# **Cuantificación de vacuolas de grasa en hepatopáncreas de *Penaeus vannamei* y relación de las mismas con crecimiento en tanques y en piscinas de cultivo comercial semi-intensivo.**

Fabrizio Marcillo Morla*, Xavier Cevallos O.

Empacadora Nacional.

Fax (593-4) 441752

Guayaquil, Ecuador.

## RESUMEN

Se realizaron pruebas para cuantificar las vacuolas de grasa en los hepatopáncreas de *Penaeus vannamei* mediante un índice de grasa (I.G.) entre 0 y 6, y determinar la relación de este con el crecimiento, con miras a tener un indicador del aprovechamiento del alimento, a fin de usarlo como ayuda para dosificar alimento balanceado en piscinas de producción semi-intensivas.

Para la primera fase se utilizaron 6 tanques de 1,000 l. con 14 camarones marcados individualmente en cada uno.
Los I.G. variaron desde 0 a 6 y los crecimientos promedios de -0.50 a 0.70 g. por semana.
La ecuación de regresión obtenida fue de $y=-0.6+0.2x$, en donde y es el crecimiento por semana y x el I.G., con un $r^2$ de 0.95.

La segunda fase se realizó en 6 piscinas comerciales de cultivo, sembradas con postlarvas provenientes del laboratorio Cridec.
Los promedios de I.G. variaron de 3.34 a 5.78, y los de crecimiento semanal de 0.06 a 1.24 g.
Se encontró diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$) para crecimientos entre I.G..
La ecuación de regresión obtenida fue $y=-1.39+0.43x$, con un $r^2$ de 0.74.

Se concluye que hay una buena relación entre I.G. y crecimiento, y se dan recomendaciones sobre posibles usos en sistemas comerciales para detectar niveles óptimos de alimentación.

# INTRODUCCION

Desde los inicios de la actividad camaronera en el Ecuador, esta ha aumentando considerablemente.
Así, el año pasado el area total de camaroneras en el país, fué de 145,998 hectareas, lo cual representa un aumento de un 24% con respecto a las 117,729 hectáreas existentes en 1987.

Debido a la inflación que azota a nuestro país, los costos de producción del camarón en cautiverio han aumentado paulatina pero considerablemente a lo largo de los años. Uno de los mayores rubros en cultivos semi-intensivos es el consumo de alimento balanceado, el cual se sitúa en alrededor del 30% del total de costos de producción.
Una muestra de la importancia del balanceado en la industria camaronera es la producción anual del mismo. Así en 1988 se produjeron y comercializaron 210,000 toneladas métricas de alimento balanceado para camarones. La producción de 1990 fué de 125,000 toneladas métricas, y la de 1991 136,000 toneladas métricas. Se espera que hasta fin del presente año se produzcan alrededor de 200,000 toneladas métricas (Daki, 1992).

La dosificación del alimento balanceado en las piscinas de engorde de camarón en el Ecuador se ha venido realizando desde el inicio de esta actividad en una forma combinada mediante el uso de tablas de alimentación y el criterio empírico, basándose principalmente en el crecimiento del camarón y en la conversión alimenticia.

Uso de sistemas para monitorear el consumo de balanceado en base a comederos han tenido éxito en pequeña escala, pero el mismo ha sido relativo en sistemas de gran tamaño.

El encontrar un método mediante el cual se pueda evaluar la alimentación de los camarones de forma fácil y rápida presentaría útiles aplicaciones.

La cantidad de lípidos en reserva es una medida de que tan bien se está alimentando un organismo.
Así, Gallager y Mann (1981), realizaron cuantificaciones de vacuolas de lípidos en larvas de bivalvos y encontraron relación de estas con el porcentaje de larvas completando la metamorfosis. Brock y Brooks, (1988) reportaron que los bajos contenidos de grasa en hepatopáncreas de *Macrobrachium rosembergii* son una señal de falta de alimentación relacionada con crecimientos pobres.
Villalón (1991) describe un método comparativo de evaluar la presencia de vacuolas lipídicas en camarones de piscina de engorde, e insinúa que la abundancia de las mismas se podría deber a que al alimentarse agresivamente, los camarones tienen suficiente cantidad de lípidos para guardarlos como reserva, cosa que no sucede en camarones con alimentación pobre.

Con miras a determinar una relación entre contenido de grasas y crecimiento se realizaron en la Camaronera Fafra de Empacadora Nacional (Cevallos, 1991), análisis del hepatopáncreas, calificándolo de acuerdo a su contenido de vacuolas de lípidos en 3 grados, pero por diversas fallas en el diseño del experimento, especialmente en la asignación de los grados para la evaluación, no se pudo determinar estadísticamente una relación.

Basados en estas experiencias se decidió realizar otros dos experimentos.

El objetivo de la primera fase fue el determinar la relación entre un índice de grasa (IG) evaluado microscópicamente y comparados con una escala fotografiada entre 0 y 6, y el crecimiento del camarón en ambiente controlado, con el objetivo de poder cuantificar la cantidad de alimento aprovechada por el mismo.

Para la segunda fase se utilizaron piscinas de cultivo comercial de sistema semi-intensivo, para ver la posibilidad de usar el mismo método en estos sistemas.

## MATERIALES Y METODOS

Los experimentos se los llevaron a cabo en la camaronera Fafra, ubicada en la parroquia Santa Rosa de Flandes del cantón Naranjal provincia del Guayas, de Marzo a Mayo de 1992.

Para la determinación del IG se tomaban camarones vivos recientemente capturados, los cuales eran mantenidos en baldes con aireación hasta el momento del análisis.
Se pesaba cada camarón individualmente, luego de lo cual se cortaba el cordón nervioso a la altura del primer segmento abdominal para inmovilizarlo. Seguidamente se hacía una incisión en la parte superior del cefalotorax para exponer el hepatopancreas y se tomaba una muestra de aproximadamente 0.01 cc. de tejido hepatopancreatico interior con un par de tijeras limpias, colocándola sobre una placa portaobjetos igualmente limpia y la cubríamos con una laminilla cubreobjetos de 22 x 22 mm., ejerciendo una ligera presión para lograr que la muestra se expanda hasta un diámetro aproximado de 1 cm..
Se observaba la muestra en un microscopio binocular a un aumento de 100X y se recomparaba su abundancia relativa en toda la muestra con una escala fotográfica entre 0 y 6.
Los índices de grasa usados constan en las fotos #1 a la #7, y su descripción es la siguiente:

IG 0: Túbulos hepatopancreáticos completamente vacios o casi vacios, menos de un 5% de su área llena con vacuolas.
IG 1: Túbulos con un 5 a 20% de su área llena con vacuolas.

IG 2: Túbulos con un 20 a 40% de su área llena con vacuolas.

IG 3: Túbulos con un 40 a 60% de su área llena con vacuolas.

IG 4: Túbulos con un 60 a 80% de su área llena con vacuolas.

IG 5: Túbulos con un 80 a 95% de su área llena con vacuolas.

IG 6: Túbulos completamente o casi completamente llenos, con mas de un 95% de su área llena con vacuolas.

Es importante no ejercer demasiada presión sobre el cubreobjetos al montar la muestra, ya que de lo contrario las vacuolas se regarán y será muy dificil realizar una calificación.

Se descartaron muestras de camarones en muda, debido a posibles influencias de esta en las reservas lipídicas de los animales.

El experimento constó de dos fases, la primera fase se la realizó en tanques para determinar si existía relación entre el crecimiento puntual y el IG también puntual en condiciones controladas. La segunda fase consistió en determinar la relación entre el IG promedio tomado en una muestra de camarones con el crecimiento semanal promedio de la misma, en piscinas comerciales.

La primera fase se desarrolló en seis tanques de 1,000 litros de capacidad cada uno sembrados con 14 camarones cada uno.

Los camarones usados provenían todos de la misma piscina, se encontraban en buenas condiciones de salud y tenían un peso promedio de 8.28 +/- 0.33 gramos al inicio del experimento.

Todos los camarones fueron marcados mediante cortes en sus urópodos y anillos en el pedúnculo ocular, y pesados individualmente, luego de lo cual se les aplicó un baño de 1 ppm. de verde de malaquita durante 10 minutos para evitar infecciones en los cortes.

Se asignó aleatoriamente una de tres raciones a cada tanque, siendo estas 0%, 5% y 10% de la biomasa por día de alimento de 35% de proteína y 6% de grasa fabricado comercialmente por Balanceados Nacionales C.A. (Banaca).

El agua usada durante todo el experimento fue filtrada con capuchones de 5 µ y desinfectada con 50 ppm de hipoclorito de calcio, siendo después neutralizada con tiosulfato de sodio.
Se aplicó aireación contínua a los tanques mediante piedras difusoras, y se recambió diariamente un 10% del volumen del agua.

Después de 7 días de aclimatación se sacaron los camarones y se los volvió a pesar. 7 días después se los volvió a cosechar y se los pesó, sacrificó y analizó su IG.

Se midieron diariamente oxígeno disuelto (OD.) y temperatura, los cuales no registraron diferencias significativas entre tanques ($\alpha$=0.05), siendo el promedio de OD. 5.75 +/- 0.15 mg./l. y de temperatura 27.23 +/- 0.10 °C ($\alpha$=0.05). La salinidad durante la prueba fue de 3 gr./l..

Para la segunda fase se tomaron 6 piscinas de producción de la misma camaronera, todas ellas estaban sembradas con postlarvas provenientes del laboratorio Cridec a una densidad entre 113.000 y 146.000 pl/Ha..

El peso promedio de las piscinas al comienzo del experimento fue de 8.15 +/- 0.64 gramos ($\alpha$=0.05), y la edad de todas ellas de alrededor

de 100 dias.
Los valores de densidad, peso promedio inicial y dias al comienzo del experimento se encuentran en la tabla # 1.

Semanalmente y durante 10 semanas se realizó el muestreo de crecimiento rutinario de la camaronera, realizando 16 lances de atarraya en los lados de las piscinas y 8 en el centro de las mismas, según el método descrito por Villalón, (1991).
De estos muestreos se tomaba una submuestra de 50 camarones los cuales eran pesados, sacrificados y calificados según el método ya descrito.

En caso de que el peso de la submuestra tomada tuviera diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) con respecto al muestreo del campo, se descartaban dichos datos.

Se calcularon así semanalmente y por piscinas los valores de IG promedio y crecimiento semanal.

Los datos de IG y crecimiento semanal fueron separados en 4 grupos: de IG 3 al 6. No se tuvieron muestras de los grupos 0, 1 y 2.

Diariamente se tomaron mediciones de temperatura, oxígeno disuelto, transparencia y porcentaje de recambio en cada piscina, cuyos promedios semanales aparecen en la tabla # 2.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera fase del experimento se encontraron diferencias ($\alpha$=0.05) en crecimientos promedios entre IG.

Los promedios de crecimiento para cada IG. los podemos encontrar en la tabla # 3.

La ecuación de la recta calculada fue:

$$y=-0.6+0.2x$$

En donde **y** es el crecimiento semanal y **x** es el índice de grasa IG.

Su representación gráfica aparece en la figura #1.

Este modelo tiene un buen ajuste hasta con $\alpha$=0.01, no existiendo desviaciones de la regresión lineal para $\alpha$=0.05. El $r^2$ calculado fue de 0.95.

Para el experimento en piscinas, los promedios de crecimiento para cada I.G. se encuentran en la tabla 4.

La ecuación de la recta calculada fue:

$$y=-1.39+0.43x$$

En donde **y** es el crecimiento semanal y **x** es el índice de grasa IG.

Su representación gráfica aparece en la figura #2.

Se encontraron diferencias significativas hasta para $\alpha$=0.01 para crecimientos entre grupos de IG., y hay un buen ajuste a nuestro modelo para $\alpha$=0.05. El $r^2$ calculado fue de 0.74.

Estadísticamente parece haber una relación entre el índice de grasas (IG) y el crecimiento, tanto en el experimento en piscinas como en el de los tanques.

Las diferencias existentes entre los crecimientos para cada IG (lo que repercute obviamente en sus ecuaciones) se presume que puede ser debido a la diferencia en densidad y condiciones existentes entre los tanques y las piscinas. Sin embargo, a pesar de tener diferentes valores de crecimiento, ambas ecuaciones tienen tendencia similar.

Debido a que en piscinas solo analizamos datos en los grupos de IG del 3 al 6, no se espera que nuestra ecuación sirva para predecir crecimientos para IG menores a 3, sin embargo se puede notar que para estos IG, el crecimiento se ve reducido debajo de los rangos óptimos.

Es importante hacer notar que en este experimento no se tomaron en cuenta otros factores como porcentajes de recambio de agua, muda o posibles patógenos que pudieran interferir en el crecimiento, ya que todas las piscinas se encontraban en similares condiciones, por lo que sería recomendable tener en cuenta estos al intentar utilizar este método en programas de producción.

En caso de querer aplicar este método para dosificar alimento, sería necesario graduar el mismo en base a pruebas para las condiciones propias de cada camaronera y utilizar estos datos para determinar el método de dosificación a usar.

El tamaño muestreal utilizado (N=50) para el experimento en piscinas fue adecuado para todos los muestreos. Sin embargo habría que ver si este tamaño se justificaría para usarlo en forma rutinaria, tanto por el tiempo como por la cantidad de producto necesario.

Con base en los resultados obtenidos se sugeriría usar un tamaño entre 20 y 30 camarones por muestra, lo cual es a la vez práctico y representativo para un error máximo de +/- 0.5 IG. ($\alpha$=0.05).

## REFERENCIAS


- **Cevallos X.(1991).** Comunicación Personal. Exportadora Fafra, Empacadora Nacional. Guayaquil, Ecuador.

- **Daki, L. 1992).** Comunicación Personal. Fábrica de Balanceados Vigor. Guayaquil, Ecuador.

- **Galager S., Mann R. (1991).** Lipid Specific Staining: A Visual Technique for Monitoring the Condition of Bivalve Larvae. in G.D. Pruder, C. Landgon and D. Conklin, editors. Proceedings of the Second International Conference on Aquaculture Nutrition: A Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. **pp. 432 - 433.**

- **Brock J., Brooks M. (1988).** Underfeeding of *Macrobrachium rosenbergii* in production ponds. in C.J. Sindermann and D.V. Lightner, editors. Disease Diagnosis and Control in North American Marine Acuaculture. Elsevier Publishing Co. NY., NY., USA. **pp. 169 - 172.**

- **Villalón J. (1991).** Practical Manual for Semi-intensive Comercial Production of Marine Shrimp. Texas A&M University Sea Grant College

Program. TAMU SG91-501. **pp. 28 - 93.**

## TABLA # 1

### CONDICIONES DE PISCINAS AL INICIO DEL EXPERIMENTO

| PISC. | DIAS | DENSIDAD | PESO PROMEDIO |
|---|---|---|---|
| A-3 | 94 | 129,985 | 8.60 +/- 0.40 |
| B-1 | 122 | 124,866 | 9.58 +/- 0.49 |
| B-3 | 122 | 146,566 | 7.60 +/- 0.37 |
| B-9 | 94 | 115,708 | 7.79 +/- 0.26 |
| B-10 | 94 | 114,240 | 7.82 +/- 0.39 |
| B-11 | 84 | 113,833 | 7.53 +/- 0.29 |
| GLOBAL | 102 | 124,200 | 8.15 +/- 0.64 |

## TABLA # 2

### PARAMETROS EN PISCINAS DURANTE EL EXPERIMENTO

| PISC. | OXIGENO | TEMPERATURA | TRANSPARENCIA | % RECAMBIO |
|---|---|---|---|---|
| A-3 | 4.37 +/- 0.15 | 28.61 +/- 0.13 | 34.91 +/- 1.46 | 8.58 +/- 0.98 |
| B-1 | 4.71 +/- 0.18 | 28.52 +/- 0.14 | 36.00 +/- 0.91 | 7.56 +/- 0.96 |
| B-3 | 4.65 +/- 0.16 | 28.51 +/- 0.17 | 31.64 +/- 1.48 | 6.28 +/- 0.85 |
| B-9 | 4.52 +/- 0.12 | 28.24 +/- 0.14 | 33.62 +/- 1.74 | 5.67 +/- 0.42 |
| B-10 | 4.55 +/- 0.15 | 28.31 +/- 0.16 | 32.67 +/- 1.53 | 5.32 +/- 0.45 |
| B-11 | 4.77 +/- 0.12 | 28.19 +/- 0.17 | 33.67 +/- 1.80 | 5.27 +/- 0.45 |
| GLOBAL | 4.60 | 28.40 | 33.75 | 6.45 |

## TABLA # 3

**RESULTADOS DEL EXPERIMENTO EN TANQUES**

| I.G. | CREC. MEDIO | VARIANZA | N |
|---|---|---|---|
| 0 | -0.50 | 0.00 | 1.00 |
| 1 | -0.39 | 0.16 | 14.00 |
| 2 | -0.35 | 0.10 | 6.00 |
| 3 | -0.02 | 0.40 | 6.00 |
| 4 | 0.29 | 0.06 | 31.00 |
| 5 | 0.33 | 0.08 | 16.00 |
| 6 | 0.70 | 0.02 | 2.00 |

## TABLA # 4

**RESULTADOS DEL EXPERIMENTO EN PISCINAS**

| I.G. MEDIO | CREC. MEDIO | VARIANZA | N |
|---|---|---|---|
| 3.34 | 0.06 | 0.03 | 6.00 |
| 4.20 | 0.42 | 0.03 | 15.00 |
| 5.14 | 0.80 | 0.04 | 17.00 |
| 5.78 | 1.24 | 0.02 | 7.00 |

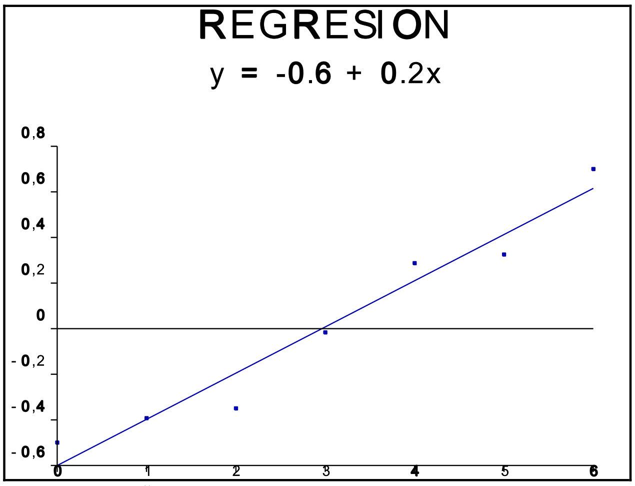

Figura # 1 resultados en tanques

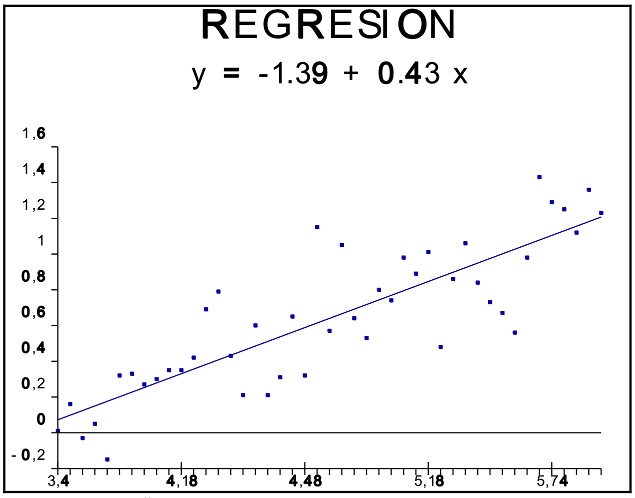

Figura # 2 Resultados en Piscinas