

Alimento micro encapsulado aumenta la supervivencia larval en *Odontesthes regia* (Humboldt 1821)

Elisabeth Brintrup G.*, Raúl Castro D., Patricio Román S., Francisco Contreras S.

Instituto de Ciencia y Tecnología (ICYT), Universidad Arturo Prat (Chile).
Ejército 443, Puerto Montt, Chile.
e-mail: ebrintrup@gmail.com

Resumen

En la etapa de alevinaje de especies de peces marinos, es habitual recurrir a alimento vivo como primera alimentación, lo que se traduce en una demanda significativa de recursos y cuidados. El presente trabajo compara la supervivencia y el crecimiento de larvas de pejerrey de mar, *Odontesthes regia*, alimentadas con una dieta micro-encapsulada respecto de larvas alimentadas con nauplios de artemia. Durante los ensayos, se observó que las larvas de esta especie aceptan el alimento inerte desde su primera alimentación, sin recurrir a periodos de adaptación u otro tipo de alimento vivo. Los resultados indican un aumento significativo, superior al 70%, en la supervivencia de las larvas alimentadas con la micro-dieta en el primer mes de alimentación. Con respecto al crecimiento, la tasa de crecimiento específico (SGR) de las larvas alimentadas con dieta micro-encapsulada no mostró diferencias respecto al obtenido con nauplios de artemia. Esta investigación demuestra que, en algunas especies de larvas de peces marinos, es posible la sustitución de alimento vivo por dietas inertes con resultados satisfactorios para parámetros de crecimiento y supervivencia, lo que facilita el escalamiento del cultivo intensivo de estas especies.

Palabras clave: alimento micro encapsulado, larvas de peces marinos, pejerrey de mar.

Summary

Microencapsulated feed increases larval survival of *Odontesthes regia* (Humboldt 1821).

During Hatchery of sea fish species, live feed is commonly used as first feeding, which implies a significant demand of resources and care. This research compares the survival and growth rate from *Odontesthes regia* larvae, fed with microencapsulated diet respect to those fed with nauplii of artemia. During the trials, acceptance of the dry feed was observed in these species since their first feeding, without an adaptation period neither the use of any live feed. The results showed a significant increase, over 70%, in survival rate from larvae fed with micro diet in the first month. Specific Growth Rate (SGR) for larvae fed with micro diet, showed no significant difference with respect to larvae fed with artemia's nauplii. This research shows that, at least for some marine fish species, it is possible to replace live feed by dry feed, not affecting growth rate but improving survival, which supports the scaling up of intensive cultures of these species.

Key words: microencapsulated food, marine fish larvae, silverside.

Introducción

El éxito comercial del cultivo de peces depende en gran medida de la producción controlada de un stock suficiente de juveniles de la especie a cultivar. La mayoría de los productores e investigadores coinciden en que las mayores dificultades se presentan habitualmente durante la larvicultura (comúnmente llamado alevinaje). Aquí es donde se presentan las mayores dificultades y donde suelen ocurrir las más altas mortalidades, tanto para las especies que se cultivan comercialmente, como para los cultivos emergentes y en investigación.

El desarrollo de la acuicultura en la fase de cultivo larvario y post larvario, en la mayoría de las especies de peces marinos, depende del suministro de alimento vivo (rotíferos, artemias, etc.). Sin embargo, la producción de alimento vivo requiere de manejos especializados, involucra dificultades de escalamiento y no siempre es posible obtener una calidad uniforme, paralelamente demanda tiempo, mano de obra y espacio para cultivarlos, aumentando los costos de producción. En muchas hatcheries de peces marinos puede significar fácilmente el 20 – 25% del costo de la etapa (Civera y cols., 2004).

El pejerrey de mar, *Odontesthes regia* (Humboldt 1821), es una especie marina que se distribuye desde la región de Aysén (Chile) hasta Piura (Perú) (Dyer, 2000). Estudios sobre la alimentación del pejerrey señalan que la dieta de *O. regia* es de tipo omnívoro (Lorenzen y cols., 1979), consumiendo alimento tanto en la columna de agua como en el fondo. El pejerrey depreda principalmente sobre especies tanto del bentos (anfípodos y poliquetos) como del plancton (copépodos calanoideos y larvas zoeas), además de plantas. Esto debido a que ocupa ambientes marinos bastante diversos, tales como estuarios, playas y fondos fangosos. Por tanto, la dieta de este Atherinidae está constituida por organismos de tamaño muy diverso (Silva & Stuardo, 1985).

El "Pejerrey de Mar" es una especie importante en la pesca artesanal de Chile, en especial en la macro región sur austral, constituyendo uno de los recursos ícticos de agua de mar de importancia para el consumo de la población, principalmente de la Décima Región, la que aporta el 50% del desembarque total del país.

Sin embargo, debido a la disminución de los desembarques de esta especie se decretó (D.S. 1410/09) la veda del recurso a partir del 02 de Octubre de 2009 al 31 de Diciembre de 2011 para la X Región de Los Lagos, los desembarques nacionales han disminuido de 1.262 ton en el 2007 a 397 ton en el 2010 (SERNAPESCA, 2011).

En los cultivos experimentales realizados en el Instituto de Ciencia y Tecnología de la Universidad Arturo Prat en la X región de Chile, las larvas de pejerrey de mar son alimentadas con *Nannochloropsis* sp. y con el crustáceo *Artemia* sp. Los procedimientos de cultivo y alimentación están descritos en el Manual de Reproducción y Cultivo Larval a Alevín de 2 g., Cultivo del Pejerrey de Mar (*Odontesthes regia*, Humboldt 1821), desarrollado en el proyecto FONDEF D04I1173 "Bases para el Escalamiento Productivo de las Tecnologías de Cultivo del Pejerrey" y se encuentra en el Departamento de derechos intelectuales DIBAM, Inscripción N° 183498.

En la actualidad, los esfuerzos de investigación se dirigen a determinar las condiciones que incrementen la supervivencia y viabilidad de las larvas, así como determinar los requerimientos nutricionales con objeto de mejorar la alimentación y aumentar la producción de larvas, puesto que es el paso previo para la puesta de un cultivo a una escala comercial.

En la presente investigación, se comparó el crecimiento y supervivencia de larvas de *Odontesthes regia*, alimentadas con una dieta micro-encapsulada formulada para ajustarse a los requerimientos nutricionales de la especie y con *Artemia* sp. alimentada con *Nannochloropsis* sp., según procedimientos y pautas de alimentación descritos en el manual mencionado anteriormente.

Materiales y métodos

La dieta micro-encapsulada (Solicitud Patente N° 3025-2011) fue elaborada en el Laboratorio de Micro encapsulación, del Instituto de Ciencia y Tecnología de la Universidad Arturo Prat, en la ciudad de Puerto Montt, Chile.

Chile; con una salinidad de 33⁰/₀₀ y una temperatura de 12°C, contenida en una probeta graduada de 100 ml.

Se identificó como tiempo de superficie, el tiempo en segundos, requerido para que las partículas comenzaran a precipitar. Se registró como tiempo de descenso el requerido para que recorrieran una distancia de 17 cm de columna de agua, hasta el fondo de la probeta. Se registró también el tiempo que permanecían las microcápsulas en el fondo de la probeta, antes de comenzar a subir nuevamente en la columna de agua, los que fueron registrados como tiempo fondo y tiempo de ascenso, respectivamente. Se realizaron 20 ensayos por partida de elaboración de alimento.

Lixiviación:

Para establecer la lixiviación se realizó una suspensión al 10% peso-peso de las microcápsulas, de humedad conocida, en agua destilada. Dicha suspensión fue sometida a agitación en un vortex a 1000 rpm durante 1 min. Luego se centrifugó la muestra a 1000 rpm durante 1 min y a continuación se procedió a descartar el sobrenadante. Se midió la masa de producto remanente, la que fue corregida por humedad, determinada en una termo balanza a 105°C. La merma de producto observada, corresponde al material lixiviado de las microcápsulas.

Bioensayos:

a) Cultivo larval

Los huevos de *Odontesthes regia* se recolectaron de las frondas del alga *Gracilaria* sp., frente a la costa de Maullín, X Región, Chile (fig. 1); y se colocaron en un tanque de 400 l, con aireación constante, flujo de 3 lpm, 16 °C de temperatura promedio y se mantuvieron en estas condiciones hasta su eclosión.

Las larvas eclosionadas se sembraron a una densidad de 15,38 larvas/l en tanques tronco-cónicos de 50 cm de diámetro x 55,5 cm de altura con un volumen útil de 65 l de agua de mar filtrada a 20µm, 16 °C de temperatura promedio, 33⁰/₀₀ de salinidad, caudal de 0,5 lpm y con un fotoperiodo de 16 horas luz.

Se registró el oxígeno disuelto y la temperatura, tres veces al día (09:00, 15:00 y 19:00 hrs) usando un medidor OxyGuard (Handy Polaris) y la salinidad con un conductivímetro YSI modelo 63-10 FT.

b) Cultivo de artemias

Los quistes de artemia secos (BIO- MARINE) se hidrataron durante 20 min en tanques tronco-cónicos de 50 cm de diámetro x 55,5 cm de altura con un volumen útil de 65 l de agua de mar filtrada a 20 µm, 28°C de temperatura promedio regulada con un termostato Aquarium Heater de 300 w y aireación constante, 33⁰/₀₀ de salinidad, fotoperiodo de 24 horas luz y un recambio diario de agua del 50%.

Una vez eclosionadas las artemias, se cosecharon mediante filtrado por tamiz de 125 micras y fueron llevadas a un tanque de mantenimiento, con aireación constante y temperatura regulada, donde eran alimentadas con *Nannochloropsis* sp. a partir del segundo día post-eclosión.

c) Alimentación

Para el estudio se realizaron tres réplicas por tratamiento, alimento vivo (nauplios de artemia) y micro dieta (alimento micro encapsulado) asignados al azar.

Las larvas se alimentaron ad libitum con alimento micro encapsulado, mientras que para el tratamiento con alimento vivo se suministró diariamente 40 nauplios/larva (Guarda, 2010), aumentando al doble la ración al llegar al final del estudio.

d) Parámetros de crecimiento y supervivencia

El muestreo inicial se efectuó al día posterior de la eclosión, extrayendo 100 individuos del tanque de incubación. Estas larvas fueron pesadas en grupos de 5 individuos en una balanza AND GF-400 (+/- 0,001 g), para calcular el peso promedio por larva.

Es importante señalar que para peces marinos con desarrollo indirecto recién eclosionados, los pesos de las larvas pueden ser inferiores a 0,001 g.

La frecuencia de muestreo fue cada 15 días, tomando al azar 15 individuos de cada tanque, para realizar las mediciones de peso y talla. A partir del segundo muestro los peces fueron pesados individualmente.

Una vez cuantificada la ingesta total de cada dieta, se valora la tasa instantánea de crecimiento (TIC) = $((\ln p_2 - \ln p_1) / (t_2 - t_1)) * 100$, donde: ln es el logaritmo neperiano, p1: peso inicial, p2: peso final, t1: tiempo inicial y t2: tiempo final.

Se calculó el factor de condición (K), utilizando la relación entre el peso y la longitud al cubo (Lagler 1973): $K = W/L^3$, donde W: peso y L: longitud.

Se calcula el % de supervivencia para cada grupo experimental, registrándose la mortalidad diaria por tanque de cultivo.

Los datos obtenidos durante el ensayo, se ingresaron en planillas Excel, de Microsoft Office 2007 donde se organizaron y analizaron bajo la prueba "t" para determinar si existe realmente una diferencia estadísticamente significativa entre los datos ($p < 0,05$).

Resultados

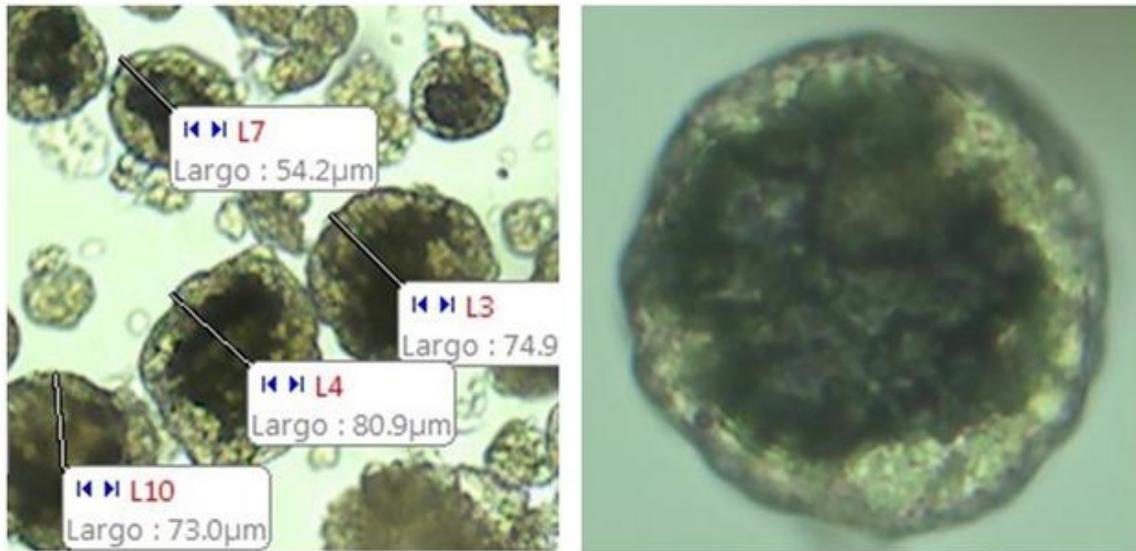
La composición química de larvas silvestres de pejerrey (0,17 y 1,0 g.) y nauplios de artemia se resume en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición química de larvas de pejerrey de mar silvestres y nauplios de artemia.

	Larvas silvestres 0,17 g	Larvas silvestres 1 g	Nauplios artemia	Dieta micro-encapsulada
Humedad %	79,4	77,7	93,6	5,2
Proteínas (%BS)	79,5	77,8	31,0	58,2
Lípidos (%BS)	4,9	5,8	10,1	13,6
Fibra (%BS)	0	0	2,4	0,56
ENN (%BS)	0	2,3	12,1	15,5
Cenizas (%BS)	16,4	14,1	44,4	11,23
DHA/EPA	2,76	2,02	NA	2,00
3 %AGT	55,6	49,6	NA	2,19
6 %AGT	1,93	2,06	NA	3,47
9 %AGT	3,81	6,13	NA	1,77

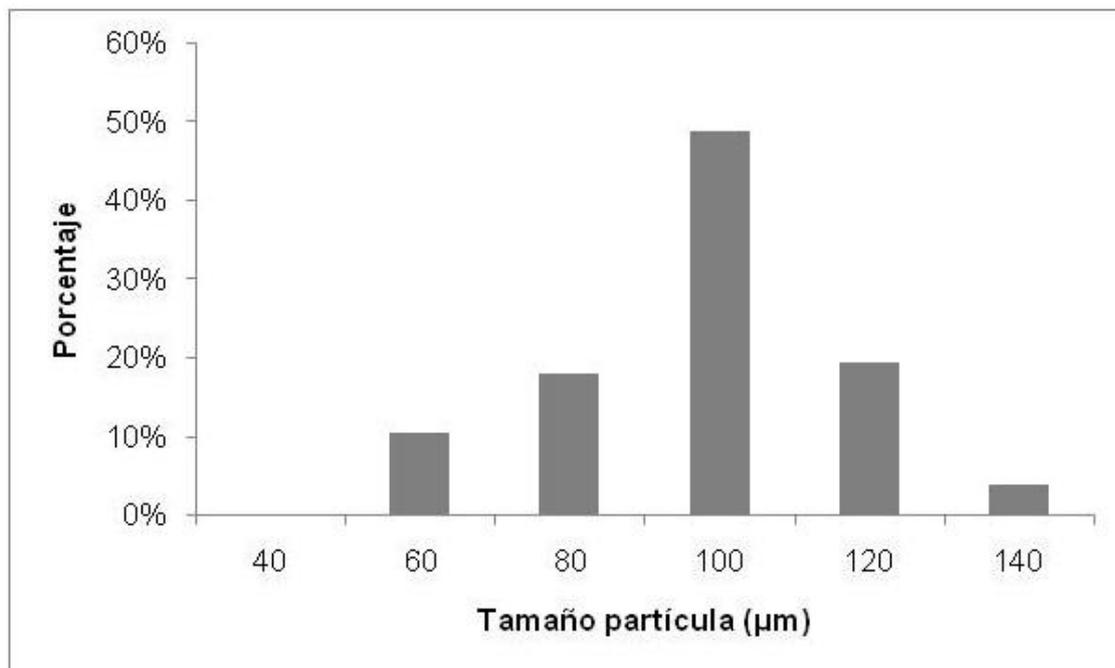
La figura 2 muestra una fotografía tomada con una resolución de 1280*1024 a 10X, de una preparación de las microcápsulas, donde se pueden apreciar la medición, forma y el tamaño de éstas.

Figura 2. Medición de micro-cápsulas (izquierda), fotografía micro cápsula (derecha).



La distribución de tamaños de las micro-cápsulas observada, se muestra en el Gráfico 1, donde se especifica el porcentaje por tamaño de partículas.

Gráfico 1. Distribución de tamaños de partículas (micro-cápsulas)



Los resultados de flotabilidad del alimento micro encapsulado se muestra en la Tabla 2 para cada tiempo de desplazamiento de las partículas en la columna de agua de la probeta.

Tabla 2. Flotabilidad de alimento micro encapsulado en columna de agua de 17 cm.

Tratamiento	Promedio (s)	Desviación estándar (s)
Tiempo Superficie	8,93	1,87
Tiempo Descenso	67,87	8,29
Tiempo Fondo	95,73	21,81
Tiempo Ascenso	34,33	6,61

Los resultados obtenidos de las pruebas de lixiviación se muestran en la Tabla 3 donde se registra el material lixiviado de la dieta micro-encapsulada.

Tabla 3. Porcentaje de material lixiviado de la dieta micro-encapsulada

Tratamiento	Promedio (%)	Desviación estándar (%)
Lixiviación	50,14	8,4

Los resultados relacionados al cultivo de larvas de pejerrey alimentados con microdieta y alimento vivo se muestran en la Tabla 4, Gráfico 2 y 3.

Tabla 4. Comparación de la tasa instantánea de crecimiento (TIC) y del índice de condición (K) en larvas de pejerrey alimentados con dieta micro-encapsulada y nauplios de artemia.

Días	TIC		K	
	Microdieta	Alimento vivo	Microdieta	Alimento vivo
15	11,04 ± 1,63	10,68 ± 1,52	0,5 ± 0,03	0,5 ± 0,05
30	11,52 ± 1,78	11,26 ± 0,23	1,5 ± 0,11	1,6 ± 0,01
45	0,50 ± 0,14	0,85 ± 0,28	1,0 ± 0,02	0,6 ± 0,07

Gráfico 2. Incremento en peso larvas alimentadas con micro dieta v/s alimento vivo.

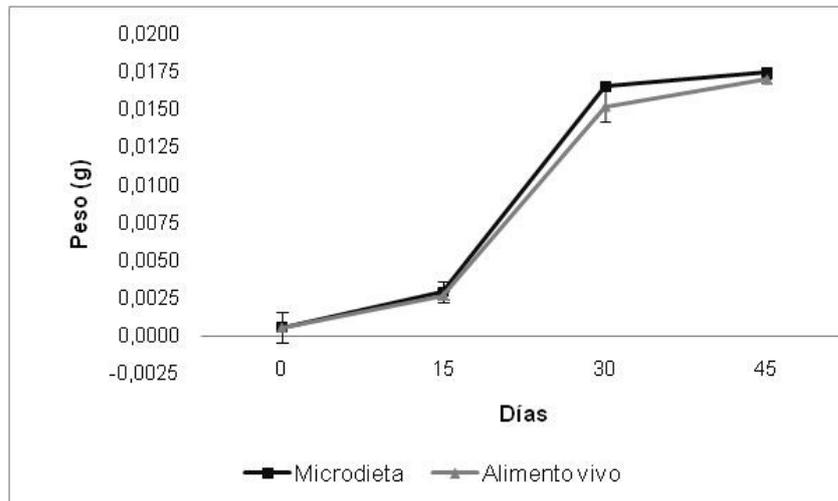
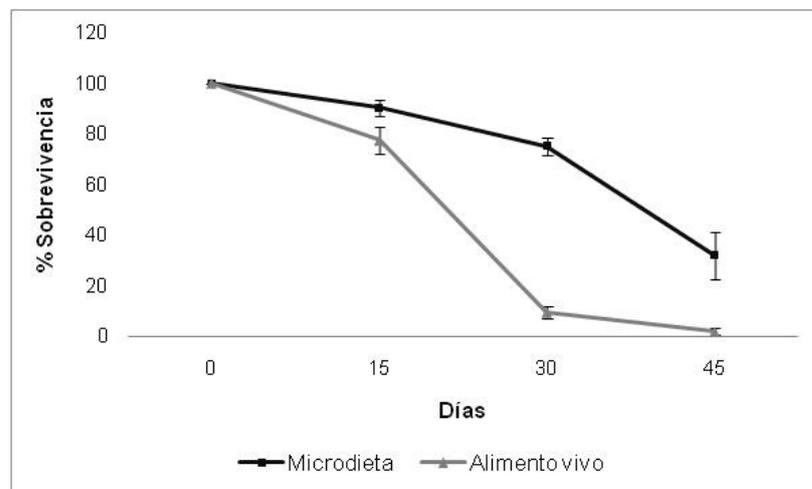


Gráfico 3. Supervivencia larvas alimentadas con micro dieta v/s alimento vivo.



El ensayo incluyó registros de incremento en peso y supervivencia, de ensayos en triplicado, cuyos promedios se indican en los gráficos 2 y 3.

Discusión y Conclusión

En este estudio, las larvas de pejerrey de mar aceptan el alimento micro encapsulado desde que comienzan su primera alimentación, sin necesidad de agregar ningún tipo de alimento vivo, esto puede explicarse en parte, a que las larvas de pejerrey tienen un tamaño de 0,65 cm al eclosionar y no necesitan rotíferos en su alimentación inicial, facilitando la ingesta del alimento inerte.

Datos similares fueron encontrados en ensayos de primera alimentación de larvas de barbilla (*Rhombia sebae*) alimentadas con nauplios de artemia y concentrado micro pulverizado para peces (48% proteína), aunque los resultados fueron mejores con nauplios de artemia, el trabajo resalta que las larvas hayan aceptado como primer alimento un concentrado comercial y segundo que hayan crecido y sobrevivido de la manera que lo hicieron comparativamente con las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* sp. (Muñoz y cols., 2007).

Lo anterior también puede demostrarse en ensayos realizados en España (Yúfera, 1999) con larvas de peces en Dorada y Lenguado, los cuales necesitan rotíferos en su alimentación inicial, permitiendo adicionar dietas micro-encapsuladas después del día 8 post eclosión, ya sea en forma exclusiva o con adición de rotíferos, sin embargo, en este ensayo la mortalidad fue muy alta con alimentación exclusiva de microcápsulas, alcanzado casi la totalidad después del mes de alimentación.

Por otra parte, el patrón de movimiento de las MC observado en la tabla 2, favorece el desarrollo del reflejo predatorio de los individuos en la alimentación inicial y el tiempo que permanecen las MC en la zona de alimentación parece ser adecuado a los hábitos de la especie, pues fue posible observar que las larvas se adaptaron rápidamente a la ingesta del alimento.

A diferencia de los trabajos realizados por Yúfera (1999) y Muñoz (2007), los resultados de supervivencia obtenidos en el pejerrey de mar con la dieta micro-encapsulada para los primeros 30 días de cultivo indican un valor superior al 70%, con una diferencia significativamente mayor ($p < 0,05$) a la que se obtuvo alimentando con nauplios de artemia, que no supera el 10%.

La composición de proteína de los nauplios de artemia (31%) difiere significativamente ($p < 0,05$) de la dieta micro-encapsulada (58%), permitiendo establecer que los mismos no brindan un aporte nutricional balanceado a las larvas. Esta realidad es reflejada en el hecho de que el zooplancton que sirve de alimento en el medio ambiente natural contiene un alto nivel de proteína y amino ácidos libres, por lo general, se utilizan niveles de proteína del 55 al 60% (Lazo, 2000; Cahu & Infante, 2001; Prieto, 2008).

Es posible atribuir que el mejor estado nutricional de las larvas alimentadas con alimento balanceado favorece la respuesta inmune de estos individuos, aumentando su supervivencia, pero este es un aspecto que debe validarse con estudios más específicos.

La caída en la supervivencia ocurre después de la segunda quincena del estudio; esto puede atribuirse a la baja ingesta del alimento, al observarse gran cantidad de alimento inerte no consumido en el fondo del tanque, el cual no fue posible determinar por el diseño de los tanques, indicando que el tamaño de partícula (Gráfico

1) no es apropiado en esta especie después del mes de alimentación, atribuido al gasto energético asociado a la predación, por lo que este tamaño (promedio 100 µm) solo es recomendable para los 30 primeros días de alimentación. Esto concuerda también con el destete (cambio de dieta viva a inerte) de esta especie, donde estudios previos indican que el destete debe comenzarse a los 30 días de alimentación exógena (Guarda, 2010).

El éxito de una dieta en la supervivencia y el crecimiento larvario, viene determinado por el balance entre el esfuerzo de captura y el valor energético y nutritivo que adquiere la larva con su ingestión (Dantagnan y cols., 2006). Por otra parte, Botero (2004) señala que el tamaño de las partículas influye en el éxito de captura en cultivo, si el pez tiene demasiada hambre, ataca partículas más grandes que pueda tragar fácilmente, ya que no desea equivocarse, ni correr riesgos en su captura.

Si bien es cierto, la lixiviación del alimento es significativa, es necesario aclarar que la metodología aplicada es referencial y no dice relación, con el grado de lixiviación que es posible observar en condiciones de cultivo, donde no se registró ningún tipo de problemas relacionados a contaminación. El motivo por el cual se eligió esta metodología es debido a la mayor replicabilidad del método, lo que facilita la comparación de los resultados.

Finalmente, podemos concluir que es posible sustituir el alimento vivo utilizado actualmente en las experiencias del cultivo experimental de pejerrey de mar (*Odontesthes regia*) con alimento micro encapsulado, sin etapa de adaptación, lo que podría contribuir a realizar estudios para el cultivo comercial intensivo de la especie.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada en parte por Conicyt (Chile) a través del Proyecto FONDEF D0711018 "Alimento inerte para larvas de peces, a través de la técnica de secado por aspersión".

Compromete nuestra gratitud a María Soledad Guarda F., Director de proyecto Fondef D0411173, por su experiencia entregada en el cultivo de Pejerrey de mar, también a la Dra. Ruth Pedroza I., por su apoyo y colaboración en este proyecto.

Bibliografía

1. Botero, A., 2004. Comportamiento de los peces en la búsqueda y la captura del alimento. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol. 17:1. Grupo de Piscicultura, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.
2. Cahu, C. & Infante J., 2001. Substitution of live food by formulated diets in marine fish larvae. *Aquaculture*, 161-180 pp.
3. Civera-Cerecedo, R.1, Alvarez-González, C.A.2 y Moyano-López, F.J., 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. 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.
4. Dantagnan, P. y cols., 2007. PRODUCCION DE LARVAS DE PECES. Innovación y avances en la nutrición para contribuir al mejoramiento y escalamiento de los cultivos. Editorial UC TEMUCO, Primera edición, octubre 2007. IMPRESO EN CHILE.
5. Dyer, B., 2000. Revisión sistemática de los pejerreyes de Chile (teleostei, atheriniformes), Centro de Ciencias y Ecología Aplicada, Escuela de Pesquerías y Cultivos, Universidad del Mar, *Estud. Oceanol.* 19: 99 – 127.
6. Guarda, S., 2010. Manual de reproducción y cultivo larval a alevín de 2 g., cultivo del Pejerrey de mar (*Odontesthes regia*, Humboldt 1821). Enmarcado en proyecto

- FONDEF D0411173. Departamento de Derechos intelectuales DIBAM, inscripción N° 183498. Universidad Arturo Prat. 40 pp.
7. Lazo, J., 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. In: Cruz -Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Olvera-Novoa, M.A. y Civera-Cerecedo, R., (Eds.). Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Mérida, Yucatán, México.
 8. Lorenzen, C. y cols., 1979. Mariscos y peces de importancia comercial en el sur de Chile, Universidad Austral, Valdivia, Chile. pp 131.
 9. Muñoz, F. y cols., 2007. Respuesta a la primera alimentación en larvas de Barbilla *Rhamdia sebae* C.F. (Pisces: Siluriformes, Pimelodidae). Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Los Llanos; Colombia. 48 Vol 5 No.1.
 10. Prieto, G y cols., 2008. Zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales. Revista MVZ Córdoba, Vol. 13, Núm. 2, mayo-agosto, 2008, pp. 1415-1425. Universidad de Córdoba, Colombia.
 11. SERNAPESCA, 2011. Anuarios estadísticos. www.sernapesca.cl Consultado 24.03.2011.
 12. Silva M. & J. Stuardo.1985. Alimentación y relaciones tróficas generales entre algunos peces demersales y el bentos de Bahía Coliumo, Concepción, Chile. Gayana, Zoología 49(3-4): 77-102.
 13. Yúfera M, 1999. PLAN NACIONAL DE CULTIVOS MARINOS: Evaluación a escala piloto de una dieta inerte micro-encapsulada para el cultivo larvario de peces marinos (Dorada y Lenguado) desde la primera semana de vida hasta el uso de piensos comerciales. Ministerio de Agricultura, pesca y alimentación, Jacumar, España.