

# O estado da arte da pesquisa sobre nutrição durante a larvicultura de peixes marinhos e do *Litopenaeus vannamei*

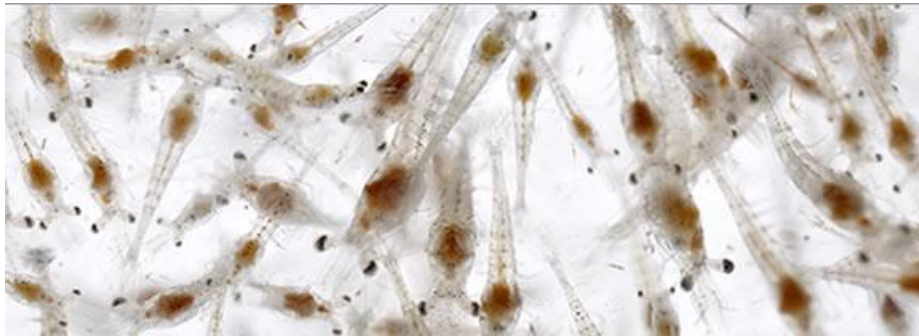
Bernard Devresse

Fenacam 2015

IX Simpósio Internacional de Aquicultura

# Apresentação :

1. Larvicultura: Um campo de pesquisa muito difícil
2. Nutrição:
  - 2.1. metodologia de pesquisa
  - 2.2. requisitos específicos de nutrientes de larvas
  - 2.3. digestibilidade e lixiviação
  - 2.4. Importância de alimentos vivos e probióticos
3. Tecnologias de produção de ração
4. Perspectivas



# Larvicultura 20 anos atrás e agora

- O uso de alimentos naturais e ou formulados : não há mudanças drásticas
- Menor uso de alimentos (10 à 4-5 Kg / milhões PL)
- Confirmada a importância do alimento natural vivo (microalgas e Artemia). Contribuição nutricional de 50-70%.
- Alimentos formulados “são os suplementos dos alimentos vivos”. Pense lipídios / EFA
- Generalizado o uso de probióticos!
- Domesticação de animais (L. vannamei)

*Pesquisa em Nutrição Animal:*

*“inovação na continuidade”(A. Guyonvarch)*



# 2.1. Metodologia de Pesquisa

## **Caminho nutricional:**

Estudos sobre a exigência de nutrientes, processos de digestão, vias metabólicas ...

## **Caminho prático:**

Estudos comparando alimentos ou ração animal (naturais, formulados, viver ...)



# 2.1. Metodologia de pesquisa

- direta:
  - provas de crescimento / sobrevivência



A.Slotwinski/TAFI/UTAS



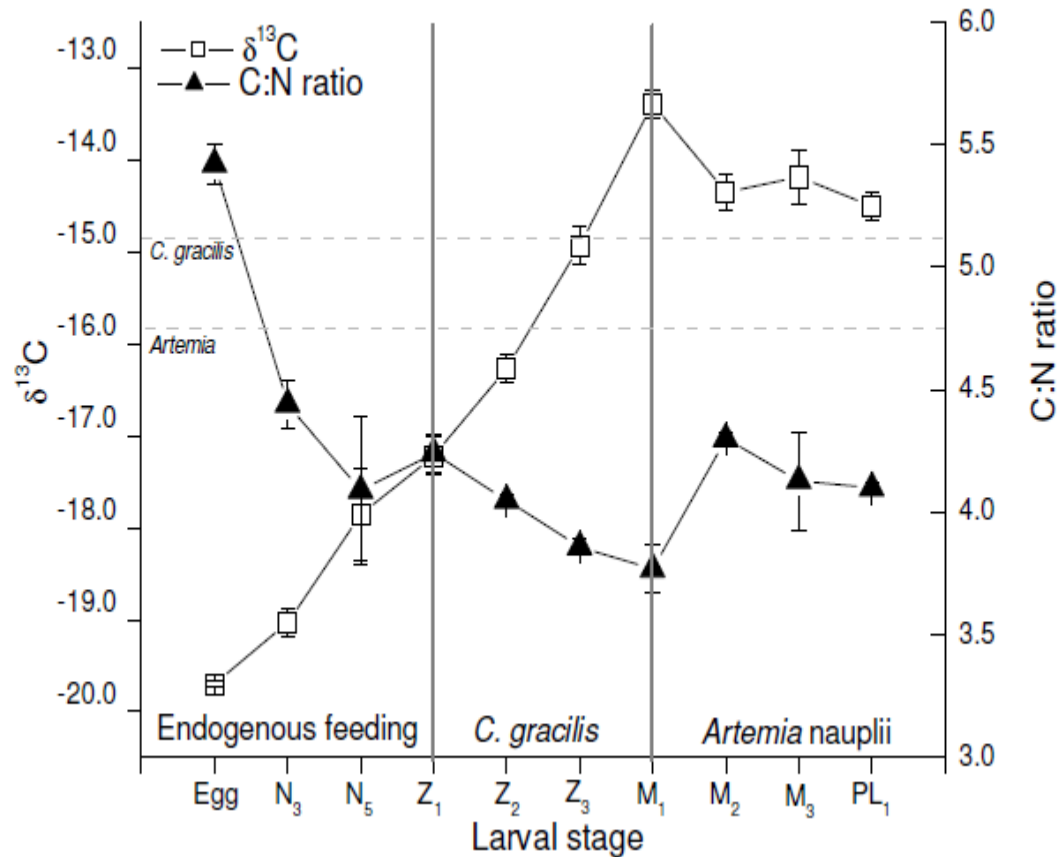
- indireto:
  - isótopos estáveis C / N
  - digestibilidade in vitro
  - metabolismo análise do vitellus
  - A análise da composição de copépodas, larvas, ...

# 2.1. Metodologia de pesquisa

## isotópo de carbono C<sup>13</sup>

Gamboa Delgado & Le  
Vay 2009, 2011

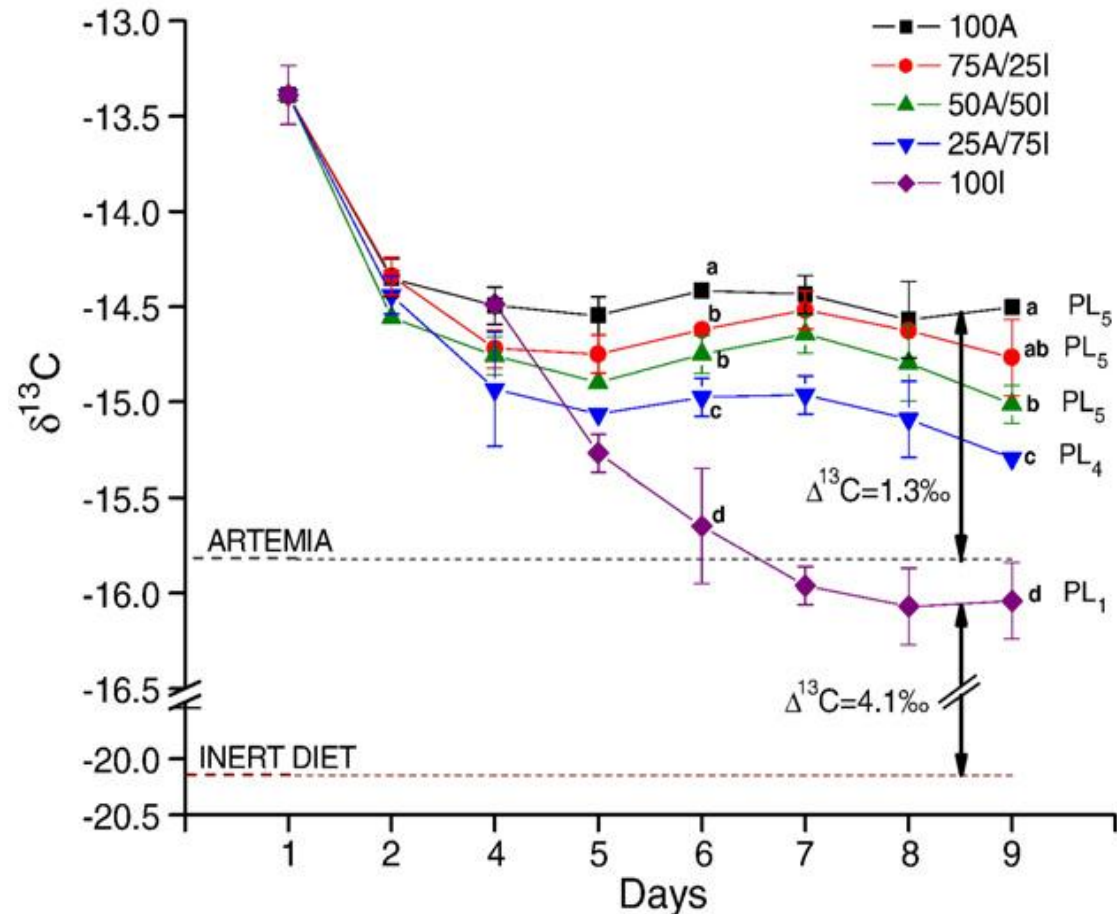
- O uso de isótopos estáveis naturais C<sup>13</sup> e N<sup>15</sup>
- Relação de C<sup>13</sup> / C<sup>12</sup> varia em plantas e animais (C<sub>3</sub> vs C<sub>4</sub>)
- $\Delta^{13}\text{C}$  e  $\Delta^{15}\text{N}$  variam entre 0,4-4,1 ‰ e 0,1-5,3 ‰ resp.
- Ovo do camarão muito baixa em C<sup>13</sup>



# 2.1. Metodologia de pesquisa

## isótopo de carbono $C^{13}$

- ✓  $\Delta C^{13}$  difere em Artemia, algas e dieta inertas.
- ✓ Evolução do  $\delta C^{13}$  permite estimar a contribuição nutricional de cada fonte de alimento



# 2.1. Metodologia de pesquisa

isótopo de carbono C<sup>13</sup>

| Stage/food                  | 75A/25I <sup>a</sup> |      |      | 50A/50I |      |      | 25A/75I |      |      |
|-----------------------------|----------------------|------|------|---------|------|------|---------|------|------|
|                             | Min.                 | Mean | Max. | Min.    | Mean | Max. | Min.    | Mean | Max. |
| M <sub>3</sub> <sup>b</sup> |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 69.0                 | 85.4 | 100  | 67.1    | 83.2 | 99.3 | 55.8    | 72.1 | 88.5 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 14.6 | 31.0 | 0.7     | 16.8 | 32.9 | 11.5    | 27.9 | 44.2 |
| PL <sub>1</sub>             |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 69.3                 | 86.3 | 100  | 59.5    | 76.5 | 93.4 | 49.1    | 66.0 | 82.9 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 13.7 | 30.7 | 6.6     | 23.5 | 40.5 | 17.1    | 34.0 | 50.9 |
| PL <sub>2</sub>             |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 71.7                 | 87.3 | 100  | 61.4    | 78.0 | 94.8 | 50.7    | 66.3 | 81.8 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 12.7 | 28.3 | 5.2     | 22.0 | 38.6 | 18.2    | 33.7 | 49.3 |
| PL <sub>3</sub>             |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 77.8                 | 94.7 | 100  | 69.3    | 86.3 | 100  | 48.5    | 65.4 | 82.2 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 5.3  | 22.2 | 0.0     | 13.7 | 30.7 | 17.8    | 34.6 | 51.5 |
| PL <sub>4</sub>             |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 79.3                 | 96.7 | 100  | 69.4    | 86.7 | 100  | 48.1    | 65.3 | 82.5 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 3.3  | 20.7 | 0.0     | 13.3 | 30.6 | 17.5    | 34.7 | 51.9 |
| PL <sub>5</sub>             |                      |      |      |         |      |      |         |      |      |
| Artemia                     | 70.0                 | 87.3 | 100  | 55.4    | 72.7 | 89.9 | 34.5    | 52.0 | 69.2 |
| Inert diet                  | 0.0                  | 12.7 | 30.0 | 10.1    | 27.3 | 44.6 | 30.8    | 48.0 | 65.2 |



# 2.1. Metodologia de pesquisa

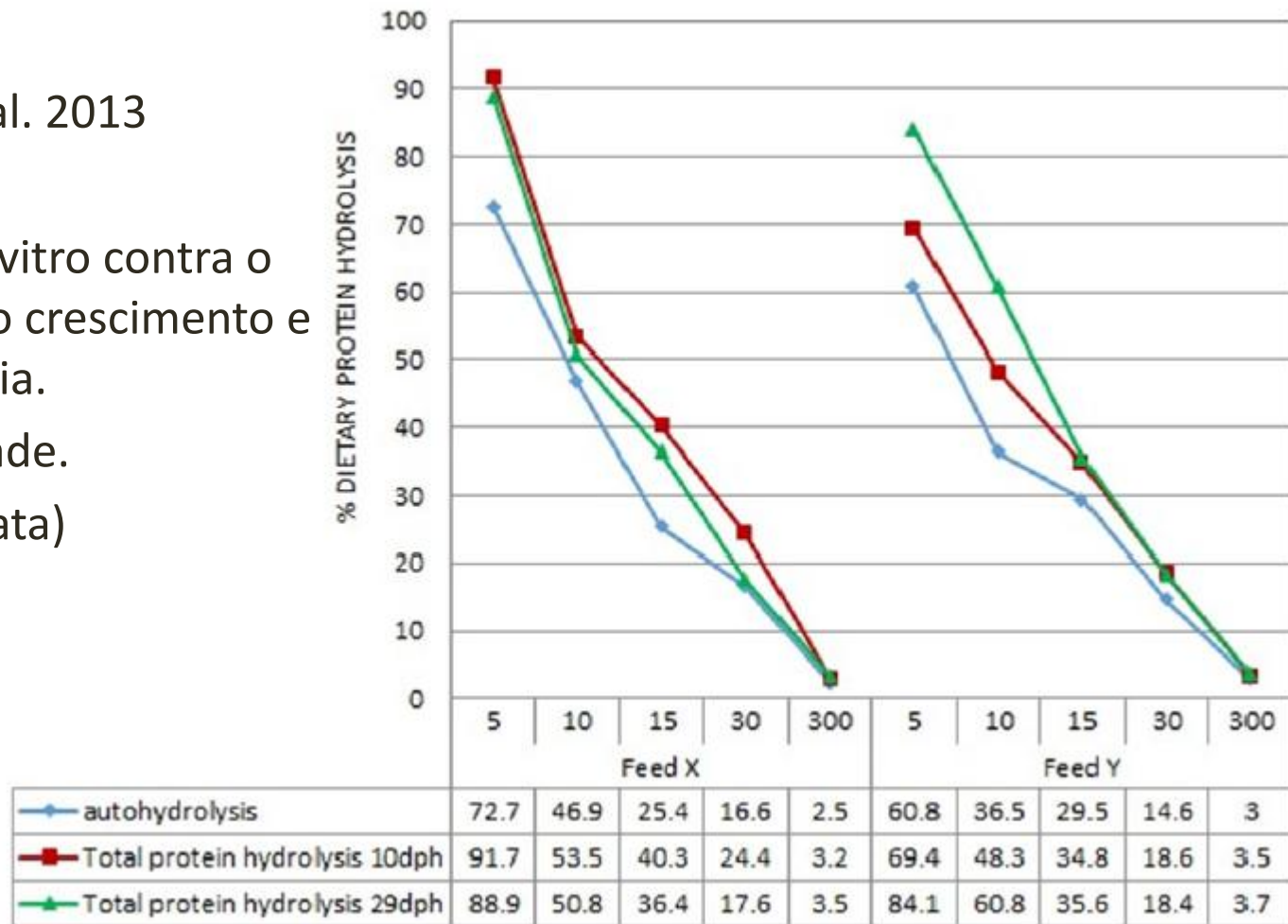
## digestibilidade in vitro

Moutou et al. 2013

Hidrólise in vitro contra o resultado do crescimento e sobrevivência.

Digestibilidade.

(*Sparus aurata*)



# 2.1. Metodologia de pesquisa

## digestibilidade in vitro

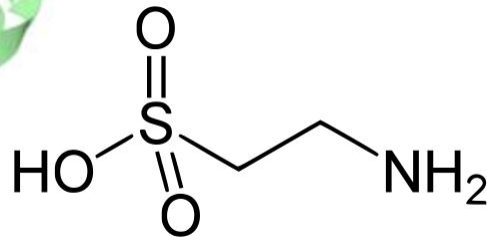
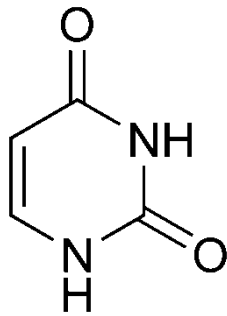
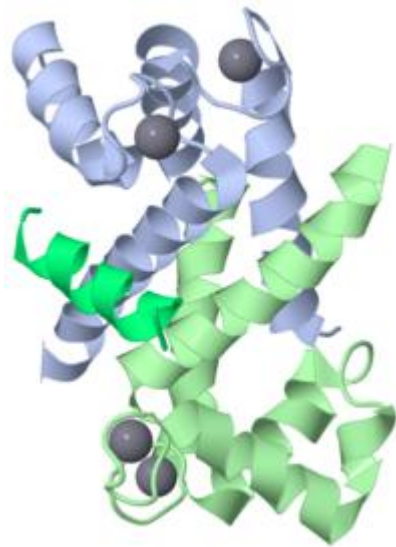
Moutou et al. 2013

Correlação entre a enzima (atividade de tripsina) e crescimento / sobrevivência das larvas jovem de seabass

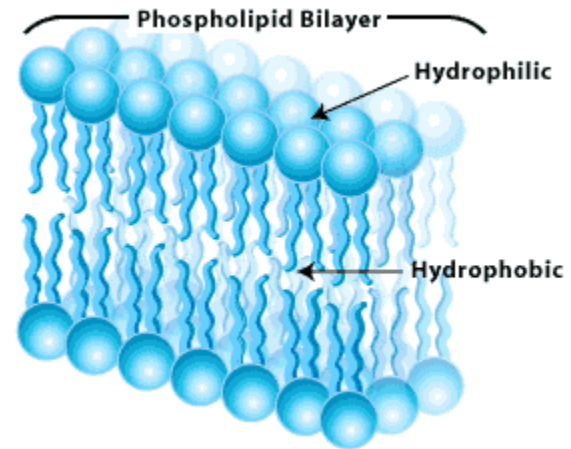
| European sea bass larval feeds | Feed X      | Feed Y      | Feed X + Artemia | Feed Y + Artemia |
|--------------------------------|-------------|-------------|------------------|------------------|
| Body weight 30 dph (mg)        | <b>3.0</b>  | 2.5         | <b>9.4</b>       | 8.8              |
| Body weight 45 dph (mg)        | <b>35.5</b> | 30.1        | <b>100.6</b>     | 99.2             |
| Survival at 45 dph (%)         | <b>36.6</b> | <b>43.4</b> | 59.5             | <b>70.6</b>      |
| Total biomass at 45 dph (g)    | <b>31.2</b> | <b>31.4</b> | <b>143.7</b>     | <b>168.1</b>     |
| Trypsin activity U/mg protein  | 0.049       | 0.028       | 0.076            | 0.054            |

# 2.2. Nutrientes

- Proteina, AA...



- Lipidos



# 2.2. Nutrientes

## Tabela das exigências nutricionais



|                       | ... da ração                  | observações   |
|-----------------------|-------------------------------|---|
| Proteína              | De 65 à 35%                   | Varia de acordo com o crescimento                                   |
| Proteína soluble/ FAA | 25-50 %                       | Pouco conhecido.  |
| Taurina               | 2,0% à 1,0%                   | AA livre. Não faz parte da proteína.                                |
| Nucleotidos           | 50-200 ppm                    | O uracilo é essencial   |
| Proteína/energia      | 120 mg DP/DE (Kcal)           | Cuidados ao excesso de TG<br>Evite carboidratos                     |
| (n-3) HUFA            | 50 à 10 mg/g                  | Nutrientes bem estudados  |
| DHA/EPA, EPA/ARA      | 2/1 4/1                       | Importante em larva de peixe  |
| Fosfolípidos<br>PC/PI | 8,0 % à 2,0%<br>1.2/1 à 4/1   | PC (enterócitos, crescimento)<br>PI (membranas, deformidades)       |
| Vitaminas             | C: 1000 ppm<br>E; 200-400 ppm | E, C elevado para imunidade<br>Cuidado excesso de vitamina A,<br>D3 |

# 2.2 Nutrientes

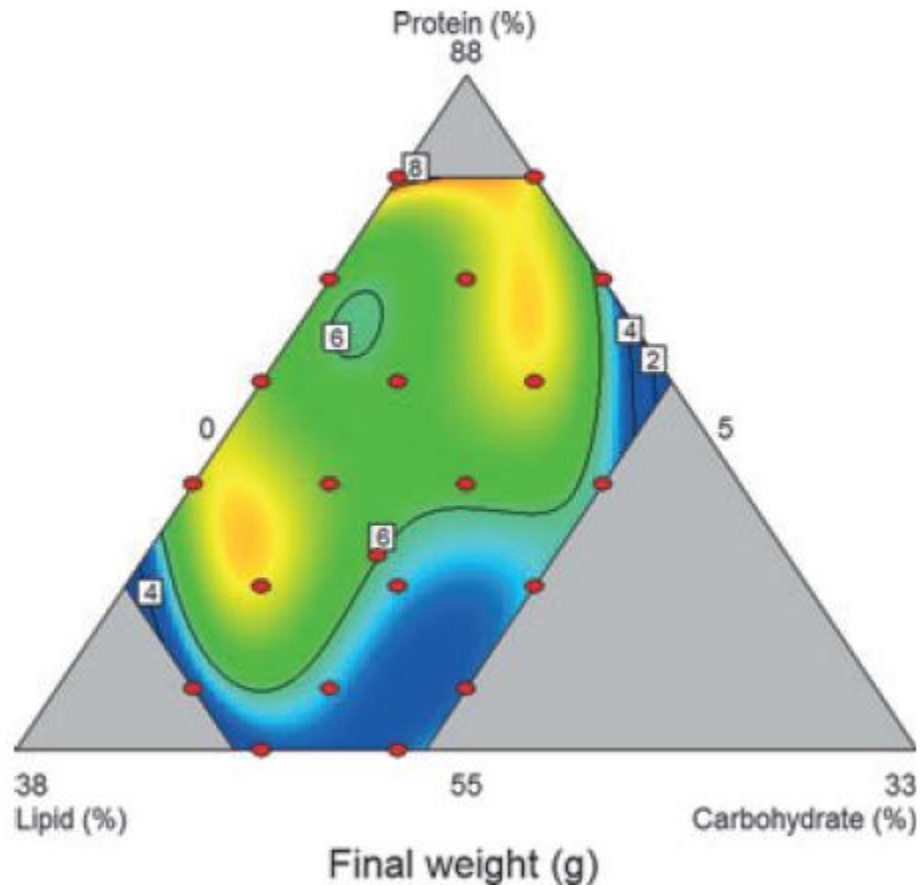
## Balance de macro-nutrientes

Hamre et al. 2013

Peso final das larvas de halibute alimentados com alimentos de diferentes teores de proteína, lipídios carboidratos.

Os requisitos podem variar com a intensidade de crescimento:

Cod larva: 30%/dia



## 2.2. Nutrientes

comparação dos alimentos vivos (Hamre et al. 2013)

|                          | Rotifers       | Artemia        | Copepods        |
|--------------------------|----------------|----------------|-----------------|
| Total AA (g/kg)          | 396            | 471            | 634             |
| Total FAA (% TAA)        | 44-61          | 54             | 34-70           |
| <b>Taurine (g/kg)</b>    | <b>0.08</b>    | <b>2.1</b>     | <b>1.5</b>      |
| Total lipids (%)         | 95-110         | 102            | 156             |
| Phospholipids (%)        | 34             | 31             | 50              |
| <b>Vitamin C (ppm)</b>   | <b>117-190</b> | <b>798</b>     | <b>400-1000</b> |
| <b>Carotenoids (ppm)</b> | <b>24</b>      | <b>630-750</b> | <b>630-750</b>  |
| <b>Iodine (ppm)</b>      | <b>3.2-7.9</b> | <b>0.5-4.6</b> | <b>50-350</b>   |
| <b>Zinc (ppm)</b>        | <b>62-64</b>   | <b>120-310</b> | <b>340-570</b>  |
| <b>Copper (ppm)</b>      | <b>2.7-3.1</b> | <b>7-40</b>    | <b>12-38</b>    |
| <b>Selenium (ppm)</b>    | <b>0.08</b>    | <b>2.2</b>     | <b>3-5</b>      |

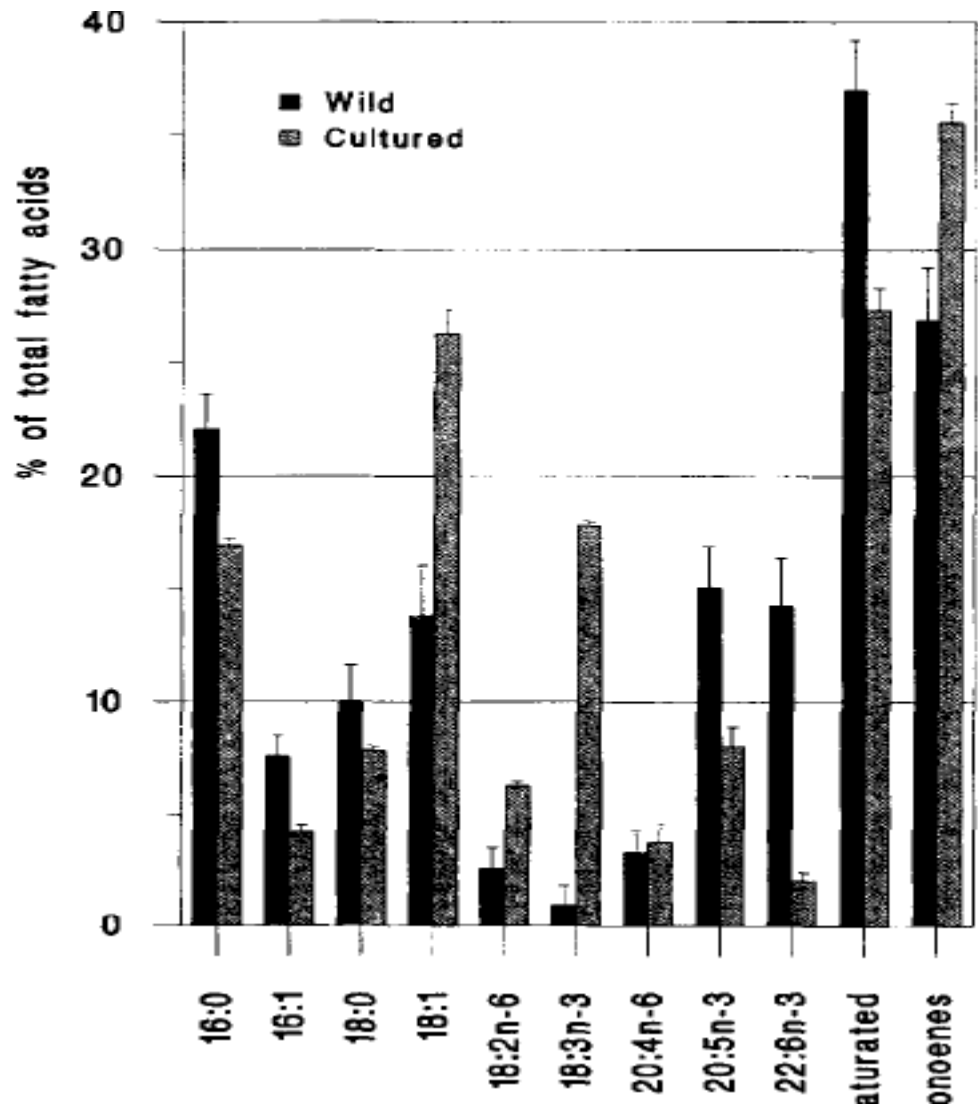
# 2.2 Nutrientes

## Comparação cultivado contra selvagem

Montaño & Navarro  
1996

Estudo de ácidos graxos  
de pós-larvas de *L.  
vannamei* no Equador

PL origem selvagem  
conter mais EPA e DHA



# 2.2. Nutrientes

## Taurina: efecto “Red Bull”



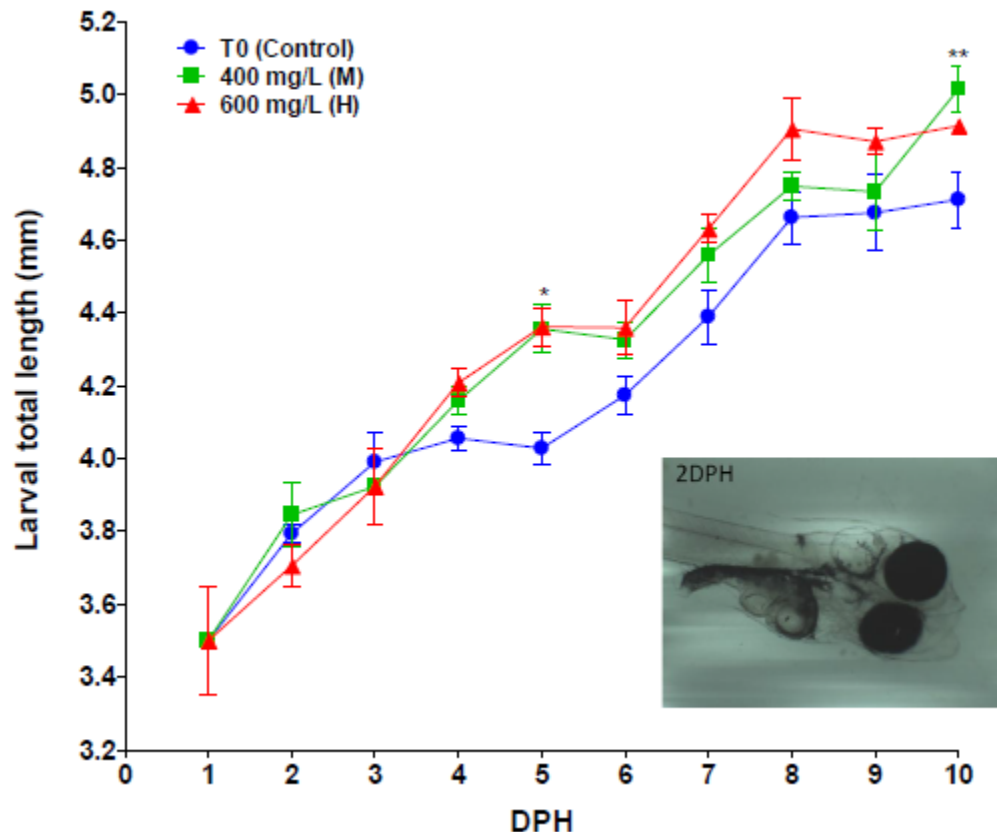
Koven at al 2013

Estudo das larvas atum aleta azul

A taurina é amplamente distribuída nos tecidos animais e os rotíferos são deficientes em este nutriente.

Taurina crítica para a função do tecido do cérebro, olhos, coração e músculo das larvas teleósteos. Taurina mostrou ação protetora renal em ratos

nephrolithiasis oxalato de cálcio devido à capacidade antioxidante





# 2.2. Nutrientes

## Taurina

Salze et al 2012

Taurina na dieta  
aumenta o  
crescimento ea  
atividade das  
enzimas digestivas  
em cobia larval

|  | Control          | Taurine-supplemented |
|--|------------------|----------------------|
| Larval taurine content<br>( $\mu\text{mol g}^{-1}$ , wet-mass basis) | 18.36 $\pm$ 1.41 | 27.52 $\pm$ 1.73     |
| Larvae TL (mm)   | 33.9 $\pm$ 1.01  | 55.1 $\pm$ 1.48      |
| Weight (mg)  | 0.35 $\pm$ 0.04  | 0.60 $\pm$ 0.09      |
| Survival (%)   | 7.09 $\pm$ 1.16  | 29.26 $\pm$ 0.41     |

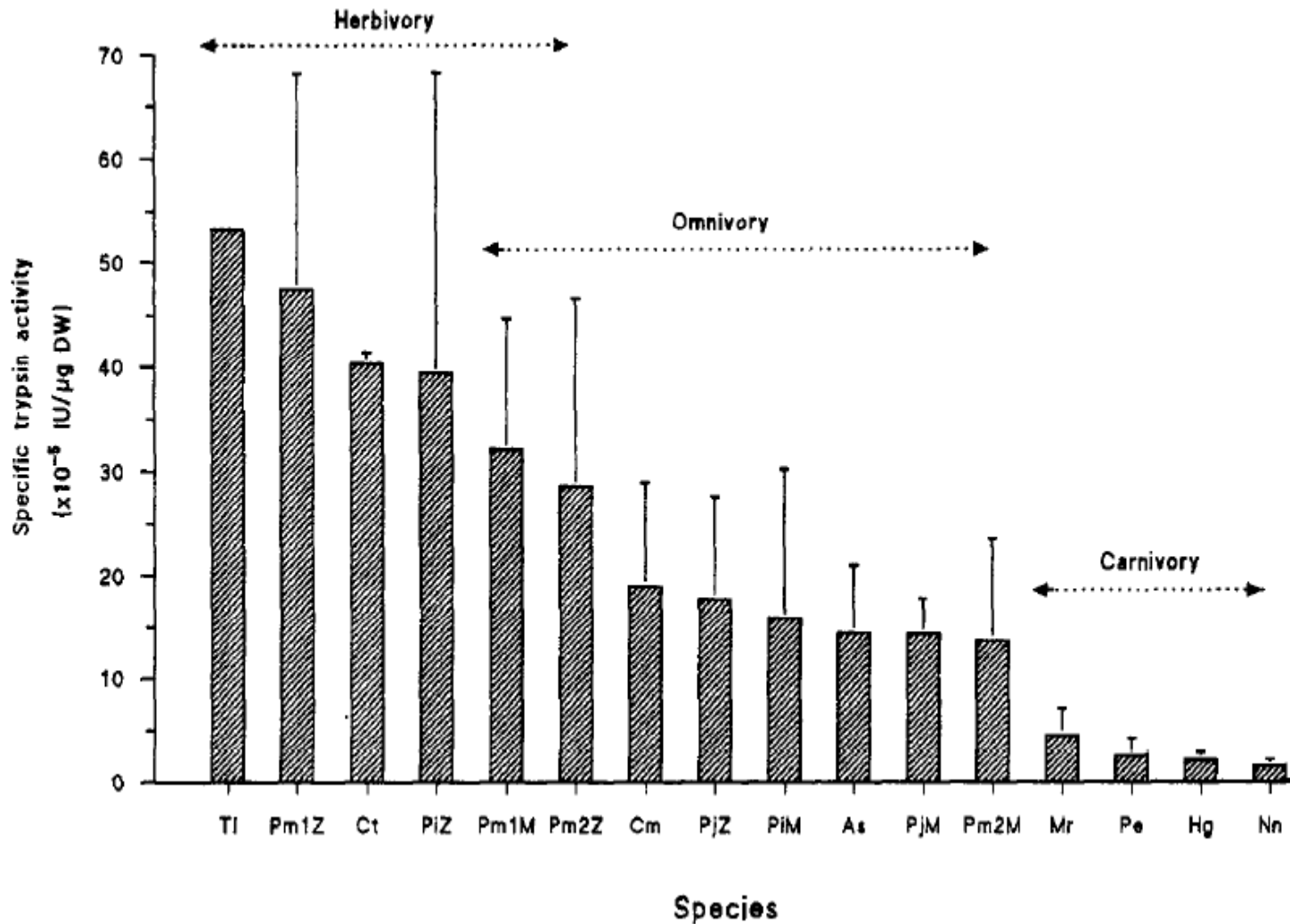
Total activities of amylase, lipase, trypsin and pepsin (U per larva).

| Larval age                            |         | 3 dph |                | 16 dph         |                | 27dph          |  |
|---------------------------------------|---------|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|--|
| Dietary group (Average larval TL; mm) |         | (4.4) | Control (11.1) | Taurine (19.6) | Control (33.9) | Taurine (55.1) |  |
| Activity (U/larva)                    | Amylase | 0.11  | 0.94           | 2.28*          | 1.38           | 7.40*          |  |
|                                       | Lipase  | ND    | 0.09           | 0.01           | 2.89           | 5.16*          |  |
|                                       | Trypsin | 0.002 | 0.014          | 0.048*         | 0.086          | 0.289*         |  |
|                                       | Pepsin  | ND    | ND             | ND             | 29.09          | 330.95*        |  |

Schmidt Furtadol;et al 2013

Efeito positivo de 10 ppm taurina L. vannamei postlarvae

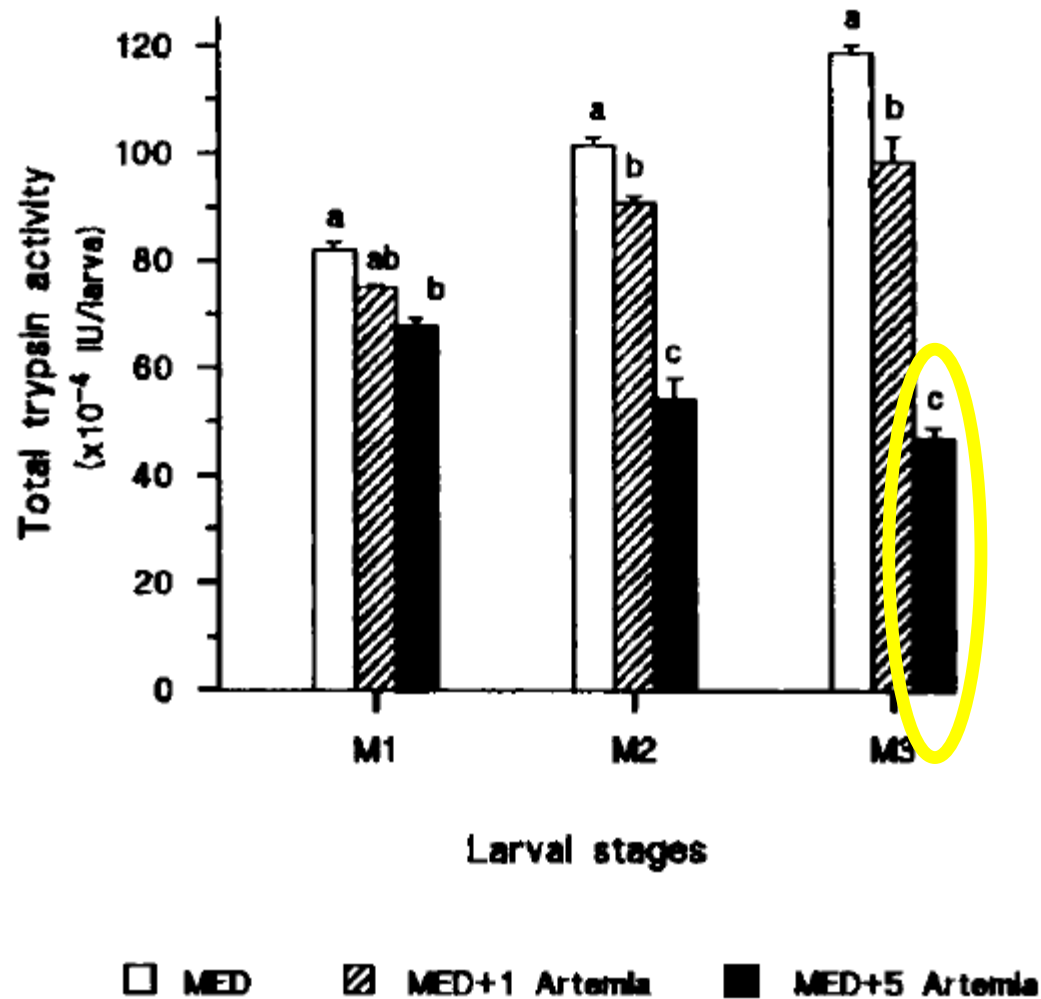
## 2.3. Digestibilidade (Jones et al. 1997)



## 2.3. Digestibilidade

Kumlu & Jones 1995

A secreção de tripsina aumenta quando a digestibilidade do alimento diminui.



## 2.3. Digestibilidade

### adição de enzimas

Kolkovski 2001.

Adição de pancreatina em de larvas de Daurada (*Sparus aurata*) para promover o crescimento

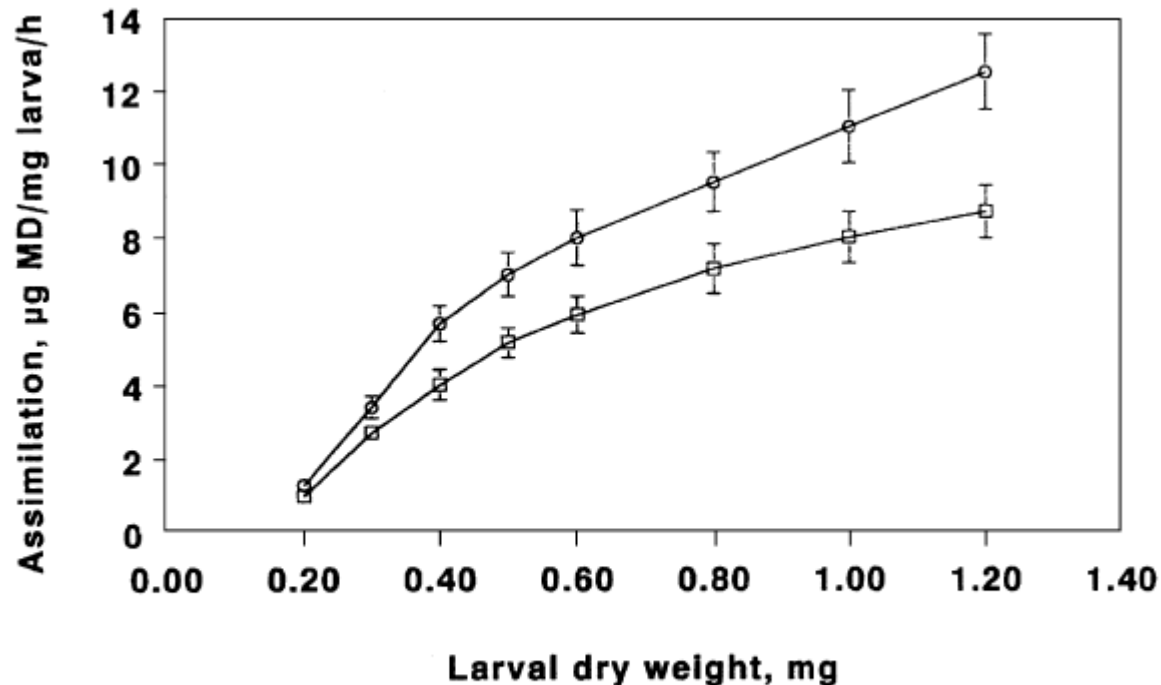


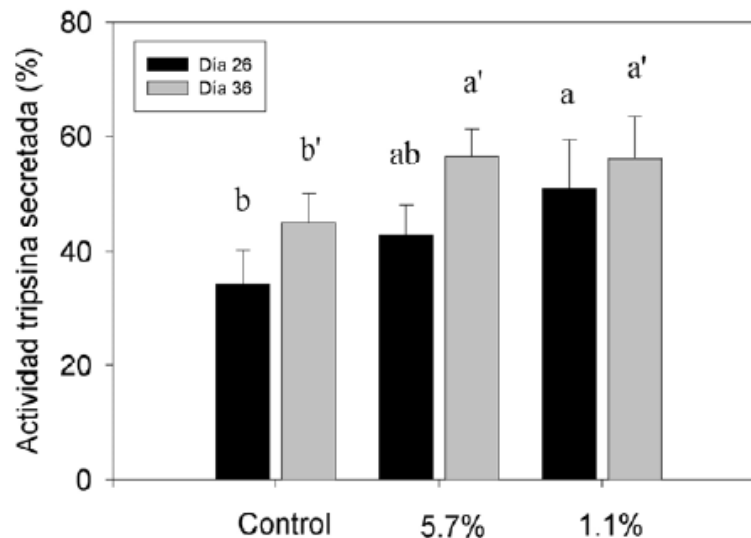
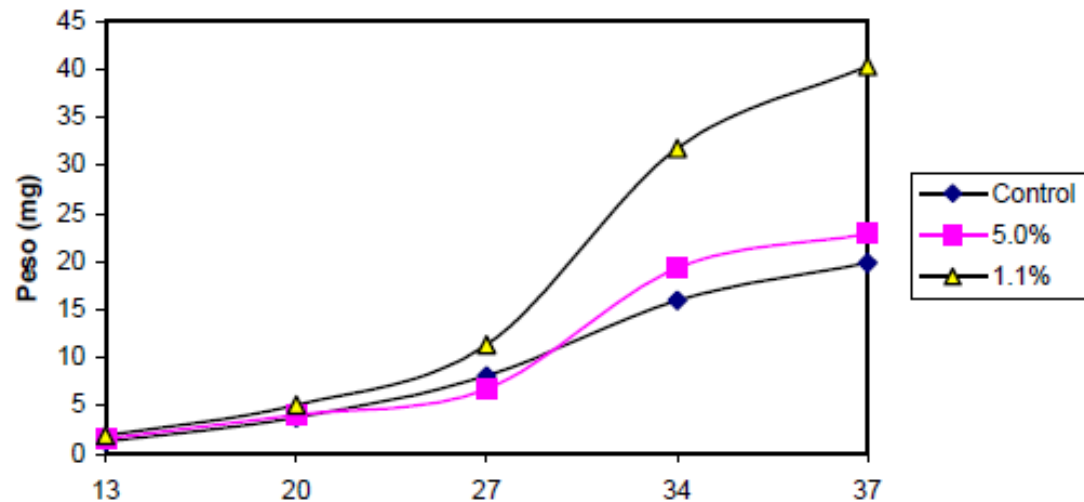
Fig. 4. The effect of pancreatin supplementation to microdiets (MD) on assimilation in gilthead seabream *S. aurata* larvae; MD supplemented with pancreatin (○); MD without pancreatin (□) (from Kolkovski et al., 1993).

## 2.3. Digestibilidade

A adição de poliaminas (espermina e espermidina)

Tovar Ramirez 2001.

A inclusão de um fermento produzindo poliaminas induz o desenvolvimento acelerado do epitélio digestivo do seabream e seabass Europeu



## 2.4. interferência do alimento vivo

### Alimento vivo

Artemia (50% de proteína, 25% de lípido deficiente em EFA ...)

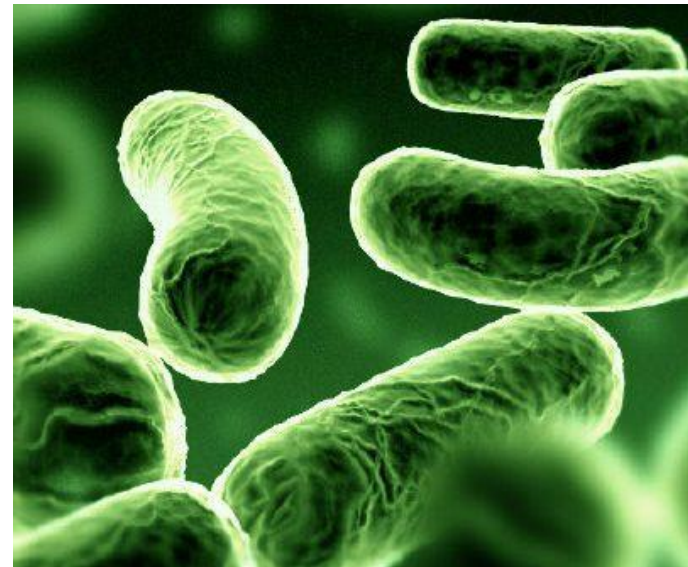
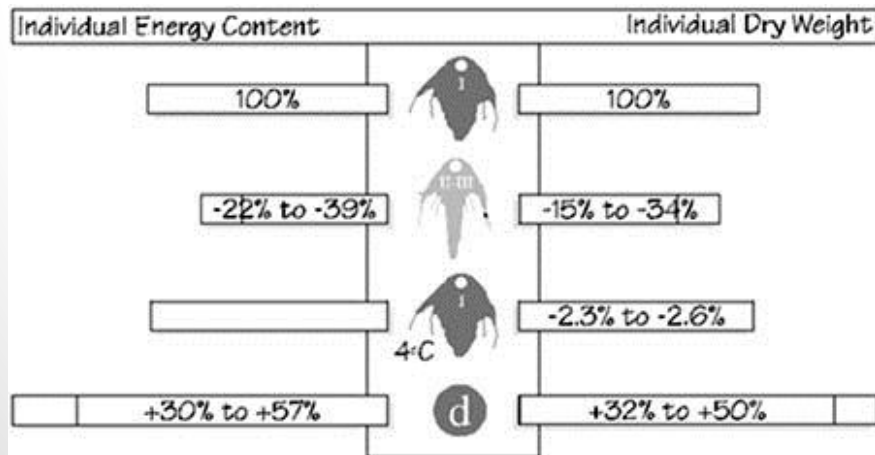
Rotíferos (EFA deficiente em traços minerais ...)

Metabolismo e uso de nutrientes (vivos)

### Probióticos

Fantástico impacto das exoenzimas e ácidos orgânicos

Função desconhecida das biocinas



## 2.4. interferência de alimento vivo probióticos

Mandiki et al. 2013.

O uso de probióticos (4 a  $24 \times 10^8$  / ml para o enriquecimento de Artemia) estimula o crescimento e produção de enzimas no peixe (Perca fluviatilis).

Table I. Growth and physiological responses (%) to probiotic bacteria or phytobiotics (B1, B3, B6:  $4, 12, 24 \times 10^{11}$  CFU.l<sup>-1</sup>. P3, P6: 3-6g.kg<sup>-1</sup> feed).

|                       | B1  | B3   | B6   | P3  | P6  |
|-----------------------|-----|------|------|-----|-----|
| SGR                   | 8   | 8    | 23*  | 6   | 0   |
| a-amylase             | 0   | 128* | 88*  | 14  | 0   |
| Chymotrypsine         | 78* | 99*  | 88*  | 14  | 16  |
| Lysozyme activity     | 80* | 155* | 128* | 29* | 29* |
| Total immunoglobulins | 12  | 50*  | 80*  | 11  | 8   |

# 3. Tecnologias de Produção

- Enriquecimento de rotíferos / Artemia



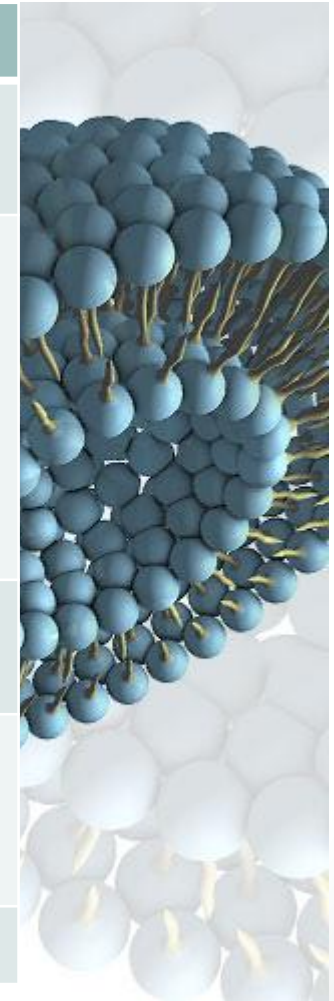
- Alimentos formulados





# 3. Tecnologia de Producción

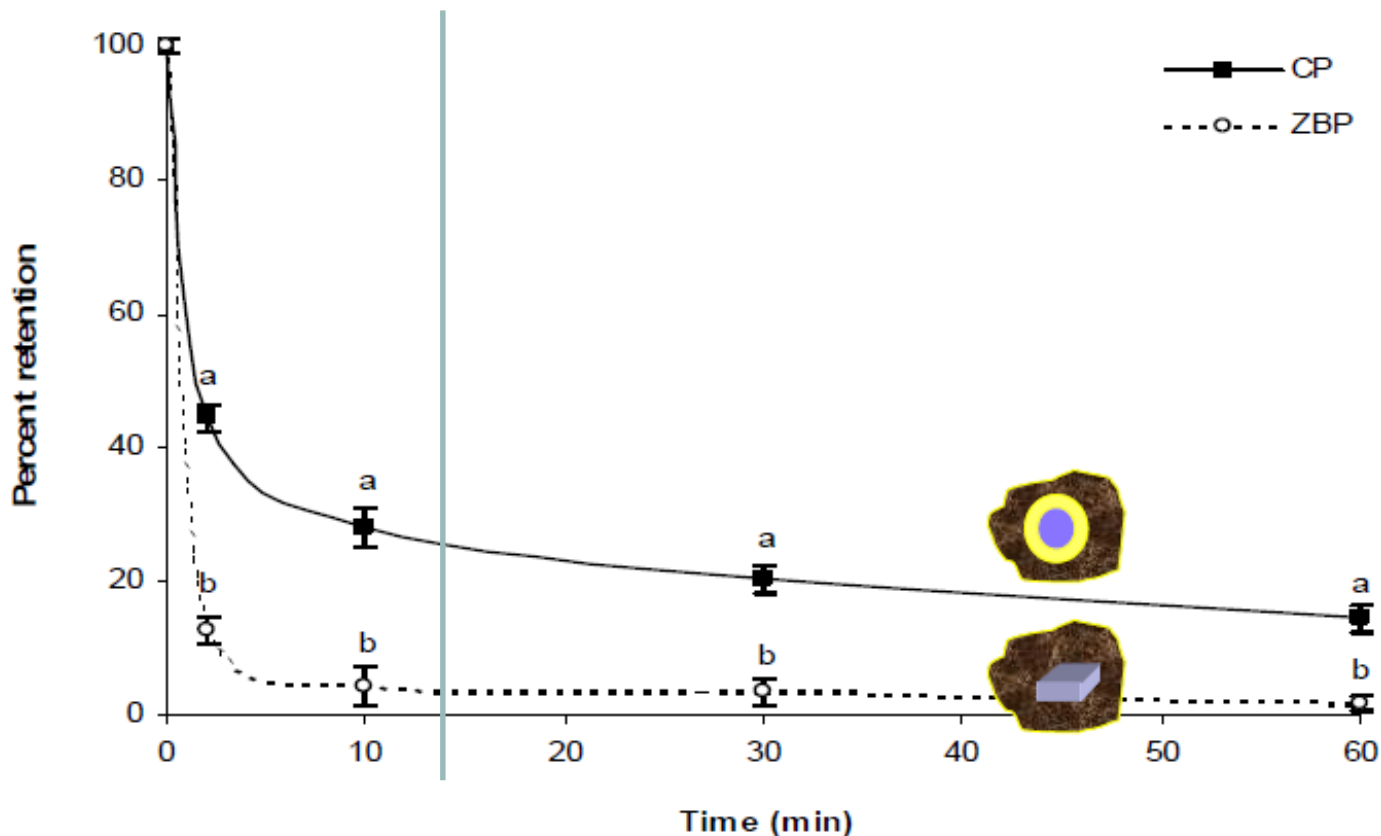
| Criterio a solucionar                       | Situacion actual  |
|---|---|
| 1. Estable para evitar la desintegracion    | OK. Microbound diets.   |
| 2. Retencion de los elementos hidrosolubles | <b>Muy dificil.</b> Micro-encapsulacion queda un concepto mas academico o de patente que una realidad comercial. "Volumen del coating/encapsulacion mas importante que la substancia para encapsular. |
| 3. Accessible para la larva (buoyancy)      | OK. "air chamber in spray drying", system de corriente de agua, ...   |
| 4. Digestible                               | OK. Buenas perspectivas. Enzymas, polyaminas, entendimiento del sistema de regulacion de la digescion   |
| 5. Palatabilidad                            | OK. Adicion de AA libres, betaina...  |



# 3. Tecnologia de produção

## Lixiviação

Langdon 2007. Alimentos microparticulados (Microbond) podem perder 50-95% de proteína solúvel em minutos. Cápsulas de lipídios são eficientes, mas com uma limitação de inclusão% max



# 3. Tecnologias de produção

## Digestibilidade / processamento térmico

Garcia Ortega et al. 2000

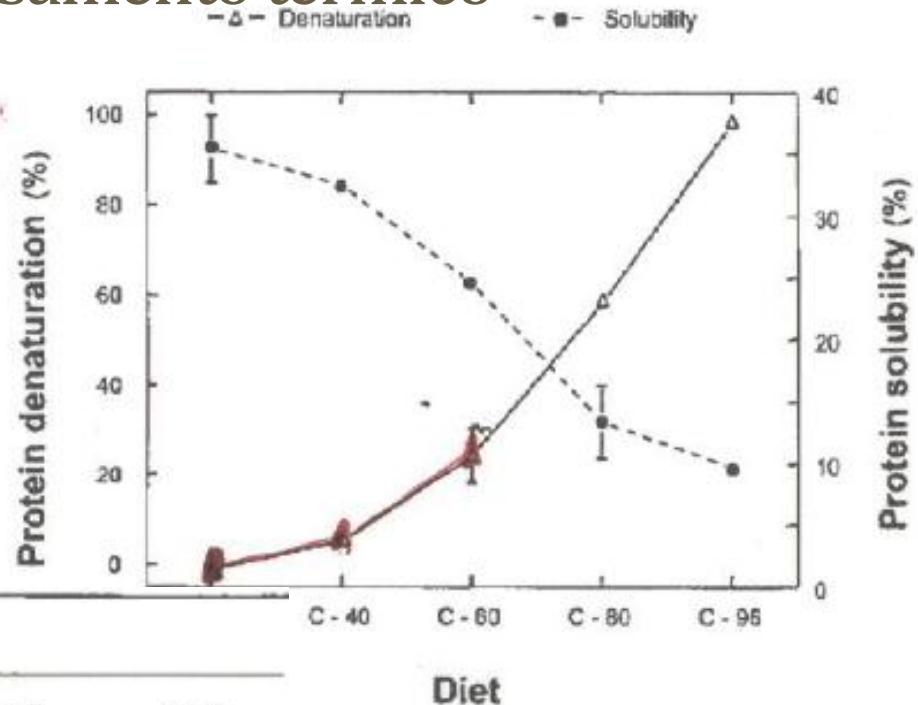
Cistos de Artemia

submetidos a mais de 40 °C

não são digeríveis pelas

larvas de Clarias

gariepinus



| Diet            | Wet weight (mg)         |                           |                         |                          |
|-----------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
|                 | day 1                   | day 4                     | day 7                   | day 9                    |
| Untreated cysts | 4.3 <sup>ab</sup> ± 0.3 | 16.2 <sup>b</sup> ± 1.6   | 47.8 <sup>a</sup> ± 1.6 | 77.5 <sup>c</sup> ± 3.9  |
| C-40*           | 4.7 <sup>a</sup> ± 0.6  | 19.7 <sup>a</sup> ± 0.9   | 54.3 <sup>a</sup> ± 4.0 | 86.8 <sup>b</sup> ± 2.7  |
| C-60            | 3.8 <sup>bc</sup> ± 0.1 | 14.3 <sup>bc</sup> ± 3.0  | 38.4 <sup>b</sup> ± 1.8 | 64.1 <sup>d</sup> ± 2.7  |
| C-80            | 3.7 <sup>c</sup> ± 0.2  | 10.8 <sup>d</sup> ± 1.4   | 33.9 <sup>b</sup> ± 6.9 | 60.2 <sup>d</sup> ± 3.0  |
| C-96            | 3.5 <sup>bc</sup> ± 0.7 | 11.8 <sup>cd</sup> ± 1.8  | 35.1 <sup>b</sup> ± 2.5 | 61.9 <sup>d</sup> ± 5.4  |
| Nauplii         | 3.8 <sup>bc</sup> ± 0.2 | 13.2 <sup>bcd</sup> ± 0.8 | 50.4 <sup>a</sup> ± 0.2 | 102.7 <sup>a</sup> ± 7.0 |

# 3. Tecnologias de produção

| Estadio larvario           |    | Zoea-Mysis | PL1-PL5 | PL5-PL15 | Juveniles |
|----------------------------|----|------------|---------|----------|-----------|
| Flake negro*               | AF |            | X       | X        | X         |
| Crumbles of extruded feed  | AP |            | X       | XXX      | XXX       |
| Spray drying (atomisacion) | AP | XX         | XXX     |          |           |
| Agglomeracion              | AP |            | XXX     | XXX      |           |
| Extrusion-marumerizacion   | AP |            |         | XX       | XXX       |
| Alimentos liquidos**       | AF | X          | X       | X        |           |
| Alimento vivo              | AP | XXX        | XXX     | X        |           |

Alimento principal: AP

Alimento facultativo: AF

\* Usado como colorante del tracto digestivo (reaccion alergica de los melanocitos)

\*\* Fuente de probiocos

# 4. Perspectivas e conclusões



1. Desenvolvimento de técnicas de encapsulação de uma fracção maior (25-50%) de proteína solúvel
  2. Desenvolvimento de técnica de assistência aos processo de digestão de proteínas (enzimas, poliamina, etc ...)
  3. Optimização baseada na utilização de probióticos e investigação sobre sua interação com o estado nutricional
  4. Impacto da domesticação e seleção genética sobre nutrição
- Na pratica: Confirmação e otimização da importância do uso de alimento vivo. NB: Os recursos naturais são suficientes. Contribuição minoria de alimentos formulados, "suplemento alimentar". Utilização no futuro depende da relação custo / benefício.

# Recomendações para o aquicultor: N-C-B

- Compreender a importância dos alimentos naturais - **bem caracterizados** e definidos: algas, zooplâncton, Artemia, probióticos ...
- Identificar produtos de qualidade.
- Biossegurança! "O seguro é sempre um custo, mas pode salvar o seu negócio"
- Cuide de todos os outros aspectos: qualidade da água, maturação da qualidade (nauplii) respeitar os protocolos, higiene e desinfecção, alimentação, etc ...
- Medir e quantificar = compreensão dos processos

