



UNIVERSIDAD DEL MAR
DEPARTAMENTO DE SERVICIOS ESCOLARES

CERTIFICADO DE APROBACIÓN DE TESIS DE LICENCIATURA

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA MARINA

PARA SER LLENADO POR LOS MIEMBROS DEL COMITÉ

NOMBRE DEL AUTOR C. EMMANUEL MARTÍNEZ MONTAÑO

TÍTULO DE LA TESIS EVALUACIÓN DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE UN HIDROLIZADO PROTEÍNIC

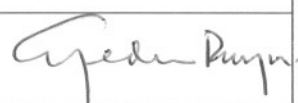
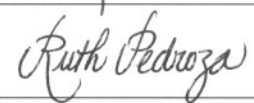
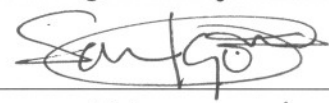
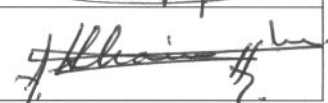
COMERCIAL DE PESCADO EN DIETAS MICROLIGADAS PARA LARVAS DE CAMARÓN BLANCO, *Litopenaeus*

vannamei.

6 DE AGOSTO DE 2004

FECHA _____

CERTIFICAMOS QUE ESTA TESIS HA SIDO APROBADA POR LOS MIEMBROS DEL COMITÉ DE TESIS PARA SU DEFENSA EN EXAMEN ORAL.

G. A.	NOMBRE (S)	APELLIDO PATERNO	APELLIDO MATERNO	CARGO	FIRMA
M. C.	CARLOS ENRIQUE	MEDINA	REYNA	DIRECTOR	
DRA.	RUTH	PEDROZA	ISLAS	SINODAL	
I.Q.	IVONNE SANDRA	SANTIAGO	MORALES	SINODAL	
I.B.Q.	AMADO JORGE	SHAIN	MERCADO	SINODAL	

UNIVERSIDAD DEL MAR

BIOLOGIA MARINA



**“EVALUACIÓN DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE UN HIDROLIZADO
PROTEÍNICOMERCIAL DE PESCADO EN DIETAS
MICROLIGADAS PARA LARVAS DE CAMARÓN BLANCO,
Litopenaeus vannamei.”**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el Título de
LICENCIADO EN BIOLOGIA MARINA presenta:

EMMANUEL MARTINEZ MONTAÑO

Puerto Ángel, Oaxaca, México. Agosto de 2004.

RESUMEN de la Tesis de **EMMANUEL MARTÍNEZ MONTAÑO**, presentado como requisito parcial para la obtención del Título de **LICENCIADO EN BIOLOGIA MARINA**. Puerto Ángel, Oaxaca, México. Agosto de 2004.

EVALUACIÓN DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE UN HIDROLIZADO PROTEÍNICOMERCIAL DE PESCADO EN DIETAS MICROLIGADAS PARA LARVAS DE CAMARÓN BLANCO, *Litopenaeus vannamei*.

Resumen aprobado por:


M. en C. Carlos Enrique Medina Reyna.
Director de Tesis.

Se evaluaron nueve microdietas isoenergéticas ($12.66 - 13.81 \text{ KJ g}^{-1}$) altamente digeribles (80.55 - 85.22 % de digestibilidad proteínica total), en las cuales varió el nivel de inclusión de hidrolizado proteínico de pescado (HPP) en sustitución de las fuentes frescas de proteína marina. Las microdietas compuestas (MCD) tuvieron forma esférica, tamaño medio volumétrico que varió de 27.05 a 59.73 μm ; tiempo característico de disolución que fluctuó de 4.51 a 9.88 minutos y tiempo característico de flotabilidad de 34.23 a 71.29 minutos. Las MCD se evaluaron en el larvicultivo zoenario del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*, en dos regímenes de alimentación en los que se reemplazó total y parcialmente el alimento vivo (dosis única inicial de microalgas de 50 cel μL^{-1} de *Chaetoceros muelleri*). Los bioensayos se realizaron en matraces con fondo esférico de 1.9 L dentro de un baño de agua termostáticamente controlado a $29 \pm 1^\circ\text{C}$. La salinidad del agua fue de 35‰. No existieron recambios de agua durante el experimento. Las MCD elaboradas no sustituyeron totalmente las microalgas, en cambio, resultaron ser efectivos al sustituir parcialmente el alimento vivo. Los niveles de los metabolitos tóxicos ($\text{NH}_3 - \text{N}$ y $\text{NO}_2 - \text{N}$) no rebasaron los límites recomendados de 0.1 mg L^{-1} en todos los tratamientos. Con el método del “punto de quiebre” y los indicadores de rendimiento del larvicultivo bajo el régimen de sustitución parcial de alimento vivo, se determinó el 44.03% como nivel de inclusión óptimo de HPP que sustituyó satisfactoriamente a la carne de pescado y de calamar en las MCD.

Palabras clave: hidrolizados proteínicos de pescado, larvicultivo, *Litopenaeus vannamei*, microdietas compuestas.

DEDICATORIA

A mi madre María Bautista Méndez y a mi tío Ricardo Montaña Bautista, quienes me han forjado con sus sabios consejos y ejemplos, y me han dado todo lo que esta a su alcance sin pedir nada a cambio, mas que la satisfacción de verme crecer profesionalmente.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Enrique Medina Reyna, por la gran amistad que nos une, por el orgullo de formar parte de su equipo de trabajo, por sus enseñanzas y por su tiempo brindado.

A la Dra. Ruth Pedroza Islas por su amistad, su especial apoyo sin el cual este trabajo de tesis no hubiese sido posible y darme la oportunidad de ser participe de este proyecto.

Al Lic. Mario Martínez Laviada de la empresa Industrias PECIS S.A. de C.V. (Sisal, Yucatán) por la provisión oportuna de nauplios de camarón.

A la M.C. Ivonne S. Santiago Morales, por su apoyo para la realización de los análisis bromatológicos y su amistad.

A la M.C. Darla Alejandra Torres y al Biól. Adrián Flores por el préstamo de material y equipo del laboratorio de microalgas y del laboratorio de microbiología de la UMAR.

A Elna Manzanares Blanco, Miguel Ángel García Jiménez, Ramón Sánchez Vásquez, Andrea Flores Gómez y Julio César Navarro Moncada por su gran apoyo en el laboratorio de larvicultivo y bioensayos “larvatrón” de la UMAR.

A Andrea Flores Gómez, Miguel Ángel García Jiménez y Ramón Sánchez Vásquez, por ser mis mejores amigos de la licenciatura y por los buenos momentos que hemos pasado juntos.

A la generación 1998-2003 de la Licenciatura de Biología Marina e Ingeniería en Acuacultura de la Universidad del Mar.

A la Universidad del Mar, mi Alma Mater.

RECONOCIMIENTO

Este trabajo de tesis fue posible gracias al apoyo del proyecto CONACYT: “Dietas microagregadas y microencapsuladas para larvas de camarón: Funcionalidad de hidrolizados proteínicos y efecto de su aplicación”. Con registro 38193-B, dirigido por la Dra. Ruth Pedroza Islas de la Universidad Iberoamericana, Santa Fé, México, D. F.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. Fisiología digestiva de las larvas de camarón.	3
I.2. Los hidrolizados proteínicos de pescado (HPP)	5
I.3. Utilización de los hidrolizados proteínicos de pescado en cultivos larvarios	7
I.4. Objetivos	10
I.4.1. Objetivos específicos	10
I.5. Establecimiento de las hipótesis de trabajo	11
II. MATERIALES Y MÉTODOS	12
II.1. Diseño del alimento microligado	12
II.1.1. Formulación del alimento	12
II.2. Caracterización fisicoquímica de las microdietas	14
II.2.1. Análisis de la distribución del tamaño de la partícula	14
II.2.2. Morfología externa	14
II.2.3. Flotabilidad de la partícula	14
II.2.4. Disolución de sólidos	15
II.2.5. Análisis proximal de las dietas.	16
II.2.6. Digestibilidad <i>In vitro</i> de los alimentos	16
II.3. Evaluación biológica de las microdietas	17
II.3.1. Unidades experimentales (UE)	17
II.3.2. Abastecimiento de nauplios	17
II.3.3. Cultivo de microalgas	18
II.3.4. Procedimiento general de la cría larvaria de camarón blanco	18
II.3.5. Indicadores biológicos	19
II.3.6. Calidad del agua de las UE	20
II.4. Diseño experimental de la evaluación biológica	21
II.4.1. Sustitución total de las microalgas por alimentos microligados	21
II.4.2. Sustitución parcial de las microalgas por alimentos microligados	21
II.5. Análisis de datos	22

III.	RESULTADOS	23
III.1	Caracterización fisicoquímica de los alimentos microligados.	23
III.1.1	Composición proximal de los alimentos microligados.	26
III.1.2	Digestibilidad <i>in vitro</i> de los alimentos microligados.	28
III.2.	Evaluación biológica de los alimentos microligados.	30
III.2.1.	Sustitución total de microalgas por alimentos mic.roligados.	30
III.2.2.	Sustitución parcial de microalgas por alimentos microligados.	31
III.3.	Calidad del agua de las UE.	34
III.3.1.	Producción de metabolitos tóxicos al final del larvicultivo realizando una sustitución total de microalgas por alimentos microligados.	34
III.3.2.	Producción de metabolitos tóxicos al final del larvicultivo utilizando alimentos microligados y añadiendo una dosis única inicial de microalgas (DUIM)	35
III.4.	Determinación del nivel de inclusión óptimo del hidrolizado proteínico de pescado.	36
IV.	DISCUSION	40
IV.1.	Caracterización fisicoquímica de los alimentos microligados.	40
IV.1.1.	Composición proximal de los alimentos microligados.	43
IV.1.2.	Digestibilidad <i>in vitro</i> de los alimentos microligados.	44
IV.2.	Evaluación biológica de los alimentos microligados.	46
IV.2.1.	Sustitución total de microalgas por alimentos microligados.	48
IV.2.2.	Sustitución parcial de las microalgas por alimentos microligados.	49
IV.3.	Calidad del agua de las UE.	53
IV.3.1	Producción de metabolitos tóxicos al final de los bioensayos realizados.	53
IV.4.	Determinación del nivel de inclusión óptimo del hidrolizado proteínico de pescado en el régimen de sustitución parcial de alimento vivo.	54

V.	CONCLUSIONES	58
VI.	LITERATURA CITADA	60

ÍNDICE DE FIGURAS

<u>FIGURA</u>		<u>Página</u>
1	Procedimiento comúnmente empleado en la producción de hidrolizados proteínicos de pescado (Gildberg, 1993).	7
2	Microfotografía de la dieta DH-2. Dieta con hidrolizado proteínico de pescado (DH).	24
3	Microfotografía de la dieta DH-4.	24
4	Microfotografía de la dieta DH-6.	25
5	Microfotografía de la dieta DH-8.	25
6	Decaimiento del pH en los diferentes alimentos microligados al determinar la digestibilidad proteínica <i>in vitro</i> , en un tiempo de reacción de 10 minutos.	28
7	Digestibilidad proteínica <i>in vivo</i> (porcentaje del contenido proteínico total) de los alimentos microligados utilizados en los bioensayos después de 10 minutos de reacción. Las literales indican diferencia significativa a $p < 0.05$.	29
8	Sobrevivencia de las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> en la prueba de estrés con amonio al final del experimento, utilizando alimentos microligados con diferentes niveles de inclusión de un hidrolizado proteínico de pescado y añadiendo una dosis única inicial de microalgas (DUIM). Microalgas (MA). Las literales indican diferencia significativa a $p < 0.05$.	33

- 9 Estimación del nivel de inclusión óptimo de HPP en un alimento 38
microligado con el método “Broken-line”, utilizando como
variables respuesta a la sobrevivencia (%), peso seco individual (μg)
y longitud del caparazón (mm), de larvas de camarón utilizando una
DUIM.
- 10 Estimación del nivel de inclusión óptimo de HPP en un alimento 39
microligado con el método “Broken-line”, utilizando como
variables respuesta al índice de desarrollo, tasa metamórfica e índice
de desempeño, de las larvas de camarón utilizando una DUIM.

ÍNDICE DE TABLAS

<u>TABLA</u>		<u>Página</u>
I	Análisis certificado del hidrolizado proteínico de pescado CPSP 90 empleado (Lote 030601B).	12
II	Composición de ingredientes de las dietas (g en peso seco)	13
III	Características físicas de los alimentos microligados usados en los bioensayos. ALIM: Alimento microligado. TMV: Tamaño medio volumétrico.	26
IV	Composición proximal media (% en base seca) y contenido energético total (KJ g ⁻¹) de los alimentos microligados utilizados en los bioensayos. Alimento microligado (ALIM). Extracto libre de nitrógeno (E.L.N).	27
V	Valores medios (EE) de los indicadores de rendimiento del larvicultivo de <i>Litopenaeus vannamei</i> crecidos con una MCD y sin adición de una dosis única inicial de microalgas (DUIM). Sobrevivencia (S), peso seco individual (PSI), longitud del caparazón (LC), índice de desarrollo (ID), tasa metamórfica (MR), índice de desempeño (PI). Tratamientos (TRAT).	31
VI	Valores medios (EE) de los indicadores de rendimiento del larvicultivo de <i>Litopenaeus vannamei</i> crecidos con una MCD y con una dosis única inicial de microalgas (DUIM, 75 cél µL ⁻¹). Sobrevivencia (S), peso seco individual (PSI), longitud del caparazón (LC), índice de desarrollo (ID), tasa metamórfica (MR), índice de desempeño (PI) índice (IP). Tratamientos (TRAT).	32

VII	Producción media ($\pm$ EE) de Nitrógeno Amoniacal Total (mg L^{-1} NAT), Nitritos ($\text{mg L}^{-1} \text{NO}_2 - \text{N}$), Amoniaco ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3 - \text{N}$) y pH al final del larvicultivo de <i>Litopenaeus vannamei</i> crecidos con MCD y sin una DUIM. La temperatura del agua se mantuvo a $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$.	34
VIII	Producción media ($\pm$ EE) de Nitrógeno Amoniacal Total (mg L^{-1} NAT), Nitritos ($\text{mg L}^{-1} \text{NO}_2 - \text{N}$), Amoniaco ($\text{mg L}^{-1} \text{NH}_3 - \text{N}$) y pH al final del larvicultivo de <i>Litopenaeus vannamei</i> crecidos con MCD y la adición de una DUIM ($75 \text{ cél } \mu\text{L}^{-1}$). La temperatura del agua se mantuvo a $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$.	36
IX	Indicadores de rendimiento de cultivos zoearios de camarón mantenidos con diferentes alimentos. S: Supervivencia. PSI: Peso seco individual. ID: Índice de desarrollo. LC: Longitud del caparazón. PI: Índice de desempeño. DUIM: Dosis única inicial de microalgas. Los valores son la media reportada por los autores. (Modificado por Martínez-Montaña, 2004).	47

EVALUACIÓN DEL NIVEL DE INCLUSIÓN DE UN HIDROLIZADO PROTEÍNICOMERCIAL DE PESCADO EN DIETAS MICROLIGADAS PARA LARVAS DE CAMARÓN BLANCO, *Litopenaeus vannamei*.

I. INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la camaronicultura a nivel mundial es bastante acelerado, pues desde 1970 esta actividad económica ha tenido una tasa de crecimiento promedio anual de cerca del 18.8% (FAO, 2001), en contraste a la pesquería camaronera cuya tasa de crecimiento promedio es de 3.8% por año (Tacon, 2002).

La camaronicultura en México comenzó en 1977 con tecnología transferida del Ecuador y otros países latinoamericanos; sin embargo, el crecimiento de la industria fue lento hasta finales de la década de los 80's. Si para 1987 se reportaban 45 granjas, para 1993 había 192 productores en el país con 12,511 hectáreas de cultivo, y para el año 2000 casi se había duplicado el número de granjas a 393 (De Walt *et al.*, 2002).

La actividad camaronícola en México se sostiene con la colecta de postlarvas silvestres de camarón, pero se pronostica que a corto plazo deben existir una cantidad de laboratorios suficientes que permita emanciparse de esa dependencia (Medina-Reyna *et al.*, 2001). Sin embargo, la producción de postlarvas en laboratorios esta limitada por dos factores principales, la alimentación y las enfermedades (Jones *et al.*, 1997b).

El alimento vivo en el cultivo de camarones peneidos sigue siendo la principal fuente de alimentación (Villamar y Brusca, 1987; Preston *et al.*, 1992; Benneman, 1992; Jones *et al.*, 1997a; Pedroza-Islas *et al.*, 1997). Se ha observado que los alimentos vivos tienen la desventaja de un alto costo de producción y variaciones ocasionales en su calidad (Teshima *et al.* 1982., Jones *et al.*, 1984; Villamar y Brusca, 1987; Biedenbach *et al.*, 1990;

Lazo, 2000). Contrario a esto, las microdietas compuestas (MCD) resultan más fáciles de producir y su costo de producción suele ser menor (Jones *et al.*, 1993; Lazo, 2000). Las MCD se aplican en los siguientes regímenes de alimentación: co-alimentación, reemplazo parcial y total del alimento vivo (Sorgeloos y Leger, 1992; Muir y Sutton, 1994). Es por esto que hasta ahora gran parte de los esfuerzos de la investigación en el cultivo larvario han sido dedicados al desarrollo de dietas microparticuladas (microencapsuladas, microligadas y microcubiertas) que puedan satisfacer las necesidades nutricionales de las larvas (Pedroza-Islas *et al.*, 1997; Kanazawa y Teshima, 1998; Gallardo-Espinosa, 2002).

Para que dichas dietas microparticuladas sean realmente exitosas, deben cumplir ciertos criterios tales como 1) aceptabilidad, es decir, las partículas deben tener el tamaño adecuado; 2) disponibilidad en el agua a una densidad similar a la de los alimentos vivos e ingeridas a una tasa similar; 3) estabilidad, las dietas formuladas deben permanecer estables con la mínima pérdida por lavado y ser rotas hasta que se ingieran; 4) digestibilidad, las dietas deben ser digeribles y asimilables; 5) contenido nutricional similar a los organismos vivos y 6) almacenamiento con cualidades adecuadas (Jones *et al.*, 1993).

La poca aceptabilidad de las dietas microparticuladas ha sido asociada a la mala digestibilidad por las larvas, derivando en bajos rendimientos al final del cultivo larvario (Bengston, 1993); sin embargo, recientemente el empleo de hidrolizados proteínicos en dietas microencapsuladas ha incrementado la actividad de enzimas digestivas, permitiendo una mayor digestión de los nutrientes contenidos en las dietas asociado a un mejor desarrollo y crecimiento larvario (Cahu *et al.*, 1999; Oliva-Teles *et al.*, 1999; Kolkovski y Tandler, 2000).