

Sustitución de microalgas en el cultivo larvario de camarón blanco por microcápsulas a base de un subproducto del barrilete negro

Medina-Reyna, C. E.^{*}, P. Jacinto-Nolasco^{*}, R. Pedroza-Islas^{**}, I. S. Santiago-Morales^{*} y J. A. Ronson-Paulin

Resumen

Sustitución de microalgas en el cultivo larvario de camarón blanco por microcápsulas a base de un subproducto del barrilete negro. *El reemplazo de algas es una tendencia aceptada ampliamente en la larvicultura de camarón y recae en el mejoramiento de dietas basadas en ingredientes altamente digeribles. En este trabajo, se obtuvo orbital del barrilete negro (*Euthynnus lineatus*) para producir un alimento microencapsulado (OrbiCap) para las larvas de camarón mediante el secado por aspersión con una mezcla de maltodextrina, goma arábica y goma de mezquite. La evaluación biológica del OrbiCap se realizó en matraces de vidrio con fondo esférico de 1.5 L dentro de un baño de agua termostáticamente controlado. Se sembraron 100 nauplios de camarón L^1 y no se cambió el agua durante el experimento. Se administró una dosis única inicial de la microalga (*DUIM*) *Chaetoceros muelleri* durante el primer día de cultivo o diariamente. Las microdietas fueron proporcionadas de 8 a 12 mg $L^{-1} d^{-1}$, cada 4 h de 0800 a 2000. Se obtuvo que el OrbiCap no sustituyó totalmente a las microalgas pero los rendimientos larvarios mostraron que esta microdieta por sí sola sustituye parcialmente al alimento vivo.*

Palabras claves: larvicultura, camarón, algas, microcápsulas, orbital

Abstract

Replacing algae in the white shrimp larval culture with a microcapsule containing a byproduct from the black skipjack fishery. *Algal replacement in hatcheries is a widely accepted trend in the shrimp larviculture industry and relies on the improvement of diet based on highly digestible ingredients. In this work, black skipjack *Euthynnus lineatus* orbital oil from local artisanal fishery by-product was obtained to produce a microencapsulated feed (OrbiCap) for larval shrimp through spray-drying with a mixture of maltodextrin, arabic gum and mesquite gum. The larval culture consisted in using 1.5 L round bottomed glass flasks, in a thermostatically controlled water bath. One hundred shrimp nauplii were stocked L^{-1} , water was not exchanged during experimental period and a single dose of live algae *Chaetoceros muelleri* (SDLA) was administered on the first day of the experiment or daily. The microdiets were given daily at a rate of at 8 to 12 mg L^{-1} , every 4 h from 0800 to 2000. Our experiments showed that total algal replacement with OrbiCap was not achieved but partial algal replacement is a feasible feeding regime.*

Key words: larviculture, shrimp, algae, microcapsules, orbital oil

Résumé

Remplacement de algues dans la culture larvaire de la crevette blanche par microcapsule grâce à une surproduction de bonite noire. *Le remplacement des algues est une culture largement acceptée dans la larvi-culture de crevettes et compte sur l'amélioration du régime basé d'ingrédients hautement digérables. Par cette recherche, nous avons obtenu l'huile de la bonite noire (*Euthynnus lineatus*) afin de produire un aliment micro-capsulaire (Orbi cap) pour les larves de crevettes grâce au séchage avec un mélange de malto-dextrine, d'une gomme arabique, et d'une gomme de mezquite. L'évaluation biologique de l'Orbi cap s'est réalisée dans des flacons de verre avec un fond sphérique de 1.5 L dans une cuvette d'eau contrôlée par un thermomètre. 100 nauplii de crevettes ont été semés L^{-1} et l'eau n'a pas été changé durant cette période. Nous avons administré une dose unique initiale de micro algue *Chaetoceros muelleri* pendant le 1^{er} jour de l'expérience ou quotidiennement. Nous avons recensé quotidiennement les micro diètes de 8 a 12 mg L^{-1} , tous les 4 heures de 0800 à 2000. Nous avons constaté que l'Orbi cap ne remplaçait pas totalement les micro algues mais les rendements larvaires ont démontré que la microdiète à elle seule remplaçait partiellement l'élément vivant.*

Mots clés: larviculture, crevettes, algues, micro capsules, huile.

Introducción

El ciclo de producción camaronícola inicia con la adquisición de postlarvas de camarón, las cuales pueden provenir de dos fuentes; una mediante la captura de postlarvas

silvestres de camarón, y otra por la adquisición en los laboratorios de producción (larvicultivos). En el año de 1997, la demanda nacional de postlarvas de camarón fue de 1,617 millones, de las cuales el 27% fueron abastecidos por los laboratorios de producción y el resto por

* Instituto de Industrias, Universidad del Mar.

** Depto. de Ingenierías, Universidad Iberoamericana.

capturas de larvas silvestres (SEMARNAP, 1998). En los últimos años se ha buscado satisfacer las demandas de las granjas de camarón con larvas de alta calidad (CYTED, 2000).

En el país, los larvicultivos de camarón tienen una sobrevivencia modal que varía de 40 a 50% con un costo de producción menor a \$5,000 por millar de postlarvas, en donde los principales rubros lo representan el alimento vivo y el alimento artificial en polvo (Anónimo, 2001). Ante tal perspectiva, se hace necesario contar con insumos de alta calidad que consoliden el establecimiento de larvicultivos exitosos, siendo uno de ellos el alimento adecuado y suficiente.

En laboratorio se trata de emular la alimentación natural a través de cultivos masivos monoalgales, principalmente de *Chaetoceros* sp. y de *Artemia* sp. (Kuban *et al.* 1983; Treece, 1985). Dichos cultivos presentan una alta variabilidad en su producción y calidad (Brown *et al.* 1997). Para tratar de sustituir o complementar a los alimentos naturales se han empleado técnicas que tienden a la optimización de los regímenes alimenticios (Jones *et al.* 1987a). En la etapa fitoplanctotrófica de los crustáceos se han empleado mezclas de microalgas, alimento inerte, microalgas modificadas y preservadas por diferentes tratamientos (Biedenbach *et al.* 1990; D'Souza *et al.* 2000); mientras que en la fase zooplanctotrófica, la artemia ha sido objeto de enriquecimiento (bioencapsulación o *boosting*) para elevar su calidad nutricional. Se ha manifestado que la sustitución total de alimento vivo por alimento inerte en el larvicultivo de las especies marinas constituye una quimera (Cruz-Zarate no publicado). En el larvicultivo de camarón, el alimento artificial se ha empleado como sustituto parcial, total o complemento del alimento vivo (Kurmalý *et al.* 1989; Amjad y Jones, 1992; Sorgeloos y Léger, 1992; Muir y Sutton, 1994; Boeing y Martínez-Palacios, 1997; Jones *et al.* 1997b; Medina-Reyna *et al.* 2000a; 2000b).

La búsqueda de ingredientes altamente digeribles ha provocado que los subproductos de la pesca comercial sean re-evaluados para la

alimentación animal. Al respecto, Medina-Reyna (1998) y Cruz-Terán (2000) han reportado el uso de subproductos de la pesquería de atún y camarón, respectivamente. En ese sentido, en la pesquería artesanal de barrilete negro (*Euthynnus lineatus*) del área de Puerto Ángel, Oaxaca se desechan subproductos de esta especie en forma de vísceras y cabeza. En particular, en la cabeza de los peces, entre la parte posterior de los ojos y la cavidad ocular, se concentra un tejido adiposo al que se le ha llamado orbital, por encontrarse en la orbita del ojo (Bell *et al.* 1996). Estudios previos han mencionado que en los túnidos, el orbital es abundante y que puede emplearse como ingrediente para mejorar las dietas de las larvas de peces y crustáceos o como complemento de estas ya que es un tejido que tiene un contenido alto de los ácidos grasos esenciales: eicosapentaenoico, 20:5n-3, y docosahexaenoico, 22:6n-3 (Bell *et al.* 1996).

En el contexto de la industria de la larvicultura de camarón, este trabajo evalúa una alternativa que permita sustituir o reducir el uso del alimento vivo mediante el empleo de microcápsulas hechas a base de un subproducto de la pesca artesanal de barrilete negro.

Material y métodos

Elaboración de dietas.

Para la elaboración de las dietas se colectaron cabezas frescas de barrilete negro (*Euthynnus lineatus*), capturados en el área de Puerto Ángel, Oaxaca. Se retiró manualmente el tejido adiposo circundante a la orbita del ojo, se empacó al vacío en bolsas de polietileno de alta densidad y se almacenó, manteniéndose en la cámara de congelación del Laboratorio de Tecnología de Alimentos de la UMAR, a -25°C hasta su uso o análisis.

El orbital fue microencapsulado con goma de mezquite (17%), goma arábica (66%) y maltodextrina (17%) en relación 3:1 de encapsulante:dieta (Pedroza-Islas, 2000), con un secador marca Niro modelo Mobile Minor atomizer (Gea Niro Atomizer, Copenhagen,

Dinamarca). Al producto obtenido se le denomina OrbiCap y su registro de patente está en trámite.

Se obtuvieron distribuciones volumétricas (volumen de partículas) y acumulativas de tamaño del OrbiCap, con un analizador de tamaños de partículas Malvern 2600 SBOD (Malvern Instruments, Malvern, Inglaterra), usando un modelo log normal (Masters, 1985). El diámetro medio (d_{50}) y la desviación estándar aritmética ($s_a=0.5 [d_{84}-d_{16}]$) se determinaron a partir de la curva de distribución acumulativa (Alexakis *et al.* 1995).

Para analizar la morfología microestructural del OrbiCap (Rosemberg *et al.* 1988), se cubrió con grafito por medio de un evaporador de metales JEOL. El OrbiCap cubierto se observó con un microscopio electrónico de barrido (JEOL JSM-35CF).

Se estimó la tasa de sedimentación a partir de una cantidad conocida de OrbiCap, colocada en un tubo de ensaye con agua de mar, previa homogeneización. La transmitancia de la muestra se midió espectrofotométricamente, a una longitud de onda de 395 nm, con intervalos de un minuto hasta tener el 10%. Se calculó el tiempo medio en que la micro-cápsula se mantuvo en el seno del líquido antes de sedimentar en el fondo (f) mediante el modelo de decaimiento cinético de primer orden (Pedroza-Islas, 2000).

$$F = 100 e^{-T/f}$$

Donde F es la flotabilidad y T es tiempo. Para este caso, el parámetro de ajuste fue la constante de tiempo de flotabilidad f .

El análisis proximal del orbital de barrilete negro, y las microdietas comerciales, se determinó de acuerdo a los métodos estándares establecidos por la AOAC (1990). El orbital de barrilete negro y el OrbiCap se analizaron para formular y confirmar su perfil bromatológico.

La energía disponible se calculó usando los factores de conversión 18.0, 35.2 y 17.2 kJ g⁻¹ en base seca para las proteínas, lípidos y carbohidratos respectivamente (Mourente y Rodríguez, 1997).

Para la evaluación del OrbiCap en la cría larvaria de *Litopenaeus vannamei*, se adquirieron

por donación, para cada experimento, 50 000 nauplios (N-III) fototácticamente activos, provenientes de diferentes progenitores certificados libres de WSV, del laboratorio de producción de postlarvas de la empresa PECIS S. A. de C. V. de Sisal, Yucatán.

La microalga *Chaetoceros muelleri* (CH-M-1) se obtuvo de la Colección de microalgas del CICESE (Trujillo-Valle, 1995) y fue mantenida en el laboratorio de alimento vivo de la UMAR. La microalga fue crecida en medio f2 (Guillard 1973), con doble ración de silicatos. Se siguió, en lo posible, el protocolo descrito por Paniagua-Michel *et al.* (1989). El monitoreo de la población se realizó empleando la técnica del conteo directo.

Para el micro-análisis proximal de algas se determinó el peso seco (PS), peso de cenizas (PC) y peso seco libre de cenizas (PSLC), utilizando el protocolo de Sorokin (1973). El contenido de proteínas se determinó de acuerdo a Lowry *et al.* (1951), usando sero-albúmina fracción V (BSA) como estándar (de acuerdo con López-Elías y Voltolina, 1993). El contenido de carbohidratos se determinó con el método de fenol-ácido sulfúrico de Dubois *et al.* (1956), usando glucosa como estándar, previa extracción según el método de White (1987). El contenido de lípidos se determinó con la técnica colorimétrica de Pande *et al.* (1963), empleando Tripalmitina como estándar, previa extracción con el método de Bligh y Dyer (1959).

Durante la cría larvaria del camarón se usaron 35 recipientes de vidrio de 1.9 litros, de fondo esférico, equipados con tubos de vidrio para una suave aireación (2-3 burbujas por segundo). Las unidades experimentales (UE) se colocaron en un baño de agua termostáticamente controlado a 29 °C. El agua de cultivo fue agua de mar doblemente filtrada, con un filtro de cartucho de 5 Durante los experimentos no existió recambio de agua. Se manejó el fotoperíodo de 12:12 h luz:oscuridad. La intensidad luminosa durante el experimento se mantuvo a 4.7 Es⁻¹ m⁻² como condición de luz.

Se tomaron nauplios fototácticamente activos del tanque de aclimatación y se sembraron en las UE a una densidad de 100

naupliosL⁻¹; las UE fueron llenadas a 1.5 l. La asignación de los tratamientos y sus repeticiones se realizaron por quintuplicado, aleatoriamente dentro del baño de agua. Se adicionaron diariamente 10 ml de solución de EDTA, a 30 ppm a todas las UE como agente quelante (Castille y Lawrence, 1981; Treece y Fox, 1993).

Las microdietas artificiales se hidrataron en agua de mar por 3 min y fueron proporcionadas a los organismos a las 08:00, 12:00, 16:00, y 20:00 hrs. Los niveles básicos de alimentación fueron empleados de acuerdo a los experimentos posteriores.

Una vez obtenido el sub-estadio Postlarva₁ (Pl₁), se suspendió el larvicultivo, determinando el número de sobrevivientes (S) de cada réplica. Se tomaron aleatoriamente 10 ejemplares de cada UE y se les midió la longitud del caparazón (LC), excluyendo el rostro, previa fijación en formol al 4 %. Se calculó el peso seco individual (PSI) por triplicado, en muestras de

experimento en cada tratamiento. Para fines de comparación, se calculó el índice de desempeño larvario (PLI) de cada tratamiento (Medina-Reyna *et al.* 2002).

Posteriormente, se realizó un experimento de sustitución total de algas. Este bioensayo se diseñó para probar el reemplazo total de microalgas por OrbiCap (OC). En este experimento se probaron dos dietas experimentales, comparándolas con dos controles: alimento vivo (*Chaetoceros muelleri*) más Artemia y el mismo OC (Tabla I). En este ensayo, el cultivo larvario se prolongó hasta el primer estadio de postlarva y se manejaron las dosis de alimentación reportadas por Medina-Reyna *et al.* (2000a).

Un segundo experimento se estructuró para evaluar el reemplazo parcial de microalgas por el OrbiCap. En este caso, se usó una dosis única inicial de microalgas (DUIM) de 50 cél. L⁻¹ con tres alimentos experimentales (Tabla II). El

Tabla I. Diseño del experimento de sustitución total de algas por OrbiCap (OC).

Tratamiento	Alimentos empleados
1	OC + A
2	OC + B
3	OC
4	Alimento vivo

10-20 organismos de cada réplica, secados a 60 °C por 36 horas; además se determinó el índice de desarrollo larval (Villegas y Kanazawa, 1979; 1980; Villegas *et al.* 1980) mediante la fórmula:

ID = A / número total de larvas identificadas,
donde A = valor del estadio por el número de larvas en ese estadio. El valor del estadio aumenta conforme la larva muda de Zoea₁ (Z₁) a Mysis₁ (M₁) ó de Z₁ a Pl₁. Adicionalmente, se estimó la tasa metamórfica (MR) como el porcentaje de Pl₁ presentes al final del

tratamiento control en este ensayo fue el alimento vivo convencional, consistente en mantener una densidad diaria de 100 cél. L⁻¹ de *Chaetoceros muelleri* y de 1 a 5 nauplios mL⁻¹ de Artemia. Como el experimento anterior, la cría larvaria se culminó hasta el estadio de PL1 y se siguió el régimen alimenticio de Medina-Reyna *et al.* (2000a).

Análisis de datos.

Se determinó el tiempo característico de flotabilidad, por el modelo por mínimos

Tabla II. Diseño del experimento de sustitución parcial de algas por OrbiCap (OC).

Tratamientos	Alimentos empleados
1	DUIM + OC
2	DUIM + A
3	DUIM + B
4	Alimento vivo

*DUIM: Dosis única inicial de microalgas

cuadrados. Se utilizó el procedimiento simplex, del módulo de estimación no lineal del software STATISTICA.

Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S) como bondad de ajuste a la distribución normal, y la prueba de Bartlett que evalúa la igualdad de varianzas (Zar, 1984; Sokal y Rohlf, 1995). En el caso en donde no se cumplieron estas premisas del modelo general lineal aditivo, se empleó la transformación logarítmica o arcoseno (Steel y Torrie, 1960), según el caso.

La significancia de las diferencias en los tratamientos se determinó usando un análisis de varianzas (ANOVA). Se compararon todas las medias por pares, siguiendo el método de Tukey para muestras no ortogonales (Wilkinson, 1987; Day y Quinn, 1989). Para todos los casos, el nivel de significancia nominal fue del 5 %.

Resultados.

Caracterización físico-química del OrbiCap.

El análisis de la distribución del tamaño de partículas reveló que el OrbiCap producido tiene un tamaño medio de 29.93 micras.

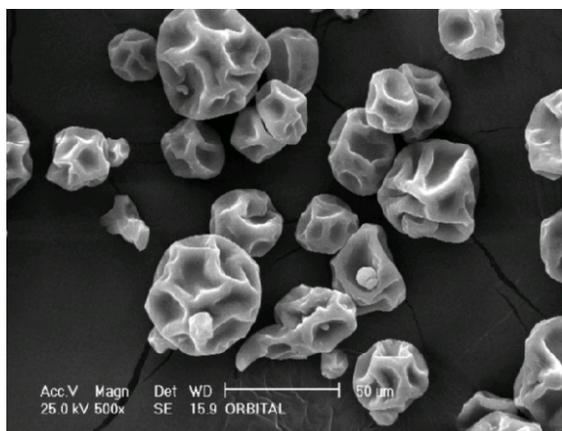
En cuanto a la morfología externa se observó que el OrbiCap presenta una forma esférica regular, con presencia de dimples profundos (Figura 1); sin embargo, la estructura no presentó fracturas, es decir la superficie estuvo ausente de algún rompimiento, además de que no presentó poros ni caps. Estos rasgos, en su conjunto, permiten establecer la buena calidad de la micro-cápsula obtenida con el orbital (Figura 1; Tabla III).

Tabla III. Características cualitativas de la morfología externa de las partículas empleadas en los bioensayos.

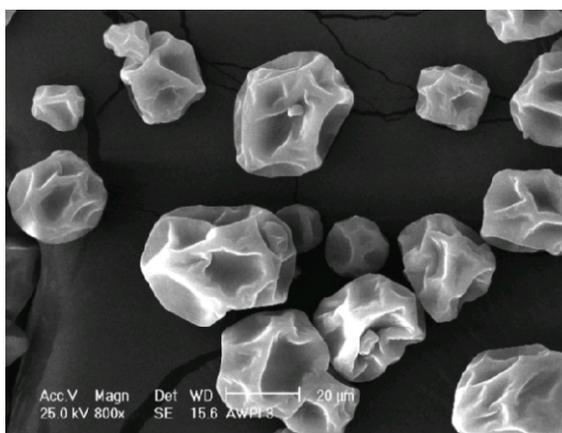
Microdieta	Forma	Poros	Dimples*	Fracturas	Caps**
OC	Esférica Regular	Ausentes	Presentes	Ausentes	Ausentes
A	Esférica Regular	Ausentes	Presentes	Ausentes	Ausentes
B	Esférica Regular	Ausentes	Presentes	Ausentes	Ausentes

*Hendidura alargada que recorre el 50% de la microesfera.

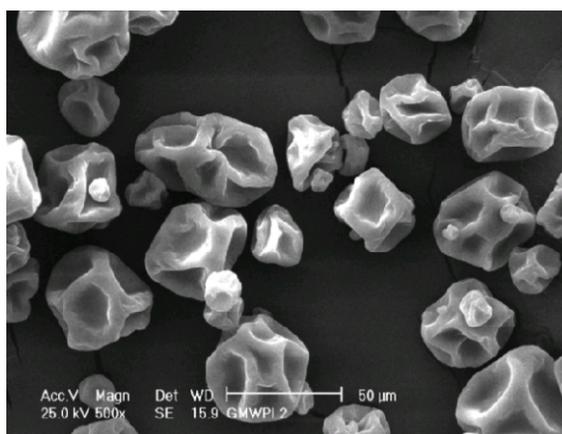
** Protuberancia esférica ó semi-esférica que se forma en la superficie externa de la microesfera.



Dieta OC



Dieta A



Dieta B

Figura 1: Microfotografía SEM de las microdietas empleadas en este estudio

El OrbiCap presentó un tiempo característico de flotabilidad de 11.6 0.29 min y se ajustó adecuadamente al modelo predicho. Se

%) seguida de las proteínas (31.73 %) y carbohidratos (11.61 %). Como consecuencia, el contenido energético se elevó a 2.86 J cél.⁻¹. La

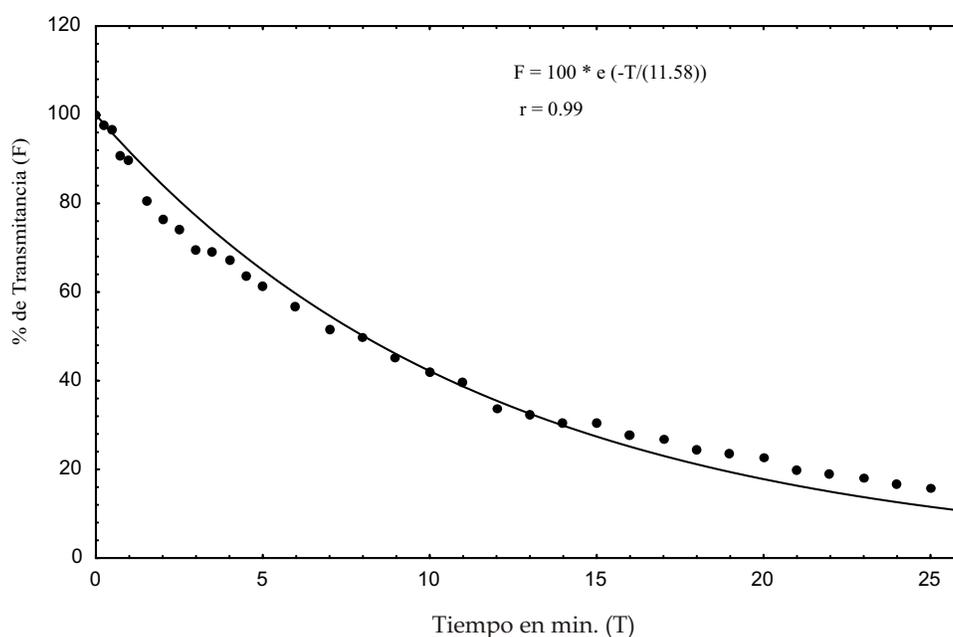


Figura 2. Cinética de flotabilidad del OrbiCap.

observó que el OrbiCap tiende a boyar neutralmente después de 15 minutos (Figura 2).

La composición proximal y contenido energético de los alimentos utilizados se presentan en la Tabla IV. Se obtuvo que el OrbiCap presentó el mayor contenido lipídico y energético.

Evaluación biológica.

La composición bioquímica de las microalgas fue dominada por los lípidos (56.61

relación proteína:energía fue de 0.46.

Para el caso del empleo del OrbiCap como sustituto total de algas, las zoeas de camarón blanco que fueron alimentadas con las dietas artificiales, no lograron sobrevivir (Tabla V).

En lo referente al OrbiCap como sustituto parcial de algas, el peso seco individual (PSI) medio de las postlarvas de camarón blanco en el experimento varió de 45.83 a 123.00 g. El mayor PSI medio se obtuvo con el tratamiento control, mientras que el OrbiCap produjo un PSI medio

Tabla IV. Composición proximal media (N=3, % en base seca) y contenido energético total (KJ g⁻¹) de los alimentos utilizados en los ensayos. Abreviaturas como en Tabla I.

Dieta	Proteínas	CHO	Lípidos	Cenizas	Energía total
OC	4.21 (0.08)	84.66	9.49 (0.11)	1.62 (0.14)	18.65
A	10.99 (0.15)	81.58	2.99 (0.31)	4.69 (0.09)	17.05
B	19.32 (0.08)	74.36	1.24 (0.11)	5.05 (0.03)	16.68

Tabla V. Valores medios (EE) de peso seco individual (PSI), sobrevivencia (S), longitud del caparazón (LC), índice de desarrollo (ID), tasa metamórfica (MR) e índice de desempeño (PI) de las postlarvas de *Litopenaeus vannamei* criadas con alimentos inertes y sin una DUIM. Tratamientos (TRAT). Control (CON). EE: Error estándar.

TRAT	PSI (g)	S (%)	LC (mm)	ID	MR (%)
OC	ND	0	ND	ND	ND
OC + A	ND	0	ND	ND	ND
OC + B	ND	0	ND	ND	ND
CON	123(9.89)	82.83(1.77)	0.98(0.02)	6.74(0.10)	85.13(4.17)

Valores en la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes a $p < 0.05$.
 ND = No determinado.

de 97.50 g, siendo estadísticamente igual al control; por otro lado, la dieta A y la dieta B resultaron ser significativamente menores al control con un peso promedio de 47.27 y 45.83 g, respectivamente (Tabla VI). La sobrevivencia media de las postlarvas de camarón blanco fluctuó de 25.11 a 82.83%. La mayor sobrevivencia se obtuvo con el alimento control, y fue significativamente diferente a los demás tratamientos (Tabla VI). La sobrevivencia más baja de las postlarvas de camarón blanco se obtuvo con el tratamiento OC, pero no fue significativamente diferente comparado a los tratamientos con la dieta A y dieta B, (Tabla VI). El crecimiento de las larvas de camarón blanco se determinó a través de la medición de la longitud media del caparazón. Esta osciló de 0.78 a 0.98 mm. El OC y la dieta B rindieron un tamaño igual a 0.81 mm, siendo menores al control (0.98 mm). El control fue significativamente mayor a los demás tratamientos (Tabla VI). El índice de desarrollo medio de las mysis de camarón blanco fluctuó entre 4.25 y 6.74. El tratamiento control fomentó un desarrollo significativamente superior al resto de los tratamientos (Tabla VI). La tasa metamórfica (MR) media de las larvas de camarón blanco presentó su valor mas alto con el tratamiento control (85.13 %), siendo significativamente diferente a los demás tratamientos, los cuales variaron de 0 a 7.35 % (Tabla VI).

El índice de desempeño larvario (PLI_c) medio del camarón blanco varió de 0.83 a 1.0. El mayor PLI_c se obtuvo en el tratamiento control, siendo significativamente diferente a los demás tratamientos. El tratamiento que obtuvo menor PLI_c medio fue el OC (Tabla VI).

Discusión.

Existen pocos trabajos sobre la caracterización físico-química de alimentos para las larvas y postlarvas de camarón, lo que trae como consecuencia que existan pocos criterios sólidos para fundamentar una evaluación objetiva y estándar. En primer termino, el tamaño medio de partícula del OrbiCap fue muy similar (29.93 m) al obtenido para una dieta semi-purificada (Pedroza-Islas, 2000), ya que la mezcla de biopolímeros fue la misma. En ese sentido, la distribución volumétrica de tamaños presentó una distribución mono-dispersa, propia del secado por aspersión (Masters, 1985; Medina-Reyna, 1998).

El análisis de las microfotografías reveló que las partículas producidas fueron microcápsulas muy semejantes en forma y estructura a las descritas por Pedroza-Islas (2000), debido a la tecnología de producción de las partículas (Medina-Reyna, 1998; Pedroza-Islas *et al.* 2000). En comparación al resto de los

Tabla VI. Valores medios (EE) de los indicadores de rendimiento del cultivo de postlarvas de *Litopenaeus vannamei* crecidas con alimentos inertes más una DUIM. abreviaturas igual que en la Tabla V. PLI_c (CV). CV: Coeficiente de variación.

TRAT	PSI (g)	S (%)	LC (mm)	ID	MR (%)	PLI _c
DUIM+OC	97.50(8.54) ^b	25.11(10.33) ^a	0.81(0.02) ^a	4.25(0.12) ^a	ND	0.83 (3)
DUIM+A	47.27(7.27) ^a	33.00(7.27) ^a	0.78(0.01) ^a	4.65(0.24) ^a	7.35(7.35) ^a	0.88 (2)
DUIM+B	45.83(6.90) ^a	45.06(4.97) ^a	0.81(0.01) ^a	4.72(0.12) ^a	5.20(0.87) ^a	0.90 (3)
CON	123.00(9.89) ^b	82.83(1.77) ^b	0.98(0.02) ^b	6.74(0.10) ^b	85.13(4.17) ^b	1.00 (1)

Valores en la misma columna con diferentes superíndices son significativamente diferentes a $p < 0.05$.
 ND = No determinado

alimentos utilizados en este trabajo, éstos pueden ser considerados morfológicamente semejantes al OrbiCap (Figura 1).

La cinética de flotabilidad del OrbiCap fue diferente a la de una dieta nebulizada con los mismos agentes encapsulantes; esto es goma arábiga, goma de mesquite y maltodextrina secada bajo las mismas condiciones. Lo anterior puede ser el resultado de la flotabilidad que los lípidos proporcionan por su baja densidad.

Con respecto a la composición proximal del OrbiCap, se puede establecer que la mezcla de gomas (GA66+GM17+MD17) en una proporción dieta:encapsulante de 1:3 tiene la limitante de proveer una alta proporción de carbohidratos. En el caso del OrbiCap no hubo necesidad de formular con criterios de inclusión, puesto que el objeto central era encapsular el orbital de barrilete negro. Con estas dos premisas se puede explicar el contenido bioquímico del OrbiCap, alimento A y B, observándose que la fracción de carbohidratos fue mas grande que la de proteínas y lípidos (Tabla IV). En el OrbiCap, la fracción lipídica superó a la proteica debido a que las grasas constituyen el 90% en peso seco del orbital de barrilete negro. En la dieta A y B destacaron las proteínas, como caso contrario al OrbiCap (Tabla IV). El contenido energético del OrbiCap (18.75 KJ g⁻¹) fue menor a los niveles de energía de 20 KJ g⁻¹ reportados por Cruz-Terán (2000), pero pueden ser considerados satisfactorios para la cría de larvas de camarón

blanco (Medina-Reyna, 1998).

Parece ser que el reemplazo total y parcial de las microalgas en el larvicultivo de camarón se remonta a Hudinaga (1942). A partir de entonces, el cultivo de microalgas marinas constituyó el sostén fundamental para la larvicultura marina. A la par con el uso obligado de las microalgas, se comenzó a notar que la variabilidad bioquímica es la responsable del éxito o fracaso del cultivo larvario de camarón, lo que inició el desarrollo de alimentos artificiales basado en alta tecnología (Jones *et al.* 1975; Kanazawa *et al.* 1982). En las evaluaciones biológicas de alimentos inertes, para las larvas de camarón rara vez se reporta el contenido proximal de las microalgas. En el presente estudio, se consideró relevante determinar la composición bioquímica, así como el contenido energético y la razón proteína:energía de las microalgas, ya que permiten inferir el nivel de lípidos dietarios disponibles para la primera alimentación (Jones, 1998; Cruz-Zarate, no publicado). Con relación en lo anterior, es notable la gran variabilidad en el contenido de lípidos obtenido en cada cultivo de algas. Se encontró que la relación de proteínas:carbohidratos:lípidos de 4:3:1 (Raymont, 1980) no se alcanzó para esta especie en particular. Para *Chaetoceros muelleri* es común hallar la dominancia de proteínas y lípidos hacia el final de la fase exponencial y la alternancia de predominio entre estos constituyentes se debe al medio de cultivo, intensidad de luz y fase de

crecimiento (Biedenbach *et al.* 1990; Shamsudin, 1992; Cordero-Esquivel y Voltolina, 1996; Brown *et al.* 1997; Medina-Reyna y Cordero-Esquivel, 1998; D'Souza y Loneragan, 1999; D'Souza y Kelly, 2000). Recientemente, se ha reportado que la mejor razón de proteínas:lípidos para la crianza larvaria de camarón debe ser ligeramente cercano a 1 (Cruz-Zarate, no publicado). En este estudio, se obtuvo dicha equivalencia solo en dos casos.

En el primer experimento, ninguno de los organismos en los tratamientos empleados sobrevivió; esto se debe principalmente a que las dietas eran deficientes en proteínas y lípidos (Tabla V), nutrimentos esenciales para el crecimiento del camarón (Jones *et al.* 1979; Le-Moullac *et al.* 1994; Puello-Cruz, 1996; Jones *et al.* 1997a). Estas deficiencias se deben a que las microcápsulas fueron elaboradas con la relación 1:3 dieta:encapsulante, lo cual provocó una disminución a la tercera parte del porcentaje de los nutrientes. El desempeño de este bioensayo indica claramente que el OrbiCap no puede sustentar la cría larvaria de camarón por si solo (Tabla V).

En el experimento, el alimento vivo produjo los mayores valores medios de los indicadores larvarios, y se observó que gracias a las inclusiones de las microalgas se pudo aumentar la sobrevivencia de las larvas del camarón blanco. Por otro lado, Smith *et al.* (1992) indicaron que el rango de peso seco individual (PSI) para las postlarvas de camarón blanco varía de 100 a 150 g; por lo tanto, el tratamiento control se encuentra dentro del intervalo reportado (Tabla VI). El tratamiento OrbiCap (OC) presentó un PSI estadísticamente equivalente al control; sin embargo es menor que el alimento vivo (Tabla VI). Si se centra la atención en el PLI, es muy evidente la hegemonía del alimento vivo sobre el resto de los tratamientos (Tabla VI). Este resultado puede ser atribuido a que la cantidad de proteínas y lípidos presentadas en las microdietas no fueron las óptimas; es decir, siguieron siendo insuficientes para promover un crecimiento análogo al de las microalgas. Un hecho que resaltó en este experimento es el potencial del OrbiCap para ser

considerado un sustituto parcial o complemento de algas en la cría de larvas de camarón blanco.

Como conclusión del presente trabajo, se determinó que el OrbiCap no sustituyó totalmente a las microalgas y que solo sirvió como sustituto parcial de éstas, en la dieta de larvas de camarón blanco.

Agradecimientos: Se reconoce el financiamiento del SIBEJ a través del proyecto clave 19980505006 otorgado al primer autor.

Bibliografía

- Alexakis, T., D. K. Boadi, O. Qoung, A. Groboillot, I. O. Neill, D. Poncelet y R. J. Neufeld, 1995. Microencapsulation of DNA within Alginate microspheres and crosslinked Chitosan membranes for in vivo application. *Applied Biochem. And Biotech.* (50):93-106.
- Amjad, S. y D. A. Jones, 1992. An evaluation of artificial larval diets used in the culture of penaeid shrimp larvae *Penaeus monodon* (Fabricius). *Pakistan J. Zool.* 24(2):135-142.
- Anónimo, 2001. Laboratorios de producción de postlarvas en México. *Panorama Acuícola* 7(1):56-57.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis. 15 Edition. Association of official analytical chemists. Washington. D. C.
- Bell, M. V., L. A. McEvoy y J. C. Navarro, 1996. Deficit of dídocosahexaenoyl phospholipid in the eyes of larval sea bass fed an essential fatty acid deficient. *J. of Fish Biol.* 49: 941-952.
- Biedenbach, J. M., L. L. Smith y A. L. Lawrence, 1990. Use of a new spray-dried algal product in penaeid larviculture. *Aquaculture.* 86:249-257.
- Bligh, E. G. y W. J. Dyer, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- Boeing, P. y C. A. Martínez-Palacios, 1997. Partial replacement of live algae in the larviculture of *Penaeus vannamei* with microencapsulates and spray-dried algae *Schizochytrium* sp. IV Simp. Centroamericano de Camarón. Tegucigalpa, Honduras. p. 22-24.
- Brown, M. R., S. W. Jeffrey, J. K. Volkman y G. A. Dunstan, 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151:315-331.
- Castille, F. L. y A. L. Lawrence, 1981. The effects of EDTA (Ethylenedinitrotetraacetic acid) on the survival and

development of shrimp nauplii (*Penaeus stylirostris* Stimpson) and the interactions of EDTA with the toxicities of cadmium, calcium and phenol. *J. World Maricult. Soc.* 12(2):292-304.

Cordero-Esquivel, B. y D. Voltolina, 1996. Nutritional value of preserved microalgae for subadults *Mytilus galloprovincialis*. *J. World Aquaculture Soc.* 27(1): 113-118.

Cruz-Terán, E. M., 2000. Efecto de la fuente de lípidos dietarios en la sobrevivencia, crecimiento y metamorfosis del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Tesis de licenciatura en Biología Marina. Universidad del Mar. Puerto Ángel, Oax. 77 p.p.

Cruz-Zárate, P. En prep. Evaluación de iniciadores algales en el larvicultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de licenciatura en Biología Marina. Universidad del Mar. Puerto Ángel, Oax. 56 p.p.

CYTED, 2000. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Desarrollo y optimización de las tecnologías de cultivo de camarones peneidos en Ibero América. Subprograma II: Acuicultura proyecto II.3. Informe final CYTED.

D'Souza, F. M. L. y N. R. Loneragan, 1999. Effects of monoespecific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of penaeid prawn (*Penaeus* spp.) larvae. *Mar. Biol.* 133: 621-633.

D'Souza F. M. L. y G. J. Kelly, 2000. Effects of a diet of nitrogen-limited alga (*Tetraselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae. *Aquaculture* 181:311-329.

Day, R. W. y G. P. Quinn, 1989. Comparisons of treatments after an analysis of variance in Ecology. *Ecol. Monogr.* 59(4):433-463.

Dhert, P., 1992. Improved use of Artemia in the larviculture on the tropical fish *Late calcarifer* (Bloch) and *Siganus guttatus* (Bloch). Ph. D. Thesis. Universiteit Gent, Belgium. Faculteit van Landbouwwetens. 180 p.p.

Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers y F. Smith, 1956. A colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.

Guillard, R. R. L., 1973. Division rates. En: Stein, J. R. (Ed.). Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements: 289-312.

Cambridge University Press. Cambridge, MA. USA. 448 pp.

Hudinaga, M., 1942. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus*. *Jap. J. of Zoology* X: 305-393.

Jones, D. A., T. H. Moller, R. J. Campbell, J. G. Munford y P. A. Gabbott, 1975. Studies on the design and acceptability of micro-encapsulated diets for marine particle feeders. I. Crustacea. 10th Eur. Symp. on Marine Biology. Ostend, Belgium. 17-23 Sept. 1975. Vol. I: 229-239.

Jones, D. A., A. Kanazawa y S. Abdel-Rahman, 1979. Studies on the presentation of artificial diets for rearing the larvae of *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*. 17:33-43.

Jones, D. A., K. Kurmaly y A. Arshad, 1987. Penaeid shrimp hatchery trials using microencapsulated diets. *Aquaculture*. 64:133-146.

Jones, D. A., A. Yule y D. L. Holland, 1997a. Larval nutrition. En: D. Conklin, L. R. D'Abramo y D. M. Akiyama (Eds.) Crustacean Nutrition. Adv. in World Aquaculture Vol.6. World Aquaculture Soc. Baton Rouge, L. A. USA. 353-389 p.p.

Jones, D. A., P. Bridson, M. Freeman, J. Latchford, C. A. Martinez-Palacios, N. Misciatelli, F. A. L. T. Riveiro, S. Sirvas-Rowlands y F. Simoes, 1997b. Progress in the use of artificial feeds in penaeid larval culture. En: Proc. Of the 2nd Asia-Pacific Marine Biotechnology Conf. y Third Asia-Pacific Conf. on Algal Biotechnology. p. 107. 7-10 Mayo, 1997. Phuket, Thailand.

Jones, D. A., 1998. Crustacean larval microparticulate diets. *Rev. in Fish. Sci.* 6(1-2): 41-45

Kanazawa, A., S. Teshima, H. Sasada y S. Abdel-Rhaman, 1982. Culture of the prawn larvae with microparticulate diets. *Bull. of the Jap. Soc. of Sci. Fish.* 48(2): 192-199.

Kuban, F. D., J. S. Wilkenfeld y A. L. Lawrence, 1983. Survival and growth of *Penaeus setiferus* L. and *Penaeus aztecus* Ives larvae fed *Artemia* sp. beginning at the protozoa-wo substage versus the mysis-one substage. *Journal of World Aquaculture Soc.* 14:38-8.

Kurmaly, K., D. A. Jones, A. B. Yule y J. East, 1989. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae, from protozoa I to postlarva I, on live feeds, artificial diets and on combinations of both. *Aquaculture*. 81:27-45.

Le-Moullac, G., A. V. Wormhoudt y 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). *Aquat. Living Resour.*, 7: 203-210.

López-Elías, J. A. y D. Voltolina, 1993. Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. *Ciencias Marinas* 19 (2): 169-180.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr y R. J. Randall,

1951. Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
- Masters, K., 1985. *Spray Drying Handbook*. 4th Ed. John Wiley y Sons. New York, NY. USA.
- Medina-Reyna, C. E., 1998. Diseño y evaluación de un alimento nebulizado para la larvicultura del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. Tesis de Maestría. CICESE. Ensenada B. C. 1998. 67 p.p.
- Medina-Reyna, C. E. y B. Cordero-Esquivel, 1998. Crecimiento y composición bioquímica de la diatomea *Chaetoceros muelleri* Lemmerman, mantenida en cultivo estático con un medio comercial. *Ciencia y Mar* 6: 19-26.
- Medina-Reyna, C. E., M. C. Chavez-Sánchez, C. A. Martínez-Palacios, y R. Pedroza- Islas, 2000a. Evaluation of a microbound spray-dried feed for the rearing of penaeid shrimp larvae. *North Amer. J. of Aquaculture*. 63:73-77.
- Medina-Reyna, C. E., R. Pedroza-Islas y J. Ronsón-Paulín, 2000b. Evaluación de iniciadores algales en el larvicultivo de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*). En: Mem. del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán. Méx. 56 p.p.
- Medina-Reyna, C. E. P. Jacinto-Nolasco, J. Ronson, I. Santiago-Morales & R. Pedroza-Islas, 2002. A new index for the evaluation of the shrimp larviculture. En: Mem. del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancun, Quintana Roo, México. Méx.
- Mourente, G. y A. Rodríguez, 1997. Effects of salinity and dietary DHA (22:6n-3) content on lipid composition and performance of *Penaeus kerathurus* postlarvae. *Mar. Biol.* 128:289-198.
- Muir, P. R. y D. C. Sutton, 1994. Bacterial degradation of microencapsulated feed used in larval culture. *J. World Aquaculture Soc.* 25(3):371-379.
- Pande, S. V., R. P. Khan y T. A. Venkitesubra, 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acids. *Anal. Biochem.* 6:415-423.
- Paniagua-Michel, J., L. F. Buckle-Rámirez, C. Granados-Machuca y D. Loya-Salinas, 1989. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. 2a. Ed. CICESE, Ensenada, B. C. México. 50 pp.
- Pedroza-Islas, R., C. E. Medina-Reyna, y M. J. Acosta-Ruíz, 2000. Uso de ficocoloides en la nebulización de microdietas para la larvicultura marina. *Ciencia y Mar*. 11:27-34.
- Pedroza-Islas, R., 2000. Estudios de difusión de nutrientes en alimentos microencapsulados para larvas de crustáceos. Tesis de doctorado. Facultad de Ingeniería Química. UNAM. México D. F. 68 p.p.
- Puello-Cruz, A. C., 1996. Trypsin activity during larval development of *Penaeus vannamei* and *Penaeus stylirostris* shrimp (Crustacea: Decapoda). M. S. thesis. School of Ocean Sciences. UCNW. Bangor, Wales. UK.
- Raymont, J. E. G., 1980. Plankton and Productivity in the Oceans. 2nd Edition. Vol. I Phytoplankton. Pergamon. New York, USA. 489 pp.
- Rosemberg, M., Y. Talmon e I. J. Kopelman, 1988. The microstructure of spray-dried microcapsules. *Food Microstructure* 7:15-23.
- SEMARNAP, 1998, Anuario estadístico de pesca 1997, SEMARNAP, México, 241 p.p.
- Shamsudin, L., 1992. Lipid and fatty acid composition of microalgae used in Malaysian aquaculture as live food for the early stage of penaeid larvae. *Journal of Applied Phycology*. 4:371-378.
- Smith, L. L., T. M. Samocha, J. M. Biedenbach y A. L. Lawrence, 1992. Use of One-itter Imhoff Cones used in Larviculture Production. en: *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices* (Fast, A. W., y Lester, L. J. eds.) *Developments in Aquaculture and Fisheries Science* 23. pp 287-300. Elsevier Sci. Pub. Amsterdam, The Netherlands.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf, 1995. *Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 3rd. Ed. W. H. Freeman and Co. New York, USA. 881 p.p
- Sorgeloos, P. y P. Léger, 1992. Improved larviculture outputs of marine shrimp and prawn. *J. World Aquaculture Soc.* 23(4): 251-264.
- Sorokin, C., 1973. Dry Weight, Packed Cell Volume and Optical Density. En: Stein, J. R. (Ed.). *Handbook of phycological methods. Culture methods and growth measurements: 321-343*. Cambridge University Press. Cambridge, MA. USA. 448 pp.
- Treece, G. D., 1985. Larval rearing technology. *Texas Shrimp Farming Manual*. Texas Agricultural Ext. Serv. Chamberlain GW, M. G. Haby and R. J. Miget (ed.). Tx. U.S.A. p. 43-64.
- Trujillo-Valle, M. L., 1995. La Colección de Microalgas del CICESE. *Inf. Técnico CICT9301. Com. Acad. Ser. Acuicultura*. CICESE. 103 pp.
- Villegas, C. T. y A. Kanazawa, 1980. Rearing of the larval stages of prawn, *Penaeus japonicus* BATE, using artificial diet. *Mem. Kagoshima Univ. Res. Center S. Pac.* 1 (1): 43-

49.

Villegas, C. T., T. L. Li y A. Kanazawa, 1980. The effects of feeds and feeding levels on the survival of a prawn, *Penaeus monodon* larvae. Mem. Kagoshima Univ. Res. Center S. Pac. 1 (1):51-55.

White, J. N. C., 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture 60:231-241.

Wilkinson, L., 1987. SYSTAT: The System for Statistics. SYSTAT Inc. Evanston, IL.

Zar, J. H., 1984. Biostatistical Analysis. 2nd Ed. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ. USA. 334 p.

Recibido: 4 de Julio del 2002.

Aceptado: 8 de Septiembre del 2002.