



## Índice de desarrollo y supervivencia de larvas del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871), alimentadas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen)

**R**evista  
Colombiana de  
Ciencias  
Pecuarias

Daniel E Godínez<sup>1</sup>, IA, MSc; Arnulfo H Díaz<sup>1</sup>, BP, MSc; María del C Gallo<sup>1</sup>, MVZ, MSc.

<sup>1</sup>Departamento de Estudios para el Desarrollo Sustentable de Zonas Costeras, Universidad de Guadalajara, AP 28, México, CP 48980. dangos@costera.melaque.udg.mx

(Recibido: 6 junio, 2004; aceptado: 31 enero, 2005)

### Resumen

Se llevaron a cabo ensayos alimenticios con larvas del camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) utilizando cuatro diferentes concentraciones de la microalga *Chaetoceros calcitrans* (30000, 60000, 90000 y 120000 cél/ml), con una concentración constante por tratamiento de 10000 cél/ml de *Tetraselmis suecica* y seis nauplios por ml de *Artemia franciscana* recién eclosionada. El período de prueba se inició a partir del sub estadio zoea I y concluyó hasta la aparición de misis 3. En cada ensayo fueron evaluados el índice de desarrollo larvario y la supervivencia. No se encontraron diferencias significativas en el índice de desarrollo larvario entre los tratamientos ( $p > 0.05$ ). Por otro lado, la mayor supervivencia se obtuvo en la concentración de 90000 cél/ml de *C. calcitrans* (92.65%), y se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $p < 0.05$ ). Los resultados del presente estudio sugieren la importancia de un adecuado suministro de *C. calcitrans* en la dieta larvaria de *L. stylirostris*, para asegurar una alta supervivencia.

**Palabras clave:** nutrición larvaria, alimentos vivos.

### Introducción

El aumento constante en la demanda mundial de postlarvas de camarón, obliga a los laboratorios a incrementar su producción mediante el desarrollo y la aplicación de nuevas técnicas de crianza larvaria, además de poner en práctica nuevos protocolos de alimentación. El objetivo de todo laboratorio es obtener el mayor número de postlarvas de buena calidad en el menor tiempo posible, por lo cual se debe optimizar la cantidad de alimento, la calidad del agua y los tratamientos profilácticos a emplearse (9). El alimento a suministrar juega un papel primordial en el logro de este objetivo, pues a través del desarrollo larvario se realizan una serie de modificaciones en los hábitos

alimenticios como consecuencia de las transformaciones que sufre el tracto digestivo de las larvas, repercutiendo así en elevadas mortalidades (8).

Principalmente en laboratorios asiáticos de producción de postlarvas, se implementan regímenes alimenticios basados únicamente en suministrar alimento vivo, en donde las microalgas sirven como alimento natural a las larvas de camarón. Los géneros de microalgas más utilizados son: *Chaetoceros* sp., *Skeletonema* sp., *Isochrysis* sp. y *Tetraselmis* sp. Por lo general, la alimentación se inicia con las microalgas más pequeñas (*Chaetoceros* sp. e *Isochrysis* sp.) y

se combinan progresivamente hasta alimentar con las de mayor tamaño (*Tetraselmis* sp.); asimismo, la dieta se complementa con la incorporación de estadios tempranos del rotífero *Brachionus plicatilis* y posteriormente, en estadios mayores de desarrollo, con nauplios de *Artemia franciscana* (5).

Existen estudios encaminados a determinar el efecto de la alimentación con microalgas sobre la duración del desarrollo larvario del camarón. Sin embargo, la información se limita a una cuantas especies de microalgas y a regímenes alimenticios con amplios márgenes de concentración alimenticia. Algunos investigadores han sugerido que las variaciones en la concentración de microalgas pueden afectar directamente la supervivencia, el crecimiento y el índice de desarrollo larvario, con base a la sub alimentación o a la sobre alimentación a la cual las larvas se encuentren expuestas (16).

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de la alimentación con diferentes concentraciones con la microalga *Chaetoceros calcitrans* en el desarrollo y supervivencia de larvas de *Litopenaeus stylirostris*.

## **Materiales y métodos**

### *Obtención de nauplios y manejo inicial*

Los nauplios de *L. stylirostris* fueron donados por el laboratorio de producción de postlarvas Acuicultores de la Paz S.A., ubicado en la ciudad de La Paz, B.C.S, México. En dicho laboratorio, se tomó una muestra aleatoria de todos los tanques de maduración de hembras listas para desovar y de esta muestra a su vez se tomó una hembra al azar. El ejemplar fue revisado cuidadosamente para descartar la presencia de lesiones o malformaciones y posteriormente se trasladó a un tanque de desove. Los nauplios resultantes fueron recolectados e inmediatamente enviados a Guadalajara, Jal. por vía aérea, y posteriormente transportados por vía terrestre hasta las instalaciones del Laboratorio de Ciencias Marinas en Barra de Navidad, Jal. México, lugar donde se realizó el experimento. Los organismos fueron colocados en una bolsa de plástico de alta densidad con agua de mar saturada de oxígeno disuelto, a una salinidad de 36 g/l y 22 °C de temperatura; para su transportación, la bolsa fue colocada dentro de una hielera convencional para mantener la temperatura del agua durante el viaje.

Al arribar los organismos a las instalaciones del laboratorio, se procedió a su aclimatación mediante el incremento de la temperatura del agua, a razón de 1 °C/h, durante este proceso la aireación se mantuvo constante.

### *Conteo de organismos y distribución en los tanques experimentales*

El conteo de los nauplios se realizó por el método volumétrico, mediante la concentración de los mismos en un recipiente de volumen conocido con fuerte aireación, a fin de lograr su distribución homogénea. De este recipiente fueron tomadas 20 submuestras que fueron distribuidas en los tanques experimentales a una densidad de 100 nauplios por litro.

El módulo experimental, en donde se llevó a cabo el trabajo, consistió en 20 garrafones de plástico de 10 litros de capacidad (utilizados comúnmente para envasar agua purificada), los cuales fueron cortados en la base y pintados de blanco para asemejar los tanques comerciales de fondo cónico de larvicultivo. Estos se llenaron al 50% de su capacidad para realizar los ensayos.

A cada uno de los recipientes antes descritos le fue colocada la tapa y, en posición invertida, se llenaron con agua salada para posteriormente ser acomodados dentro de un tanque rectangular de fibra de vidrio de 800 litros de capacidad con agua en su interior, en donde se introdujo un calentador de inmersión de 1000 W para mantener la misma temperatura en todos los garrafones, a manera de baño maría.

### *Tratamiento del agua utilizada en los ensayos*

El agua salada que fue utilizada durante el experimento, fue sometida a un proceso de filtración mediante un filtro de arena sílica y dos filtros verticales de algodón con capacidad de filtrado de 5 µm. Además, se aplicó una solución de EDTA disódico (ácido etilendinitrotetracético) a una concentración de 10 mg/l para quelar metales pesados del agua. Finalmente, el agua fue esterilizada con radiación ultravioleta en un sistema compuesto por 8 lámparas UV.

### *Producción de alimento vivo*

Las microalgas fueron producidas en garrafones de vidrio de 19 litros de capacidad, partiendo de cultivos

puros en frascos de 1000 ml y con el medio f/2 de Guillard como nutriente (4). En la sala de microalgas se mantuvo una temperatura ambiental de 23 °C y un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h oscuridad, sustentado por 8 lámparas de 75 W de luz fluorescente.

La producción de *A. franciscana* se llevó a cabo diariamente, para así mantener la misma calidad nutricional de los nauplios al momento de ofrecerlos como alimento. Para la decapsulación e incubación se empleó agua de mar filtrada a una salinidad de 33 g/l y una temperatura de 28±1°C, con aireación e iluminación continuas, según la técnica propuesta por Sorgeloos *et al* (14).

#### *Tratamientos alimenticios*

Los ensayos alimenticios consistieron en la utilización de la diatomea *C. calcitrans* como microalga principal a cuatro diferentes concentraciones: 30000, 60000, 90000 y 120000 cél/ml, con 5 réplicas por tratamiento. Las concentraciones de *T. suecica* se mantuvieron constantes para todos los ensayos en 10000 cél/ml desde zoea 1 a misis 3, al igual que la concentración de 6 nauplios/ml de *A. franciscana*, desde zoea 3 hasta el final del experimento.

#### *Manejo del cultivo*

El recambio de agua se realizó diariamente antes de proporcionar la primera alimentación, siguiendo la metodología propuesta por Naranjo *et al* (6). La medición de los parámetros fisicoquímicos del agua se realizó diariamente, en el transcurso de la mañana, antes de realizar el recambio de agua. Se registraron la concentración de oxígeno disuelto, temperatura, salinidad, pH y la concentración de amonio.

Las larvas en todos los ensayos fueron alimentados con tres raciones por día ajustando, previamente a la administración de cada ración, la concentración requerida de microalgas en cada ensayo con un conteo de residuos alimenticios de cada uno de los tanques. Para tal fin, se utilizó la fórmula propuesta por el SEAFDEC-Aquaculture Department (1).

$$VA = VR(CD - CR) / CA - CR$$

Donde:

VA= Volumen de alimento a añadir  
CR= Concentración residual

VR= Volumen de agua en el tanque  
CA= Concentración de alimento  
CD= Concentración deseada de alimento

#### *Análisis*

*Desarrollo larvario.* Diariamente se tomaron muestras aleatorias de 30 organismos por tanque para revisar su estadio de desarrollo mediante un microscopio. Para determinar el índice de desarrollo larvario de los diferentes ensayos alimenticios, se siguió la fórmula propuesta por Villegas y Kanazawa (15):

$$IDL = \Sigma(A)/N$$

Donde:

IDL= Índice de desarrollo larvario  
A= Valores absolutos otorgados a cada uno de los estadios larvales  
N= Número de individuos observados

Los valores absolutos asignados son los siguientes: Zoea 1 (1), zoea 2 (2), zoea 3 (3), misis 1 (4), misis 2 (5), misis 3 (6) y postlarva 1 (7).

Con este índice se evalúa el desarrollo o metamorfosis de las larvas durante su crecimiento, es decir, se emplea para determinar si alguno de los ensayos alimenticios a evaluar acelera o retarda el cambio de un estadio a otro durante el desarrollo larvario del camarón.

*Supervivencia.* La supervivencia se calculó con el conteo diario de organismos, tomando 3 alícuotas de cada tanque a partir de zoea 1 hasta misis 3. El número total de larvas se determinó por el conteo de todos los organismos en cada tratamiento al final del experimento.

#### *Análisis estadístico*

Para comparar las respuestas de los diferentes tratamientos alimenticios respecto al índice de desarrollo larvario y la supervivencia, fue empleado el paquete estadístico STATGRAPHICS 5.0, aplicando un análisis de varianza simple ( $\alpha=0.05$ ) (13). Asimismo, se aplicó la prueba de rangos múltiples de Tukey para determinar las diferencias significativas entre los tratamientos (17). Los datos de supervivencia

fueron inicialmente normalizados con una transformación angular de la raíz del arco seno de la frecuencia (12).

## Resultados

Los parámetros fisicoquímicos del agua en cada uno de los tratamientos se mantuvieron dentro de los parámetros óptimos reportados por Rodríguez y

Reprieto (8), para esta especie en larvicultivo (véase Tabla 1).

Como se puede apreciar en la figura 1, no existieron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el índice de desarrollo larvario de los tratamientos. El tratamiento en donde fueron registradas las primeras misis 3, fue en aquel alimentado con 60000 cél/ml a las 144 h de haber iniciado el cultivo.

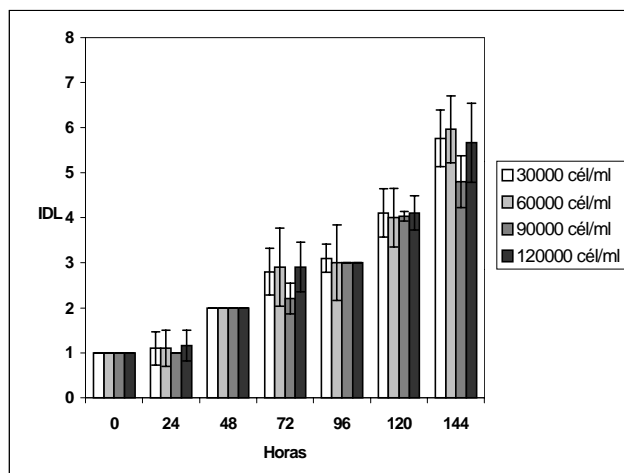
**Tabla 1.** Promedios finales  $\pm$  desviación estándar por tratamiento alimenticio de los parámetros fisicoquímicos del agua.

Ensayo (Cél/ml)	Temperatura (°C)	Oxígeno (mg/lt)	Salinidad (gr/lt)	pH	NH <sub>3</sub> -N
30000	29.2 $\pm$ 0.52 <sup>1</sup>	6.6 $\pm$ 0.23	33.00	8.1 $\pm$ 0.11	0.07 $\pm$ 0.01
60000	29.5 $\pm$ 0.34	6.7 $\pm$ 0.24	33.00	8.0 $\pm$ 0.11	0.09 $\pm$ 0.01
90000	29.0 $\pm$ 0.52	6.7 $\pm$ 0.34	33.00	8.3 $\pm$ 0.10	0.10 $\pm$ 0.01
120000	29.3 $\pm$ 0.51	6.4 $\pm$ 0.25	33.00	8.1 $\pm$ 0.15	0.10 $\pm$ 0.01

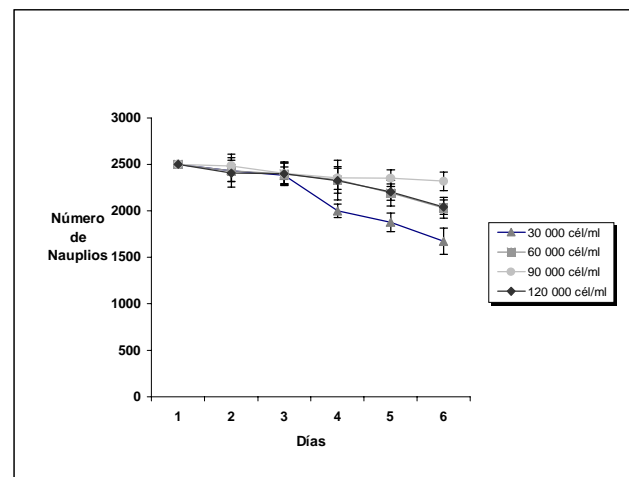
**Tabla 2.** Efecto de los diferentes ensayos alimenticios en la supervivencia de larvas de *L. stylirostris*.

Ensayo alimenticio (cél/ml)	Siembra (Número de nauplios)	Cosecha (Número de misis 3)	Supervivencia (%)
30000	2500	1671.75	66.87 $\pm$ 8.38 <sup>c</sup>
60000	2500	2031.25	81.25 $\pm$ 5.38 <sup>b</sup>
90000	2500	2316.25	92.65 $\pm$ 4.3 <sup>a</sup>
120000	2500	2039.50	80.94 $\pm$ 3.8 <sup>b</sup>

<sup>a,b,c</sup> Letras distintas representan diferencia significativa ( $p > 0.05$ )



**Figura 1.** Índice de Desarrollo Larvario (IDL) obtenido en larvas de *L. stylirostris* alimentadas con diferentes concentraciones de *C. calcitrans*.



**Figura 2.** Supervivencia de larvas de *L. stylirostris* alimentadas hasta la etapa de misis 3 con diferentes concentraciones de *C. calcitrans*.

Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en la supervivencia ( $p < 0.05$ ) (véase Tabla 2). Como se puede observar en la Figura 2, la menor supervivencia fue obtenida en el ensayo de 30000 cél/ml, mientras que la mayor supervivencia se obtuvo con 90000 cél/ml. Hasta el tercer día, la supervivencia de todos los tratamientos se mantuvo cerca del 95%, no obstante, al iniciar el cuarto día de cultivo (transición de zoea 2 a zoea 3) se observó un incremento en la mortalidad, particularmente en el tratamiento alimenticio de 30000 cél/ml.

La mayor supervivencia obtenida al finalizar el experimento, se registró en el ensayo donde las larvas fueron alimentadas con 90000 cél/ml (92.65%). En este tratamiento pudo observarse que la supervivencia se mantuvo constante a lo largo del experimento.

### Discusión

Como fue mencionado anteriormente, las primeras misis 3 fueron obtenidas en el tratamiento de 60000 cél/ml de *C. calcitrans* en un período de 144 h. El género *Chaetoceros*, ha sido utilizado en estudios similares con otras especies de camarón de importancia comercial y los resultados obtenidos han sido muy variables. Gallardo *et al* (2) obtuvieron larvas misis 3 de *Litopenaeus setiferus* con 50000 cél/ml de *Chaetoceros ceratosporum* y 20000 cél/ml de *Tetraselmis chuii* en 143 h. Quintio y Villegas (7) alimentaron larvas de *Penaeus monodon* con densidades de 50000 a 100000 cél/ml de *C. calcitrans*, y lograron misis 3 en un lapso de tiempo de 168 h. En otro experimento, Salazar *et al* (10) alimentaron larvas de *Litopenaeus vannamei* con micropartículas inertes y las microalgas *Isochrysis tahitiana* y *Chaetoceros gracilis*, logrando obtener el sub estadio de misis 3 en 216 horas. Los estudios citados anteriormente presentan resultados variables, debido probablemente a la utilización de diferentes especies, tanto de *Chaetoceros*, como de las de los camarones de cultivo. Desafortunadamente, no existen publicaciones que sirvan como referencia sobre la utilización de *C. calcitrans* como alimento natural para larvas de *L. stylirostris* y su efecto en el desarrollo larvario.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente experimento, se puede sugerir que la densidad de las microalgas no tiene efecto sobre el índice de desarrollo larvario.

Con respecto a la supervivencia, se han realizado diversos estudios para medir la supervivencia larvaria con *L. stylirostris* y otras especies comerciales alimentadas con diferentes concentraciones de microalgas. Los porcentajes de supervivencia de este estudio son elevados en comparación con los resultados obtenidos con *Skeletonema costatum* como alimento único para larvas de esta misma especie, donde Rodríguez y Reprieto (8) reportaron supervivencias de 70%.

En un estudio realizado en la década de los 70, Simon (11) utilizó *C. gracilis* como alimento exclusivo en la dieta de *L. stylirostris* y *L. vannamei* desde zoea hasta misis con una supervivencia de 84.8%. Desde entonces se sugirió que esta especie de microalga era adecuada en la nutrición larvaria del camarón y ha sido utilizada como alimento natural en los laboratorios de producción. Actualmente, en la alimentación de *Penaeus paulensis* en Brasil se emplea *C. calcitrans* durante los estadios de zoea y misis a concentraciones de 20000 a 100000 cél/ml, con resultados de supervivencia del 73.1% (Marlene Coelho, 2003; Laboratorio de camarones marinos, Florianópolis, Santa Catalina, Brasil; Com. Pers.).

En el presente estudio, las supervivencia más bajas se obtuvieron con las densidades de 30000 y 120000 cél/ml. En experimentos realizados anteriormente, se observó que existe una correlación positiva entre la supervivencia y la tasa de ingestión de las microalgas, no obstante, un suministro excesivo en la concentración de las mismas no aseguran una alta supervivencia (3). Esto indica que una disminución en el consumo, debida a una baja disponibilidad de estas diatomeas en el medio o un suministro en exceso disminuiría la supervivencia.

Por otro lado, los resultados obtenidos sugieren el requerimiento de una concentración de 60000 a 120000 cél/ml de *C. calcitrans* para obtener una buena supervivencia, con una concentración de 90000 cél/ml. Es probable que concentraciones mayores a 120000 cél/ml, deterioren rápidamente la calidad del agua con la consecuente disminución en la supervivencia.

En conclusión, se encontró que la mejor concentración alimenticia evaluada por presentar la mayor supervivencia (92.65%) en el desarrollo larvario de *L. stylirostris*, es la densidad de 90000 cél/ml de *C. calcitrans* en combinación con 10000 cél/ml de *T. suecica* y 6 nauplios/ml de *A. franciscana*.

## Agradecimientos

Agradecemos al Ing. Jaime Malagamba, gerente de la empresa Acuicultores de la Paz S.A. por la donación de nauplios de camarón para la realización de este estudio. Asimismo, agradecemos al Ing. Omar Valle, Gerente de la empresa “Agua purificada del Valle”, por la donación de los garrafones de plástico, al Laboratorio de Ciencias Marinas perteneciente a la Universidad Autónoma de Guadalajara por las facilidades otorgadas para la realización del ensayo experimental y finalmente a la Universidad de Guadalajara por todas las facilidades prestadas en la revisión del presente documento.

## Summary

*Larval development index and survival of the blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) fed with different concentrations of *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen).*

*Nutritional tests with blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* larvae were carried out using different concentrations of the *Chaetoceros calcitrans* algae (30000, 60000, 90000 y 120000 cél/ml), in addition to an established concentration of 10000 cel/ml of *Tetraselmis suecica* algae and six freshly hatched *Artemia franciscana* nauplii per ml. The period of test began from sub zoea 1 stage and concluded up to the appearance of mysis 3. The larval development index (LDI) and survival were evaluated for each test.*

*There were not significant differences for LDI between treatments ( $p > 0.05$ ). On the other hand, the greater survival was obtained in the concentration of 90000 cel/ml of *C. calcitrans* (92.65%), and significant differences between the treatments were found ( $p < 0.05$ ). The results of the present study suggest the importance of a suitable provision of *C. calcitrans* in the larvae diet for *L. stylirostris*, to assure a high survival.*

**Keywords:** *larvae nutrition, live feeds.*

## Referencias

- Alfonso E, Martínez L, Gelabert R, Leal S. Alimentación de larvas de camarón *Penaeus schmitti* con diatomeas y flagelados. Rev Invest Mar 1998;12(1): 47-57.
- Gallardo P, Alfonso E, Gaxiola G, Soto L, Rosas C. Feeding schedule for *Penaeus setiferus* larvae based on diatoms *Chaetoceros ceratosporum*, Flagellates *Tetraselmis chuii* and *Artemia* nauplii. Aquaculture 1995; 131 (3): 239-252.
- Godínez D, Hernández A, Orozco J, Godínez E. Valoración entre la tasa de ingestión y la supervivencia de larvas de camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) nutridas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen). Zootecnia Trop. 2003; 21(2): 133-147.
- Guillard R. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith WL, Chanley MH, editors. Culture of Marine Invertebrates Animals. New York, Plenum, 1975; 29-60.
- Jory DE. Penaeid shrimp hatcheries: Part III Larval rearing. Aquaculture Magazine 1997; 23 (1): 67-75.
- Naranjo P, Aragón E, Magallón F, Portillo G. Producción de postlarvas de camarón café *Penaeus californiensis* en tanques semicomerciales. Oceanología 1996; 2(10): 73-81.
- Quinitio E, Villegas T. Growth, survival, and macronutrient composition of *Penaeus monodon* Fabricius Larvae fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Tetraselmis chuii*. Aquaculture 1982; 29(1): 253-260.
- Rodríguez F, Reprieto J. El cultivo del camarón azul (*Penaeus stylirostris* Stimpson), Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora. 1984. 126p.
- Rosenberry B. World Shrimp Farming. San Diego, California: Shrimp News Internacional Press; 1997.
- Salazar A, Gendrop V, Silva A. Evaluación del crecimiento larval del camarón blanco *Penaeus vannamei* bajo dos regímenes de alimentación. Oceanología 1997; 1(13): 71-87.
- Simon C. The culture of the diatom *Chaetoceros gracilis* and its use as a food for penaeid protozoal larvae. Aquaculture 1978;14: 105-113.

12. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. Iowa: State University Press; 1967.
13. Sokal RR, Rohlf FJ. Biometry. London: Freeman; 1969.
14. Sorgeloos P, Lavens P, Leger P, Tackeart W, Versichele D. Manual of the culture and use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. Belgium: State University of Ghent; 1986.
15. Villegas CT, Kanazawa A. Relationship between diet composition and growth of the zoea I and mysis stage of *Penaeus japonicus*. Bate Fish Res J Philipp 1979; 4(2): 32-40.
16. Yúfera M, Lubián ML. Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. Introduction to Applied Phycology 1990; 209-227.
17. Zar JH. Biostatistical Analysis. Englewood Cliffs (NJ): Prentice Hall; 1974.