través de dietas prácticas con diversas fuentes de proteína que se puede transitar a la sustitución del alimento vivo, tal y como se demostró para las Mysis de *Litopenaeus setiferus*.

La puesta en marcha de la microencapsulación, usando matrices de polímeros de gomas, ayudó a conservar el valor nutritivo de las partículas y por lo tanto mejoró notablemente los indicadores zootécnicos y bioquímicos de las Mysis de *Litopenaeus vannamei*, lográndose la sustitución total de los nauplios de *Artemia*. Una aparente contradicción se puede encontrar a lo largo del presente trabajo y es la relacionada con los diferentes porcentajes de proteína de los alimentos aquí probados, que oscilan entre 50% (dietas microparticuladas) y 18% (para la microcápsula). Deberá comprobarse si la microcápsula mantiene sin lixiviación de proteína a la dieta. Mientras que el proceso de lixiviación que sufren los alimentos microparticulados, obliga a incrementar hasta 50% su contenido de proteína. Deben diseñarse experimentos que permitan evaluar el requerimiento diario de proteína de las larvas de camarón, para poder constatar si una dieta con 18% de proteína, aplicada cada 4 horas, puede ser equivalente al alimento vivo. Sin la sustitución total del alimento vivo por las microcápsulas para las Mysis de *L. vannamei* requiere de incrementar el contenido proteico de las mismas, para poder lograr crecimientos similares a los obtenidos con alimento vivo.

La adición de hidrolizados proteicos con funciones secretagoge en este tipo de microcápsulas ayudaría también al estímulo de la digestión de las microcápsulas, a través de incrementar la actividad enzimática de los organismos y por lo tanto mejorar aún las condiciones de crecimiento en talla y peso las larvas de camarón.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero a CONACYT (3293-9607), UNAM-DGAPA (IN 214596 y 231599) y al Proyecto ECOS (9706).

## REFERENCIAS

- D'Abramo L. R. D., Castell, J. D., 1997. Research methodology. En L. D. D'Abramo, D. E. Conklin & D. Akiyama. Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture 6, World Aquaculture Society, Barton Rouge, Louisiana, Estados Unidos: 3-25.
- Cowey, C. B., Forster, J. R. M., 1971. The essential amino-acid requirement of the prawn *Palaemon serratus*. The growth of prawn on diets containing proteins of different amino acid composition. Marine Biology 10: 77-81.

- Cruz-Rique, L. E., Guillaume J., 1987. Squid protein effect on growth of four penaeid shrimp. Jour. World Aquacult Soc 18(4): 209-217.
- Deshimaru, O., Shigeno, K., 1972. Introduction to the artificial diet for prawn *Penaeus japonicus*. Aquaculture 1: 115-133.
- Durand, P., Lagoin, Y., 1983. Valorisation des sous-produits de la pêche. Bulletin. Institut Pêches Maritimes 330 : 5-19.
- Favrel, P., Van Wormhoudt A., Studler T. M., Bellon, C., 1987. Immunochemical and biochemical characterization of gastrin/CCK like peptides in *Palaemon serratus*. Gen & Comp. Endocrinol, 65: 363-372.
- Gallardo, P. P., Pedroza-Islas R., García-Galano, T., Pascual, C., Rosas C., Sánchez, A., Gaxiola, G., 2002. Replacement of live fodd with microbound diet in feeding *Litopenaeus setiferus* (Burkenroad) larvae. Aquaculture Research, 33: 1-11.
- Guillaume, J., 1997. Protein and amino acids. En L.D. D'Abramo, D.E. Conklin & D. Akiyama. Crustacean Nutrition. Advances in World Aquaculture 6, Wolrd Aquaculture Society, Barton Rouge, Louisiana, Estados Unidos: 3-25.
- Jones, D. A., 1998. Crustacean larval micro particulate diets. Reviews in Fishery Science 6(1&2): 41-54.
- Jones D. A., Majad, S., Chitravadivelu, K., 1989. Comparison of artificial feeds used in penaeid shrimp hatcheries. Proceedings of the Third Egyptian British Conference on Animals. Fish and Poultry Production held in Alexandria, Egypt 7-10 October: 15-20.
- Kanazawa, A., 1985. Nutritional requirements of fish larvae. Saibaigiken, 14: 87-96.
- Kanazawa, A., 1986. New developments in fish nutrition. En: JL Maclean, L.B., Dizon & L.V. Hosillos (eds). Its. Asian Fish Forum, Asian Fish Soc. Manila: 9-14.
- Kanazawa A., Teshima, S., 1988. Micro particulate diets for fish larvae. En A.K. Sparkes (ed). New and innovative advances in biologie/engeniering with potential for use in Aquaculture. NOAA Tech. Rep. NMFS 70, Natl.Mar.Fish.Serv, Seatle: 57-62.
- Kanazawa, A., 1989. Micro particulate feeds for penaeid larvae. Advances in Tropical Aquaculture, Tahiti. Feb20-March 4 . AQUACOP. IFREMER. Actes de Colloque9 : 395-404.
- Le Moullac G., Van Wormhoudt A., AQUACOP., 1994. Adaptation of digestive enzymes to dietary protein, carbohydrate and fiber levels and influence of protein and carbohydrate quality in *Penaeus vannamei* larvae (Crustacea, Decapoda). Aquatic Living Resources 7: 203-210.
- Lovett D. L., Felder D. L., 1989., Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). J. Morphol, 201: 253-272.
- Pedroza-Islas, R., Duirán-Rodríguez, C., Trejo-Martíez, S., 1999. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff micro encapsulation II: particle size, morphology and microstructure of microcapsules. Food Research International 32: 167-374.
- Pedroza-Islas, R., Alvarez-Ramírez, J., Vernon-Carter, E. J., 2000. Using biopolymer blends for shrimp feedstuff micro encapsulation II: dissolution and floatability kinetics as selection criteria. Food Research International 33: 19-24.
- Ravallec, R., 2000a. Valorisation d'hydrolysats d'origine marine : optimisation de la concentration en peptides apparentes aux facteurs de croissance et aux agents secretagogues. Essais *in vitro* et *in vivo*. THESE de Docteur de L université de Bretagne Occidentale, Mention Chimie Marine. 153 pp.
- Ravallec-Ple R., Gilmartin L., Van Wormhoudt A., Le Gal, Y., 2000. Influence of the hydrolysis process on the biological activities of protein hydrolysates from cod (*Gadus morhua*) muscle. Journal of Science of Food and Agriculture 80: 1-5.
- Roy, P., Durand, P., 1997. Les enzymes dans la fabrication d'aliments à base de produits de la mer. Dans Enzymes en agro-alimentaire, TEC & DOC (Lavoisier eds) : 95-120.
- Teshima, SI., Kanazawa, A., Sakamoto M. 1982. Microparticulate diets for larvae of aquatic animals. Min. Rev. Data File Fish Res, 2: 67-86.
- Van Wormhoudt A., 1996. Digestión de los crustáceos. En G. Bernabé (ed). Bases Biológicas y Ecológicas de la Acuicultura. Editorial Acribia, Zaragoza, España: 263-280.