



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CAMPUS
IZTACALA**

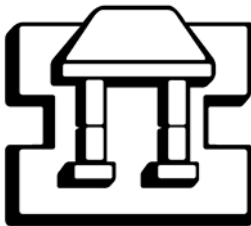
**“Efecto de dietas enriquecidas con vitaminas
A, D y E en alevines de *Poecilia reticulata*
(Guppy)”.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I O L O G O**

PRESENTA:

Saúl Salomón Esparza Vázquez

Director: M. en C. Mario Alfredo Fernández Araiza



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.

Mayo, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA.

A TODA MI FAMILIA.

Por su apoyo, comprensión y cariño.

A mi Padre Salomón Esparza Hernández que ha sido siempre un gran ejemplo de vida por su persistencia, comprensión y por sus consejos. A mi Madre María Del Carmen Vázquez Pérez por su amor y ternura. Que me han ayudado a ser cada día un mejor ser humano.

A mis hermanos Fernando, Eva y Noé, que aprecio y les agradezco su cariño y los buenos momentos que hemos vivido.

A mi esposa Suzette Elizabeth Rivera Salinas, por su comprensión, amor y apoyo en las épocas más difíciles y por estar siempre a mi lado.

A mi hijo Saúl Abraham Esparza Rivera, que es mi mayor orgullo.

**A toda mi familia: Abuelitas, tíos, primos y todas aquellas personas que han influido en mi forma de ser y ver la vida así como a los que ya no están en cuerpo
GRACIAS.**

AGRADECIMIENTOS

A mi Director de Tesis el M en C. Mario Alfredo Fernández Araiza, por sus claras enseñanzas, por ser una persona pulcra, por su apoyo en la realización de este trabajo, pero sobre por inculcarme con su ejemplo una formación ética y precisa de lo que debe de ser un buen Biólogo. Pero más, por su amistad.

A los sinodales encargados de enriquecer con sus comentarios este trabajo, como son:

La M en C. Alba Márquez por su comprensión, veracidad en sus observaciones y su calidad en el trato siendo que es una gran persona,

Dr. Luís Héctor Hernández H, por sus claras explicaciones, atinados comentarios y objetiva visión de la acuacultura.

Biólogo. Agustín vargas V, por sus finas anotaciones en cuanto al análisis estadístico y aplicación de conceptos.

Biólogo. Omar Ángeles L, por el apoyo en cuanto el manejo de la información y claras observaciones.

A todos y cada uno de los profesores que tuvieron que ver en mi formación como Biólogo pero sobre todo a la UNAM FES IZTACALA, por ser un semillero de excelentes profesionistas.

Al Colegio de Bachilleres.

A Salvador García M, por su amistad.

A TODA MI FAMILIA por estar en las duras y en las maduras.

ÍNDICE	PÁGINA
RESUMEN_____	6
INTRODUCCIÓN_____	12
OBJETIVOS_____	14
MATERIAL Y METODOS_____	15
RESULTADOS_____	19
DISCUSIÓN_____	24
CONCLUSIONES_____	29
REFERENCIAS_____	31
APÉNDICE_____	34

RESUMEN

En los últimos años se han intensificado las investigaciones en nutrición acuícola, para el mejoramiento de las dietas ofrecidas a los organismos, esto ha llevado a no solo ofrecer dietas balanceadas sino enriquecidas, agregando a la alimentación nutrientes esenciales, como las vitaminas liposolubles A, D y E, que por su propiedad de ser altamente antioxidantes, requieren de un manejo especial pues en periodos muy extensos de almacenamiento, humedad y contacto con la luz se pierden.

La crianza de las larvas de peces requiere de una alimentación óptima para lo cuál se implemento la utilización de técnicas de microencapsulación de vitaminas A, D y E.

Se plantearon tres grupos experimentales con el nombre de **Tratamiento (I) 1ml, Tratamiento (II) 0.1ml, Tratamiento (III) 0.01ml** de concentrado vitamínico y un grupo control **sin vitaminas** dando como resultado diferencias significativas en el **crecimiento Tratamiento (I) 3.949% / día, Tratamiento (II) 3.672% / día, Tratamiento (III) 3.675% / día y 2.245% / día, en el grupo control. La sobrevivencia fue de 90%, 83%, 73% y 60%** respectivamente.

Estos resultados nos muestran que las técnicas de microencapsulación son una alternativa viable para el cultivo de peces, aunque es importante recalcar que el necesario más investigación que complementa la información hasta ahora obtenida.

“Efecto de dietas enriquecidas con vitaminas A, D y E en alevines de *Poecilia reticulata* (Guppy)”.

INTRODUCCION

En la actualidad el cultivo de peces ha adquirido mayor importancia, por lo que la acuicultura, cuyos métodos y técnicas son aplicadas para el manejo y el control total o parcial de los cuerpos de agua, busca un equilibrio entre los factores que inciden en la producción, como son la calidad del agua ($^{\circ}$ T, pH, alcalinidad, dureza, niveles de NO_3 - NO_2 y NH_4 - NH_3), así como **la sanidad** y la **nutrición** de los organismos cultivados (Bardach *et al.*, 1986) y en algunos casos un equilibrio ecológico a través de la fertilización orgánica o inorgánica para promover la productividad y el crecimiento adecuado del plancton. Este último es una alternativa alimenticia importante para los piscicultores ya que es poco exigente en alimentación y presenta grandes posibilidades para su cultivo (Bernabé, 1991).

El interés en la nutrición de peces se ha incrementado en las últimas dos décadas debido al aumento global de la producción en acuicultura. Sin embargo, la formulación de dietas está basada en la información de los requerimientos nutricionales generales, más no particulares de cada especie, lo que repercute en la producción, ya que el estado nutricional de los organismos es un factor que determina el crecimiento y la resistencia a las enfermedades, por lo que es primordial la elaboración de dietas específicas para el crecimiento y supervivencia de cada especie. (Waagbo 1997; Lall, 2000).

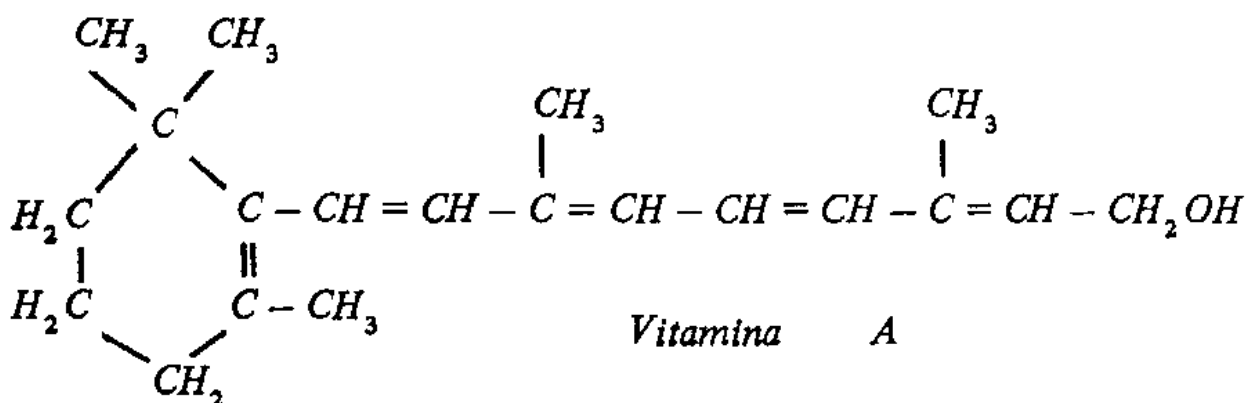
El periodo más crítico de su desarrollo es el estado larval, debido a que los peces no tienen un estómago funcional; es por eso que en los últimos años se ha puesto considerable atención en la elaboración de técnicas que proporcionen a las larvas de

peces un mayor número de nutrientes. Una de estas es la utilización de bioencapsulados, mismos que son pequeñas esferas que contienen grenetina - goma arábica y ácido oléico como pared externa, utilizando una presa viva (artemia) como vehículo, como mecanismo para aumentar la oferta de nutrientes esenciales, aspecto que repercute en un aumento del crecimiento y la sobrevivencia. Sin embargo, la situación no es sencilla, ya que se debe de ofrecer un alimento capaz de degradarse en el tubo digestivo y ser absorbido por la larva del pez. (Yasuhiro *et al.*, 2003).

Entre los nutrientes esenciales que deben estar presentes en la dieta de los peces tenemos las vitaminas liposolubles A, D, y E. Cada una de estas tiene funciones específicas como:

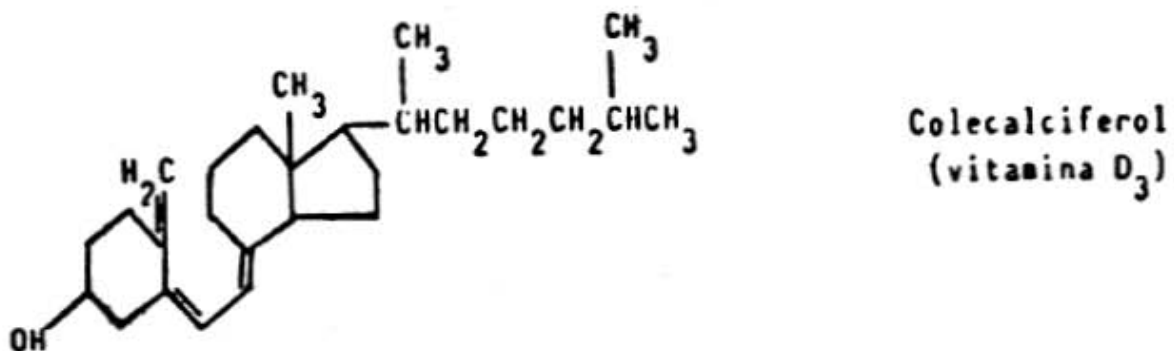
Vitamina A (Retinol): Desempeña un papel fundamental para el curso normal del crecimiento de los animales jóvenes en la formación de huesos, juega un papel muy importante en el proceso de visión para la adaptación a la oscuridad y es esencial como protector de epitelios (formación de moco por polisacáridos). Cuando se acusa una carencia de él, las mucosas se resecan y los organismos se encuentran propensos a infecciones bacterianas o infestación por parásitos (Hilton, 1989).

Estructura:



Vitamina D (Colecalciferol): Juega un papel esencial en el metabolismo del calcio y fósforo en los peces. En particular, el colecalciferol es requerido para la absorción del calcio a partir del tracto gastrointestinal y para la calcificación del tejido óseo durante el crecimiento. Antes que el colecalciferol pueda realizar estas funciones metabólicas, primeramente es convertido en el hígado a 25-hidroxicalciferol (25-HCC), el cual a su vez es convertido a la forma fisiológicamente activa 1,25-dihidroxicalciferol (1,25-DHCC) en el riñón. Es el 1,25-DHCC el que actúa en el tejido respectivo y es responsable de la síntesis de la proteína ligante del calcio en las células epiteliales intestinales. Otras funciones que se le han adscrito al 1,25-DHCC incluyen: la conversión de fósforo orgánico a fósforo inorgánico en huesos., la reabsorción del fosfato y aminoácidos de los túbulos renales, el mantenimiento de los niveles de calcio en sangre y de la depositación y oxidación del citrato en huesos. (Gerald, 1998)

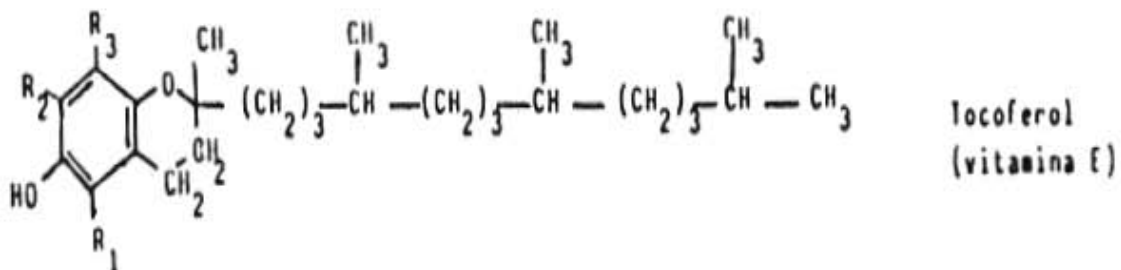
Estructura:



Vitamina E: Es importante en la replicación del DNA y la fosforilación de la cadena respiratoria, así como en el metabolismo de los carbohidratos y de las grasas. Brinda protección a los organelos celulares protegiéndolos de los radicales libres. (Burton y Trabor, 1990).

Normalmente la producción de radicales libres es controlada por un complejo mecanismo bioquímico que comprende Manganese, Cobre/Zinc y es dependiente de la superóxido dismutasa; sin embargo, bajo ciertas condiciones la generación de radicales libres puede producirse sin parar, lo puede conducir a los radicales libres a iniciar una reacción en cadena de peroxidación de lípidos y de los ácidos grasos de la membrana plasmática fosfolipídica y una ruptura de la función celular. La vitamina E actúa como una segunda línea de defensa que previene la proliferación de reacciones en cadena de radicales libres (Sies *et al.*, 1992). Es un antioxidante natural que desarrolla acción protectora de los lípidos. Las necesidades de vitamina E son mayores cuanto más ácidos grasos haya en la dieta y participa a través del sistema diencéfalo-hipofisiario en la síntesis y el vertido de la hormonas gonadotropas (Hunt *et al.*, 1980).

Estructura:



Este tipo de vitaminas son altamente sensibles a los factores ambientales, que estimulan su oxidación y su descomposición por medio de luz, humedad, presencia de aire y calor que afecta las concentraciones de dichas vitaminas, además que al encontrarse presentes en alimentos que tienen largos periodos de almacenamiento se pierden por alguno de los factores antes citados (Hepeher, 1993).

El requerimiento y la disponibilidad de las distintas vitaminas se ve afectado por la interacción entre ellas y con ciertos aminoácidos y minerales presentes en la dieta. La mayoría de las relaciones consideradas hasta hoy, ya sea entre las vitaminas mismas en la dieta o entre estas y los aminoácidos o minerales se han estudiado muy poco en los peces (Hepher, 1993).

Las vitaminas se encuentran en bastantes alimentos, pero algunas veces están unidas a distintos compuestos, formando una variedad de macromoléculas que son menos aprovechables para los animales (Zintzen, 1972; Gatta, 2000). Los peces consumen alimentos que en su mayoría contienen cereales ricos en vitaminas hidrosolubles y poca o nula cantidad de harina de pescado o ingredientes de origen animal lo que da como resultado un aporte muy pobre de vitaminas liposolubles, las cuales son esenciales como la A, D, E, y K. (Hepher, 1993).

Por otro lado, la elaboración de microcapsulas se ha implementado como una medida de protección de los nutrientes para evitar las pérdidas sufridas cuando se encuentran en interacción con otros, ya que el aporte de estos a la dieta de los peces es importante. Por tanto, es una alternativa para mejorar el crecimiento, considerando que las microcapsulas sirven para proteger de la oxidación y la contaminación al material encapsulado. Las cápsulas deben ser rotas mecánicamente para permitir que el contenido sea ingerido.

ANTECEDENTES

En estudios con ciprínidos, Aoe y otros (1974), encontraron que la ausencia de vitamina A en peces jóvenes retrasó el crecimiento y propició palidez en filamentos branquiales, hemorragias en piel y aletas, deformación de los opérculos branquiales y exoftalmia. En ejemplares de carpa dorada detectaron hemorragias en ojos, exoftalmia, desprendimiento de escamas y deficiente digestión del alimento, así como una alta mortalidad, además de que fue común la presencia de ectoparásitos en los peces.

En investigaciones con el lenguado japonés (*Paralichthys olimieus*) en etapa reproductiva y de eclosión se observó que los organismos alimentados con vitamina A tuvieron un mayor porcentaje de huevos desovados y estos al eclosionar tenían un alto índice de supervivencia y no presentaban anomalías morfológicas, contrario a lo sucedido con los organismos cuya dieta carecía de vitamina A (Furuita, 1996).

En otros estudios con el lenguado japonés se observó que adicionando vitamina A por medio de enriquecimiento con *Artemia* (bioencapsulados) se disminuyó la anomalía en el color y la malformación en las larvas y sugieren que se muestra un crecimiento óptimo (Takeuchi, 1995).

En carpas, la ausencia de vitamina E durante 90 días provoca distrofia muscular, se registra un descenso de la miosina y la actinmiosina (Watanabe, 1977). También se observa una disminución en el crecimiento, deficiente aprovechamiento del alimento, hipofunción de los islotes de Langerhans y de la hipófisis registrándose un alto contenido de proteína sérica (Aoe *et al.*, 1974).

La carencia de vitamina E en carpas provocó una mayor proporción de agua que de proteína en músculos y redujo el nivel de ácido linoléico en la grasa de todos los tejidos, evidenciando su influencia sobre el sistema hipófisis-ovario y el importante papel que tiene en la reproducción. (Watanabe *et al.*, 1981).

En róbalo, en ausencia de vitamina E se observaron síntomas severos como coloración oscura, piel ulcerada, letargo, anorexia, lesiones hepáticas, pancreatitis y degeneración muscular (Baudin, 1989).

La adición de vitamina E en la dieta de peces reduce el estrés y la disminución de enfermedades debido al incremento de glóbulos blancos que evitan la inmunodepresión, además de una mayor asimilación del alimento aumentando el crecimiento (Dhert, 1998, Sahoo *et al.*, 2002).

En trucha arcoiris a las cuales se les retiro todo vestigio de vitamina E en la dieta se evidencia la reducción del crecimiento y altas tasas de mortalidad, caso contrario al administrar grandes cantidades de esta misma, caso en el que se observó el mismo comportamiento (Ndoye, 1998).

Las enzimas presentes en *Artemia franciscana* contribuyen a la digestión del alimento, es por ello que se utiliza como vector de las microcápsulas porque facilita la digestibilidad y asimilación de las vitaminas.

JUSTIFICACIÓN

En los primeros estadios del desarrollo, los peces son más susceptibles a los cambios en la calidad del agua, así como a las enfermedades, lo que influye directamente en su crecimiento, por lo que es en esta etapa cuando se debe prestar principal atención en proporcionar al organismo los nutrientes necesarios para mantener una condición fisiológica estable y estimular el sistema inmune para que este sea lo suficiente maduro para responder a cambios de la calidad del agua o enfermedades. Es por eso que es necesario proporcionar a los organismos alimentos enriquecidos para lograr un excelente desarrollo en su vida futura, traduciéndose en un crecimiento adecuado y mayor resistencia a las enfermedades.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el efecto de microencapsulados suministrados a través de *Artemia franciscana* en el crecimiento de crías de *Poecilia reticulata* (Guppy).

Objetivos Particulares

- Desarrollar y evaluar tres técnicas de microencapsulados.
- Elaborar microencapsulados con vitamina A, D y E utilizando como vehículo *Artemia franciscana*.
- Estimar la tasa de crecimiento de crías de *Poecilia reticulata*.

MATERIAL Y METODOS

Para el cumplimiento de los objetivos, se desarrollaron las siguientes actividades:

1. Obtención de nauplios de *Artemia*.

Se utilizaron quistes comerciales de *Artemia franciscana* de la marca Great Salt Lake, UT, USA., los que fueron descapsulados de acuerdo a la técnica de Sorgeloos *et al* (1986) y Léger (1987). Los nauplio obtenidos, se mantuvieron en 6 peceras de 4 L cada una a 26° C de temperatura, salinidad de 26 ‰ y aireación constante.

2. Encapsulamiento.

2.1 Métodos de microencapsulado.

Se evaluaron tres técnicas para el enriquecimiento de la *Artemia*, dos de ellas utilizando mezclas con dos diferentes agentes microencapsulantes y una de manera directa, mismas que se describen a continuación:

I.- Grenetina- Goma arábica y ácido oleíco

Se elaboraron microcápsulas utilizando 2 ml de una solución de grenetina y goma arábica al 10%, con 1, 0.1 y 0.01ml del concentrado vitamínico y 2 ml de ácido oléico en 40 ml de agua destilada a una temperatura de 50° C que se mezclaron en una licuadora durante 5min, agregando 60 ml de agua destilada a 50° C; después se aforó con agua destilada a 0° C hasta llegar a 150 ml. Las microcapsulas se conservaron en un refrigerador para su posterior uso en la *Artemia*. Los microencapsulados se realizaron en vasos de precipitado de 200 ml a una densidad de 100 org/ml. Modificado de Yasuhiro, 2004.

II.- Goma arábica- ácido oléico

Se elaboraron microcápsulas utilizando 2 ml de una solución de goma arábica al 10%, con 1, 0.1 y 0.01 ml del concentrado vitamínico y 2 ml de ácido oléico en 40 ml de agua destilada a una temperatura de 50° C mezclando en una licuadora durante 5 minutos; al producto se le agregaron 60 ml de agua destilada a 50° C, después se aforó con agua destilada a 0° C hasta llegar a 150ml. las microcapsulas se conservaron en un refrigerador para su uso posterior en la *Artemia*. Los microencapsulados se realizaron en vasos de precipitado de 200 ml a una densidad de 100org/ml. (Yasuhiro, 2004).

III.- Enriquecimiento directo

Se elaboraron las microcapsulas a base de 5 ml de ácido oleico esta se le agregan 1 g de albúmina (emulsificante), con 1 ml del concentrado vitamínico y se mezclan con 100 ml de agua destilada en una batidora durante 3 minutos. Este se agrega al tanque de enriquecimiento a una concentración de 1.75 ml por litro de agua. La proporción de los nauplios fue de 100,000 org/itro.

2.2. Selección de la técnica de microencapsulado.

Se evaluaron las 3 técnicas descritas anteriormente para seleccionar la más adecuada en el diseño experimental de este proyecto, de acuerdo a las siguientes variables:

- a) % de Enriquecimiento con base en la superficie corporal impregnada con microcapsulas.

Porcentaje de encapsulado (%) en <i>Artemia franciscana</i> ,				
Porcentaje de Encapsulado / técnica (%)	Tiempo (hrs)			
	1	2	3	4
Técnica I	33	66	100	100
Técnica II	33	66	66	100
Técnica III	33	66	66	66

b) Concentración de nitritos (NO₂) y (NH₃) en el medio de enriquecimiento

Concentración de NH₃ y NO₂ (mg/L) con diferentes técnicas y tiempos.				
Concentración de NH₃ y NO₂ (mg/L)	Tiempo			
	1	2	3	4
Técnica I	0	0	0.25	0.25
Técnica II	0	0.25	1.5	1.5
Técnica	0	1.5	1.5	3.0

c) Porcentaje de Supervivencia

Porcentaje de supervivencia (%) de Artemia					
Porcentaje (%)	Tiempo				
	0	1	2	3	4
Técnica I	100	98	96	96	96
Técnica II	100	90	90	83	80
Técnica III	100	83	80	72	65

d) Estabilidad de las microcápsulas en el agua con respecto al tiempo

Tiempo de estabilidad de las microcápsulas				
	Tiempo de estabilidad (Días)			
	1	2	3	4
Técnica I	++	++	++	++
Técnica II	++	++	--	--
Técnica III	++	--	--	--

3. Aclimatación y Mantenimiento de organismos experimentales.

Se utilizaron 120 peces obtenidos de una granja de producción de peces de ornato los cuales, en el momento de ser adquiridos, tenían una edad de 3 días. Se colocaron en una pecera de 80 litros la cual se preparo previamente a una temperatura de $26 \pm 1^{\circ} \text{C}$ con pH de 7.0 y aireación constante. Se aclimataron por un periodo 5 días.

4. Evaluación de microencapsulados

Al inicio del experimento los peces tuvieron un peso promedio de 0.027 g registrado con una balanza analítica marca Ainsworth, sensibilidad de .0001g, y se distribuyeron de forma aleatoria para tener un diseño experimental con cuatro grupos, cada uno por triplicado en 12 peceras, colocando en cada una de ellas 10 organismos. Cada grupo correspondía a una concentración de vitamina diferente: Técnica (I) alimento vivo con 1 ml de concentrado vitamínico A 50UI, D 7.5UI y E 0.5 mg. Técnica (II) alimento vivo con 0.01ml de concentrado vitamínico A 5.0UI, D .75UI y E.05 mg. Técnica (III) alimento vivo con 0.001ml de concentrado vitamínico A .50UI, D .075UI y E.005mg y (IV) alimento vivo sin vitamina. El tiempo de experimentación fue de 36 días.

Prueba de Alimentación

Diariamente se aplicó en cada una de las peceras alimento en raciones correspondientes al 10 % de la biomasa total. La cantidad de alimento está en base seca, se hicieron recambios diarios de agua del 10% para eliminar desechos orgánicos de los recipientes. Se hizo un monitoreo diario para registrar los casos de mortalidad de organismos. Cada 12 días se registró el peso de los organismos, para ello, cada unidad experimental se pesó en su totalidad.

5. Análisis Estadístico

Los datos obtenidos se analizaron a través de gráficas y tablas para determinar la tendencia de los mismos y establecer el modelo de crecimiento. También se analizaron la mortalidad, la cual se representa en porcentaje en tablas y graficas. Los datos de crecimiento fueron analizados con un ANOVA simple y las diferencias significativas entre los tratamientos fueron evaluadas con una prueba de Tukey –Karmer con un error del 5% ($P < 0.05$) para cada una de las comparaciones.

RESULTADOS

Obtención de nauplios de *Artemia*.

La eficiencia de eclosión de los quistes utilizados, fue del 98%, misma que se logro a las 20 horas. Las larvas nauplio fueron utilizadas después de 6 horas de eclosionadas, cuando presentaban movimientos en los apéndices locomotores y la boca y el ano funcionales.

Encapsulamiento.

La técnica de microencapsulado seleccionada fue la que utiliza la mezcla de grenetina, goma arábica y ácido oleico, ya que fue la que mejores resultados tuvo, de acuerdo a las variables planteadas, como son, el 100% de encapsulamiento a las 3 horas, la menor concentración nitrogenada permitida para invertebrados (0.25 mg/L), el 96 % de sobrevivencia las nauplios de *Artemia*, así como el mayor tiempo de estabilidad.

Crecimiento de crías de *Poecilia reticulata*

En la Tabla 1 se presentan los datos de peso inicial y final, la ganancia en peso y la tasa específica de crecimiento

Tabla1. Peso inicial, final, ganancia en peso y tasa específica de crecimiento de <i>P. reticulata</i> alimentado con microencapsulados con diferentes concentraciones de vitamina				
Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Ganancia en peso (%)	Tasa específica de crecimiento (%/día)
1ml de vitamina	0.2708	1.13222	317.655	3.949
0.1ml de vitamina	.02676	1.00546	275.575	3.672
0.01ml de vitamina	0.2664	1.00088	275.877	3.675

Sin vitamina (control)	0.2669	0.60027	125.217	2.245
-------------------------------	---------------	----------------	----------------	--------------

Las diferencias en el crecimiento de los grupos C1, C2 y C3 (experimentales) con el grupo C4 (control) son significativas, los peces del grupo C1 mostraron el mayor índice de crecimiento del trabajo experimental.

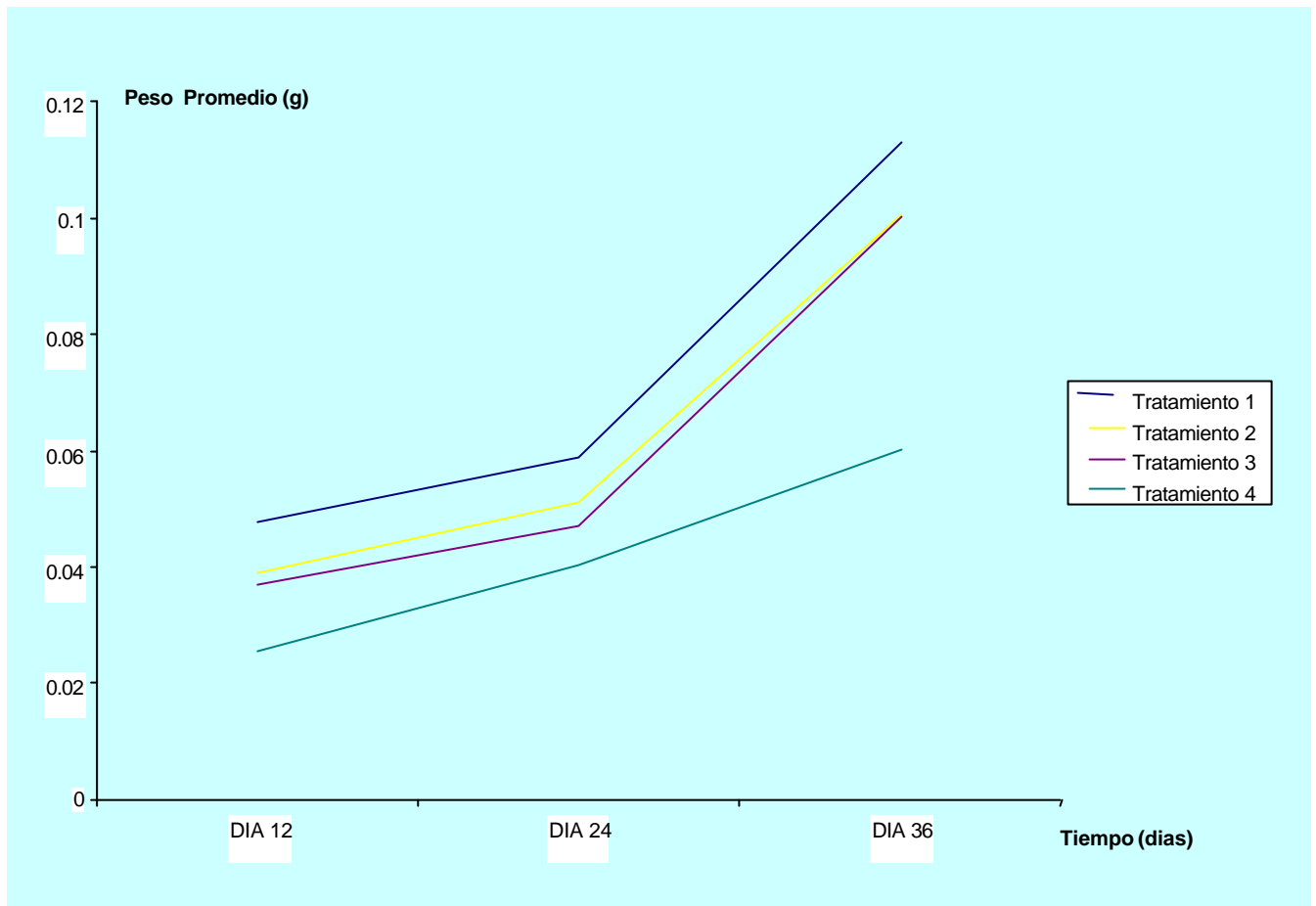
2. Tasa Específica de Crecimiento (TEC)

La TEC, que es el crecimiento diario promedio expresado como porcentaje, arroja que los datos sobre las mediciones periódicas del peso en los peces del grupo C1 que obtuvieron una TEC mayor a los grupos C2 y C3 , pero significativamente mayor al grupo control.

3. Ganancia en peso y peso final

En la Gráfica 1 puede verse que los promedios en ganancia en peso y peso final de los grupos experimentales es significativamente alto en comparación con el grupo control (sin vitamina). Los datos proporcionados indican que el grupo C1 es el que presentó mayor asimilación.

De acuerdo a la información colectada, la tabla nos muestra diferencias significativas en cuanto al crecimiento de los peces en sus distintas modalidades (Tasa Especifica de Crecimiento, Ganancia en Peso y Peso Final), dando resultado que el grupo experimental C1, es el más eficiente en cuanto al aprovechamiento de los nutrientes del alimento por la adición de la mayor cantidad de vitaminas sin sobrepasar los límites.



Gráfica 2. Crecimiento promedio de *Poecilia reticulata* con diferentes concentraciones de vitamina.

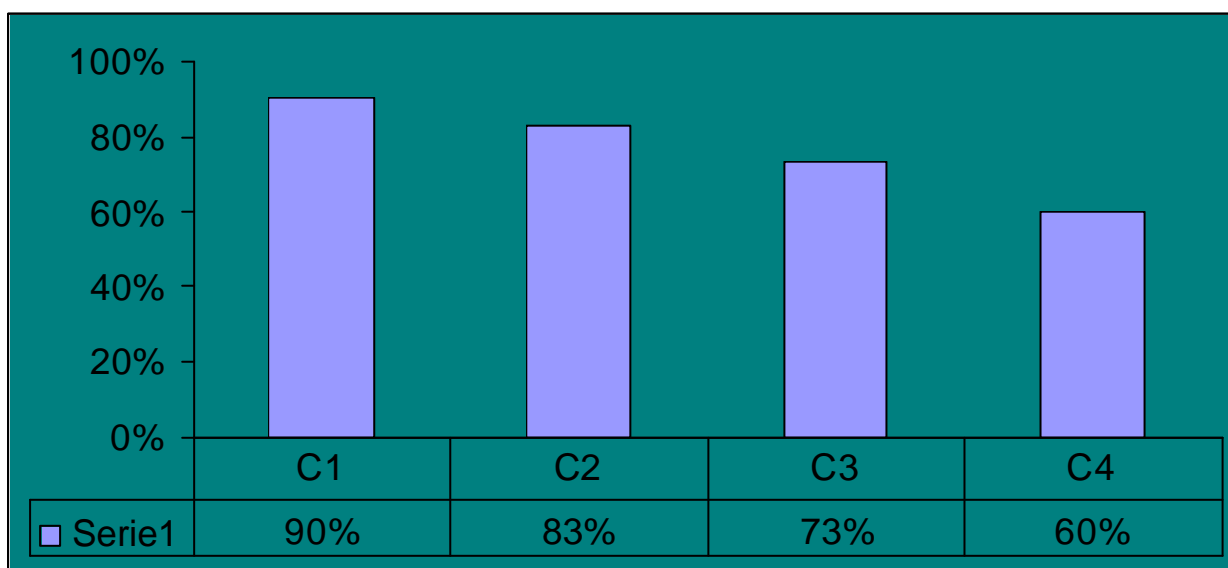
4. Supervivencia

En lo que respecta a la supervivencia, podemos observar en la Tabla 2 que el índice de supervivencia de los grupos experimentales fue significativamente mayor al grupo

control. Cabe mencionar que el grupo con 1 ml de concentrado vitamínico presenta un menor índice de mortalidad.

Tabla 2. Porcentaje de sobrevivencia por cada grupo experimental

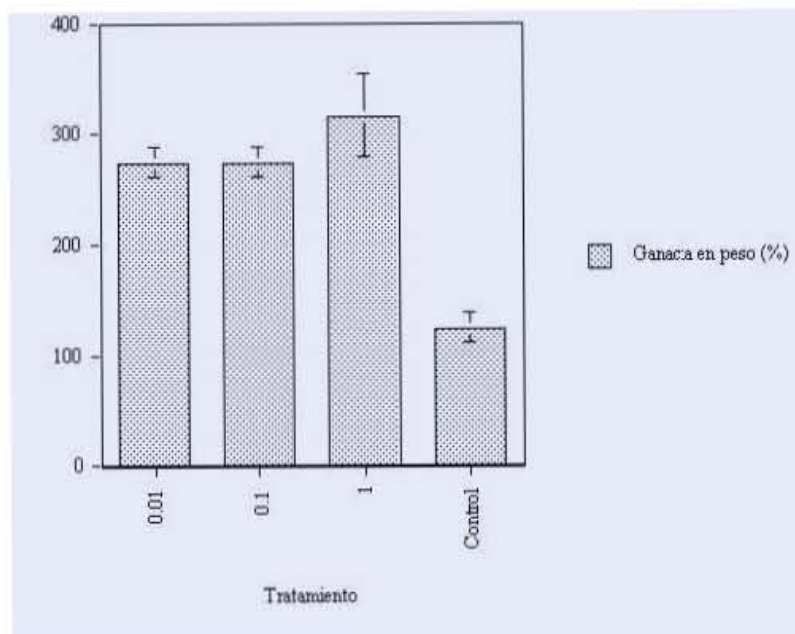
Tratamiento	% de Sobrevivencia
T (I)	90
T (II)	83
T (III)	73
Concentración (4) sin vitamina control	60



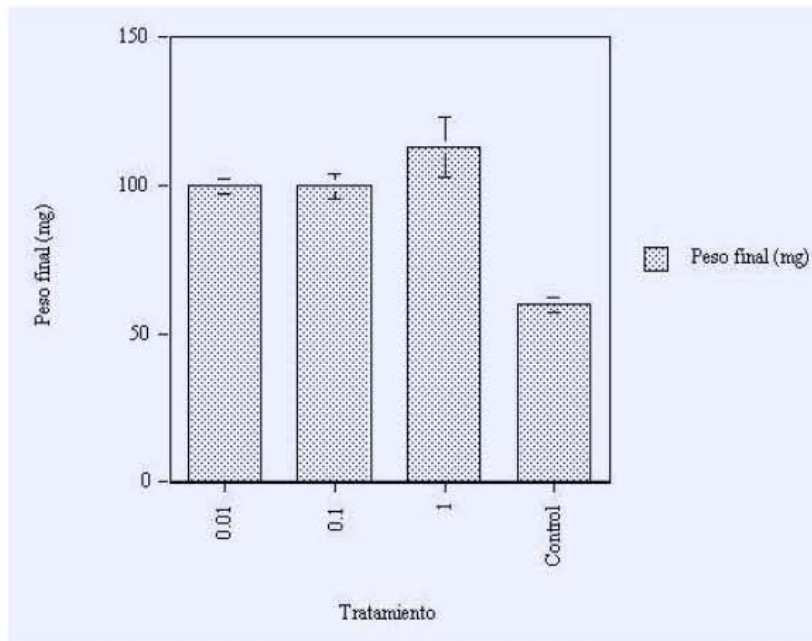
Grafica de Sobrevivencia

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

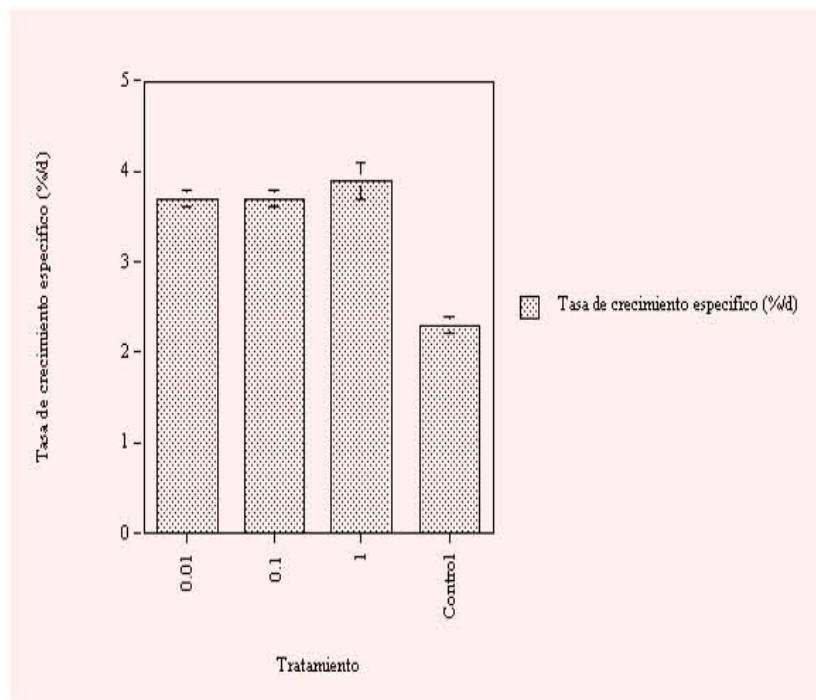
Los presentes datos fueron analizados utilizando ANOVA de una ruta, Tukey- Kramer, con una prueba de significancia de ($P < 0.05$), arrojando los siguientes resultados:



Ganancia en peso 1 de los tratamientos experimentales y el control.



Peso final (mg) de los tratamientos experimentales y el control.



Tasa de crecimiento específico (%/d) de los tratamientos experimentales y el control.

DISCUSIÓN

En los datos presentados en la Tabla 1, observamos las diferencias que hubo en los distintos tratamientos. Como ejemplo, el grupo al que se le agregó 1 ml de concentrado vitamínico (C1) presentó una ganancia en peso casi del triple que el grupo control. En lo que respecta a los otros grupos experimentales (C2, C3), estos arrojaron datos que indican que al ir aumentando la cantidad de vitamina se observa una mayor ganancia en cuanto al peso, hasta llegar a 1 ml de concentrado vitamínico como tope para no provocar hipervitaminosis, que causaría un detrimento en el crecimiento.

En cuanto al **peso final** y **la tasa específica de crecimiento**, podemos observar que los grupos experimentales en contraste con el grupo control exhibieron diferencias significativas.

El estado fisiológico de un pez influye considerablemente en el crecimiento, este se retarda o cesa de inmediato en los peces cuando están parasitados o inmunodeprimidos. Es por eso que requieren de una nutrición balanceada para poder cumplir sus funciones metabólicas, (alimentarse, respirar, excretar y crecer). Cuando la dieta es deficiente en cualquier nutriente se requiere de una mayor cantidad de alimento para satisfacer la necesidad de este elemento deficiente, disminuyendo la eficiencia del alimento. Para ello es necesario agregar a la dieta, nutrientes como (VITAMINAS) que disparen dicho proceso (Hepher, 1993).

La cantidad de vitamina y la vía de administración son trascendentales para la apropiada asimilación de esta. Por tal razón se han implementado formas alternas de proporcionar el alimento, como son las microcápsulas, con vitaminas utilizando como vector o vehículo a la *Artemia franciscana*. Como se muestra en la Tabla 1, los grupos experimentales en comparación con el grupo control mostraron diferencias significativas en cuanto al Crecimiento (Tasa específica de crecimiento, Ganancia en peso y peso final), quedando de manifiesto el efecto favorable de las vitaminas en los peces.

La tasa específica de crecimiento es significativamente mayor en los 3 grupos experimentales, en comparación con el control, presentando un mejor crecimiento por día en el tratamiento C1.

Las vitaminas pueden afectar en distintas funciones metabólicas de los peces, estas ayudan a la producción de anticuerpos como macrófagos incluyendo algunas enzimas que se desarrollan dentro de las células respiratorias, previniendo la muerte intracelular propiciada por radicales libres, ya que producen mecanismos de prevención de daños a tejidos. (Delbort, 2002). La asimilación de nutrientes no tiene el mismo efecto en peces sanos que en peces parasitados, estresados o inmunodeprimidos.

Es evidente que las vitaminas cumplen un rol fundamental en el estado fisiológico de los peces, dando como resultado que se retarde o en casos más graves cese totalmente el crecimiento principalmente en las primeras etapas, las más delicadas en su vida, que es cuando pasan de alevín a juvenil.

Las vitaminas liposolubles tienen un efecto en el sistema inmune de los peces, como es la producción de fagócitos.

La principal causa de que la vitamina E actúe como un antioxidante se debe a su composición bioquímica, esta es hidrofóbica y se distribuye por toda la membrana celular; como es un antioxidante biológico liposoluble con alta especificidad, proporciona un alto potencial de peroxidación lipídica. Esto le da la función de tener efecto directo sobre algunos factores que causan estrés, neutralizándolos.

Los dos antioxidantes de membrana más importantes son la vitamina A y E, se encuentran representados por carotenoides y tocoferoles respectivamente y gracias a estos se realiza dicha función.

La vitamina E se encuentra embebida en la membrana plasmática, es ahí, donde atrapa a las distintas especies de oxígeno conocidas como radicales libres e inicia una reacción en bloque (metaloenzimas) que impide la propagación de dichos radicales, evitando la peroxidación lipídica de la membrana, dando como resultado una alta estabilidad celular. Las metaloenzimas están conformadas por Superóxido dismutasa, Glutación peroxidasa, Thioredoxina reductasa y Catalasa. Este sistema se encarga de inhibir la peroxidación en la fase acuosa, transformando el peróxido de hidrógeno que es muy oxidante en moléculas de agua. La alta diversidad de este sistema proporciona una gran gama de antioxidantes al organismo del pez. Este efecto es directamente reflejado en la salud del pez ya que disminuye su estrés. Los componentes de este sistema pueden estar en fase redox.

La estabilidad celular que provoca este sistema, tiene importancia en la influencia de la expresión genética, como es la distribución de los iones a nivel celular, controlando las proteínas como la cromatina, el citoesqueleto y la matriz nuclear afectando la configuración de la cromatina como el preproceso del RNAm. Es por eso que al encontrarse ausente en la dieta la vitamina E, el exceso de radicales libres causa la oxidación mitocondrial del DNA, Teniendo efecto directo en la baja generación de tejidos y músculos en peces, retrasando el crecimiento. Al pasar dicho proceso aumenta la cantidad de lípidos presentes en las células provocando un daño en la membrana.

La vitamina A es requerida para la correcta expresión de la hormona de crecimiento (hormona tiroidea). La ausencia en animales provoca retardo en su crecimiento o lo disminuye. Se sugiere que es utilizada en la producción y balance de energía. Algunas variedades de vitamina A sirven de receptoras de la hormona tiroidea y de la vitamina D que tienen efecto durante el desarrollo, incrementan la eficiencia de las interacciones del DNA y el RNA transcripcional durante la diferenciación celular y la producción de varias proteínas para el crecimiento.

La vitamina A es esencial en el rol normal del metabolismo de los huesos, sin embargo este mecanismo no ha sido lo suficientemente estudiado. Lo que sí es claro es que afecta a los osteoclastos y una reducción o aumento abrupto de esta misma daría como resultado una malformación ósea.

Las técnicas que se utilizaron para el encapsulamiento en vitaminas que sirven como complemento para el crecimiento mostraron ser eficientes. Las microcápsulas del tipo II mostraron ser las más adecuadas para este trabajo. Estas mantuvieron la calidad del agua más estable, lo que se reflejó en el índice de sobrevivencia de *Artemia franciscana*. El encapsulamiento de las vitaminas se realizaba en los apéndices y órganos locomotores.

El tiempo más adecuado para el encapsulamiento resultó ser el de un periodo de 2 horas, con una encapsulación del 80-100 % (Gelabert, 2003).

El presente estudio muestra el incremento en la asimilación del alimento por parte del Guppy (*Poecilia reticulata*), esto se debe a la correcta encapsulación por parte de *Artemia franciscana*, ya que siendo así no se vio alterada la calidad del agua.

En los tres grupos experimentales se observa por medio del índice de sobrevivencia de la *Artemia*, que este método no altera la calidad del agua ni provoca efectos secundarios en los peces.

El origen geográfico de la *Artemia*, las dietas enriquecidas, las condiciones de enriquecimiento, así como el desarrollo inicial del nauplio, tiempo de enriquecimiento, dosis y tipo de cápsula son los factores más importantes a tomar en cuenta para una correcta microencapsulación. (Léger *et al.*, 1987).

CONCLUSIONES

- Se concluye que la técnica de microencapsulado utilizada en el presente trabajo es viable para la administración de vitaminas liposolubles, dicho proceso eleva significativamente el crecimiento de los peces *Poecilia reticulata*.. En lo que respecta a la calidad del agua se observó que no la afecta.
- Los nauplios de *Artemia franciscana* son un excelente vehículo, para la administración de microcápsulas que contienen en su interior vitaminas.
- Que la *Artemia franciscana* más las vitaminas A, D y E , tiene un efecto positivo en los peces ya que muestra, una alta tasa específica de crecimiento mayor ganancia en peso y asimilación del alimento.
- Que la dosis utilizada en el presente estudio es apropiada para el crecimiento de los peces *Poecilia reticulata*.
- Se observó que las vitaminas A, D y E son importantes para el crecimiento y sobrevivencia de las crías de peces *Poecilia reticulata*,

➤ APENDICE 1

Cultivo de *Artemia franciscana*

Técnica de obtención de nauplios *Artemia franciscana*.

Los mejores resultados de eclosión, con altas densidades de quistes, se pueden conseguir en recipientes transparentes con base en forma cónica o embudo con aireación constante desde el fondo.

I.- Hidratación de los quistes.

Los quistes se hidratan en agua destilada a una temperatura de 25–28°C durante 2 horas, es conveniente utilizar un recipiente cónico (un embudo de separación) con aireación desde el fondo, para mantener los quistes en suspensión, los quistes viables se depositarán en el fondo mientras los vacíos flotarán en la superficie, porque son huevos huecos.

II.- Desinfección de los quistes.

Los quistes se desinfectan en una solución de hipoclorito de sodio comercial con una concentración de 20 mg/l durante 20 minutos. Es importante observar el color del corion o capa externa de los quistes que es de color marrón oscuro, ya que al ser retirado, el quiste se torna naranja pálido. Al realizar la desinfección se disminuye la cantidad de bacterias y hongos en el quiste evitando su muerte o contagio. Esto lo hace más seguro como alimento. Ya que la Sanidad es primordial en el manejo de cualquier cultivo.

III.- Incubación de los quistes.

Los quistes hidratados y desinfectados se transfieren con una malla de 50 µm al medio de eclosión, que contiene una solución de NaCl 6 ‰ y NaHCO₃ 3 ‰ con aireación e iluminación constante a una temperatura que deberá mantenerse en un intervalo de 26 - 28°C. Que por debajo de 25°C la eclosión es más lenta y por encima de 29 – 30°C el metabolismo de los quistes se detiene irreversiblemente. Es mejor mantener una temperatura constante en el medio de eclosión para obtener una producción máxima de nauplios, elevando así contenido energético, al asegurar una buena suspensión de los quistes en la salmuera y mantenerlos en estas condiciones durante 20 a 22 horas, comenzará la eclosión.

La densidad de quistes es de 1 gr por litro de medio esto equivale a 100, 000 org/L, evitando así la formación de compuestos tóxicos en forma de espuma. Se pueden eclosionar hasta 5 gr/L pero se eleva considerablemente la formación de compuestos tóxicos y la viabilidad de los quistes se reduce significativamente.

IV.- Cosecha de nauplios.

La recolección de los nauplios de *Artemia franciscana*, libres de cáscaras vacías y de quistes sin eclosionar, se realiza deteniendo la aireación durante 10 minutos, provocando que por presión gravitacional los huevos vacíos floten en la superficie, mientras que los nauplios, se concentren en la parte inferior del embudo de separación. Es importante tapar la parte media superior del embudo con papel aluminio para iluminar la parte inferior, ya que como los nauplios son fototróficos positivos se irán más rápido al fondo, facilitando así su separación. Con un embudo de separación.

V.- Crecimiento de los nauplios

Los nauplios de *Artemia franciscana* se siembran a una densidad salina NaCl 26 ‰ y NaHCO₃ 5 ‰ y se alimentan con *Nanomchloropsis* sp durante 2 semanas estarán llegando a la etapa de metanauplio.

Nota: El motivo por el cual la concentración salina es menor en la etapa de eclosión es porque al disminuir la densidad salina en el medio, los quistes gastaran menos energía (glicerol) para eclosionar, elevando así su contenido energético. La razón por la cual se retiran los nauplios después de 20- 22 horas y se transfieren a otro estanque con mayor concentración salina es, porque estos aún tienen el aparato bucal y excretor no funcional por lo tanto la densidad del medio no les afecta, por eso es en este momento cuando se debe de realizar el aumento de la densidad en el medio, ya que después de 24 horas los órganos de los nauplios de *Artemia franciscana* son completamente funcionales y los efectos pueden ser catastróficos disminuyendo sensiblemente el número de organismos.

Tomado y modificado del Manual para el cultivo y uso de *Artemia* en acuicultura

Patrick Sorgeloos
Patrick Lavens
Philippe Lè
Win Tackaert
Danny Versichele. (1982)

Bruselas Bélgica.

REFERENCIAS

- Aoe, H.; Ikeda, K.; y Saito, T. 1974. "Nutrition of protein in young carp". II Nutitive of value of protein hydrolyzates. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 40, 375-389.
- Barcdach, E. J.; Ryther, H. J.; y Maclarney, O. W. 1986. "Acuicultura. Crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce". AGT-Editor. México.
- Barnabé, G. 1991. "Acuicultura". Omega. Barcelona, España. pp. 137-168.
- Baudin, H.; Message, F. J. L.; Stephan, G. 1989. "Two examples of nutritional pathology related of vitamins E and C deficiencies". Advances in Tropical Aquaculture. pp 171-181.
- D. I.; Skonberga, R.W.; Hardyb, F. M.; Donga. 1998. "Effects of cholecalciferol and triiodothyronine on bioavailability of dietary phosphorus in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*". Aquaculture. 161. pp 475–477.
- Delbert, M.; Gatlin, I. 2002. "Nutrition and fish health". Depertament of wildlife and fisheries sciences. Texas. Elseiver Science. pp 672-699.
- Dhert, P., Sorgeloos, P., Devresse ., 1998. Contribution towards a specific DHA enrichment in the live food *Brachionus plicatilis* and *Artemia* sp. Trodhein, Norway. Bekelma Roterdan. pp 109-115.
- Furuita, H.; Tanaka, M.; Yamamoto, T.; Suzuki, N.; Takeuchi, T. 1996. "Suplementan effect of vitamin A in diet on the reproductive performance ans egg quality of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (TyS)". Aquaculture. pp 152-161.

- García, A. 2000. "Valor nutricional de los quistes de *Artemia* y su uso como fuente de proteína en dietas artificiales para larvas de peces". Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.
- Gelabert, R. (2003) Bioencapsulación en *Artemia* sp II. Influences of the particle concentration in the enrichment process. *Aquaculture* 216 pp143-153.
- Hepeher, B. 1993. "Nutrición de peces comerciales en estanques". Editorial Limusa. 355 páginas.
- Hilton, J. W. 1989. "The interaction of vitamins minerals and diet composition in the diet of fish". *Aquaculture*. 79. pp 223-244.
- Hunt, J. N. 1980. "A possible relation between the regulation of gastric emptying and food intake". *Am. J. Physiol.* 239. pp 61-64.
- Lall, S. P. 2000. "Nutrition and health of fish". Avances en nutrición acuicola V. pp19-22.
- Leger, P. Naessens- Ffoucquart, E. Sorgeloos, E. 1987. International study on *Artemia*: xxxv. Techniques to manipulate the fatty acid profile in *Artemia nauplii* and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean. *Mysidopsis bahia* (M). *Artemia research and its applications. Ecology, culturing, using in aquaculture. Vol 3. Universa press. Wetteren. Belgium*, pp411-424.
- Ndoye, A., Ghanmi, Z., Koenig, J., Deschaux, P. 1998. Vitamin E immunity; Effects of vitamin E on the production of anti-*Yersinia ruckeri* antibodies in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Ichthyophysiology*. Pp 50-68.

- Sies, H.; Stahl, W.; Sundquist, A. R. 1992. "Antioxidant function of vitamins: Vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids". Ann. New York Acad. Sci. 669. pp 7-20.
- Takeuchi, T., Dedi, J., Ebisam, C., Watanabe, T., Seikni, T., Hosoya, K., Nakazone, J. 1998. Effect of vitamin A compounds on bone deformity in larval Japanese flounder (*Paralichthys oliveacus*). Aquaculture 169 pp155-165.
- Waagbo, R. 1997. "The impact of nutritional factors of the immune system in the Atlantic salmon, *Salmo salar*". L.A Review. Aquac. Fish. Manag. 25. pp. 175-197.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Matsui, M., Ogino, C., y Kawabata, T. (1977). Effects of alfa-tocoferol deficiency on carp. VII. Relationship between dietary levels of linoleate and alfa-tocoferol requirement. Bull. Jap.Soc. Sci. fish., 43, 935-946.
- Watanabe, T.; Takeuchi, T.; y Wada, M. 1981. "Dietary lipid levels and alfa-tocoferol requirement of carp". Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47. pp 1585-1590.
- Yasuhiro, A.; Hironi, S.; y Murayama, Y. 2003. "Positional distribution of DHA and EPA in Triacyl-sn-glycerols (TAG) of *Artemia franciscana* naupli enriched with fish oils ethyl esters and TAG". Aquaculture. 233. pp 321-335.
- Yúfera, M., Kolkovsk, S., Fernandez-Diaz., Drabrowsk, K. 2003. Delivering Bioactive compounds to fish larvae using microencapsulated diets. Aquaculture 227, pp277-291.
- Zintzen, H. 1972. "A summary of the vitamin E/Selenium problems in animals. News and reviews". Hoffman La Roch Co. Basel, 1-1.