

Alimentos Vivos



Fabrizio Marcillo Morla MBA

barcillo@gmail.com
(593-9) 4194239



Fabrizio Marcillo Morla

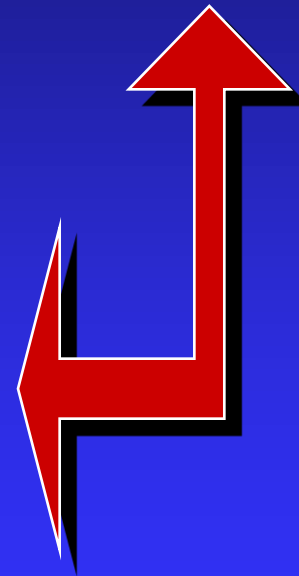
- Guayaquil, 1966.
- BSc. Acuicultura. (ESPOL 1991).
 - Magister en Administración de Empresas. (ESPOL, 1996).
- Profesor ESPOL desde el 2001.
- 20 años experiencia profesional:
 - ◆ Producción.
 - ◆ Administración.
 - ◆ Finanzas.
 - ◆ Investigación.
 - ◆ Consultorías.

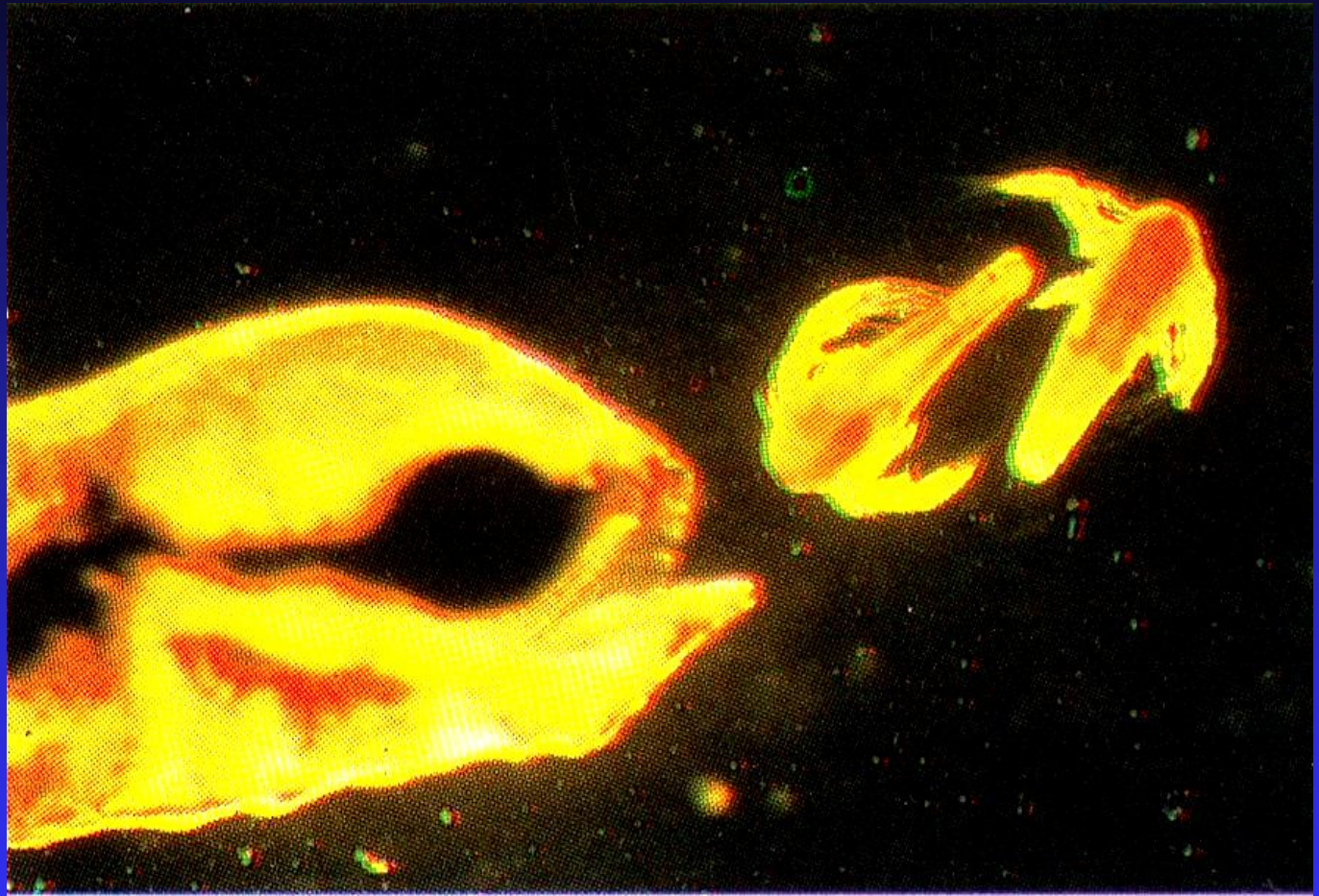
Otras Publicaciones del mismo autor en Repositorio ESPOL

NUTRICIÓN LARVAL

Area de mayor trascendencia en larvicultura de peces marinos

- Calidad y viabilidad larval
- Pigmentación
- Resistencia al stress
- Mala formación larval





Alimentación exógena: desafío técnico

Alimentación larval con fito y zooplancton natural

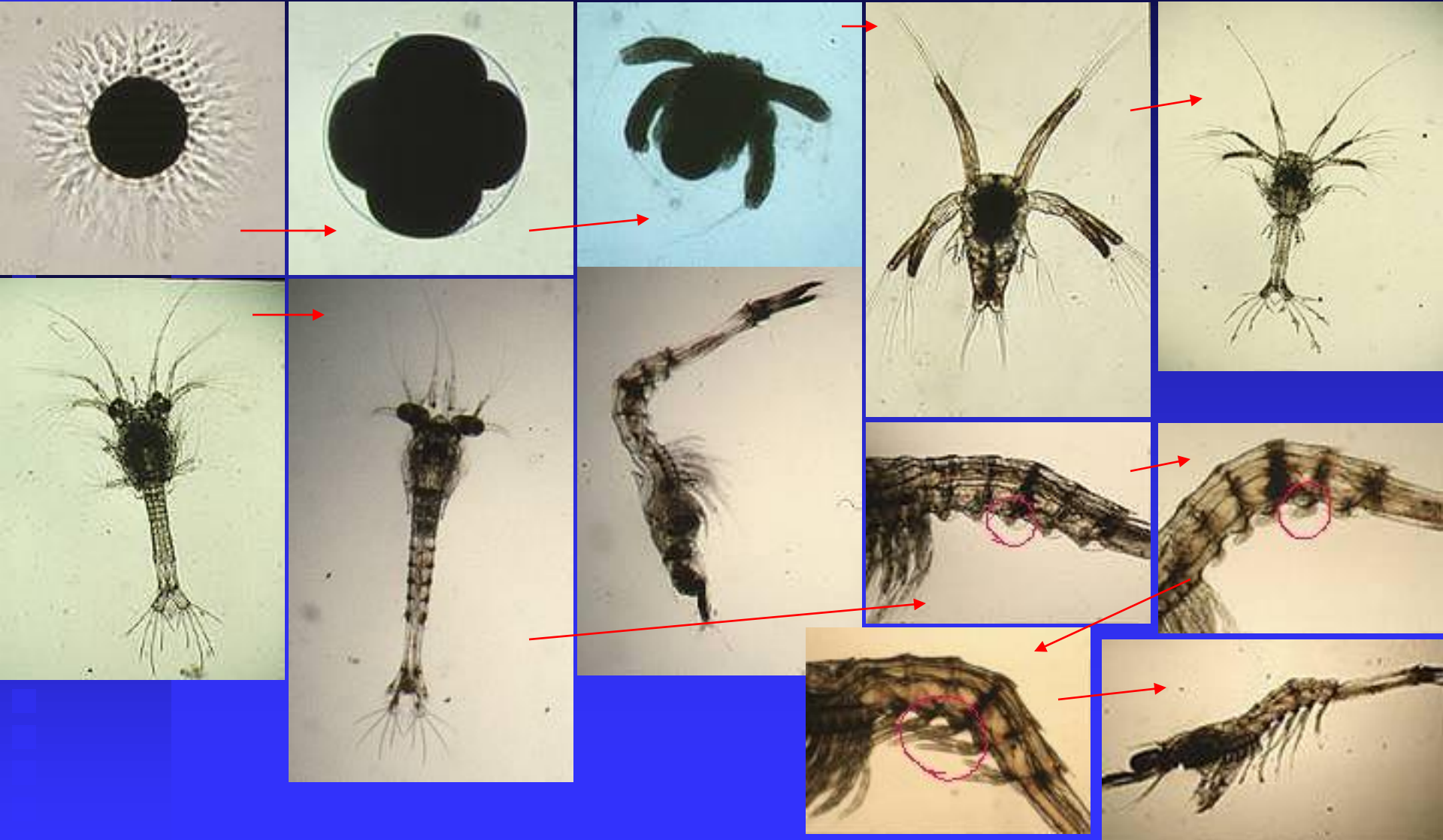


"Inmejorable calidad nutricional":
En acuicultura comercial intensiva ésta es solo
un sueño de los cultivadores



Dietas formuladas o
DIETAS VIVAS CULTIVADAS

Estadios Larvarios



Tamaño Alimento

| Estadio Larvario | Tamaño Alimento |
|------------------|-------------------|
| Z1 | 5 – 30 μ . |
| Z2 – Z3 | 30 – 90 μ . |
| Z3 – M1 | 90 – 150 μ . |
| M1-PI1 | 150 – 250 μ . |
| PI1 – PI3 | 250 – 400 μ . |
| PI3 – PI6 | 400 – 600 μ . |

Tabla Alimentación 1

| Dia | Estadio | Algas Kcel/ml. | Alimento gr/m3 | ARN/ml/dia |
|-----|---------|----------------|----------------|------------|
| 1 | N5 | 40-50 | 2 | |
| 2 | Z1 | 60-70 | 2 | |
| 3 | Z1-Z2 | 70 | 8 | |
| 4 | Z2 | 80 | 8 | |
| 5 | Z2-Z3 | 100 | 10 | |
| 6 | Z3 | 100 | 10 | |
| 7 | Z3-M1 | 100 | 13 | 0.5 |
| 8 | M1 | 100 | 13 | 1 |
| 9 | M1-M2 | 50 | 13 | 1.5 |
| 10 | M2-M3 | 50 | 17 | 2.5 |
| 11 | PL1 | 10 | 18 | 4 |
| 12 | PL2 | 10 | 18 | 6 |
| 13 | PL3 | 10 | 25 | 7 |
| 14 | PL4 | 10 | 25 | 11 |
| 15 | PL5 | 10 | 25 | 12 |
| 16 | PL6 | 10 | 25 | 12 |
| 17 | PL7 | 10 | 30 | 16 |
| 18 | PL8 | 10 | 30 | 17 |
| 19 | PL9 | 10 | 30 | 18 |
| 20 | PL10 | 10 | 30 | 18 |

Tabla Alimentación 2

| Dia | Estadio | Algas Kcel/ml. | Alimento gr/m3 | ARN/larva |
|-----|---------|----------------|----------------|-----------|
| 1 | N5 | 50 | 0.5 | |
| 2 | Z1 | 70 | 1 | |
| 3 | Z1-Z2 | 80 | 1.5 | |
| 4 | Z2 | 100 | 2 | |
| 5 | Z2 | 100 | 2.5 | |
| 6 | Z3 | 100 | 2.5 | 15 |
| 7 | M1 | 40 | 2 | 18 |
| 8 | M1-M2 | 10 | 1.5 | 20 |
| 9 | M2-M3 | 0 | 2.5 | 30 |
| 10 | M3-PI | 0 | 2 | 40 |
| 11 | PL1 | 0 | 2 | 50 |
| 12 | PL2 | 0 | 3 | 60 |
| 13 | PL3 | 0 | 3.5 | 70 |
| 14 | PL4 | 0 | 4 | 80 |
| 15 | PL5 | 0 | 4.5 | 110 |
| 16 | PL6 | 0 | 5 | 120 |
| 17 | PL7 | 0 | 6 | 145 |
| 18 | PL8 | 0 | 6 | 155 |
| 19 | PL9 | 0 | 6 | 185 |
| 20 | PL10 | 0 | 6 | 210 |

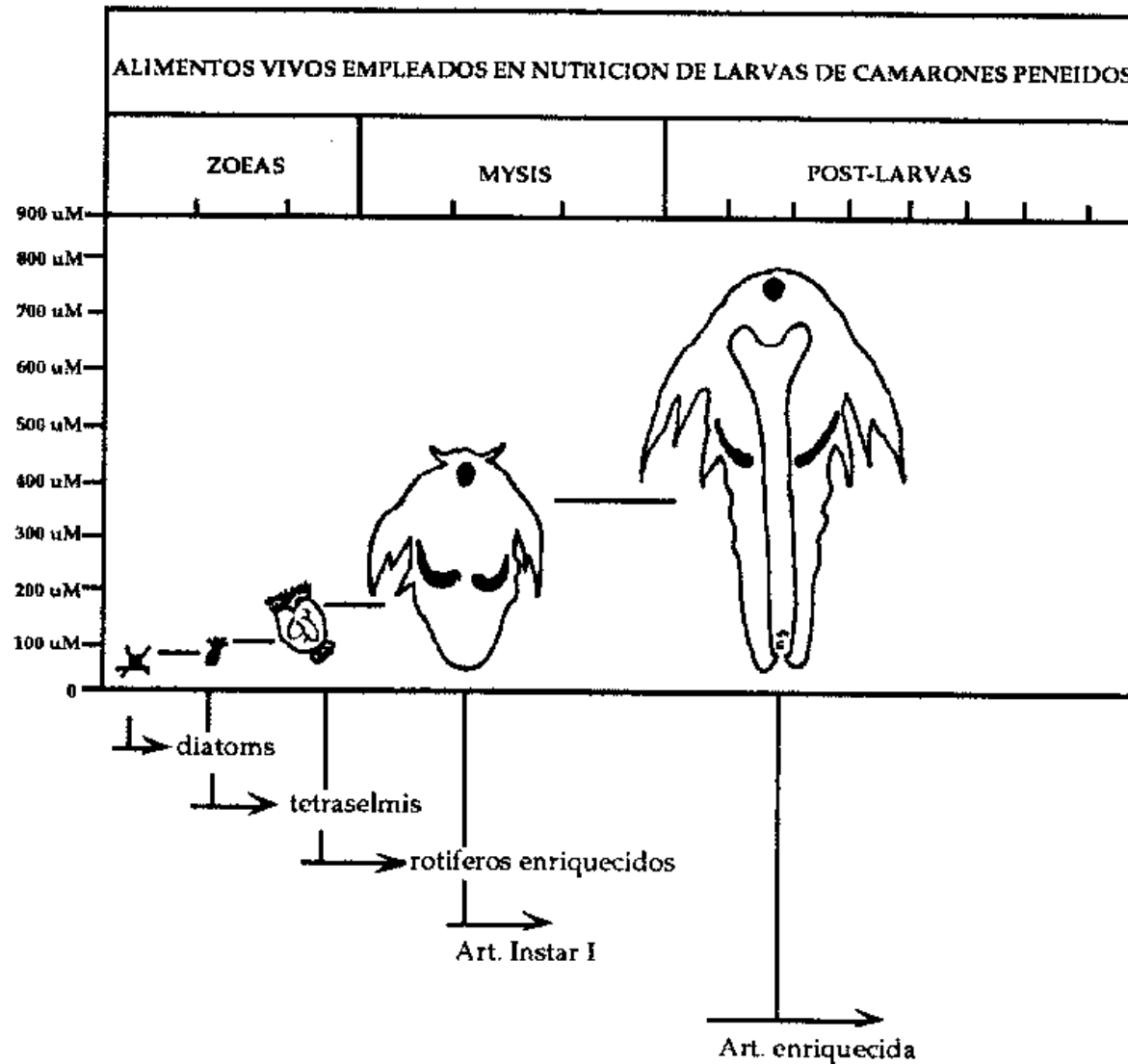
Tabla Alimentación 3

| Dia | Estadio | Algas Kcel/ml. | Alimento gr/m3 | ARN/Larva |
|-----|---------|----------------|----------------|-----------|
| 1 | N5 | 30 | 0.5 | |
| 2 | Z1 | 40 | 1 | |
| 3 | Z1 | 50 | 1.5 | |
| 4 | Z2 | 60 | 2 | |
| 5 | Z3 | 75 | 2.5 | |
| 6 | Z3-M1 | 80 | 2.5 | 20 |
| 7 | M1 | 50 | 2 | 20-30 |
| 8 | M2 | 0 | 1.5 | 30-40 |
| 9 | M3 | 0 | 2.5 | 40-50 |
| 10 | M3-PI | 0 | 2 | 50-60 |
| 11 | PL1 | 0 | 2 | 60-70 |
| 12 | PL2 | 0 | 3 | 70-80 |
| 13 | PL3 | 0 | 3.5 | 80-90 |
| 14 | PL4 | 0 | 4 | 90-100 |
| 15 | PL5 | 0 | 4.5 | 110 |
| 16 | PL6 | 0 | 5 | 120 |
| 17 | PL7 | 0 | 6 | 120 |
| 18 | PL8 | 0 | 6 | 120 |
| 19 | PL9 | 0 | 6 | 140 |
| 20 | PL10 | 0 | 6 | 140 |

Tabla Alimentación 4

| Substage | <i>Chaetoceros gracilis</i> | <i>Tetraselmis chuii</i> | <i>Artemia</i> |
|------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------|
| | (cells/ml) | (cells/ml) | (nauplii/ml) |
| N ₅ or N ₆ | 60,000 | 0-15,000 | 0 |
| Z ₁ | 100,000-120,000 | 30,000 | 0 |
| Z ₂ | 120,000 | 35,000 | 0 |
| Z ₃ | 120,000 | 35,000 | 0-0.5 |
| M ₁ | 100,000 | 30,000 | 0.2-1.5 |
| M ₂ | 75,000 | 20,000 | 1.5-5.0 |
| M ₃ | 50,000-75,000 | 20,000 | 3 - 8 |
| PL ₁ to PL ₅ | 20,000-75,000 | 5,000-20,000 | 6 - 20 |

Alimentos Usados En Larvicultura Camarón



Ventajas Y Desventajas De Alimentos Vivos

- Facilmente digerible.
- Proteina fresca.
- Alta atractibilidad.
- Algunos favorecen estabilidad agua.
- Algunos estimulan mecanismo de defensa del animal.
- Algunos tienen ciclo de vida corto.
- Mayor costo.
- MO capacitada.
- Mayor cuidado en el tanque.
- Algunos pueden afectar estabilidad del agua.
- Variabilidad.

CULTIVO INTENSIVO DE MICROALGAS



CULTIVOS MONOESPECÍFICOS DE MICROALGAS

Fuente de alimento indispensable para:

- Estadios de crecimiento de moluscos bivalvos
- Estadios larvales de especies de crustaceos
- Estadios tempranos de especies de peces
- Producción masiva de zooplancton
- Estabilizador de la calidad del agua del cultivo larval y control microbiano en la técnica de "agua verde"

Criterios de selección de microalgas en Acuicultura

- Potencial de cultivo masivo
- Facilidad de manejo
- Tamaño celular apropiado
- Digestibilidad celular
- Valor nutricional de la especie

Más de 40 especies, aisladas en diferentes partes del mundo y cultivadas como cepas puras:

Chlorella spp.

Thalassiosira pseudonana

Chaetoceros gracilis

Isochrysis spp var. tahitiana

Nannochloris atomus

Skeletonema costatum

Chaetoceros calcitrans

Isochrysis galbana

Monochrysis luthery

Nannochloropsis oculata

Condiciones Físicas y Químicas para el cultivo intensivo

| Parámetros | Rango | Óptimo |
|-------------------|---------------------------------------|--|
| Temperatura (°C) | 16 a 27 | 18 a 24 |
| Salinidad (ppt) | 12 a 40 | 20 a 24 |
| Iluminación (lux) | 1.000 a 10.000 | 2.500 a 5.000 |
| Fotoperiodo | 16 : 8 mín. | 24 : 0 máx |
| pH | 7 a 9 | 8,2 a 8,7 |
| Agitación | Aireación (0,03% CO ₂) | Aire + CO ₂ (1% vol. Aire) |

Valor nutricional de algunas cepas empleadas en acuicultura

| Especie | Peso seco (pg x cél) | Clorfila a | Proteínas (% del peso total seco) | Carbohidratos | Lípidos |
|-----------------------|-------------------------|------------|--------------------------------------|---------------|-------------|
| <i>Ch. calcitrans</i> | 11,3 | 3,01 | 34 | 6,0 | 16,0 |
| <i>Ch. gracilis</i> | 74,8 | 1,04 | 12 | 4,7 | 7,2 |
| <i>T. pseudonana</i> | 28,4 | 0,95 | 34 | 8,8 | 19,0 |
| <i>D. tertiolecta</i> | 99,9 | 1,73 | 20 | 12,2 | 15,0 |
| <i>N. atomus</i> | 21,4 | 0,37 | 30 | 23,0 | 21,0 |
| <i>N. oculata</i> | 6,4 | 0,89 | 35 | 7,8 | 18,0 |
| <i>I. galbana</i> | 30,5 | 0,98 | 29 | 12,9 | 23,0 |
| <i>Iso spp var.T</i> | 29,7 | 0,98 | 23 | 6,0 | 20,0 |
| <i>P. lutheri</i> | 102,3 | 0,84 | 29 | 9,0 | 12,0 |
| <i>C. salina</i> | 122,5 | 0,80 | 29 | 9,1 | 12,0 |

Efectos de las Microalgas en el cultivo larval tipo “Agua Verde”

Estabiliza la calidad del agua en sistemas estáticos, remueve metabolitos y produce O_2 .

Fuente directa de alimento para las larvas. Polisacáridos de pared celular estimulan sistema inmune no específico de la larva.

Fuente indirecta de nutriente para larvas a través de presas vivas, cuyo valor nutricional se mantiene gracias a las microalgas

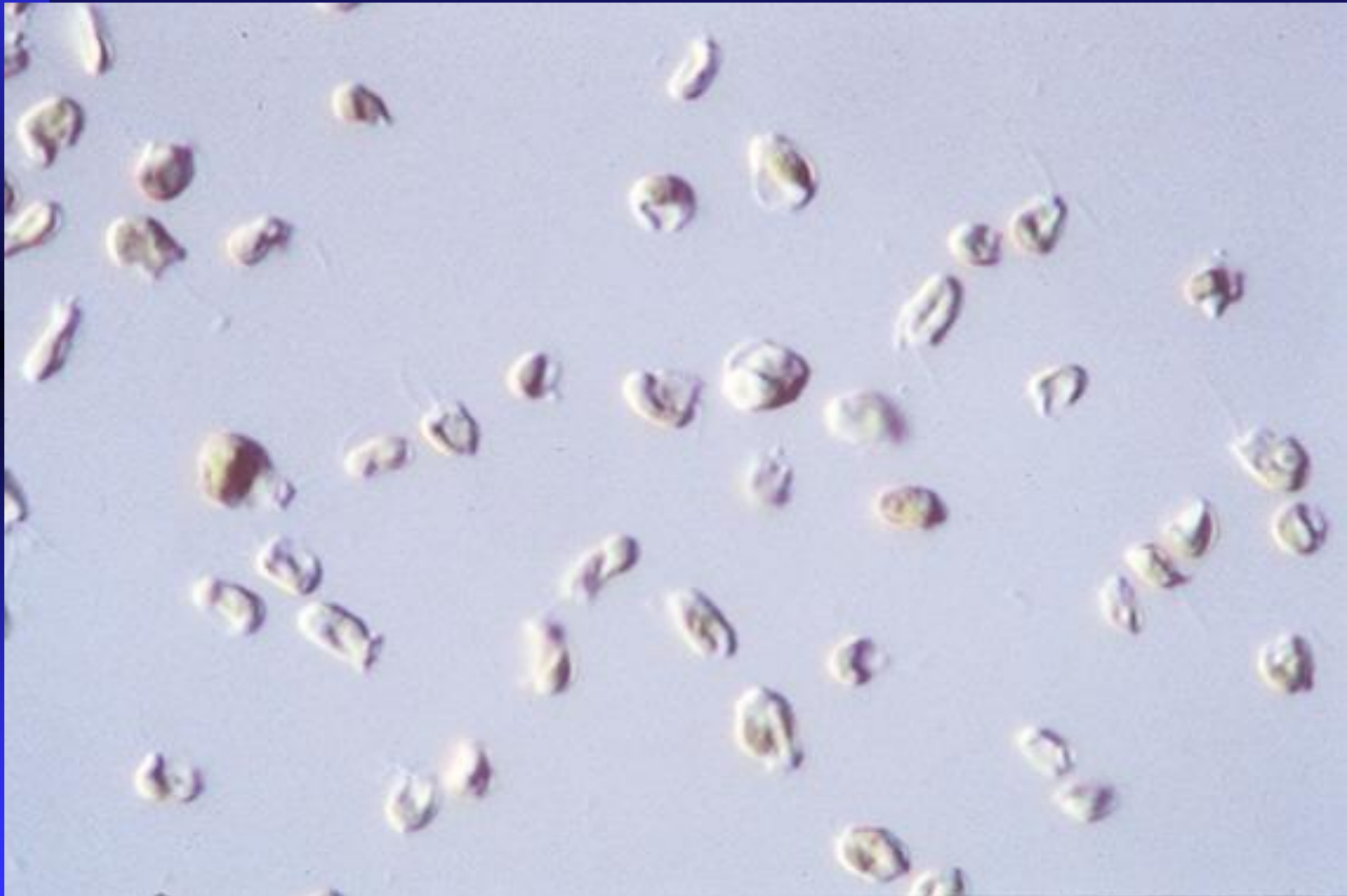
Aumenta la tasa de ingesta mejorando el contraste visual y la dispersión de la luz en el estanque de cultivo

Control microbiano por exudado algal en el agua de cultivo o en el estómago larval

Algas

- *Chaetoceros* (*afinis*, *gracilis*, *calcitrans*) diatomea 5- 8 μ . Cultivo Axcenico.
- *Isochrysis galbana*. Flagelado amarillo 5-8 μ . Cultivo Axcenico.
- *Tetraselmis suecica*. Flagelado verde. 10 - 15 μ . Cultivo Axcenico.
- Diatomeas pennadas:
 - ◆ *Nitzschia*. spp.
 - ◆ *Navicula*. spp.
 - ◆ Cultivo axcenico o bloom natural.
 - ◆ Estadios grandes (PI).

Isochrysis galbana



Tetraselmis sp



Cultivo de Algas



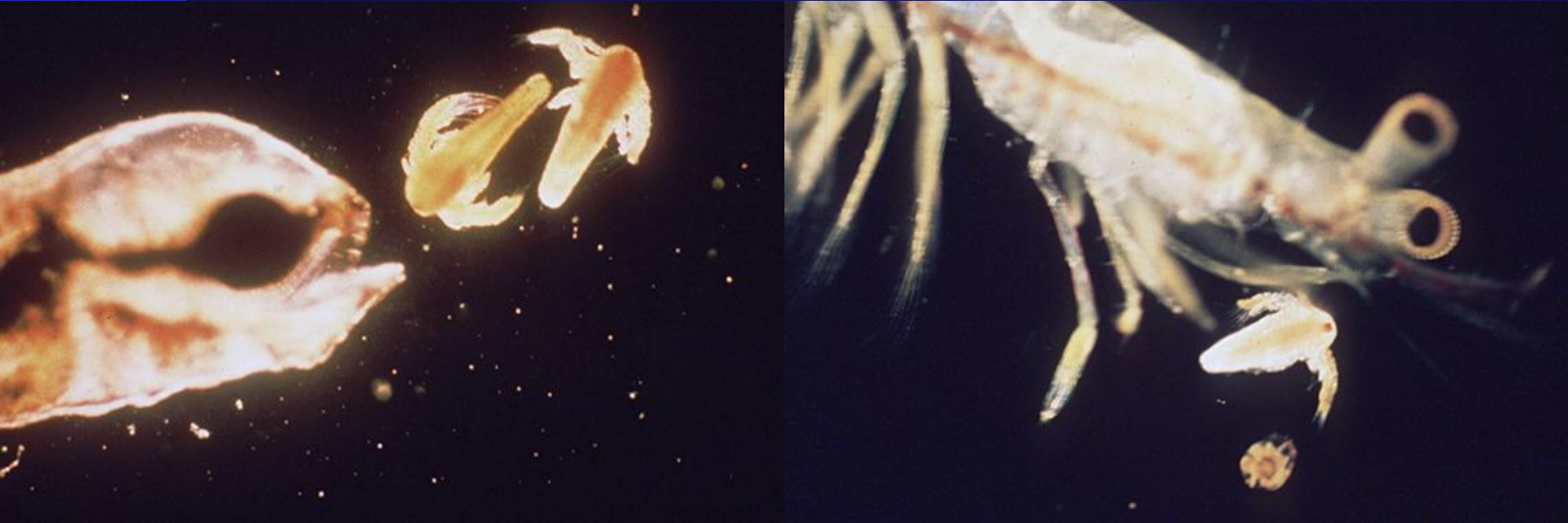
Diatomeas Pennadas Benticas



Artemia

- Principal alimento vivo utilizado en acuicultura.
- Ventajas:
 - ◆ Facilidad almacenamiento / eclosión.
 - ◆ Tamaño adecuado para larvas penaeidos.
 - ◆ Composición nutricional buena.
 - ◆ Tamaño adecuado.
 - ◆ Buena aceptación / atractabilidad.
- Desventajas:
 - ◆ Alto costo,
 - ◆ Variabilidad costo y disponibilidad.
 - ◆ Variabilidad nutricional / rendimiento.

Artemia



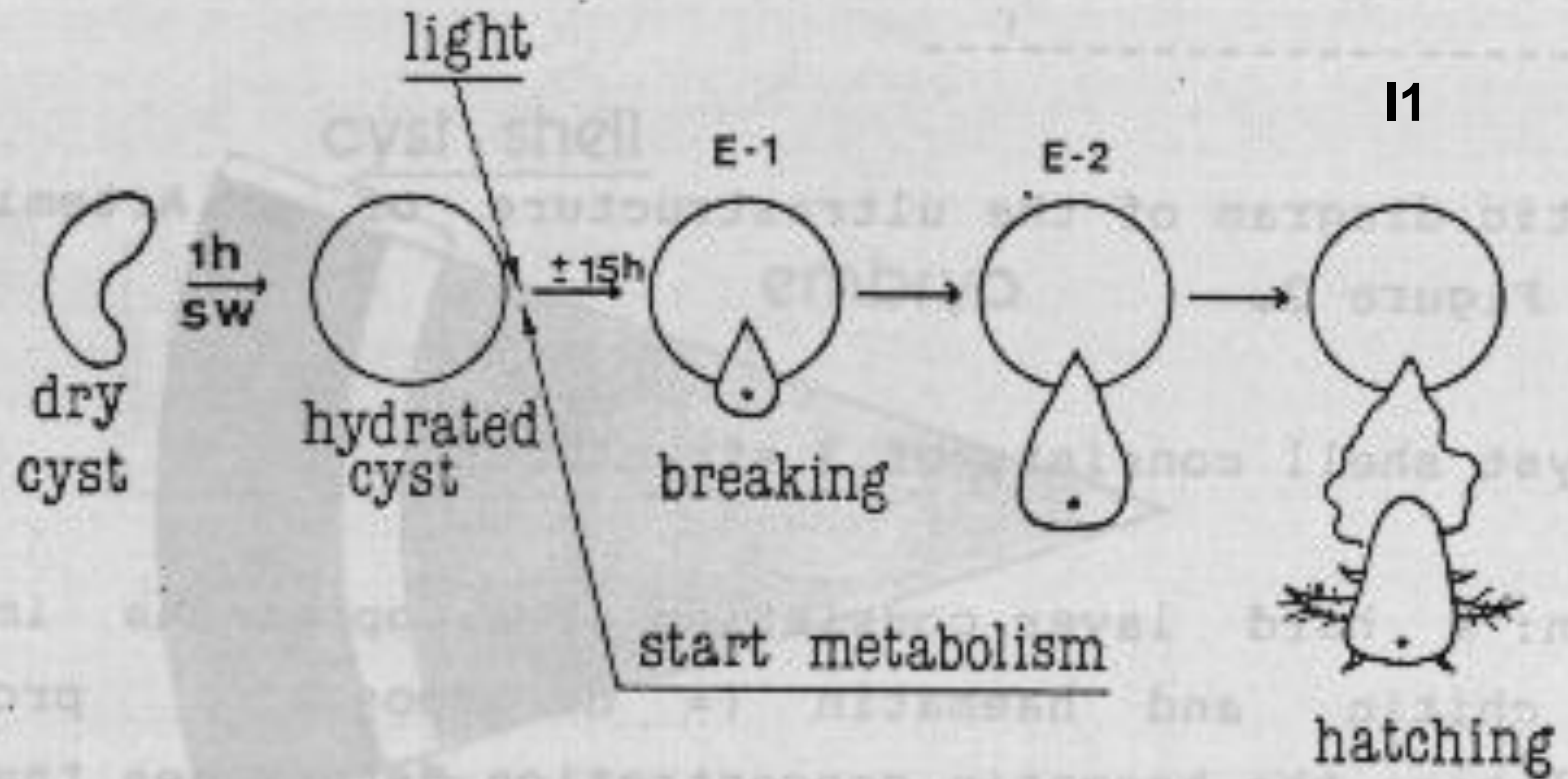
Historia Artemia

- 1755, Schollosser: 1er estudio artemia : *Cancer salinos*.
- 1758, Linnaeus: *Artemia salina*.
- Seale, 1933 – Rollefson, 1939: USA y Noruega usado como alimento en acuicultura.
- Especies descritas (ya no validas):
 - ◆ *A. salina* (Inglaterra).
 - ◆ *A. tunisiana* (Europa, Africa).
 - ◆ *A. franciscana* (America).
 - ◆ *A. persimilis* (Argentina).
 - ◆ *A. urmiana* (Iran).
 - ◆ *A. monica* (Mono Lake,) USA.
 - ◆ *A. parthenogenetica*.

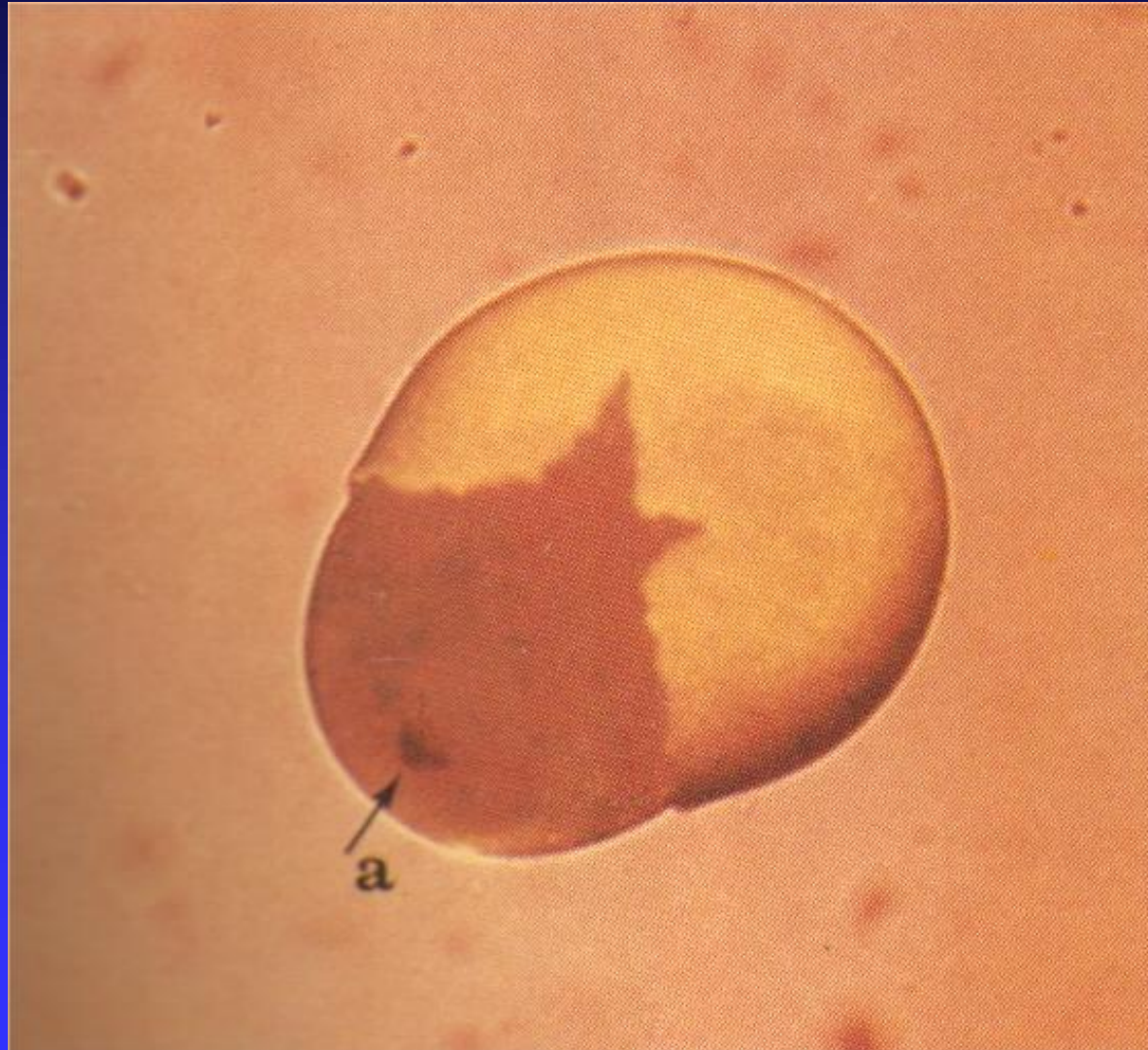
Taxonomía Artemia

- Artemia salina y otras ya no son válidas.
 - ◆ 1979: Artemia sp. (todas).
- Phylum: Arthropoda.
- Clase: Crustacea.
- Subclase: Branchiopoda.
- Orden: Anostraca.
- Familia: Artemiidae.
- Genero: Artemia.

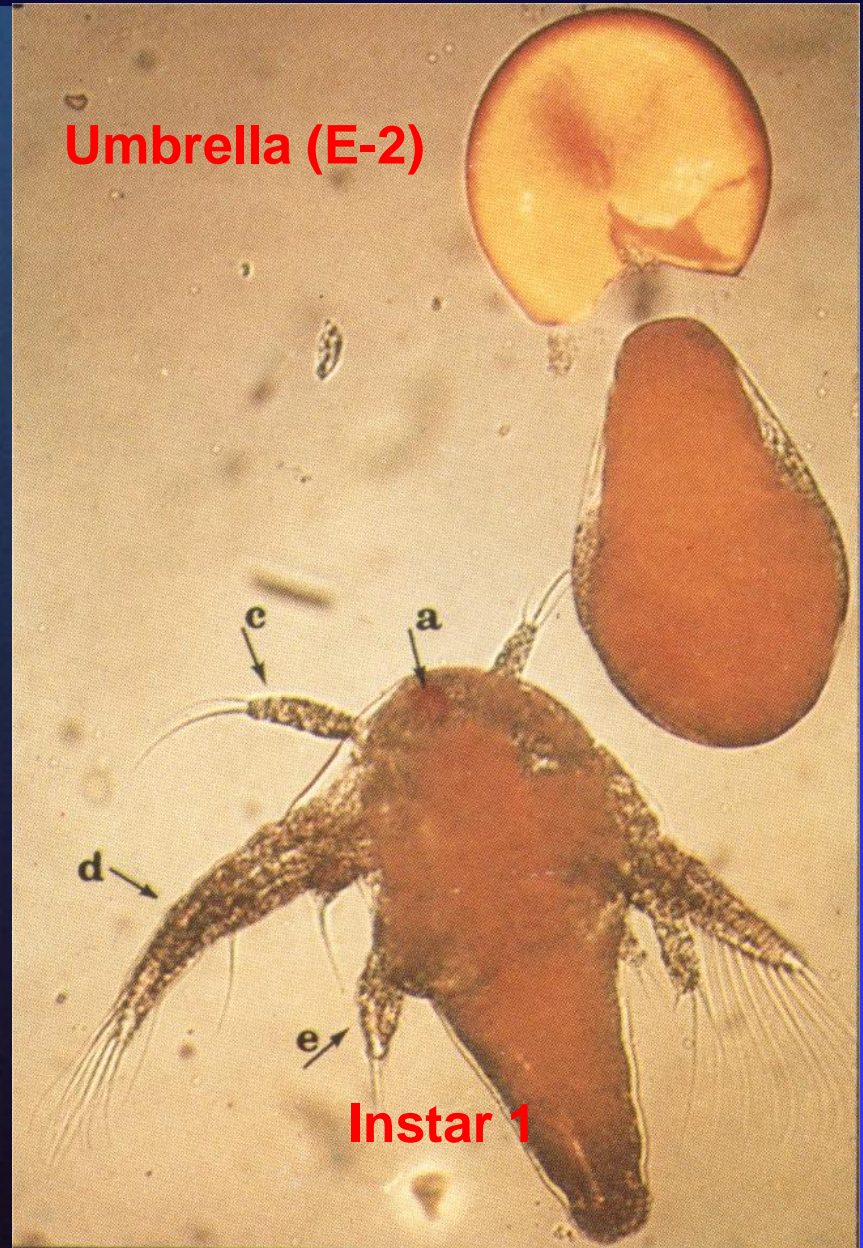
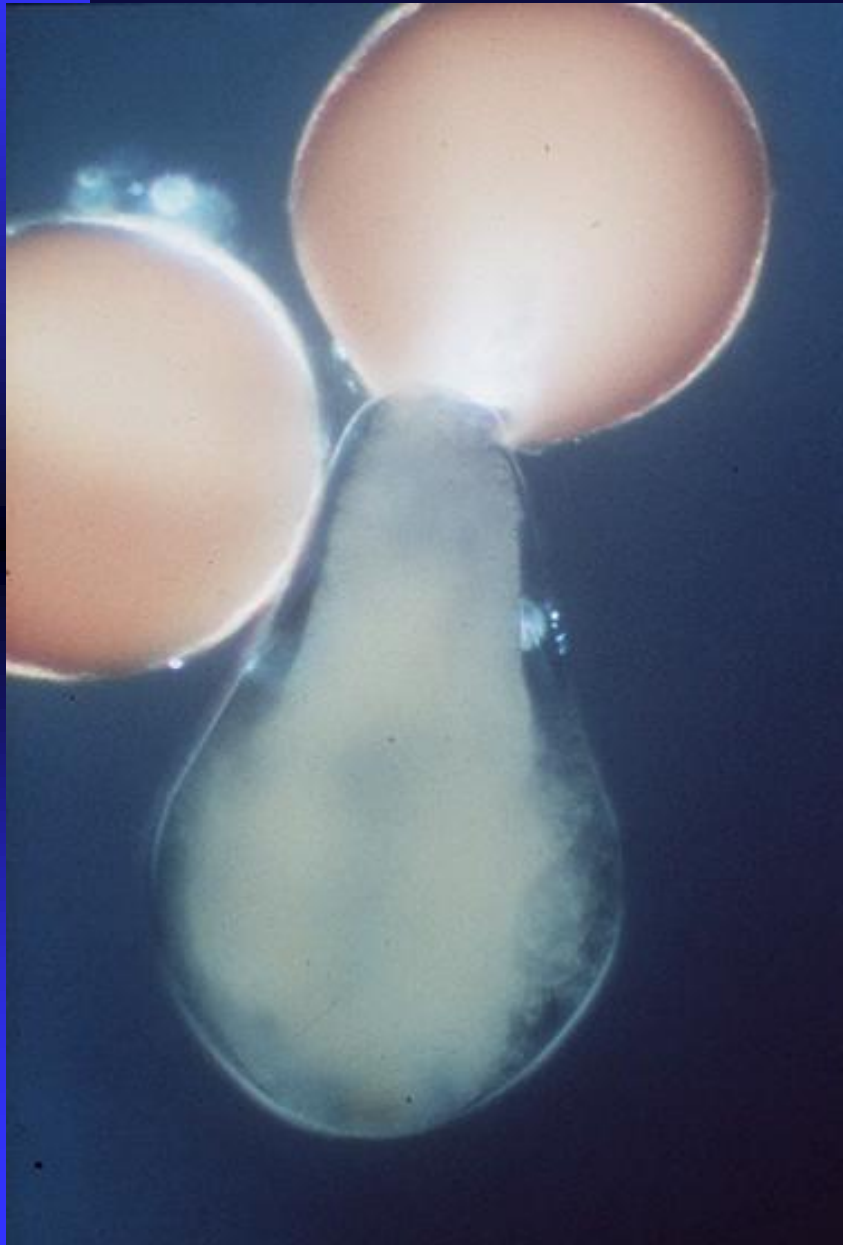
Desarrollo Artemia



Breaking Stage "E1"



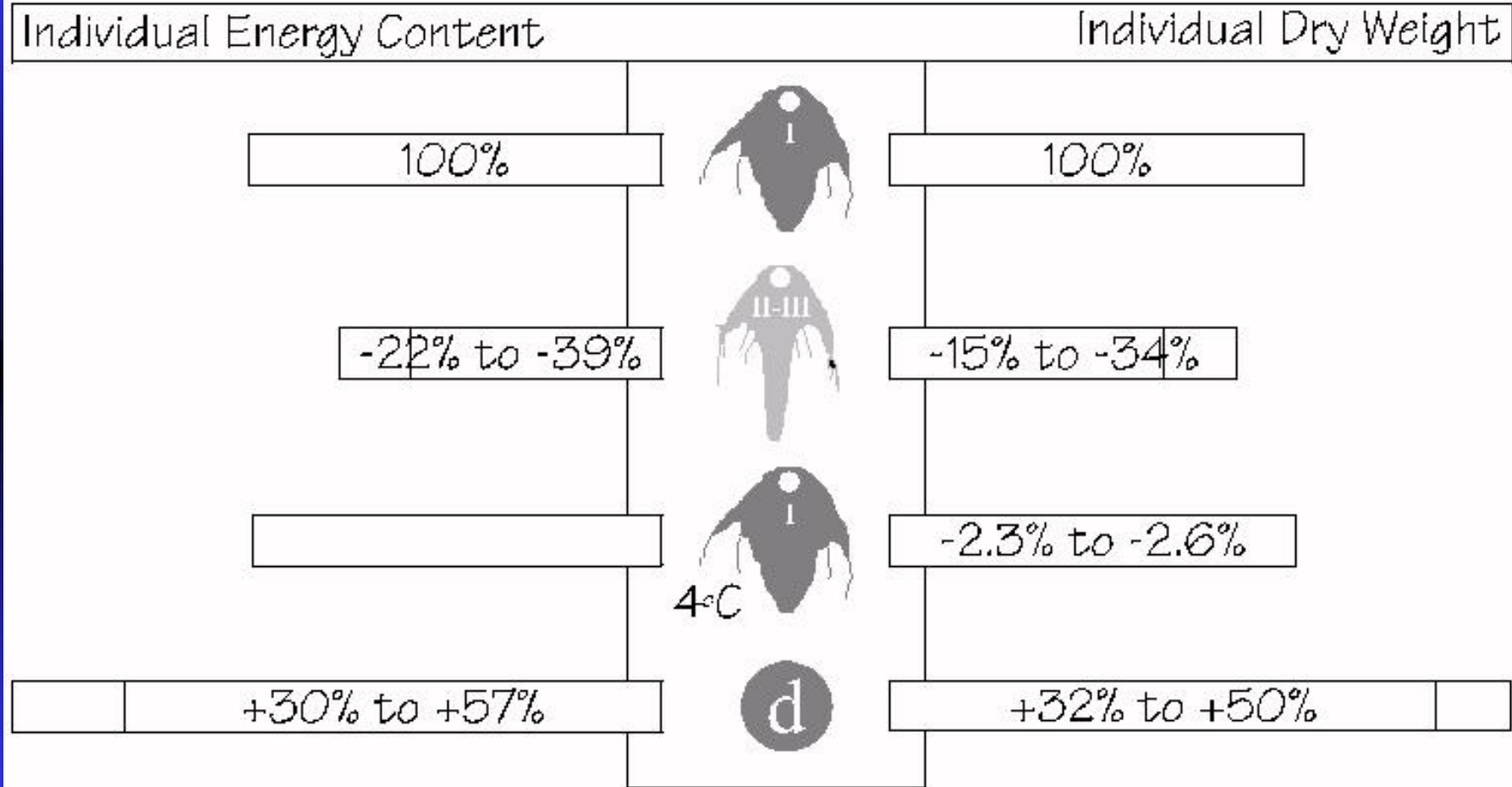
Umbrella Stage & Instar 1



Desarrollo Artemia

- Cistos Secos (200- 300 μ). Malla 100 μ .
- Cistos hidratados: (1-2 H) y empieza desarrollo embrionario.
- En +/- 24 horas eclosionan.
 - ◆ E1 (breaking Stage)
 - ◆ E2 (Umbrella Stage)
- Nauplio I: Instar 1 400-500 μ .
 - ◆ No come.
 - ◆ Aguanta total cambio de salinidad.
 - ◆ Mayor contenido energía y nutrientes.
 - ◆ Malla 100- 150 μ .
 - ◆ No tiene tracto intestinal abierto.
 - ◆ Dura aprox. 8-12 horas.
- Instar 2: empieza a comer.

Energía Por Estadio / Cisto



Morfología Cisto

■ Chorion:

- ◆ Capa dura de lipoproteínas con quitina y hematina. Provee protección mecánica y UV al embrión. Puede ser removida.

■ Membrana cuticular externa:

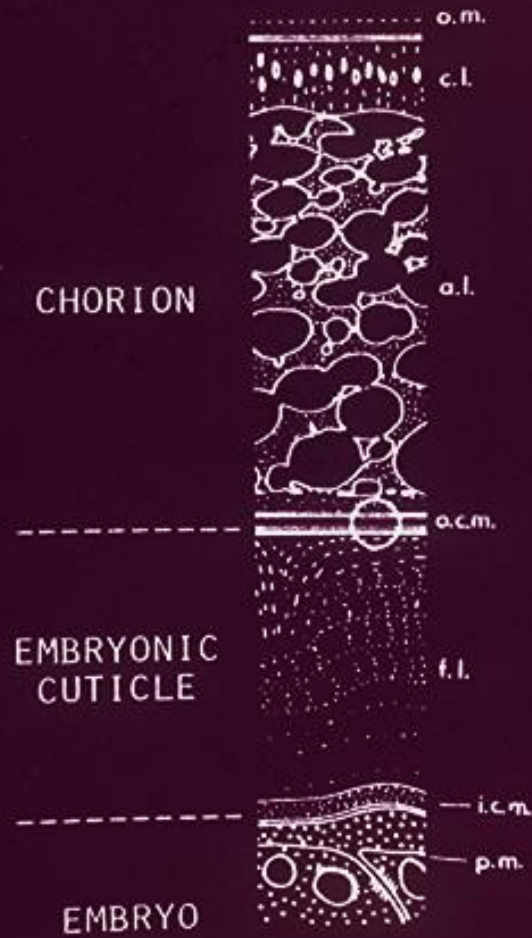
- ◆ Protege al embrión de moléculas grandes (>CO₂). Actúa como filtro permeable.

■ Cutícula embrionaria:

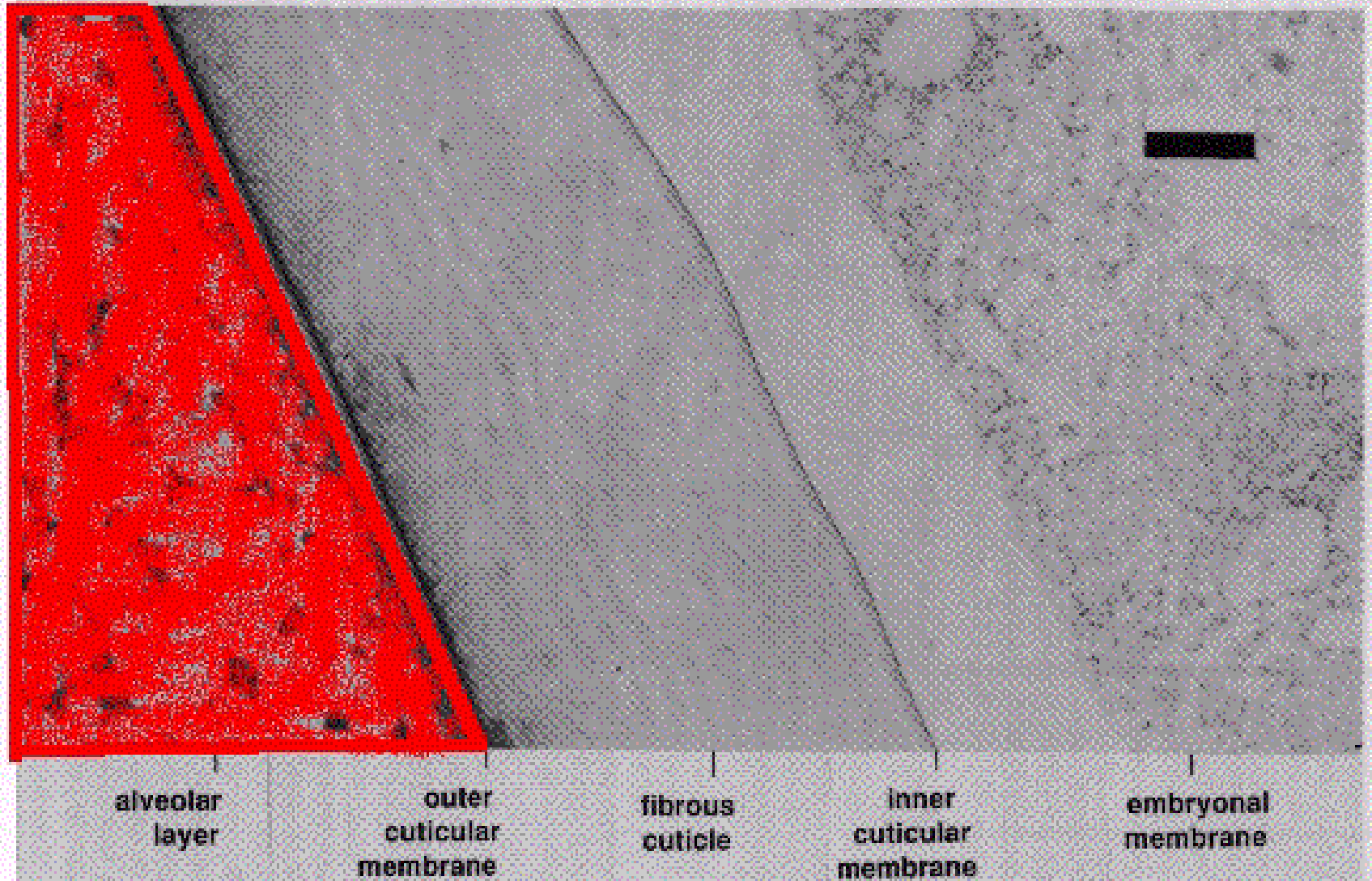
- ◆ Membrana elástica y transparente. Separada del embrión y se convierte en la membrana de eclosión.

Morfología Cisto

E.M.-SECTION THROUGH CYST-SHELL



Morfología Cisto



Diametro Cistos y Corion

| Artemia source | Batch number or year of harvest | Diameter of hydrated untreated cyst (μm) | standard deviation | Diameter of hydrated decapsulated cysts (μm) | standard deviation | Chorion thickness (μm) | |
|---|---------------------------------------|--|-----------------------|--|-----------------------|---|------|
| USA - San Francisco Bay | 288-2596 | 224.7 | 12.4 | 210.0 | 12.7 | 7.35 | |
| | 288-2606 | 224.6 | 11.9 | 210.5 | 12.3 | 7.05 | |
| | 2847 | 223.9 | 11.7 | 209.7 | 12.8 | 7.10 | |
| | 236-2013 | 224.3 | 11.8 | 207.7 | 11.1 | 8.30 | |
| | 933235 | 228.7 | 12.3 | 212.1 | 11.3 | 8.30 | |
| | - San Pablo Bay | 1628 | 235.6 | 13.0 | 220.4 | 14.3 | 7.60 |
| | PHILIPPINES - Barotac Nuevo | 1978 | 228.0 | 13.0 | 213.8 | 12.2 | 7.25 |
| | BRAZIL - Macau | March 1978 | 232.5 | 11.1 | 216.6 | 11.4 | 7.95 |
| | | May 1978 | 227.8 | 11.7 | 211.2 | 12.4 | 8.30 |
| | | Oct. 1978 | 227.4 | 11.9 | 213.2 | 11.3 | 7.10 |
| | 870191 | 227.7 | 12.5 | 212.9 | 11.3 | 7.40 | |
| | 87500 | 231.8 | 12.3 | 217.6 | 12.8 | 7.10 | |
| | 871172 | 228.7 | 11.0 | 213.8 | 12.0 | 7.45 | |
| - Macau, produced under laboratory conditions | | 226.9 | 12.4 | 211.0 | 12.5 | 7.95 | |
| USA - Great Salt Lake | 1966 | 252.5 | 13.0 | 241.6 | 13.2 | 5.45 | |
| | 1977 | 244.2 | 16.1 | 234.8 | 16.0 | 4.70 | |
| AUSTRALIA - Shark Bay | - | 259.7 | 9.7 | 242.9 | 10.1 | 8.40 | |
| | 114 | 260.4 | 10.4 | 242.2 | 11.3 | 9.10 | |
| VENEZUELA - Port Araya | August 1977 | 246.7 | 12.7 | 226.5 | 12.7 | 10.10 | |
| | Jan. 1978 | 246.8 | 13.4 | 226.4 | 14.4 | 10.20 | |
| | May 1978 | 249.0 | 12.6 | 226.6 | 12.8 | 11.20 | |
| INDIA - Tuticorin | - | 283.8 | 10.2 | 262.0 | 11.0 | 10.90 | |
| | - | 289.9 | 14.4 | 262.7 | 11.5 | 10.10 | |
| AUSTRALIA - Adelaide | - | 225.8 | 10.9 | 209.8 | 9.85 | 8.00 | |
| ARGENTINA - Buenos Aires | 1977 | 238.2 | 13.2 | 217.4 | 13.9 | 10.4 | |
| PUERTO RICO - Bahia Salinas | - | 253.7 | 13.3 | 233.4 | 13.7 | 10.15 | |
| CANADA - Chaplin Lake | - | 240.0 | 16.1 | 229.3 | 15.1 | 5.35 | |
| COLOMBIA - Galera Zamba | 1977 | 249.9 | 12.3 | 232.7 | 11.2 | 8.60 | |
| CHINA - Locality unknown | - | 267.0 | 19.8 | 246.6 | 18.9 | 10.20 | |
| ITALY - Margherita di Savoia | 1977 | 284.9 | 14.6 | 266.3 | 14.8 | 9.30 | |
| SPAIN - San Lucar | 1978 | 253.6 | 11.7 | 237.1 | 12.2 | 8.25 | |
| FRANCE - Aigues Mortes | - | 259.6 | 14.1 | 240.8 | 14.3 | 9.40 | |

Eclosión de *Artemia* sp.

- Proceso no sucede en cistos deshidratados.
 - ◆ 1-2 horas hidratación: 140% aumento volumen.
- Una vez hidratado, proceso se inicia si hay luz.
 - ◆ 1,000 – 2,000 lux primeras 2 horas.
 - ◆ Poca luz se pasma.
- Eclosión consume energía. Para obtener energía, trehalosa se transforma en glicerol y glicogeno, con consumo de O_2 . Glicerol absorbe agua y se produce mas glicerol, hasta q' presión osmotica rompe OCM y se libera el glicerol.
- Metabolismo antes de eclosión es un sistema regulador hiperosmotico trehalosa – glicerol.
 - ◆ A $>$ salinidad externa se necesita mayor producción de glicerol (consumo energía). Optima 5ppt.

Efecto Salinidad

Effect of incubation at low salinity on hatching percentage, individual nauplius weight, naupliar energy content and hatching output for Artemia cyst sources from different geographical origin

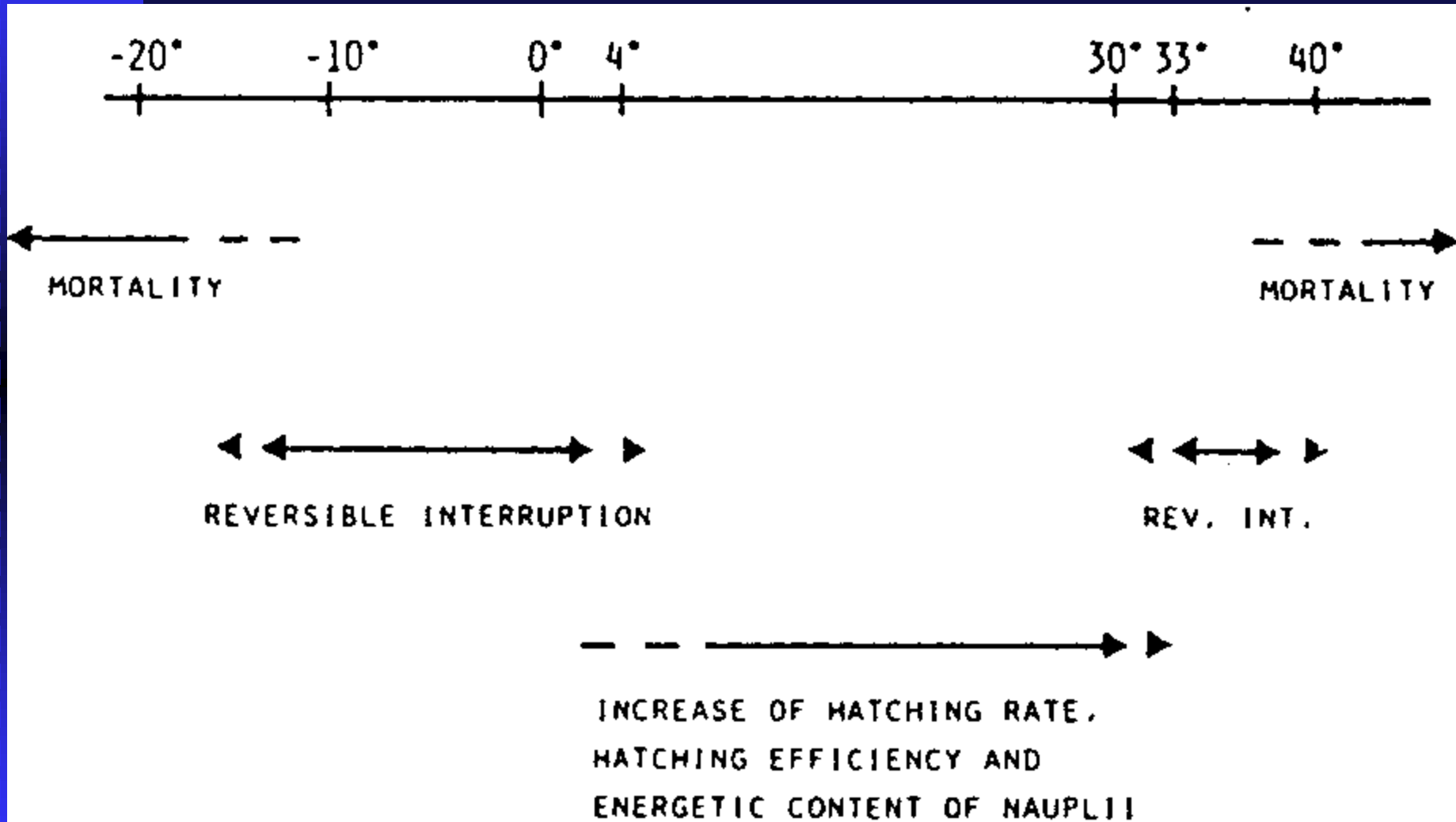
| source of cysts | hatching percentage | | | naupliar dry weight | | | naupliar energy content | | | hatching output (mg nauplii/g cysts) | | |
|-------------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|-------|--------------------|-------------------------|-------|---------------|--------------------------------------|-------|---------------|
| | 35 ppt | 5 ppt | % difference | 35 ppt | 5 ppt | % differences | 35 ppt | 5 ppt | % differences | 35 ppt | 5 ppt | % differences |
| San Francisco Bay | 71.4 | 68.0 | -4.8 | 1.63 | 1.73 | +6.1 | - | - | - | 435.5 | 440.2 | +1.1 |
| San Pablo Bay | 84.3 | 87.6 | +3.9 | 1.92 | 2.02 | +5.2 ^a | 22.33 | 22.28 | -0.2 | 497.7 | 544.1 | +9.3 |
| Macau | 82.0 | 86.4 | +5.3 | 1.74 | 1.76 | +1.1 | 22.52 | 22.53 | 0.0 | 529.0 | 563.7 | +6.6 |
| Barotac Nuevo | 78.0 | 82.1 | +5.2 | 1.68 | 1.78 | +5.9 ^a | - | - | - | 359.5 | 400.9 | +11.5 |
| Great Salt Lake | 43.9 | 45.3 | +3.1 | 2.42 | 2.35 | -2.5 | - | - | - | 256.5 | 257.0 | +0.2 |
| Shark Bay | 87.5 | 85.8 | -1.9 | 2.47 | 2.64 | +6.9 ^a | - | - | - | 537.5 | 563.3 | +4.8 |
| Chaplin Lake | 19.5 | 52.2 | +167.6 ^a | 2.04 | 2.28 | +11.8 ^a | 21.94 | 21.50 | -2.0 | 133.8 | 400.4 | +199.3 |
| Buenos Aires | 62.8 | 73.2 | +16.6 ^a | 1.72 | 1.88 | +9.3 ^a | 22.02 | 22.08 | +0.3 | 333.0 | 424.2 | +27.4 |
| Lavalduc | 75.8 | 77.2 | +1.8 | 3.08 | 3.05 | -1.0 | - | - | - | 561.8 | 566.6 | +0.8 |
| Tientsin | 73.5 | 75.0 | +2.0 | 3.09 | 3.07 | -0.6 | - | - | - | 400.5 | 406.0 | +1.4 |
| Margherita di Savoia | 77.4 | 76.4 | -1.0 | 3.33 | 3.40 | +2.1 | 21.76 | 22.06 | +1.4 | 458.2 | 463.0 | +1.0 |
| Reference Artemia cysts | 45.7 | 60.7 | +32.8 ^a | 1.78 | 1.84 | +3.3 | - | - | - | 375.6 | 515.7 | +37.3 |

^aSignificant at the 0.05 level

Eclosión de *Artemia* sp.

- Glycerol y respiración consumen O_2 y sueltan $CO_2 = \Delta pH$. A $pH < 8$: % eclosión Δ : enzima no puede disolver cuticula embrionaria. Necesario controlar pH 8 - 9:
 - ◆ Baja densidad (1g cistos / l).
 - ◆ $NaHCO_3$ (2 g / l) para 2 – 5 g cistos / l.
- Oxígeno Disuelto : $> 4ppm$. No piedras.
- Energía necesaria para romper membrana depende de presencia o no del corión.
- Temperatura optima 28- 32°C.
 - ◆ Cistos secos aguantan -273 °C a $+60$ °C.
 - ◆ Cistos hidratados:
 - ◆ Detiene irreversiblemente a < -18 °C o > 40 °C.
 - ◆ Detención reversible -18 °C a 4 °C o 32 a 40 °C.
 - ◆ Metabolismo activo: 4 a 32°C.

Efecto Temperatura



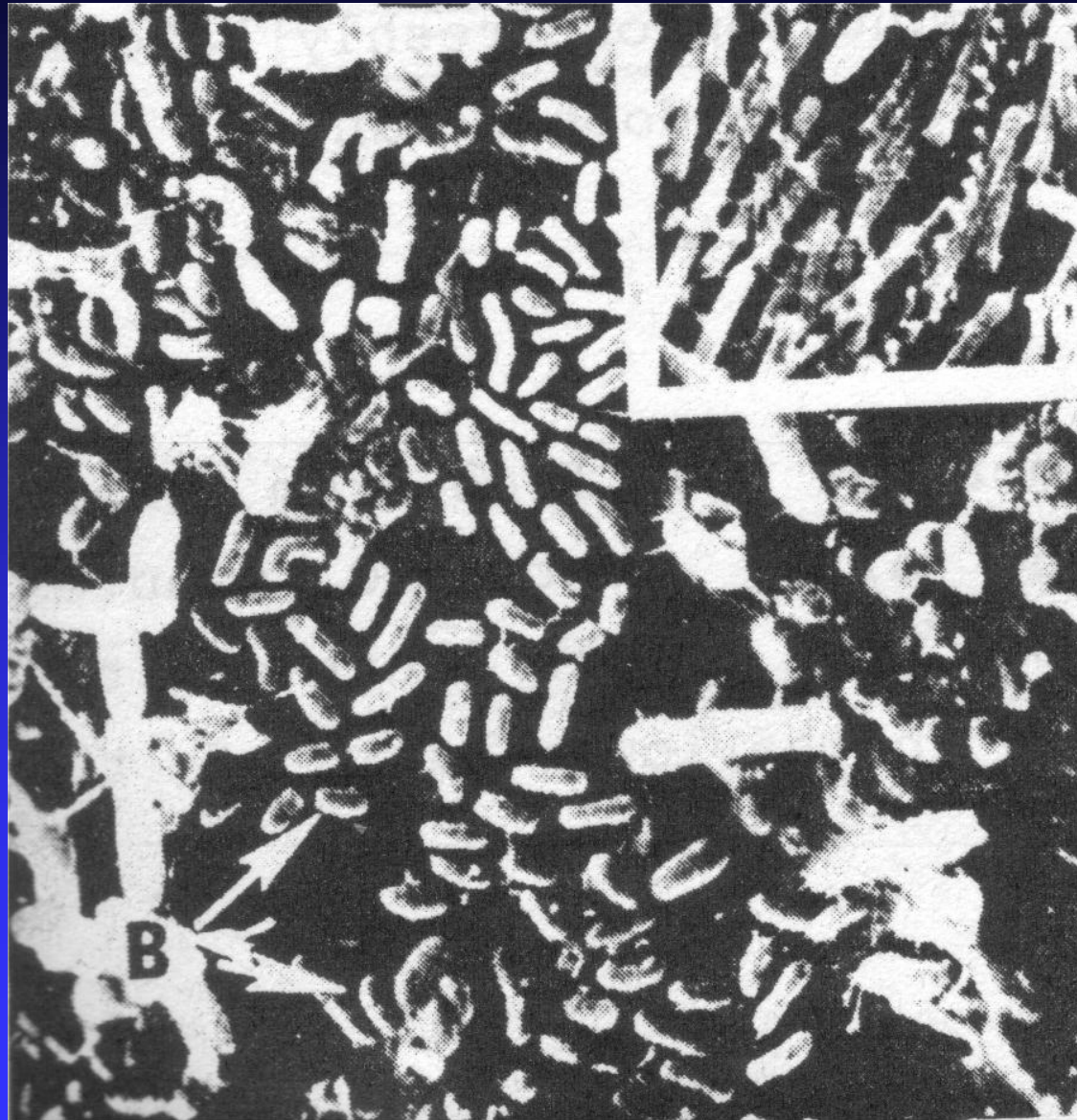
Calidad De Eclosión

- Hatching Percentage (H%):
 - ◆ Numero de ARN / 100 Cistos enteros.
 - ◆ No toma en cuenta tamaño ni impurezas en cistos.
- Hatching Production (HP):
 - ◆ Huevos / Gramo.
- Hatching Efficiency (HE):
 - ◆ Nauplios / gramo.
 - ◆ 48h, 35ppt, OD sat., 25 °C, 1,000 lux, pH 8.0-8.5.
- Hatching Output (HO):
 - ◆ Gramos ARN / Gramo Cisto.
- Hatching Rate (HR) Tn:
 - ◆ Rango y Sincronización de eclosión.
 - ◆ Cuanto demora y que dispersión tiene la eclosión del 0, 10, 50, y 90% de la población.
 - ◆ Ts = Sincronización (T90 – T10).

Variabilidad por Lugar y Lote

| Cyst source | HR | HE | T ₀ | T ₁₀ | T ₉₀ | T _S | Ind. dry weight of nauplius (µg) | Ind. energy content of nauplius (10 ⁻³ joule) | HD naupliar biomass (mg/g cysts) |
|--|------|-------------|----------------|-----------------|-----------------|----------------|-------------------------------------|---|--|
| | | (nauplii/g) | (hrs) | (hrs) | (hrs) | (hrs) | | | |
| San Francisco Bay, Ca-USA batch 288-2596 | 71.4 | 267,200 | 15.0 | 15.5 | 20.5 | 5.0 | 1.63 | 22.48 | 435.5 |
| batch 288-2606 | - | 259,200 | 16.4 | 16.9 | 23.2 | 6.3 | | | |
| batch 236-2016 | - | 249,600 | 25.8 | 28.4 | 37.6 | 9.2 | | | |
| San Pablo Bay, Ca-USA | 84.3 | 259,200 | 13.9 | 15.1 | 20.1 | 5.0 | 1.92 | 21.33 | 497.7 |
| Macau, Brasil batch 871 172 | 82.0 | 304,000 | 15.7 | 19.3 | 23.7 | 4.4 | 1.74 | 22.52 | 529.0 |
| batch 87 500 | - | 182,400 | 16.4 | 16.0 | 29.1 | 13.1 | | | |
| May 178 | - | 297,600 | 14.7 | 17.5 | 21.9 | 4.4 | | | |
| Barotac Nuevo, Philippines | 78.0 | 214,000 | 14.7 | 15.7 | 22.0 | 6.3 | 1.68 | 22.74 | 359.5 |
| Great Salt Lake, UT-USA | 43.9 | 106,000 | 14.1 | 14.7 | 21.7 | 7.0 | 2.42 | 22.35 | 256.5 |
| Shark Bay, Australia | 87.5 | 217,600 | 20.3 | 21.1 | 28.1 | 7.0 | 2.47 | 23.33 | 537.5 |
| Chaplin Lake, Canada | | 65,600 | 14.3 | 15.7 | 33.0 | 17.3 | 2.04 | 21.94 | 133.8 |
| Buenos Aires, Argentina | 62.8 | 193,600 | 16.1 | 17.3 | 22.6 | 5.3 | 1.72 | 22.02 | 333.0 |
| Lavalduc, France | 75.8 | 182,400 | 19.5 | 20.5 | 30.5 | 10.0 | 3.08 | 21.76 | 561.8 |
| Tientsin, China | 73.5 | 129,600 | 16.0 | 17.1 | 27.2 | 10.1 | 3.09 | 22.05 | 400.5 |
| Margherita di Savoia, Italy | 77.2 | 137,600 | 18.7 | 20.0 | 25.3 | 5.3 | 3.33 | 21.76 | 458.2 |
| Reference Artemia cysts | 45.7 | 211,000 | 18.0 | - | 32.2 | - | 1.78 | 22.62 | 375.6 |

Bacterias en Cistos



Desinfección

- Cisto contiene muchas bacterias, esporas y hongos o contaminantes como materia orgánica.
- A altas densidades y T°C, crecimiento de bacterias significativa:
 - ◆ Enturbiar agua (baja eclosión).
 - ◆ Consumo O₂, ✖CO₂ y ✖pH. (baja eclosión).
 - ◆ Introducción de bacterias patógenas en tanque de cultivo.
- Desinfección es recomendable.

Procedimientos de Desinfección

- Remojar cistos 1- 2 horas en 20 ppm cloro.
 - ◆ 10 litros / 500gr cistos.
 - ◆ Mantener aireación.
 - ◆ Filtrar y lavar con agua antes eclosionar.
 - ◆ Alternativas:
 - ◆ 20 minutos @ 200ppm.
 - ◆ 30 minutos @ 150 ppm.
- Decapsulación total.
 - ◆ Remover corion.
 - ◆ Procedimiento descrito mas adelante.

Cosecha y Almacenamiento

- Alimentación directa: cosechar cuando se alcance mayor cantidad de I1. Depende Ts.
- Antes de cosechar suspender aireación por 5 a 10 min (<20') y tapar parte superior tanque.
- Cistos vacíos flotarán y basura, cistos llenos y artemia se irán al fondo.
- Botar primero basura y cistos llenos.
- Recolectar artemia, malla 100 μ (80 - 125 μ).
- Lavar ARN largo, hasta que agua salga clara: limpiar glicerol y bacterias. Puede usar FW.
- Si es necesario, sifonear o tapar y machetear.
 - ◆ Alimentar inmediatamente instar 1.
 - ◆ Usar instar 2 para enriquecer.
 - ◆ Guardar 0-4°C, aire, <10 -15K ARN/ml 24H(< 48H).
 - ◆ Congelar: Rapido!!

Vista de Tanques



Fondo de Tanques en Cosecha



Cistos

ARN

Balde Cosecha
Y Cama Agua

Filtro de Cosecha

Gorro Papel



Muestreo y Conteo



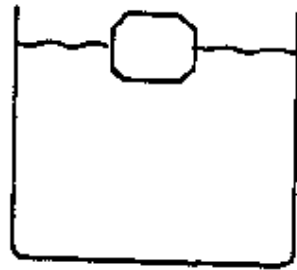
Almacenamiento en Frio



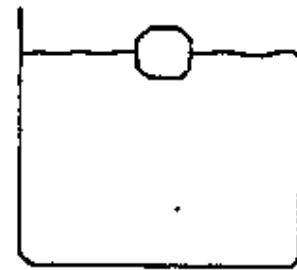
Desventajas Uso ARN Famelicas

- Menos aceptable:
 - ◆ Menos visible.
 - ◆ Mas grande.
 - ◆ Nada mas rapido.
- Menos digerible:
 - ◆ Menos AminoAcidos libres.
- Menor contenido Energetico:
 - ◆ Menos peso seco orgánico.
 - ◆ Menos contenido energía.

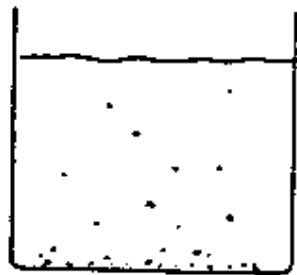
Congelamiento Artemia



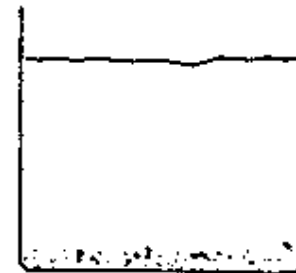
glass with
tapwater



1 hour later

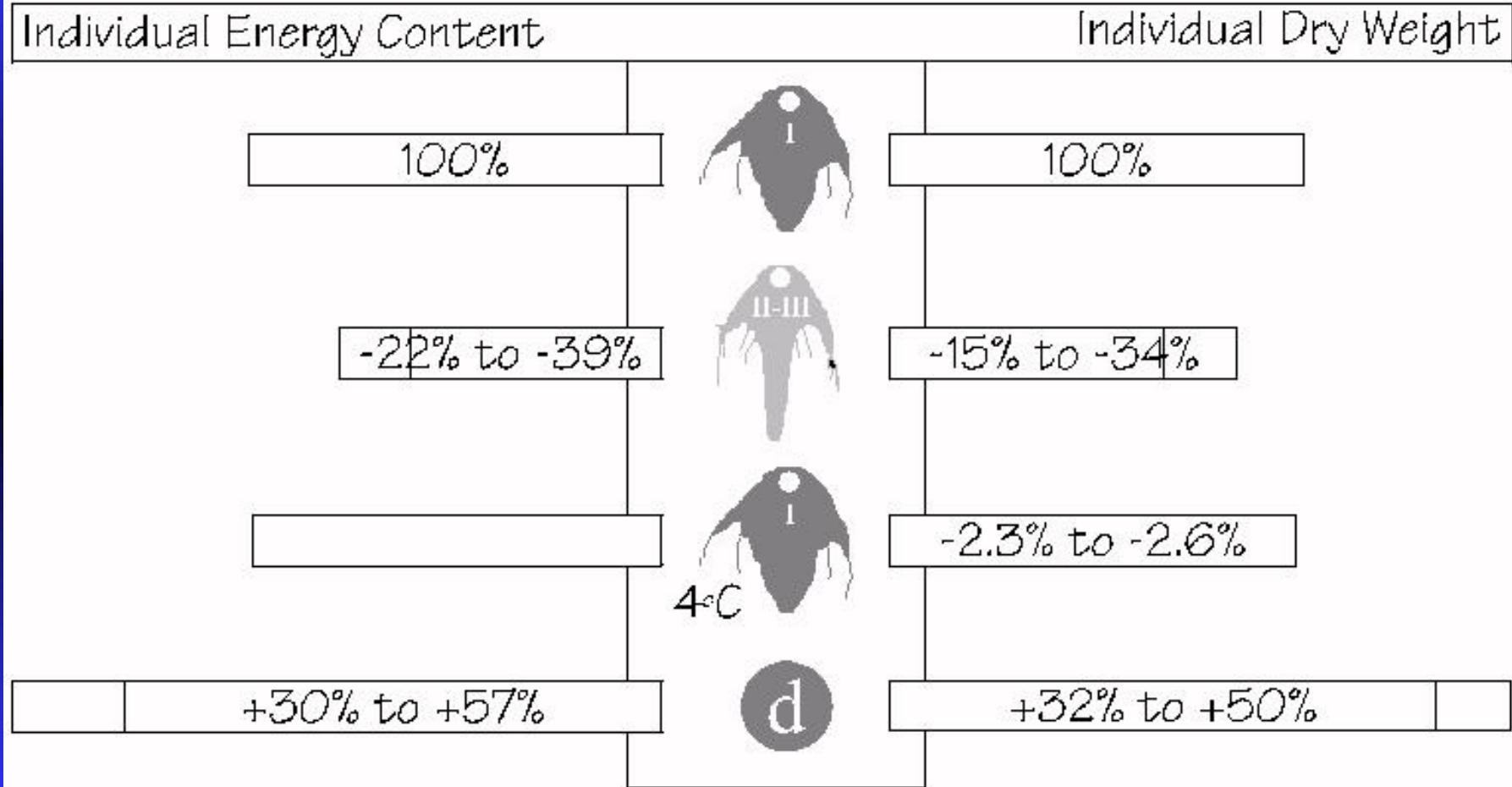


fragments of animals
at bottom as well as
in suspension; turbid
water coloured
yellowish-brown



intact animals at
bottom of glass;
clear water

Energía Por Estadio / Cisto



Decapsulacion

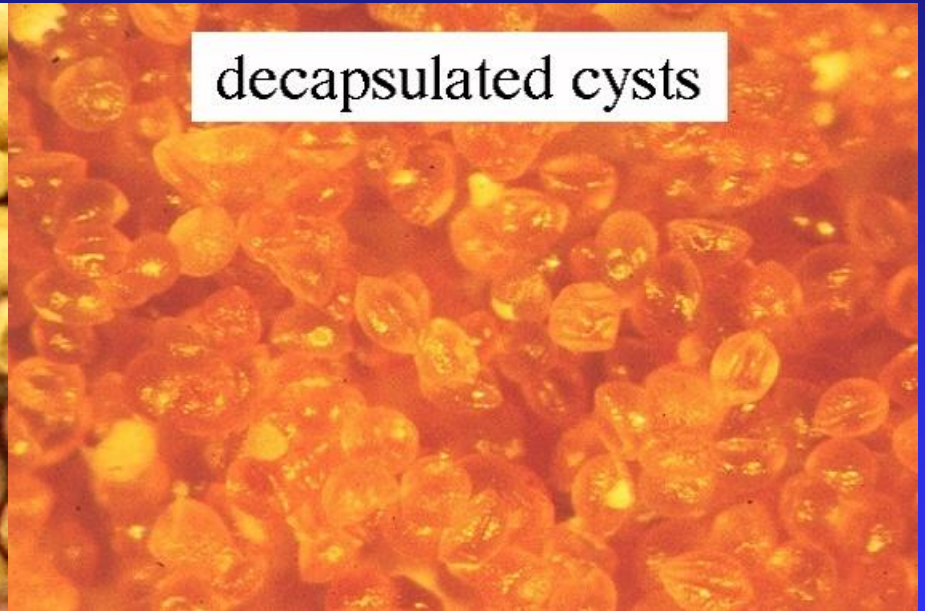
- Remover Chorion del cisto de artemia.
- Ventajas:
 - ◆ Aumento de %Ecllosion y HO, disminución HR.
 - ◆ Aumento de peso y energía. No gasto eclusión).
 - ◆ Mayor sanidad (desinfección).
 - ◆ Menos glycogeno (substrato bacterias).
 - ◆ Mejor aprovechamiento huevos (cistos y ARN).
 - ◆ Mejor limpieza/ separación de cistos, no chorion.
 - ◆ Pueden ser usados directamente.
 - ◆ Menor requerimiento luz.
- Desventajas:
 - ◆ Control substancias (NaOH).
 - ◆ Pierden boyantes. Sedimentan mas rapido.
 - ◆ Costo.
 - ◆ Mano de Obra calificada.
 - ◆ Menor resistencia a almacenamiento (UV / Fricción).

Efectos Decapsulación

Improved hatching characteristics (in percent change) of Artemia cysts as a result of decapsulation (data compiled from Vanhaecke and Sorgeloos, 1983 and Bruggeman et al., 1980)

| Cyst source | Hatchability | Naupliar dry weight | Hatching output |
|-----------------------------|--------------|---------------------|-----------------|
| San Francisco Bay, Calif. | +15 | +7 | +23 |
| Macau, Brazil | +12 | +2 | +14 |
| Great Salt Lake, Utah | +24 | -2 | +21 |
| Shark Bay, Australia | +4 | +6 | +10 |
| Chaplin Lake, Canada | +132 | +5 | +144 |
| Buenos Aires, Argentina | +35 | +10 | +49 |
| Lavalduc, France | +2 | +0 | +2 |
| Tientsin, PR China | +4 | -1 | +2 |
| Margherita di Savoia, Italy | +10 | +8 | +19 |
| Galera Zamba, Colombia | +14 | +0 | +13 |
| Barotac Nuevo, Philippines | +11 | +6 | +19 |
| Reference Artemia Cysts | +59 | +1 | +29 |

Decapsulación



Procedimiento Decapsulación

- Hidratación de cistos:
 - ◆ Hacer que cistos se pongan redondos para poder decapsular uniformemente.
 - ◆ 1- 2 Horas en Agua dulce.
- Preparación de solución decapsuladora.
- Tratamiento con solución decapsuladora.
- Lavado y desactivación.
- Uso directo de los cistos.
- Deshidratación y almacenamiento.

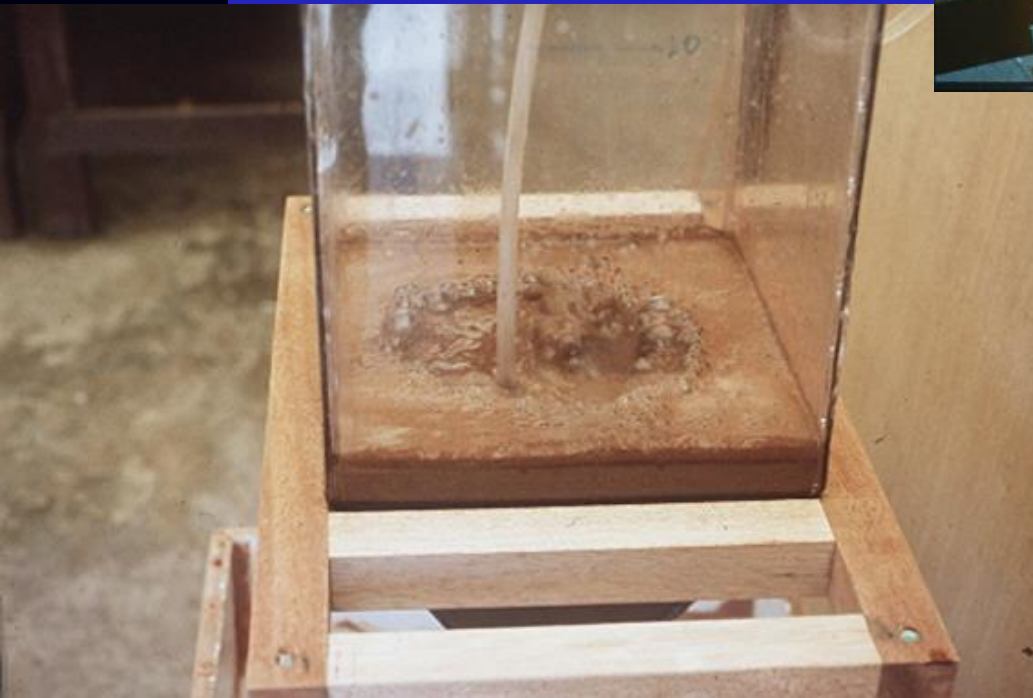
Hidratación



Hidratación

- Remoción completa corion solo puede darse con huevos esfericos.
- 1- 2 Horas en agua dulce o Salada.
- Aireación continua. Tanques conicos.
- 10-50 gr ARC / l.
- Apenas hidraten, filtrar cistos malla 125μ y transferir a solución decapsuladora.
 - ◆ Exceso de hidratación disminuye viabilidad de huevos.
 - ◆ Si no se puede decapsular inmediatamente guardar en refrigeradora de 0 a 4°C.

Hidratación



Solución Decapsuladora

■ Fuente de Cloro:

- ◆ Hipoclorito de Sodio (NaOCl) 5 – 12%.
 - ◆ $[\text{HOCl}] = (3000 \times \text{IR}) - 4003$. (Diluir si no da).
- ◆ Hipoclorito de Calcio: $\text{Ca}(\text{OCl})_2$: 60-70%.
- ◆ Para ambos 0.5 g HOCl/ gr cisto.

■ Subida pH:

- ◆ NaOCl : 0.15 g NaOH / gr Cisto.
- ◆ $\text{Ca}(\text{OCl})_2$: 0.67 g Na_2CO_3 ó 0.4 gr CaO /gr Cisto.
 - ◆ Disolver 1º cloro, sedimentar y a solución agregar esto.

■ Volumen:

- ◆ 14 ml / g Cisto.
- ◆ Agua de mar hasta completar.

■ Temperatura:

- ◆ 15- 20 °C.
- ◆ Siempre < 30 °C.
- ◆ Agregar hielo según sea necesario.

Ejemplo con Hipoclorito Sodio

- Cistos a decapsular = 100 g.
- Concentración HOCl = 156 g/l.
- Cloro necesario = 100gARC x 0.5 = 50g.
- Vol NaOCl = $50 \times 100 / 156 = 320 \text{ ml}$.
- NaOH necesario = $0.15 \times 100 = 15\text{g}$.
- Vol. total solución = $14\text{ml} \times 100 = 1,400\text{ml}$.
- Volumen SW = $1,400 - 320 = 1,080\text{ml}$.

- OJO, Usar **GUANTES**.

Tratamiento Decapsulación

- Transferir cistos hidratados (sin agua) a balde / tanque y agregar solución decapsuladora.
- Mantener moviendo cistos en todo momento.
- Reacción exotérmica de oxidación empieza y se forma espuma al disolverse corion.
- Mantener T °C siempre a $< 30^{\circ}\text{C}$:
 - ◆ Aplicar fundas hielo según sea necesario.
- Duración: 5 – 15 min.
- Mirar color “al ojo”. Cambia:
 - ◆ De café rojizo a gris y luego a naranja (Na).
 - ◆ De café rojizo a gris (Ca).
 - ◆ Si deja de cambiar está listo.
- Textura mantiene granulosa, cuidado cambia.
- Apenas esté listo pasar a lavado.

Decapsulación

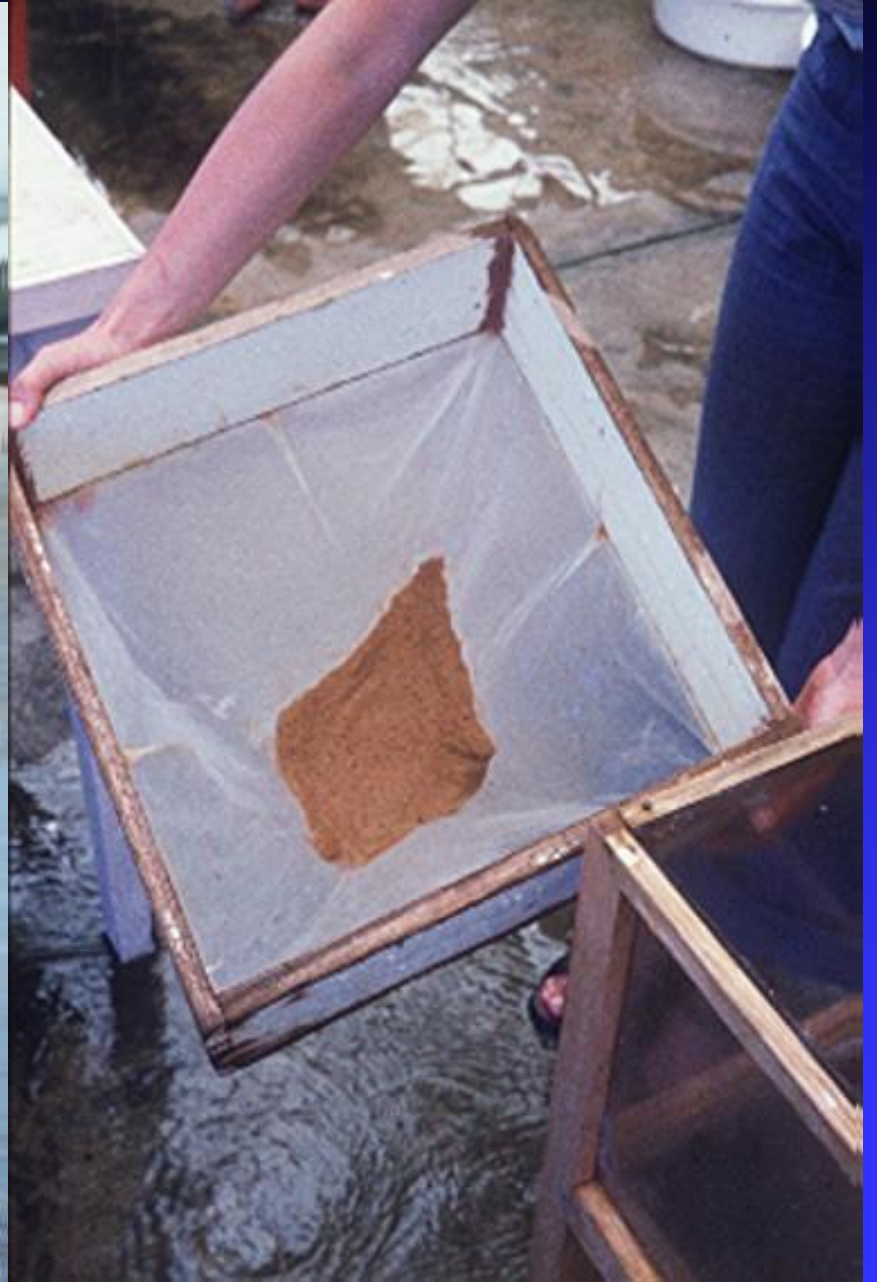
addition of hypochlorite
prepared in advance



Lavado Neutralización

- Iniciar apenas terminada decapsulación.
- Filtrar con gorro de lavado rapido 125μ .
- Lavar en exceso hasta no oler cloro.
- Titulación.
 - ◆ Orthotolidine.
 - ◆ Yoduro de potasio (KI), Almidon y HCL. I_2 : azul.
- Si necesario (almacenamiento) deactivar con:
 - ◆ Vinagre. HCL 0.1 N.
 - ◆ Tiosulfato de sodio.
 - ◆ Lavar de nuevo.
- De ser necesario poner en salmuera y sacar los flotantes (no decapsulados correctamente).

Lavado



Lavado



Uso Directo de Cistos

- Cistos decapsulados pueden ser puestos directamente a eclosionar.
 - ◆ Usar Salinidad > 15 ppt para evitar que eclosionen antes de total desarrollo y se disuelvan en agua.
 - ◆ Igual lavar y separar membrana de eclosión para evitar contaminación.
- Los cistos pueden también ser usados directamente como alimento en estadios mas pequeños, sin embargo cuidar de falta de boyantes.

Eclosion de Cistos Decapsulados



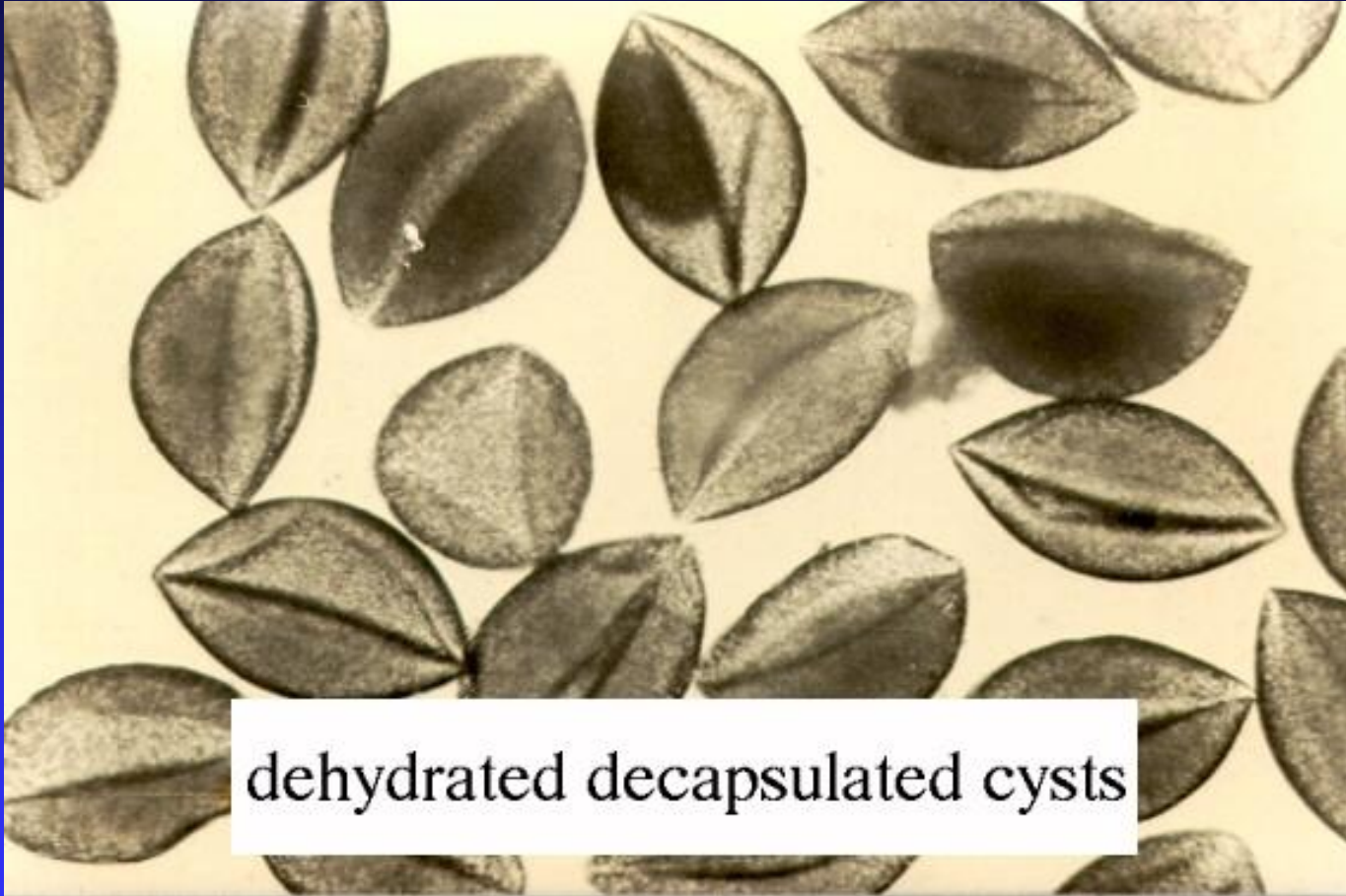
Almacenamiento y Dehidratación

- Al almacenar evitar sol o UV.
- Almacenados por algunos días a 0-4°C.
- Para más de una semana: deshidratar:
 - ◆ Cernir en malla 125 μ .
 - ◆ Poner en salmuera saturada: 1gARC/10 ml salmuera.
 - ◆ Mantener aireación.
 - ◆ Después 1–2 H agregar más sal o salmuera.
 - ◆ Después de 3-8 horas pierde 80% agua y precipitan.
 - ◆ Cernir cistos y poner con salmuera fresca a 0-4°C.
 - ◆ Con ClNa (330g/l y 16-20% humedad) guardar unos meses. Para más tiempo usar MgCl₂ (1,670g/l y < 10% humedad).
 - ◆ Antes de su uso lavar e hidratar.

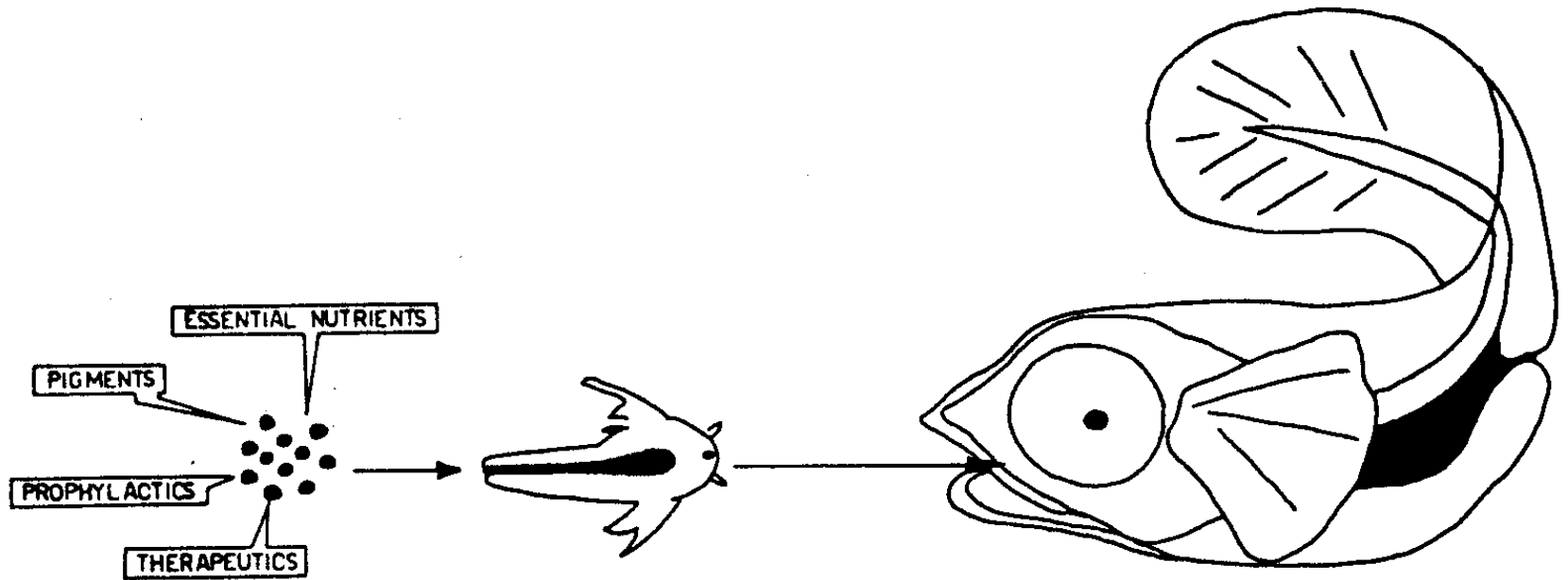
Almacenamiento en Frio



Cistos Deshidratados



Bioencapsulación



Bioncapsulación Enriquecimiento Artemia

- Aumentar valor nutricional de artemia y otros organismos por bioencapsulación.
- Aumenta calidad de carne y hace “salchicha”.
- Aumenta biomasa por cisto. (HO).
- Algas, dieta artificial, levaduras y emulsiones.
 - ◆ Comerciales (Selco, etc o artesanales).
- Metodología:
 - ◆ Eclosionar, separar y limpiar artemia.
 - ◆ Llevar a Instar 2.
 - ◆ Alimentar de 12- 72 horas.
- Importante: T°C, Aireación, OD>4ppm, edad, estabilidad dieta, concentración dieta, densidad, tiempo (nutrición vs. tamaño).
- Cosechar con malla de 100 – 150 μ .

Enriquecimiento Artemia



Biencapsulación

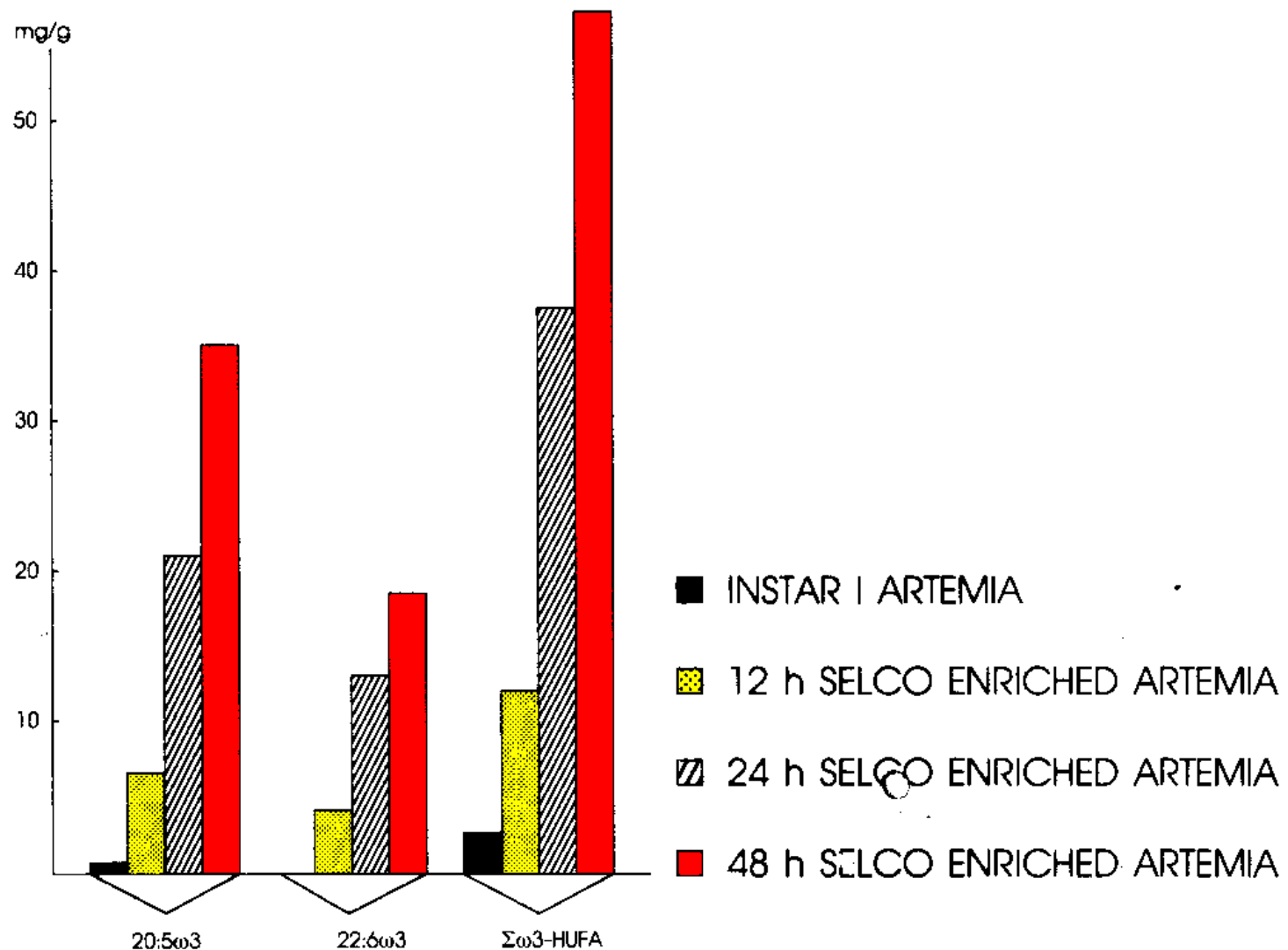
- Productos Comerciales:
 - ◆ Selcos: 0.3g/l / 300KARN / 12H.
 - ◆ Selco: Emulsificado liquido 24H.
 - ◆ Dry Selco: Microparticulado 24H.
 - ◆ Protein Selco: Micropartic. grasa + proteina 24H.
 - ◆ Super Selco: Emulsificado liquido 12 – 24H.
 - ◆ Cualquier alimento comercial completo.
- Artesanales:
 - ◆ Algas o levaduras: Calidad variable.
 - ◆ Aceites + emulsificantes: Calidad?
- Otros:
 - ◆ Probioticos.
 - ◆ Profilacticos, terapeuticos, pigmentos, etc.

Artemia Enriquecida



Efectos Bioencapsulación

LEVELS OF ESSENTIAL FATTY ACIDS IN:



Alimentos Artificiales

■ Tipos:

- ◆ Microparticulados.
- ◆ Microencapsulados.
- ◆ Flake.
- ◆ Crumble.

■ Ventajas:

- ◆ Bajo costo.
- ◆ Facilidad de uso.
- ◆ Almacenamiento y disponibilidad inmediata.
- ◆ Excelente y consistente calidad (completo).

■ Desventajas:

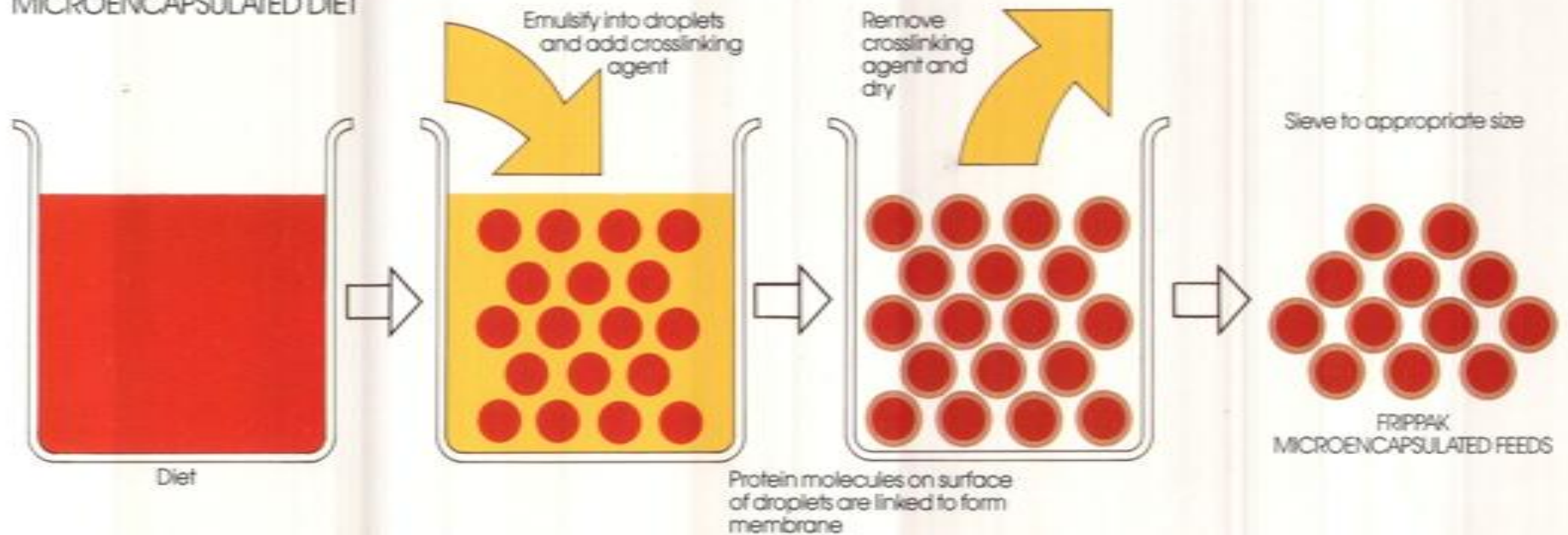
- ◆ Deterioro calidad agua.
- ◆ Se hunden.
- ◆ Menor atractabilidad.
- ◆ No pueden remplazar 100% alimento vivo.?

Alimentos Artificiales

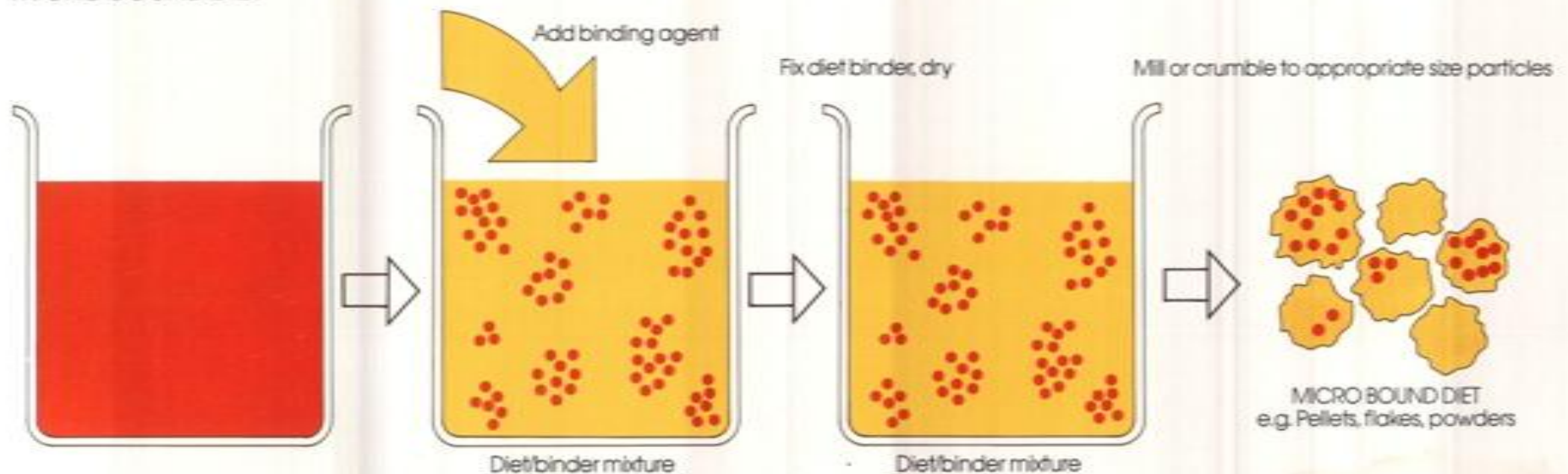


DIFFERENT TYPES OF DIET

MICROENCAPSULATED DIET



MICRO BOUND DIET



Otros alimentos

■ Vivos:

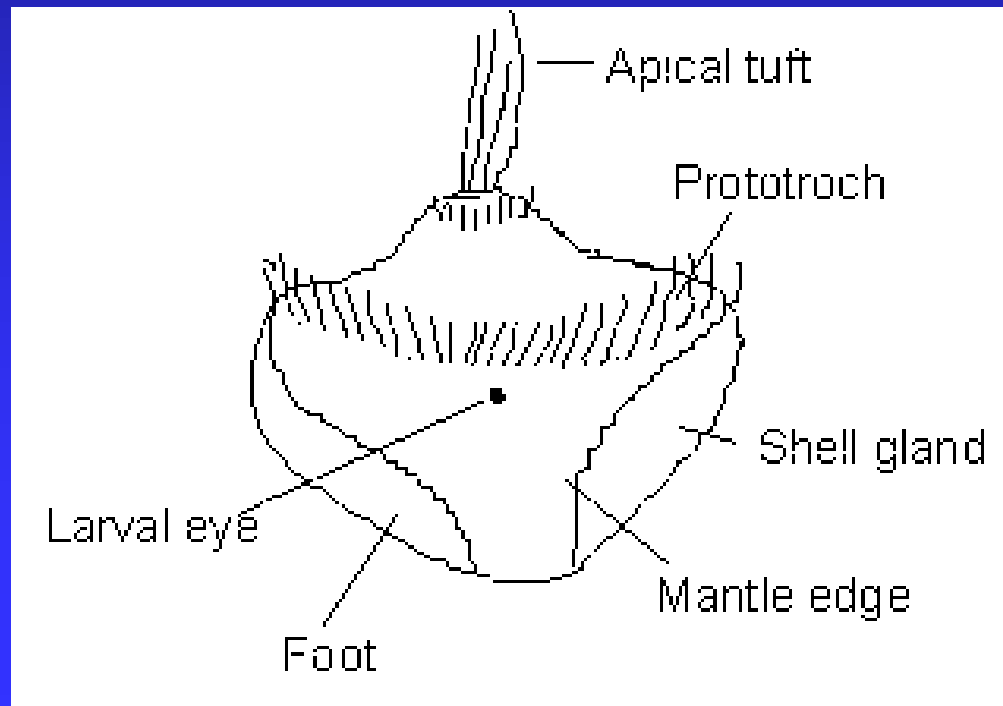
- ◆ Trocoforas.
- ◆ Rotíferos.
- ◆ Copepodos.
- ◆ Nematodos.

■ Congelados:

- ◆ Artemia.
- ◆ Copepodos (cyclop- eze).
- ◆ Otros.

Trocoforas Ostras

- Alto contenido grasas. Hasta 15% HUFA.
- Facil producción / almacenamiento.
- Pequeño tamaño. Movimiento suave.
- Suaves.



CULTIVO DE ROTIFEROS



Rotíferos del género *Brachionus*

Base de la alimentación y cultivo exitoso de 60 especies de peces marinos y 18 especies de crustaceos.

Claves del éxito:

- Organismo planctónico natural
- Tolerancia a una amplia gama de condiciones ambientales
- Alta tasa de reproducción (0,7 a 1,4 descendencias x hembra por día)
- Pequeño tamaño (100 a 300 um)
- Baja velocidad de natación



- Posibilidad de cultivo a altas densidades (2000 ind / ml)
- Presa adecuada para larvas luego de reabsorbido el saco vitelino
- Capacidad filtrante permite la inclusión en sus tejidos de nutrientes específicos para las larvas predadoras.

En Acuicultura se emplean dos morfotipos:

| Morfotipo | Tamaño Lórica | Tipo Lórica |
|---------------------------------|---------------|-----------------------------|
| <i>Brachionus plicatilis</i> | 130 – 340 um | Espinas obtusas (tipo “L”) |
| <i>Brachionus rotundiformis</i> | 100 – 210 um | Espinas en punta (tipo “S”) |

Condiciones de Cultivo:

| | |
|--------------------|---------------------------------------|
| Salinidad | Bajo 35 ppt idealmente |
| Temperatura | 20 a 25 °C |
| Oxígeno disuelto | 100 % saturación (> 2 mg / l sobrev.) |
| pH | > 7,5 a 8,3 |
| NH ₃ | < 1 mg / l |
| Adición Probiótico | <i>Lactobacillus plantarum</i> |

Isochrysis galbana
(22:6 n3 HUFA)

Tetraselmis suecica
(20:5 n3 HUFA)

5×10^6 c/ml

Valor Nutricional
de los rotíferos a
las 72 horas de
enriquecimiento

Relación de DHA : EPA >2 para *Isochrysis* y 0,5 para *Tetraselmis*

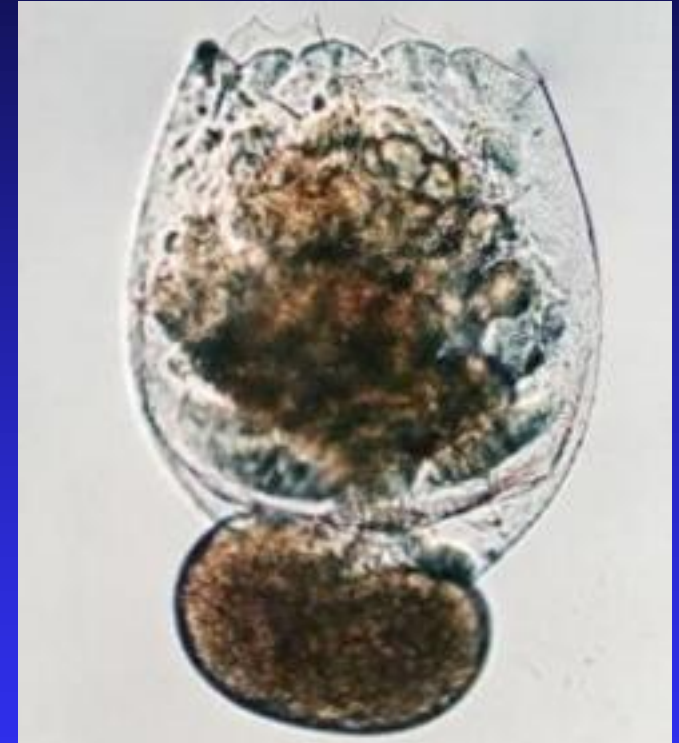
Concentración de ácidos grasos
en rotífero enriquecidos (mg x g p.s.)

| Enriquecimiento | DHA | EPA | DHA / EPA | Sum. n3 HUFA |
|------------------------|------|------|-----------|--------------|
| C. Selco | 4,4 | 5,4 | 0,8 | 15,6 |
| <i>Nannochloropsis</i> | 2,2 | 7,3 | 0,3 | 11,4 |
| DHA Selco | 68,0 | 41,6 | 1,6 | 116,8 |
| (>12 hrs a 20°C) | 46,0 | 43,1 | 1,1 | 95,0 |

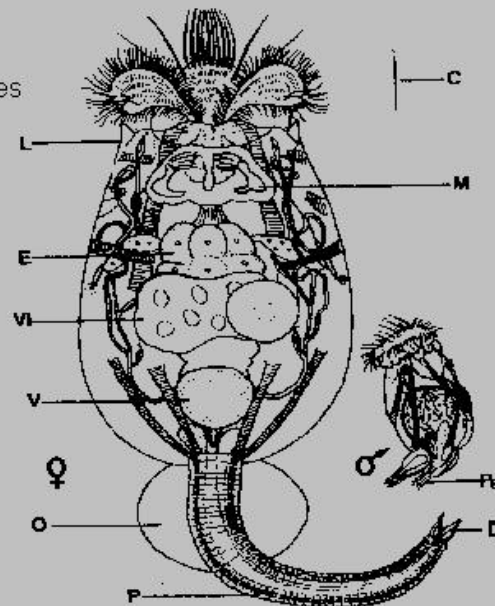
Rotíferos

- *Brachionus plicatilis*.
- Tamaño pequeño. S: 80-150 μ . L: 140 – 220 μ .
- Tecnología de producción conocida..
 - ◆ Cultivo Batch o continuo.
- Reproduce según condiciones:
 - ◆ Normales: partenogenético, solo hembras.
 - ◆ Anormales: Macho y hembras (500-1000 /ml).
- Inoculación: 10 – 20 o 100-200 rot / ml.
- Alimentación:
 - ◆ Iso: $1-2 \times 10^6$ cel/ml. Chl: $10-20 \times 10^6$ cel/ml.
 - ◆ Levadura: 0.25 g / l.
 - ◆ Artificial: 400-600 mg/ 10^6 . Mínimo 50 ppm.
- Cosecha: 100-150 o 350 rot /ml. Malla 22 μ .
- Posible enriquecimiento.

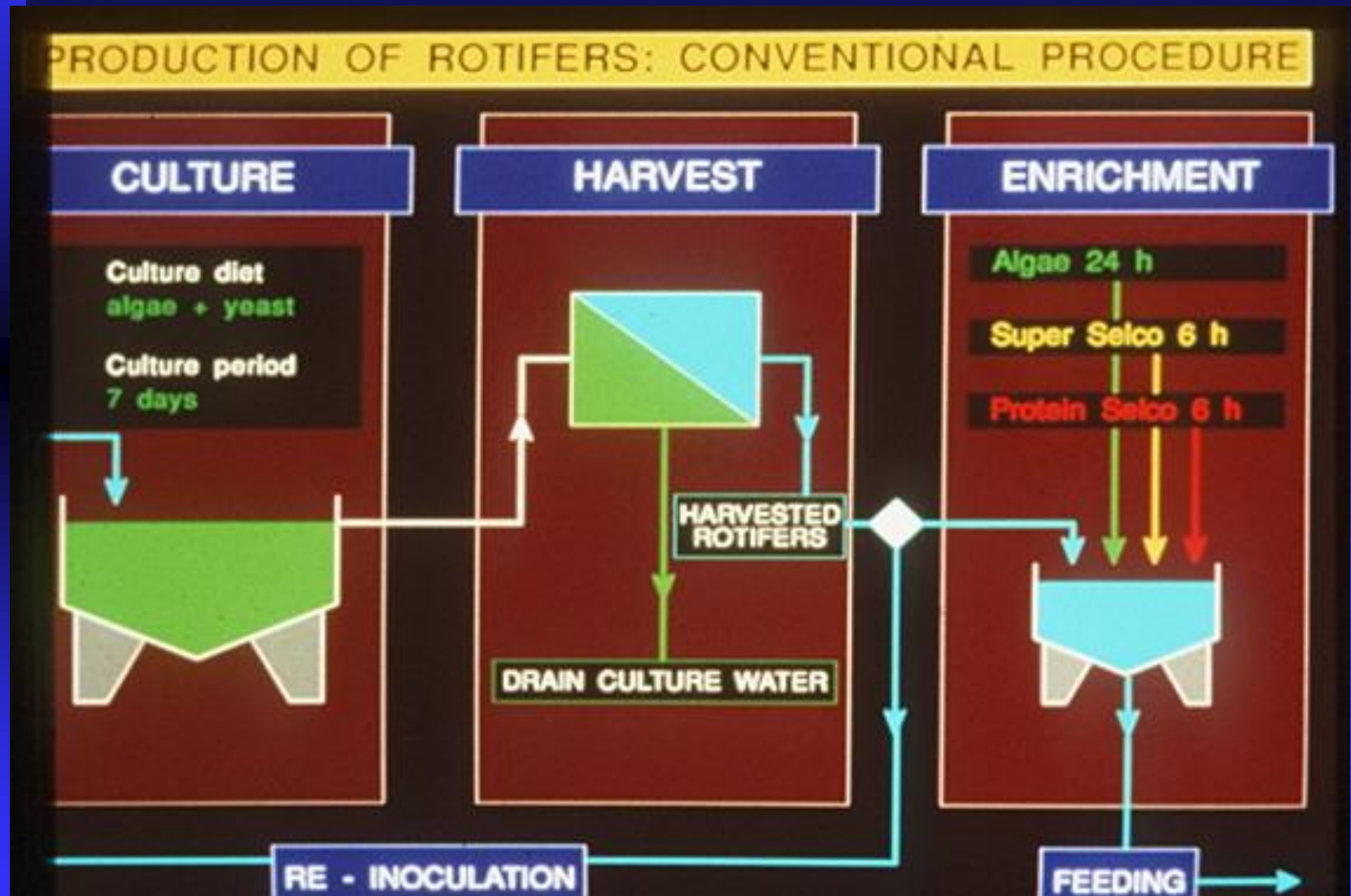
Brachionus plicatilis



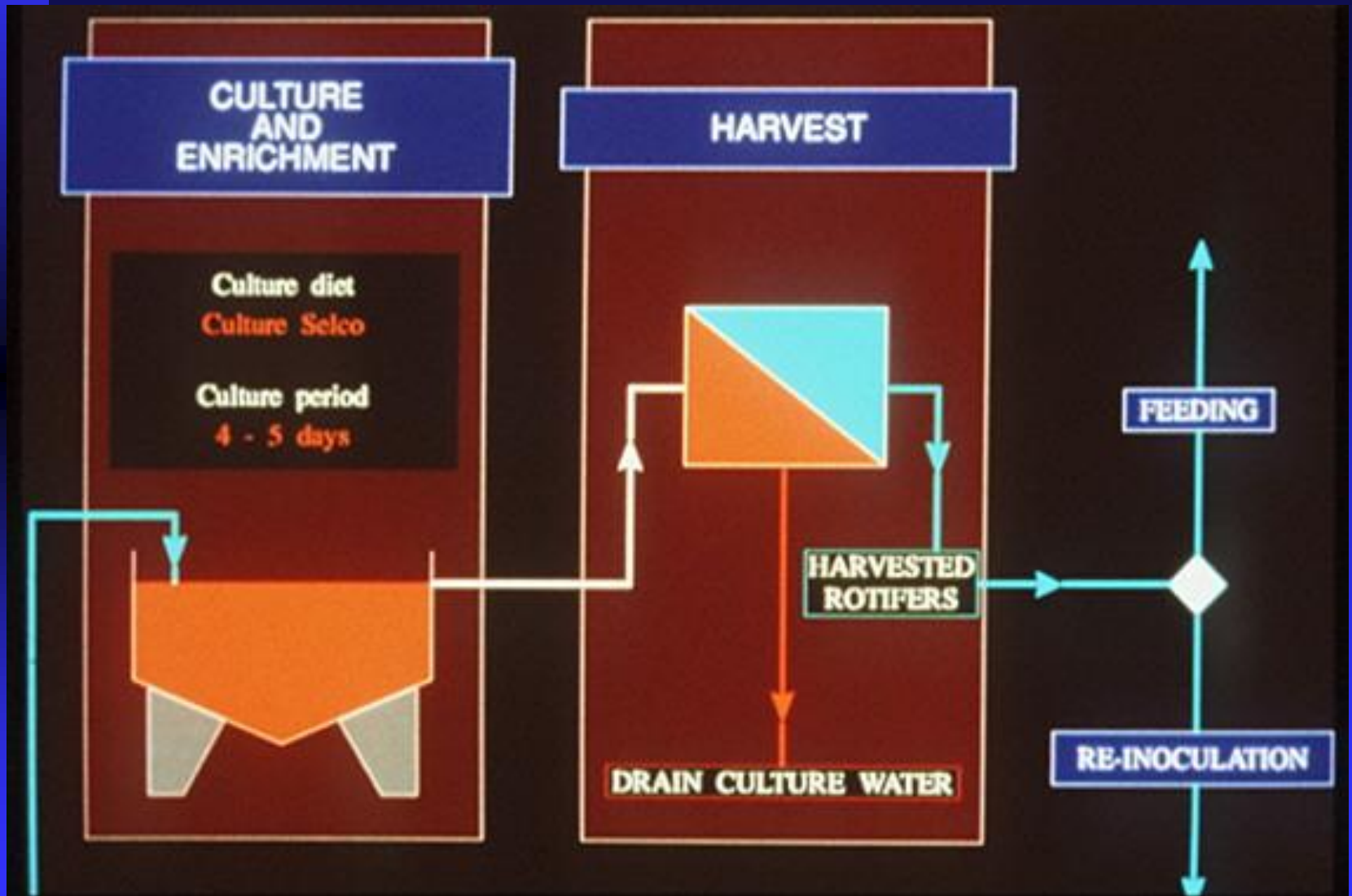
- C - coroa de cílios
- D - dedos ou apêndices aderentes
- E - estômago
- L - lórica
- M - mastax
- O - ovo
- P - pé
- Pe - pênis
- V - vesícula
- Vi - vitelo (ovário)



Cultivo Tradicional Rotiferos



Cultivo Enriquecido Rotíferos



CULTIVO DE COPÉPODOS



Copépo do Calanoideo

CULTIVO DE COPÉPODOS

- Mayor valor nutricional que artemias y rotíferos
- Perfil nutritivo satisface de mejor manera requerimientos de larvas marinas
- Se cree que contienen más altos niveles de enzimas digestivas que artemias
- Pueden ser administrados como: nauplios, copepoditos y copépodos
- Movimiento en zigzag es estímulo visual para muchas larvas de peces
- Especies bentónicas permanecen y limpian las paredes de los estanques

Calanoideos:

Acartia

Eurytemora

Calanus

Harpacticoideos:

Tisbe

Tigriopus

Tisbenta

Calidad nutricional de Zooplancton natural

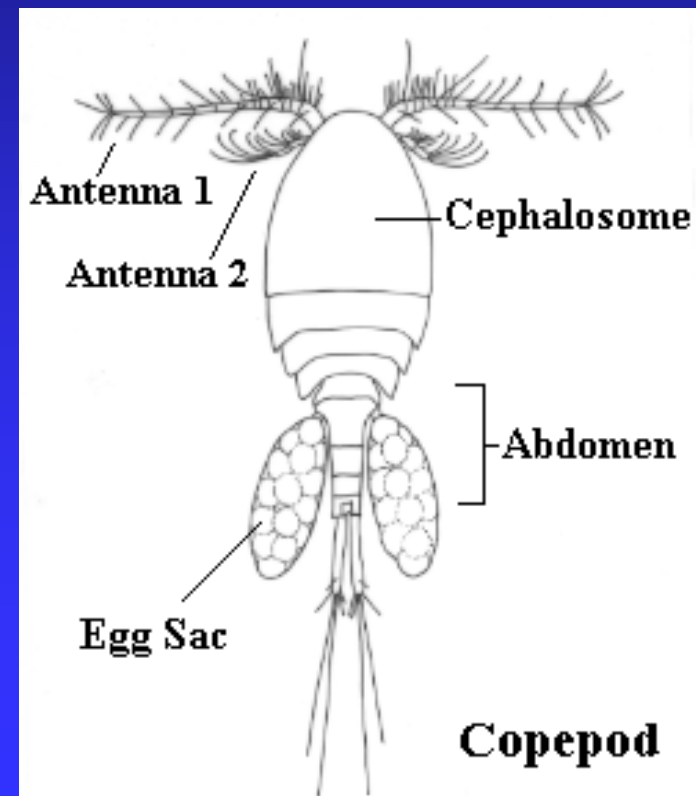
Composición de ácidos Grasos (% área del total de lípidos)

| Ác. Graso | Zooplancton | Artemia |
|----------------|-------------|---------|
| 18:3 n3 | 1,5 | 20,3 |
| 18:4 n3 | 1,5 | 2,3 |
| 20:5 n3 | 21,1 | 3,6 |
| 22:6 n3 | 32,9 | 0,2 |
| Sum n3 HUFA | 58,3 | 27,1 |
| Rel. DHA : EPA | 1,6 | 0,1 |

En el cultivo de Copépodos, la composición de HUFA varía considerablemente, reflejando la composición de ácidos grasos de la dieta utilizada en él.

Copepodos

- Cosechados directamente.
- Debilidad en metodología cultivo.
- Posible peligro contaminación.
- Buena calidad nutricional.
 - ◆ Principalmente HUFAs.
- Tamaño grande.



Perfil Lipidos *T. japonicus*

Fatty acid composition of total lipids, triglycerides (TG), polar lipids (PL) and free fatty acid fractions (FFA) in *T. japonicus* cultured on baker's yeast and

| FA | Bakers Yeast | | | Omega Yeast | | |
|---------|--------------|------|------|-------------|------|------|
| | TG | FFA | PL | TG | FFA | PL |
| 14:00 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 1.8 | 1.7 | 0.5 |
| 15:00 | 1.7 | 0.8 | 0.5 | 0.6 | 0.6 | 0.4 |
| 16:00 | 8.2 | 8.1 | 13.2 | 10.1 | 9.9 | 13.2 |
| 16:1n-7 | 22.3 | 12.8 | 3.2 | 7.2 | 6.6 | 2.3 |
| 18:00 | 0.8 | 2.1 | 6.6 | 1.3 | 2.5 | 6.8 |
| 18:1n-9 | 31.6 | 20.6 | 15.7 | 32.4 | 21.8 | 14.2 |
| 18:2n-6 | 2.9 | 2.4 | 2.2 | 1.4 | 1.7 | 1.2 |
| 18:3n-3 | 5.3 | 3.8 | 1.2 | 0.7 | 0.7 | 0.5 |
| 18:4n-3 | 0.8 | 0.8 | 2.3 | 11.5 | 5.6 | 3.7 |
| 20:01 | 0.8 | 0.8 | 2.3 | 11.5 | 5.6 | 3.7 |
| 20:4n-3 | 1.6 | 2 | 0.8 | 0.4 | 0.5 | 0.3 |
| 20:5n-3 | 2.9 | 13.1 | 8.1 | 3.2 | 7.9 | 6.4 |
| 22:01 | 0.7 | 0.5 | 0.1 | 5.9 | 3.3 | 2.2 |
| 22:5n-3 | 0.8 | 0.7 | 1 | 0.7 | 0.6 | 0.4 |
| 22:6n-3 | 5.2 | 16.8 | 33.2 | 15.8 | 26.2 | 38.8 |
| (n-3) | 10.5 | 32.6 | 43.1 | 20.1 | 35.2 | 45.9 |

Nematodos

- Especie usada: *Pangrellus redivivus*.
- Tamaño para larvas grandes 50 μ diametro. 1-2 mm largo.
- Bajo 20:5w3, bueno 22:6w3 y proteínas.
- Cultivado en harina humeda o machica.
- Se agrega levadura para evitar hongos.
- Permite enriquecimiento.
- Un poco sucio (difícil de limpiar).
- Se inocula +/- 10k / tarrina con machica.
- En 4 dias se cosecha de 300k a 500k.

Panagrelus redivivus

