CENAIM INFORMA
Boletín Informativo Quincenal
15 de julio del 2001

Pruebas preliminares de evaluación para determinar la calidad de post-larvas de *Litopenaeus vannamei.*

El problema de encontrar un procedimiento fácil para evaluar la calidad de las post-larvas producidas en los laboratorios comerciales ha impulsado al desarrollo de pruebas de estrés, utilizando principalmente shocks de salinidad o de pH. Sin embargo, debido a que la respuesta al estrés osmótico o químico puede depender de la edad y del estado nutricional de la postlarva, no existe al momento una prueba estandar que permita identificar y cuantificar la calidad de las post-larvas.

Debido a que la resistencia al estrés varía con la edad, diferentes niveles del estresor pueden ser empleados para cada estadio de post-larva. Es así, que varios investigadores recomiendan el uso de post-larvas 12 (PL12) en adelante para las diversas pruebas, debido al incremento de su resistencia a bajas salinidades y a concentraciones de químicos. En este trabajo se evaluaron 4 potenciales indicadores de la calidad de post-larvas: estrés contra corriente, estrés osmótico (reducción de la salinidad), estrés con formaldehído, y una combinación de los dos últimos.

Metodología:

Se obtuvieron nauplios de tres laboratorios (orígenes) diferentes, los cuales fueron cultivados a 34 ups y a 31±1ºC, bajo el régimen de alimentación establecido en el CENAIM, el cual consiste en 7 especies de microalgas, rotíferos y *Artemia* enriquecidos como alimentación viva y una combinación de dietas artificiales. Desde Nauplio 5 (N5) hasta PL15 se administra probióticos (*Vibrio alginolyticus*) en reemplazo de los antibióticos.

La densidad utilizada para las pruebas fue de 100 PL 13-14. l^{-1}, seleccionadas al azar. Las pruebas de éstres fueron realizadas una hora después de la última dosis de alimentación. Se consideraron como animales muertos aquellos que no tenían movimiento al ser tocados con una varilla de vidrio de extremo no punzante. Cada prueba se realizó por triplicado. Los datos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA), cuando se encontraron diferencias entre las medias los datos fueron sometidos a un test de evaluación múltiple, Scheffé.

Estrés contra corriente:

El principio de esta prueba está basado en el comportamiento de las post-larvas a nadar en contra de una corriente, permitiendo diferenciar larvas débiles de larvas robustas. Naessens*, et.al.* 1996 diseñaron un sistema que consta de un tanque elevado de 40 litros el cual garantiza la salida del agua a una velocidad constante hacia un tubo de PVC dispuesto de forma horizontal y un tubo de PVC en forma de "Y" conectado en un extremo, por el que ingresan el flujo de agua y las post-larvas (figura 1). Para esta prueba se utilizó una corriente lineal con un flujo constante de 0.14 $l.seg^{-1}$. Se contabilizaron las larvas que no lograron permanecer dentro del tubo por más de 2 minutos.

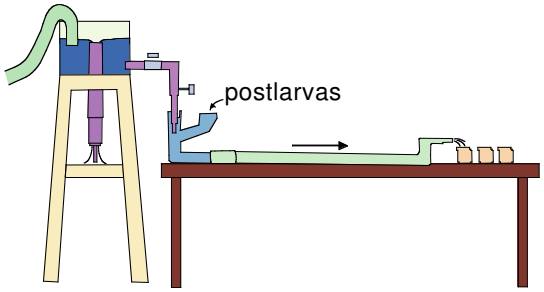

Figura 1. *Sistema empleado para la prueba de contra conrriente.*

Estrés con formaldehído:

Se utilizó una solución stock de formaldehído al 40% estabilizado con 10% de metanol. La concentración evaluada fue de 1200 ppm, recomendada por diferentes investigadores para este estadio. Después de una hora de exposición de las post-larvas a la solución estresora se procedió a evaluar la supervivencia de éstas.

Estrés osmótico:

Las post-larvas se colocaron en agua dulce por un período de 30 minutos, después del cual se regresaron a la salinidad de origen (agua de mar), esperando 30 minutos para contar las post-larvas sobrevivientes al estrés.

Combinación de formaldehído + estrés osmótico:

Se utilizó una combinación de dos estresores formaldehído y reducción de la salinidad. Se evaluaron dos combinaciones una con 1000 ppm + 10 ups y 1200 ppm + 15 ups, las cuales son recomendadas en un estudio realizado por Samocha *et.al.*, 1998. Las diferentes concentraciones de salinidad fueron preparadas diluyendo agua de mar filtrada con agua dulce y luego se le adicionó la concentración respectiva de formaldehído. Después de 1 y 2 horas de exposición de las post-larvas a la solución estresora se procedió a evaluar la supervivencia de éstas.

Resultados:

Los resultados obtenidos al aplicar las pruebas de evaluación a las post-larvas se demuestran en la tabla 1.

Tabla 1. *Porcentaje de supervivencia y resistencia a la contra corriente de post-larvas de Litopenaeus vannamei sometidas a los indicadores de calidad.*

Origen	Estrés Osmótico	Contra Corriente	Formaldehido 1200ppm
	1 hora	2 minutos	1 hora
Laboratorio 1	96.66± 1.15 aa	74.67± 7.23 bc	77.66± 1.53 ab
Laboratorio 2	92.33± 1.53 bb	95.33± 2.5 2 aa	55.66± 7.09 bc
Laboratorio 3	98.5± 0.71 aa	75.66± 4.51 bb	98.66± 0.58 aa

**Las letras subrayadas indican la diferencia estadística (p< 0.05) entre los diferentes indicadores.*

Los resultados indican que hubo diferencias significativas (p< 0.05) en cuánto al origen de las post-larvas así como también entre indicadores de calidad, encontrándose diferentes respuestas para cada prueba de evaluación.

Los resultados obtenidos con la prueba en la que se combinó el efecto de la solución de formaldehído y reducción de la salinidad se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. *Porcentaje de supervivencia de post-larvas de Litopenaeus vannamei sometidas a dos combinaciones de formaldehído + estrés osmótico.*

Origen	Formaldehido 1000ppm+10 ups		Formaldehido 1200 ppm + 15 ups	
	1 hora	2 horas	1 hora	2 horas
Laboratorio 1	72.66± 4.73 ba	71.33± 6.51 ba	82± 4.36 ba	57.33± 1.53 bb
Laboratorio 2	96.66± 0.58 aa	94.66± 2.08 aa	97.66± 0.58 aa	96 ±2.65 aa
Laboratorio 3	71.66± 8.39 ba	66 ±10 ba	87.66± 3.06 ba	85.6± 2.52 ba

** Las letras subrayadas indican que no hubo diferencias significativas(p>0.05) entre tiempos de exposición.*

Los resultados indican que hubo diferencias significativas (p< 0.05) entre los diferentes origenes, siendo las post-larvas de Laboratorio 2 significativamente más resistentes (p< 0.05) que la de los otros orígenes para las dos concentraciones evaluadas. Unicamente en el Laboratorio 1 se observó diferencias significativas (p< 0.05) para la supervivencia de las post-larvas entre los diferentes tiempos de exposición.

Se observa una similitud entre los resultados obtenidos para la prueba de corriente con la combinación de formaldehido y baja salinidad. Sin embargo, se requiere mayor investigación para observar si los resultados que arrojan las pruebas utilizando los dos indicadores mencionados son consistentes.

Trabajo realizado por Ing. Acui. Javier Santacruz, bajo la supervisión de María de Lourdes Cobo, M.Sc.