

EFECTO DE LA DIETA EN EL CRECIMIENTO Y SUPERVIVENCIA DE CRÍAS DE CABALLITO DE MAR *HIPPOCAMPUS REIDI* EN CONDICIONES DE LABORATORIO*

Lina M. Sánchez-Cardozo, Gloria H. Ospina-Salazar, Marisol Santos-Acevedo, Johann López-Navarro y Javier Gómez-León

Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar), Calle 25 No. 2-55 Playa Salguero, Santa Marta, Colombia. limasaca1@yahoo.com, gloria.ospina@invemar.org.co, marisol.santos@invemar.org.co, johann.lopez@invemar.org.co, javier.gomez@invemar.org.co

RESUMEN

Actualmente las poblaciones silvestres de caballitos de mar del género *Hippocampus* se están reduciendo debido a la demanda existente en el mercado por su uso en la medicina tradicional china, su consumo en países orientales y su atractivo como especies ornamentales, estando categorizadas todas las especies del género como amenazadas. El cultivo bajo condiciones controladas surge como una opción para la conservación y uso sostenible del recurso, sin embargo, se hace necesario desarrollar técnicas adecuadas, especialmente en la etapa de levante de las crías. En el presente estudio se evaluó el efecto del alimento vivo en el crecimiento y supervivencia de crías de *Hippocampus reidi*. Los primeros 11 días se alimentaron con nauplios de *Artemia* y rotíferos enriquecidos; del día 11 al 46 únicamente con metanauplios de *Artemia* enriquecidos con cuatro productos comerciales: Protein Selco Plus® (PSP), alimento para peces marinos Azoo 9 en 1® (AZ), Emulsión de Scott® (ES) y microalgas *Isochrysis galbana* (IG). El mayor crecimiento en términos de peso y talla se presentó en los caballitos alimentados con *Artemia* enriquecida con PSP (160.13 mg y 4.44 cm respectivamente), el cual fue significativamente mayor que el resto de los tratamientos, los cuales se mantuvieron en un intervalo de 81.86-97.80 mg en peso y 3.62-3.72 cm en talla ($F_{3,12} = 9.63$, $p = 0.0049$ en peso y $F_{3,12} = 5.12$, $p = 0.0288$ en talla). No se observaron diferencias significativas en la supervivencia, sin embargo el mayor porcentaje se presentó en la dieta PSP (74.42%) y el menor con ES (51.60%) ($F_{3,12} = 1.08$, $p = 0.4095$).

PALABRAS CLAVES: Alimentación, caballitos de mar, crías, enriquecimiento, *Hippocampus reidi*.

ABSTRACT

Effect of food enrichment on growth and survival of seahorse fry *Hippocampus reidi* under laboratory conditions. Seahorses natural populations are declining, due to their demand in traditional Chinese medicine, its consumption in oriental countries and their attractive as ornamental species; then, all the *Hippocampus* species of the genus are considered threatened fishes. Culture under

* Contribución No. 1140 del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar).

controlled conditions is an option for their conservation and sustainable use; however, it is necessary to find the appropriate techniques to culture them, especially to raise the fry. In this study the effect of live food on growth and survival of *Hippocampus reidi* fry was evaluated. During the first 11 days they were fed with *Artemia* nauplii and rotifers enriched, since the day 11 to 46 only with enriched *Artemia* metanauplii with four commercial products: Protein Selco Plus® (PSP), marine fish food Azoo 9 in 1® (AZ), Scott Emulsion® (SE) and *Isochrysis galbana* microalgae (IG). The largest growth in terms of weight and height was observed in seahorses fed with enriched *Artemia* with PSP (160.13 mg and 4.44 cm respectively), which was significantly higher than the other treatments, which were kept in a range of 81.86-97.80 mg in weight and 3.62-3.72 cm in size ($F_{3,12} = 9.63$, $p = 0.0049$ by weight and $F_{3,12} = 5.12$, $p = 0.0288$ in height). There were not significant differences in survival; however the highest percentage was in PSP diet (74.42%) and the lower in SE (51.60%) ($F_{3,12} = 1.08$, $p = 0.4095$).

KEYWORDS: Feeding, seahorses, fry, enrichment, *Hippocampus reidi*.

INTRODUCCIÓN

Hippocampus reidi es una especie costera de fondos someros, generalmente se encuentra en áreas de aguas claras y limpias sujeta a algas marinas como *Sargassum*, a profundidades entre 15 y 60 m (Martin-Smith y Vincent, 2005). Se distribuye a lo largo del oeste del océano Atlántico, desde Carolina del Norte (EE. UU.) hasta Río Grande do Sul (Brasil), incluyendo el golfo de México y el mar Caribe (Martin-Smith y Vincent, 2005). Presenta características de vida muy particulares como el embarazo especializado en los machos, cuidado parental prolongado y pequeño tamaño de las crías (Vincent, 1995; Foster y Vincent, 2004). La escasa movilidad de los caballitos de mar los convierte en una presa fácil de la sobrepesca y la captura incidental, y lo restringido de su hábitat los hace vulnerables a las perturbaciones antropogénicas (Vincent, 1995; Foster y Vincent, 2004; Bruckner *et al.*, 2005; Martin-Smith y Vincent, 2005; Curtis y Vincent, 2006; Freret-Meurer y Andreatta, 2008).

El potencial del género *Hippocampus* en la acuicultura se divulgó en 1995 cuando se descubrió que eran organismos relativamente pequeños, con gran cantidad de huevos y sus crías se encontraban desarrolladas en el momento del nacimiento. Estudios relacionados con la biología de *H. reidi* revelaron aspectos importantes, Rodrigues (2000) estableció que son organismos de tipo agástrico, con un paso directo del esófago al intestino y que a nivel microscópico el intestino medio y terminal se asemejan a un intestino delgado y grueso como en los mamíferos. Felicio *et al.* (2006) determinaron que su principal presa de consumo en condiciones naturales era el camarón carídeo *Hyppolyte curacoensis*. Costa *et al.* (2008) encontraron que el contenido estomacal de juveniles y adultos estaba representado principalmente por nemátodos y crustáceos; Olivotto *et al.* (2008) evaluaron diferentes tipos de dieta como rotíferos, copépodos y *Artemia* spp. para el levante de crías en cautiverio, concluyendo que los copépodos harpacticoides como *Tisbe* spp. son presas valiosas

como suplemento de las dietas tradicionales, basadas en rotíferos y nauplios de *Artemia*, y que el fotoperíodo puede desempeñar un papel importante en el cultivo exitoso de esta especie.

Adicionalmente existen algunos estudios en otras especies del género *Hippocampus* a nivel nutricional: Wong y Benzie (2003) determinaron mejores crecimientos en *H. whitei* alimentándola con *Artemia* enriquecida con DC Selco® que con *Artemia* sin enriquecer. Woods (2003) obtuvo las mayores tallas para *H. abdominalis* al realizar ensayos de enriquecimiento de *Artemia* durante tres meses con DHA Protein Selco® y Algamac-3050®, mientras que los mejores pesos se obtuvieron en las crías alimentadas con Super Selco®. Adicionalmente, Woods (2005) determinó que las tasas de alimentación para cultivar *H. abdominalis* debían encontrarse entre 5-10% de peso húmedo del cuerpo por día con misidáceos congelados.

Se ha demostrado que las crías de *H. reidi* necesitan una alta velocidad para capturar sus presas, para lo cual utilizan los tendones de los músculos responsables de la rotación de la cabeza (Van-Wassenbergh y Aerts, 2008; Van-Wassenbergh *et al.*, 2009). Las crías de esta especie tienen la capacidad de alimentarse desde el momento en que salen de la bolsa de incubación del macho (Hilomen-García, 1999; Payne y Rippingale, 2000; Woods, 2000); sin embargo, están limitadas por su falta de destreza al alimentarse ya que adoptan una estrategia de emboscada, esperando que el alimento vivo se acerque a la boca para succionarlo (Arcos-Pulido, 2008) y necesitan consumir organismos vivos que le proporcionen los nutrientes necesarios para su óptimo desarrollo adecuados al tamaño de su hocico (Hilomen-García, 1999; Payne y Rippingale, 2000; Woods, 2000). Es por esto que levantar caballitos de mar en condiciones de laboratorio requiere el cultivo de presas vivas que cumplan con los requerimientos nutricionales de la especie, lo cual aún es uno de los puntos críticos para el levante de las crías en un sistema de cultivo (Olivotto *et al.*, 2008). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el crecimiento en crías de *H. reidi* mediante el enriquecimiento del alimento vivo con diferentes productos con el fin de aportar información a mediano o largo plazo para el cultivo de esta especie y promover así la diversificación del sector acuícola de manera sostenible.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Durante 46 días se determinó el efecto de *Artemia* enriquecida en el crecimiento y supervivencia de crías de *H. reidi* con cuatro productos por separado (Tabla 1): 1. Protein Selco Plus® (PSP), 2. Alimento para peces Azoo 9 en 1® (AZ), 3. Emulsión de Scott® (ES) y 4. Microalga viva de la especie *Isochrysis galbana* (IG). Evaluando cada tratamiento por triplicado para un total de 12 unidades experimentales.

Tabla 1. Composición nutricional de los productos comerciales seleccionados como enriquecedores de *Artemia*.^a Barbosa (2005).^b Helm *et al.* (2006).

Producto	Presentación	Nutrientes					Otros
		Proteína (%)	Lípidos (%)	Fibra (%)	Humedad (%)	Cenizas (%)	
Azoo 9 en 1® (AZ)	Alimento peletizado para peces marinos	45.0	3.0	5.0	5.0	-	
Protein Selco Plus® (PSP)	Pasta de color verde oscuro para enriquecimiento de rotíferos	21.0	45.0	1.0	5.0	4.5	Fósforo, vitaminas A, D3, E y C y antioxidantes HUFA mín. 90 mg g ⁻¹ peso seco (DHA/EPA 2.5%)
Emulsión de Scott® (ES)	Líquido espeso de color amarilloso	-	100	-	-	-	Cada 5 mL contiene aceite puro de hígado de bacalao y vitaminas A y D
<i>Isochrysis galbana</i> (IG)	Células vivas cultivadas en laboratorio en agua de mar	28.1 ^a	22 ^b	-	-	-	EPA 1% ^b DHA 12% ^b

Manejo del alimento vivo

Cultivo y enriquecimiento de rotíferos. A partir de un *stock* de rotíferos se estableció un cultivo continuo distribuido en dos tanques blancos en fibra de vidrio de 200 L a densidades entre 150 y 200 rot mL⁻¹, con agua de mar a una salinidad promedio de 26.8 ± 0.5, temperatura de 26.1 ± 0.7 °C, iluminación constante con una lámpara fluorescentes de 30 W y aeración suave y constante. Se enriquecieron alimentándolos diariamente a una ración de 0.3 g de alimento por cada millón de rotíferos, utilizando una mezcla preparada con tres enriquecedores: PSP (30%), AZ (50%) y ES (20%); la dieta preparada se suministró en tres o cuatro raciones diarias, logrando así una alimentación prolongada y disponibilidad de rotíferos enriquecidos cuando fuese necesario. Para su mantenimiento diario se realizaron recambios de agua del 50% y según el estado del cultivo, recambios ocasionales del 100%. La densidad fue monitoreada todos los días; un solo tanque era utilizado diariamente para alimentar a las crías de caballitos y hacia el final del día se adicionaba agua para reponer el volumen utilizado, al día siguiente se repetía el procedimiento con el otro tanque.

Cultivo y enriquecimiento de *Artemia*. Se eclosionaron quistes de Artemia Internacional Premium® a razón de 10 g de quistes en 12 L de agua de mar, utilizando botellones invertidos de 20 L con un punto de aireación fuerte en el fondo de cada recipiente, permitiendo una concentración de oxígeno $\geq 5 \text{ mg L}^{-1}$, 26-27 °C, salinidad de 15, pH entre 8.0 y 8.5 e iluminación constante con dos lámparas fluorescentes de 30 W. Una vez eclosionados, los nauplios fueron colectados y depositados nuevamente en los tanques a volúmenes entre 16 y 19 L con agua de mar microfiltrada (1 μm) y aeración, manteniendo una densidad entre 3 y 5 art mL^{-1} .

El proceso de enriquecimiento se iniciaba 12 h después de la eclosión, cuando las artemias abren la boca y comienza su estadio de metanauplio. En cada tanque los metanauplios se alimentaron con cada producto por separado a razón de 0.6 g por cada millón de artemias y para IG a una concentración de 20000 cel mL^{-1} . Se establecieron dos formas de enriquecimiento: 1. Parcial, donde en cada tanque el alimento era suministrado en cinco raciones durante 24 h, pero las crías de caballitos se empezaban a alimentar con estos cultivos solo 2 h después de haberse proporcionado la primera ración de enriquecedor, y 2. Prolongado, en donde el alimento era suministrado en una sola ración hacia el final de la tarde, permitiendo una alimentación constante de los metanauplios durante 14 h en la noche, para luego ser usados durante el día siguiente como alimento de los caballitos.

Los nauplios y metanauplios de *Artemia*, así como los rotíferos, fueron medidos a través del microscopio con la ayuda de una cámara Euromex 1300, procesando las imágenes para las mediciones con el programa Imagen Focus, determinando su tamaño antes y después del enriquecimiento. De la misma manera, el diámetro de los hocicos de las crías de caballito también fue medido durante los primeros 11 días de vida, con el fin de conocer el momento en el cual el alimento enriquecido podía ser fácilmente consumido.

Obtención de crías y mantenimiento

La pareja de reproductores fue colectada del medio natural y mantenida en un tanque de 110 L en recirculación constante dentro del Laboratorio de Bioprospección Marina (LABBIP) del Invemar, alimentándolos diariamente con dos raciones de misidáceos vivos colectados del medio natural y una ración de adultos de *Artemia*. El nacimiento se produjo 14 días después de iniciado el cortejo y las crías fueron recolectadas y sembradas al azar en incubadoras de 12 L diseñadas y adaptadas a partir de un sistema Kreisel y pseudo-Kreisel (Koldewey, 2005; Koldewey *et al.*, 2010) a una densidad de 3.8 ind L^{-1} y conectadas al sistema de recirculación general del LABBIP. Tanto en la mañana como en la tarde las incubadoras eran sifoneadas, llevando un registro diario de los organismos muertos para calcular el porcentaje de supervivencia.



En promedio, la temperatura de las incubadoras se mantuvo a 26.97 ± 0.60 °C, salinidad 33.90 ± 12.77 , pH 7.85 ± 0.14 y amonio $< 0.03 \text{ mg L}^{-1}$ (0.015 ± 0.014). La iluminación fue provista por una lámpara de techo de 36 W a una intensidad lumínica de $249.1 \pm 85.8 \text{ lx}$ en un fotoperíodo de 10 horas luz y 14 horas oscuridad.

Durante todo el experimento las crías de *H. reidi* fueron alimentadas *ad libitum*. Para el período entre 0 y 10 días de nacidas en todas las incubadoras se suministró una combinación de rotíferos enriquecidos y nauplios recién eclosionados; a partir del undécimo día se asignaron al azar y por triplicado los tratamientos respectivos a cada incubadora, iniciándose la alimentación con metanauplios enriquecidos con cada uno de los productos por separado. El protocolo de alimentación aplicado se describe en la Tabla 2.

Tabla 2. Protocolo de alimentación para crías de *Hippocampus reidi* durante los primeros 46 días de vida. ^a Enriquecimiento parcial: el alimento suministrado a los metanauplios de *Artemia* se proveía en cinco raciones durante 24 h, pero las crías de caballitos se alimentaban con estos cultivos solo dos horas después de haberse proporcionado la primera ración de enriquecedor. ^b Enriquecimiento prolongado: el alimento era suministrado a las artemias en una sola ración a las 6:30 p. m., lo que permitía una alimentación constante de los metanauplios durante 14 h en la noche, para luego ser usados durante el día siguiente como alimento de los caballitos.

Días	Alimento	Diámetro del ojo de malla para su colecta (μm)	Número de ración día ⁻¹	Densidad
0-6	Rotíferos enriquecidos	60	3	20 rot mL ⁻¹
0-6	Nauplios de artemia	< 200	4	3-5 art mL ⁻¹
7-11	Nauplios de artemia	< 200	5	3-5 art mL ⁻¹
12-21	Metanauplios de artemia con enriquecimiento parcial ^a	> 200	4	3-5 art mL ⁻¹
22-46	Metanauplios de artemia con enriquecimiento prolongado ^b	> 200	4	3-5 art mL ⁻¹

Muestreos

El crecimiento de las crías se determinó registrando de manera individual la talla y peso de los caballitos al inicio y final del experimento. Los datos iniciales se obtuvieron únicamente de 20 individuos del lote de recién nacidos, mientras que para los finales se usaron todos los individuos de cada incubadora. Cada caballito fue secado con papel absorbente y pesado en un recipiente con agua previamente tarado en una balanza analítica de 0.0001 g de precisión; para el registro de la talla cada animal fue anestesiado en una solución de benzocaína (0.16 g L^{-1}) y fotografiado sobre papel

milimetrado, para luego realizar las mediciones a través del *software* Arcgis 9.3. Con los datos obtenidos se realizaron los siguientes cálculos (Tacon, 1989; Jobling, 1994):

Peso ganado:

$$PG (\%) = 100 * \{[\text{peso final (mg)} - \text{peso inicial (mg)}] / \text{peso inicial (mg)}\}$$

Tasa específica de crecimiento:

$$TEC = 100 * \{[\ln \text{ peso final (mg)} - \ln \text{ peso inicial (mg)}] / \# \text{ días}\}$$

Ganancia de peso individual:

$$GPI (\text{mg día}^{-1}) = (\text{peso final (mg)} - \text{peso inicial (mg)}) / \# \text{ días}$$

Factor de condición de Fulton:

$$K = \text{peso final (mg)} / \text{longitud final (cm)}^3$$

Análisis de los datos

Se evaluaron los prerrequisitos de normalidad y homogeneidad de varianzas en los datos para determinar si los cálculos correspondían a una prueba paramétrica o no (Quinn y Keough, 2006). Se realizaron análisis de varianza a una vía para la longitud estándar final (LS_p), peso final (W_f), peso ganado (PG), ganancia de peso individual (GPI) y supervivencia. Cuando el análisis arrojó diferencias significativas, se realizó una prueba *post hoc* de rangos múltiples de Tukey. Para la tasa específica de crecimiento (TEC) y el factor de condición de Fulton (K), no se cumplió el supuesto de normalidad, aún después de transformados los datos, por tanto se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para determinar las diferencias entre tratamientos. Para todas las pruebas se utilizó un nivel de significancia de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Supervivencia

Se observó una mortalidad paulatina a lo largo del estudio en todos los tratamientos, la cual fue menos marcada hasta el día 24 en los tratamientos IG y AZ; a partir de este día la mortalidad disminuyó notablemente en la dieta PSP, sin registrarse la muerte de ningún caballito después del día 33; mientras que en el resto de tratamientos las mortalidades continuaron hasta el final del experimento (Figura 1). Aunque no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos al final del estudio ($F_{3,12} = 1.08$, $p = 0.4095$), los caballitos que presentaron una mayor supervivencia fueron los alimentados con *Artemia* enriquecida con PSP (74.42%), seguidos por IG, AZ y finalmente ES con 51.60% (Tabla 3).

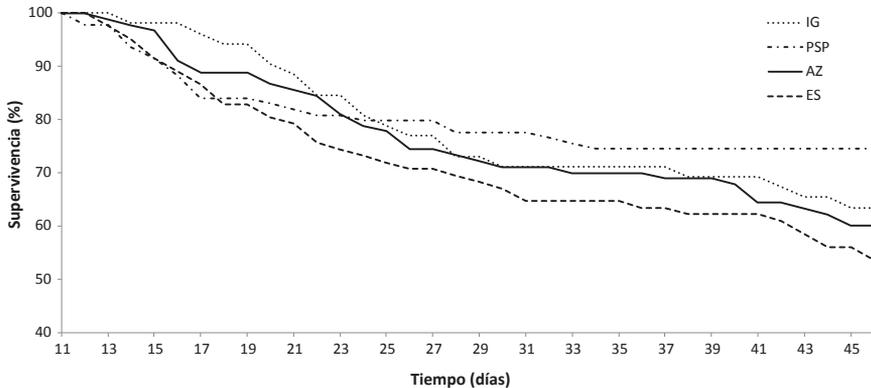


Figura 1. Supervivencia de crías de *Hippocampus reidi* alimentadas a partir del undécimo día de vida con *Artemia* enriquecida con diferentes tipos de alimentos: *Isochrysis galbana* (IG), Protein Selco Plus® (PSP), alimento para peces Azoo 9 en 1® (AZ) y Emulsión de Scott® (ES).

Tabla 3. Parámetros de crecimiento y supervivencia totales en crías de *Hippocampus reidi* alimentadas con *Artemia* enriquecida con diferentes tipos de alimentos. *Letras diferentes en cada fila indican diferencias significativas ($p > 0.05$). ¹LSi: Longitud estándar inicial. ²LSf: Longitud estándar final. ³Wi: Peso inicial. ⁴Wf: Peso final. ⁵PG: Peso ganado. ⁶GPI: Ganancia de peso individual. ⁷TEC: Tasa específica de crecimiento. ⁸K: Factor de condición de Fulton.

Cálculos*	Tratamientos			
	<i>Isochrysis galbana</i>	Protein Selco Plus®	Azoo 9 en 1®	Emulsión de Scott®
LSi ¹ (cm)	0.88 ± 0.47	0.88 ± 0.47	0.88 ± 0.47	0.88 ± 0.47
LSf ² (cm)	3.72 ± 0.30 ^c	4.40 ± 0.12 ^a	3.62 ± 0.42 ^b	3.71 ± 0.17 ^c
Wi ³ (mg)	1.79 ± 0.0005	1.79 ± 0.0005	1.79 ± 0.0005	1.79 ± 0.0005
Wf ⁴ (mg)	97.80 ± 21.98 ^b	160.13 ± 21.41 ^a	81.86 ± 23.43 ^b	86.59 ± 12.35 ^b
PG ⁵ (%)	5378.78 ± 1231.57 ^b	8870.84 ± 1199.45 ^a	4485.96 ± 1312.37 ^b	4751.16 ± 691.90 ^b
GPI ⁶ (mg/día)	2.09 ± 0.48 ^b	3.44 ± 0.47 ^a	1.74 ± 0.51 ^b	1.84 ± 0.27 ^b
TEC ⁷ peso	8.38 ± 0.68 ^c	9.54 ± 0.23 ^a	8.02 ± 0.76 ^b	8.17 ± 0.43 ^c
K ⁸	0.23 ± 0.02 ^a	0.29 ± 0.12 ^a	0.20 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.02 ^a
Supervivencia (%)	63.46 ± 19.30 ^a	74.42 ± 5.52 ^a	59.86 ± 20.40 ^a	51.60 ± 13.15 ^a

Crecimiento

El mayor crecimiento tanto en peso como en talla se presentó en el tratamiento PSP, siendo significativamente mejor que en el resto de las dietas, donde los caballitos lograron un peso final promedio de 160.13 ± 21.41 mg y una talla de 4.40 ± 0.12 cm ($F_{3,12} = 9.63$, $p = 0.0049$ en peso y $F_{3,12} = 5.12$, $p = 0.0288$ en talla) (Tabla 3). El peso ganado (PG) mostró que durante los 46 días de estudio los animales ganaron entre 45 y 88 veces su peso inicial. El mayor aumento se presentó en el tratamiento PSP el cual fue significativamente mayor que el resto

de tratamientos ($F_{3,12} = 9.63$, $p = 0.0049$). En la ganancia de peso individual (GPI) se observó que los caballitos crecieron diariamente entre 1.74 y 3.44 mg día⁻¹ sin diferencias significativas entre los tratamientos IG, AZ y ES. La mayor GPI se dio con PSP siendo significativamente mayor que el resto ($F_{3,12} = 9.63$, $p = 0.0050$), donde diariamente los animales casi llegaron a doblar su peso inicial (Tabla 3).

Todas las TEC estuvieron por encima de ocho, siendo significativamente mayor en PSP ($F_{3,12} = 4.54$, $p = 0.0387$). El factor de Fulton (K) presentó una variación entre 0.19 y 0.29 sin presentarse diferencias significativas entre los tratamientos (Kruskal-Wallis: $H' = 4.23077$, $n = 12$, $p = 0.237596$) (Tabla 3).

Relación entre el ancho del hocico y el tamaño de alimento

Tamaño del alimento vivo. Se determinó que los rotíferos presentaron un tamaño entre 100 y 300 μm de longitud y 80 y 200 μm de ancho, los nauplios recién eclosionados entre $491.58 \pm 10.55 \mu\text{m}$ de largo y $160.73 \pm 12.87 \mu\text{m}$ de ancho y los metanauplios enriquecidos entre $882.09 \pm 58.89 \mu\text{m}$ de largo y $223.52 \pm 37.36 \mu\text{m}$ de ancho.

Mediciones del hocico de las crías. Los caballitos recién nacidos presentaron un diámetro de hocico promedio de $339.84 \pm 46.61 \mu\text{m}$, a los dos días aumentó a $366.05 \pm 58.57 \mu\text{m}$, a los cinco fue de $434.55 \pm 43.57 \mu\text{m}$, a los siete $455.16 \pm 67.15 \mu\text{m}$ y a los once de $491.82 \pm 34.09 \mu\text{m}$. Estos resultados permitieron determinar el momento en que a las crías se les debía suministrar cada tipo de alimento durante el estudio; puesto que durante los primeros días los caballitos succionaban fácilmente los rotíferos y se les dificultaba más la caza de nauplios de *Artemia*, pero con el paso del tiempo desarrollaron una mejor habilidad para capturarlos.

DISCUSIÓN

Comportamiento alimentario

Para la captura del alimento los caballitos no solo dependen del tamaño de partícula suministrado, también interviene la destreza que el animal tenga para posicionar correctamente la boca y ensanchar o mover sus mandíbulas (Bautista, 1991). Según Van-Wassenbergh y Aerts (2008), un recién nacido de *H. reidi* tiene la capacidad de realizar un ataque de movimiento coordinado en la alimentación a una velocidad de 2.5 milisegundos. Aunque en este estudio el diámetro de hocico de las crías recién nacidas les permitiría ingerir rotíferos enriquecidos y nauplios recién eclosionados de *Artemia*, se observó que sólo los ejemplares más grandes pudieron alimentarse de ambos mientras que los más pequeños solo consumían rotíferos y pocos nauplios. Payne y Rippingale (2000) encontraron que crías de cinco días de nacidas de *H. subelongatus* ya seleccionaban copépodos de la talla

más grande, por encima de los nauplios de *Artemia*; el consumo máximo establecido fue de 214 copépodos caballito de mar⁻¹ h⁻¹; Sheng *et al.* (2006) establecieron que crías de *H. trimaculatus* menores a tres días de edad preferían nauplios de copépodos (*Pseudodiaptomus annandalei*) y nauplios de moína (*Moina mongolia*) de 698 µm en vez de copepoditos, al parecer estos eran demasiado grandes (1012 µm) para ser consumidos por los caballitos más pequeños (la apertura de su boca a los tres días fue de 527 µm), los autores mencionan que esta preferencia también puede deberse a que los copepoditos nadan más rápido que los nauplios de copépodos, pudiendo escapar más fácil de los caballitos en etapas tempranas de crecimiento. En el presente estudio, aunque no se realizó un conteo de las presas consumidas por animal, sí se pudo observar que las crías preferían alimentarse de los rotíferos enriquecidos durante los primeros dos a tres días, después se observó que los nauplios de *Artemia* eran los preferidos.

Supervivencia

De manera general se observó que el tratamiento PSP presentó la supervivencia más alta, sin observarse mortalidades durante las dos últimas semanas del ensayo, como particularidad específica esta dieta presenta el mejor contenido nutricional en términos de ácidos grasos altamente insaturados o HUFA por sus siglas en inglés. Similares resultados se han tenido en experimentos con *H. hippocampus* en juveniles alimentados exclusivamente con *Artemia* enriquecida con Easy-DHA, INVE Aquaculture® obteniendo una supervivencia de 60%, determinando que las artemias enriquecidas presentan mayor contenido de ácidos palmítico, oleico y linoleico, así como altos niveles de ARA, EPA y DHA que las dietas con rotíferos enriquecidos y, aunque los caballitos capturan la presa, esta no siempre cumple con los requerimientos nutricionales adecuados para los primeros días de vida (Otero-Ferrer *et al.*, 2010). Si bien la mejor supervivencia registrada en este estudio es de 74.42% alimentando las crías con *Artemia* enriquecida, Payne y Rippingale (2000) sugieren que la *Artemia* no es una monodieta apropiada para los juveniles de algunas especies de caballito de mar, pero si el primer paso para iniciar su cultivo en cautiverio.

Hora y Joyeux (2009) fueron los primeros en obtener buenos resultados con *H. reidi*, presentando mortalidades de tan solo 11.7% alimentándolos durante 109 días, inicialmente con zooplancton y misidáceos del medio natural y posteriormente con *Artemia* enriquecida con Super Selco®. Olivotto *et al.* (2008) registraron supervivencias de 35.1% en crías de 21 días sometiendo a los caballitos a iluminación constante y una dieta los primeros seis días con rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y nauplios de *Tisbe* spp. y del día 7 al 21 con nauplios de *Artemia*,

copépodos y copepoditos. En Colombia se han desarrollado algunos estudios con la misma especie evaluando diferentes tipos de dietas y enriquecedores, presentando supervivencias más bajas que las obtenidas en este trabajo: León y Jáuregui (2001) alimentaron crías de *H. reidi* con nauplios de *Artemia*, *Spirulina* licuada y diatomeas (*Chaetoceros* sp.), logrando una supervivencia de 11.99% en las crías alimentadas con nauplios hasta las 72 h de vida, con los otros dos tratamientos todas las crías murieron después de 48 h. Cabrera (2010) mantuvo un lote de juveniles suministrando *Artemia* enriquecida, sin especificar los enriquecedores utilizados, obteniendo una supervivencia de 45% a los 20 días. Zuluaga (2010) alimentó crías con nauplios de *Artemia*, registrando 31.25% a los 10 días de edad. Finalmente, Melo-Valencia *et al.* (2013) en caballitos de 30 días de edad obtuvo supervivencias de 17.6% en ensayos de salinidad, alimentando las crías durante los primeros cinco días con una combinación de rotíferos enriquecidos y nauplios de *Artemia* recién eclosionados, enriqueciendo los rotíferos con una mezcla de productos (AZ, PSP y ES), del día 6 al 15 sólo suministró nauplios de *Artemia* y los siguientes 15 días metanauplios de *Artemia* enriquecidos con el mismo preparado usado para los rotíferos.

Otro factor que influye en la alimentación de las crías es la intensidad lumínica, según Sheng *et al.* (2006) este factor afecta el comportamiento alimenticio de las crías de *H. trimaculatus* ($p < 0.01$), los mayores picos de alimentación se presentaron a 1834 lx para crías de un día de edad, 1014 lx a los cinco días y 510 lx a los diez. En el presente estudio la intensidad lumínica durante el experimento en el laboratorio fue de 249.1 ± 85.8 lx, bastante baja al compararla con los resultados anteriores y ello también pudo influenciar el consumo de alimento que a su vez se pudo reflejar en las respuestas de crecimiento y supervivencia de los animales, sin embargo en el caso de *H. reidi* se requieren más estudios que permitan dilucidar si efectivamente este factor afecta el consumo de alimento de las crías.

Crecimiento

Al evaluar el crecimiento de los organismos durante 46 días de cultivo se observó que las crías de *H. reidi* presentaron mejores respuestas en crecimiento con productos ricos en lípidos a niveles de 45%, específicamente con contenidos de mínimo 90 mg g⁻¹ peso seco de HUFA y adiciones específicas de DHA/EPA de 2.5%, con bajos contenidos proteicos (21%), así como una proporción de nutrientes adicionales como el fósforo, vitaminas A, D3, E, C y antioxidantes, características especiales que hicieron exitoso el enriquecedor PSP frente a los demás (Tabla 1). Por el contrario, la dieta enriquecida con ES, compuesta solo por lípidos y algunas vitaminas, fue significativamente menor que PSP, destacando que no solo es importante la cantidad de lípidos suministrados, sino también su calidad; se

necesita un balance equilibrado de nutrientes en el alimento vivo, puesto que el índice de conversión del alimento depende de su calidad, digestibilidad, frecuencia de alimentación, temperatura y contenido proteico (Tacon, 1989; Houlihan *et al.*, 2001). Los contenidos de HUFA en la dieta, especialmente fuentes de grasas de la serie W_3 , desempeñan un papel decisivo para la flexibilidad y permeabilidad de las membranas plasmáticas, el funcionamiento normal de las mitocondrias y la actividad enzimática (ATPasa), ejerciendo funciones específicas para el sentido de visión de algunas especies de peces, formando parte de la estructura del *tapetum lucidum* y la actividad de los nervios. De igual manera tienen gran importancia en el transporte de las demás grasas (Díaz *et al.*, 1995), lo que permite sugerir que en esta etapa de vida parecen ser más importantes como fuente nutricional los lípidos con contenidos de HUFA, que las proteínas (Otero-Ferrer *et al.*, 2010).

A los 46 días de vida las crías de *H. reidi* presentaron una talla de 4.40 ± 0.12 cm y un peso de 160.13 ± 21.41 mg en el tratamiento PSP. Reyes-Bustamante y Ortega-Salas (1999) obtuvieron valores inferiores en términos de talla para *H. ingens* con organismos de 0.69 cm de longitud inicial hasta 2.84 cm en un mes, siendo alimentados con una dieta variada (rotíferos, copépodos y nauplios de *Artemia*). Correa *et al.* (1989) registraron en *H. erectus* un incremento en talla de 1.3 a 3.47 cm a los 35 días de edad, siendo alimentados con nauplios de *Artemia*; Liang (1992) menciona que *H. japonicus* alcanzó hasta 4.5 cm después de un mes, valores similares a los registrados para *H. reidi*, mientras que para la misma especie Olivotto *et al.* (2008) obtuvieron una longitud aproximada de 2.5 cm y 43 mg a los 21 días de cultivo. Woods (2003) también registra estudios de enriquecimiento de *Artemia* con HUFA para el mantenimiento de juveniles de *H. abdominalis*, concluyendo que los cuatro enriquecedores utilizados (DHA Protein Selco, Algamac-3050, Super Selco y EPABSF/*Spirulina*), contribuyeron a promover un buen crecimiento y una excelente supervivencia de los organismos, lo que coincide con lo registrado en este estudio.

Según De-Silva y Anderson (1995), la TEC tiende a ser mayor en organismos jóvenes que en adultos. Por ejemplo, en adultos de *H. guttulatus* Palma *et al.* (2008) registran una TEC de 0.53 ± 0.1 en organismos alimentados con camarones (*Palaemonetes varians*), mientras que Lin *et al.* (2009) en juveniles de *H. erectus* de 56 días de edad obtuvieron una TEC de 2.72 ± 0.275 , cifras inferiores a las obtenidas en este experimento donde la TEC fue de 9.54 ± 0.23 al final de los 46 días con la dieta PSP. Otra forma de medir el crecimiento de las crías es conocer la velocidad a la cual crecen mediante la ganancia de peso individual (GPI), en este estudio los caballitos alimentados con PSP aumentaron 3.44 mg día⁻¹, un valor más alto que el obtenido por Choo y Leiw (2006) de 1.8 mg día⁻¹ en crías de *H. kuda* los primeros 27 días de vida.

El factor de condición de Fulton o factor K, es un índice de estimación morfométrico de la condición corporal en peces, se asume que los peces más pesados de una longitud dada están en mejores condiciones que otros más livianos a la misma longitud (Sutton *et al.*, 2000). Existen pocos registros de este factor para caballitos. Melo-Valencia *et al.* (2013) registra para crías de *H. reidi* de un mes de edad valores de 0.14-0.16 en los caballitos cultivados a diferentes salinidades, siendo más bajos que los del presente estudio (0.19 a 0.29). Algunos autores exponen que el factor K está directamente correlacionado con la densidad de los lípidos no polares; lo que en peces se suele utilizar como una medida del estado energético de un individuo a través de fuentes de energía utilizadas durante los períodos de hambre, reproducción y maduración de los organismos (Neff y Cargnelli, 2004; Pangle y Sutton, 2005). Todo esto se podría reflejar en las respuestas de crecimiento encontradas, no solo por la cantidad de lípidos suministrados en las dietas, sino también por la calidad de los mismos.

CONCLUSIÓN

Se recomienda enriquecer metanauplios de *Artemia* con Protein Selco Plus®, para asegurar buenos resultados en crecimiento y supervivencias mayores al 70% en el levante de crías de caballito de mar *H. reidi* bajo condiciones de cautiverio. Las crías deben ser alimentadas con *Artemia* enriquecida a partir de los once días de vida, tiempo en el cual su tamaño de hocico les permite consumir los metanauplios enriquecidos a densidades entre 3-5 art mL⁻¹, suministradas en cuatro raciones por día.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (Invemar), a Langostinos del Llano Ltda., al Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (Incoder) y a la Fundación Museo del Mar por la financiación y participación en el proyecto “Evaluación del uso de dietas alimenticias y nutricionales de dos especies de peces marinos ornamentales de interés comercial en diferentes estadios de desarrollo” (código 197-2008T6949-384-01), en cuyo marco se desarrolló este trabajo. También al equipo del Laboratorio de Bioprospección Marina del Invemar (LABBIP) y a la Línea de Bioprospección Marina del Programa de Valoración y Aprovechamiento de los Recursos Marinos (VAR) donde se llevó a cabo el proyecto. Finalmente a la profesora Rocío García de la Universidad del Magdalena por su asesoría y consejos en el análisis estadístico.



BIBLIOGRAFÍA

- Arcos-Pulido, M. P. 2008. Caballitos de mar (*Hippocampus* spp.) de Colombia: Situación actual, instrumentos de gestión y acciones prioritarias de conservación. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá. 119 p.
- Barbosa, W. A. 2005. Efecto de la calidad de la dieta sobre la fisiología energética de los bivalvos *Argopecten nucleus* y *Nodipecten nodosus* en condiciones de laboratorio. Tesis Biólogo, Universidad del Magdalena, Santa Marta. 59 p.
- Bautista, P. C. 1991. Peces marinos, tecnología de cultivo. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 148 p.
- Bruckner, A. W., J. D. Field y N. Daves (Eds.). 2005. The proceedings of the international workshop on Cites implementation for seahorse conservation and trade. NOAA Techn. Mem. NMFS-PR-36, Silver Spring, EE. UU. 171 p.
- Cabrera, A. 2010. Reproducción y levante del caballito de mar. *Expediitio*, 2: 19-24
- Choo, C. K. y H. C. Leiw. 2006. Morphological development and allometric growth patterns in the juvenile seahorse *Hippocampus kuda* Bleeker. *J. Fish Biol.*, 69: 426-445.
- Correa, M., K. S. Chung y R. Manrique. 1989. Experimental culture of the seahorse, *Hippocampus erectus*. *Bol. Inst. Oceanog. Venezuela*, 28: 91-196.
- Costa, C. A. L., D. A. Farias, M. I. Zapparolli, A. L. Vendel, R. T. Pereira y R. I. Lucena. 2008. Assessing diet composition of seahorses in the wild using a non-destructive method: *Hippocampus reidi* (Teleostei: Syngnathidae) as a study-case. *Neotrop. Ichthyol.*, 6 (4): 637-644.
- Curtis, J. M. R. y A. C. J. Vincent. 2006. Life history of an unusual marine fish: survival, growth and movement patterns of *Hippocampus guttulatus* Cuvier 1829. *J. Fish Biol.*, 68: 707-733.
- De-Silva, S. y T. Anderson, 1995. Fish nutrition in aquaculture. Chapman and Hall, Londres. 319 p.
- Díaz, G. F., L. M. P. Dorado, K. A. Eraso, C. E. Ortega, G. H. Rodríguez, J. M. P. Soler y A. G. Salazar (Eds.). 1995. Fundamentos de nutrición y alimentación en acuicultura. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA), Bogotá. 342 p.
- Felicio, A. K. C., I. L. Rosa, A. Souto y R. H. A. Freitas. 2006. Feeding behavior of the longsnout seahorse *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Jap. Ethol. Soc.*, 24: 219-225.
- Foster, S. J. y A. C. J. Vincent. 2004. Life history and ecology of seahorses: implications for conservation and management. *J. Fish Biol.*, 65: 1-61.
- Freret-Meurer, N. V. y J. V. Andreatta. 2008. Field studies of a Brazilian seahorse population, *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933. *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, 51: 743-751.
- Helm, M. M., N. Bourne y A. Lovatelli. 2006. Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO Doc. Téc. Pesca, 471. Roma. 182 p.
- Hilomen-García, G. 1999. AQD's marine ornamental fish project, SEAFDEL. *Asian Aquacult.*, 21: 31-38.
- Hora, M. S. y J. C. Joyeux. 2009. Closing the reproductive cycle: Growth of the seahorse *Hippocampus reidi* (Teleostei, Syngnathidae) from birth to adulthood under experimental conditions. *Aquaculture*, 292: 37-41.
- Houlihan, D., T. Boujard y M. Jobling. 2001. Food intake in fish. Blackwell Science Ltd., Oxford. 418.
- Jobling, M. 1994. Fish bioenergetics. Chapman and Hall, Londres. 309 p.

- Koldewey, H. 2005. Syngnathid husbandry in public aquariums. Zoological Society of London and Project seahorse, Londres. 137 p.
- Koldewey, H., J. Martin-Smith y M. Keith. 2010. A global review of seahorse. *Aquaculture*, 302: 131-152.
- León, J. A. y A. Jáuregui. 2001. Ensayos alimentarios en juveniles de *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) con fines de levante, mediante la implementación de dietas basadas en microalgas (*Chaetoceros* y *Spirulina*) y nauplios de artemia salina, acuario Mundo Marino. 446. En: Santos-Martínez, A. (Ed.). IX Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar (Colacmar). Unibiblios, San Andrés, Colombia. 290 p.
- Liang, B. 1992. Research on the culture of *Hippocampus*. *J. Oceanol. Univ. Qingdao Peopl. Rep. China*, 22: 39-44.
- Lin, Q., J. Lin, D. Zhang e Y. Wang. 2009. Weaning of juvenile seahorses *Hippocampus erectus* Perry, 1810 from live to frozen food. *Aquaculture*, 291: 224-229.
- Martin-Smith, K. M. y A. C. J. Vincent. 2005. Seahorse declines in the Derwent estuary, Tasmania, in the absence of fishing pressure. *Biol. Cons.*, 123 (4): 533-545.
- Melo-Valencia, A. F., G. H. Ospina-Salazar, J. Gómez-León, y F. A. Cortés-Pineda. 2013. Efecto de la salinidad en la supervivencia y crecimiento de crías de caballito de mar *Hippocampus reidi* Ginsburg en cautiverio. *Bol. Inv. Mar. Cost.*, 42 (1): 193-201.
- Neff, B. D. y L. M. Cargnelli. 2004. Relationships between condition factors, parasite load and paternity in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus*. *Environ. Biol. Fish.*, 71: 297-304.
- Olivotto, I., M. A. Avella, G. Sampaolesi, C. C. Piccinetti, P. Navarro y O. Carnevali. 2008. Breeding and rearing the longsnout seahorse *Hippocampus reidi*: Rearing and feeding studies. *Aquaculture*, 283: 92-96.
- Otero-Ferrer, F., L. Molina, J. Socorro, R. Herrera, H. Fernández-Palacios y M. S. Izquierdo. 2010. Live prey first feeding regimes for short-snouted seahorse *Hippocampus hippocampus* (Linnaeus, 1758) juveniles. *Aquacult. Res.*, 41: 8-19.
- Palma, J., J. Stockdale, M. Correia y J. P. Andrade. 2008. Growth and survival of adult long snout seahorse (*Hippocampus guttulatus*) using frozen diets. *Aquaculture*, 278: 55-59.
- Pangle, K. L. y T. M. Sutton. 2005. Temporal changes in the relationship between condition indices and proximate composition of juvenile *Coregonus artedii*. *J. Fish Biol.*, 66: 1060-1072.
- Payne, M. F. y R. J. Rippingale. 2000. Rearing west Australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. *Aquaculture*, 188: 353-361.
- Quinn, G. P. y M. J. Keough. 2006. Experimental design and data analysis for biologists. Cambridge University Press, Cambridge. 537 p.
- Reyes-Bustamante, H. y A. A. Ortega-Salas. 1999. Cultivo del caballito de mar, *Hippocampus ingens* (Pisces: Syngnathidae) (Girard, 1859) en condiciones artificiales. *Rev. Biol. Trop.*, 47: 1045-1049.
- Rodrigues, N. R. A. 2000. Aspectos morfológicos do trato digestório do cavalo-marinho *Hippocampus reidi* (Ginsburg, 1933) [Percomorpha, Gasterosteiformes, Syngnathidae]. Trabajo Licenciatura Ciencias Biológicas, Universidade Santa Cecília. Santos, Brasil. 14 p.
- Sheng, J., Q. Lin, Q. Chen, Y. Gao, L. Shen y J. Lu. 2006. Effects of food, temperature and light intensity on the feeding behavior of three-spot juvenile seahorses, *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture*, 256: 596-607.

- Sutton, S. G., T. P. Bult y R. L. Haedrich. 2000. Relationships among fat weight, body weight, water weight, and condition factor in wild Atlantic salmon parr. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 129: 527-538.
- Tacon, A., 1989. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados: Manual de capacitación. <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB492S/AB492S00.htm>. 08/04/2011.
- Van-Wassenbergh, S. y P. Aerts. 2008. Rapid pivot feeding in pipefish: flow effects on prey and evaluation of simple dynamic modelling via computational fluid dynamics. *J. R. Soc. Interface.*, 5: 1291-1301.
- Van-Wassenbergh, S., G. Roos, A. Genbrugge, H. Leysen, P. Aerts, D. Adriaens y A. Herrel. 2009. Suction is kid's play: extremely fast suction in newborn seahorses. *Biol. Lett.*, 5: 200-203.
- Vincent, A. C. J. 1995. Trade in seahorses for traditional Chinese medicines, aquarium fishes and curios. *Traffic Bull.*, 15 (3): 125-128.
- Wong, J. M. y J. A. H. Benzie. 2003. The effects of temperature, *Artemia* enrichment, stocking density and light on the growth of juvenile seahorses, *Hippocampus whitei* (Bleeker, 1855), from Australia. *Aquaculture*, 228: 107-121.
- Woods, C. M. C. 2000. Preliminary observation on breeding and rearing the seahorse *Hippocampus abdominalis* (Teleostei: Sygnathidae) in captivity. *NZ J. Mar. Freshwater Res.*, 34: 475-485.
- Woods, C. M. C. 2003. Effects of varying *Artemia* enrichment on growth and survival of juvenile seahorses, *Hippocampus abdominalis*. *Aquaculture*, 220: 537-548.
- Woods, C. M. C. 2005. Growth of cultured seahorses (*Hippocampus abdominalis*) in relation to feed ration. *Aquacult. Internat.*, 13: 305-314.
- Zuluaga, J. A. 2010. Evaluación de la viabilidad de juveniles *Hippocampus reidi* Ginsburg, 1933 bajo condiciones controladas (Acuario Mundo Marino, Santa Marta, Colombia). Trabajo de Grado Biólogo Marino, Univ. Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 79 p.

FECHA DE RECEPCIÓN: 07/06/2011

FECHA DE ACEPTACIÓN: 11/03/2014