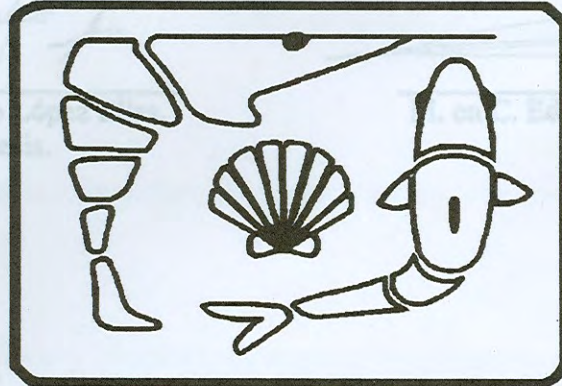




EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

PROGRAMA REGIONAL DE POSGRADO EN ACUACULTURA



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD NUTRICIONAL DE LAS MICROALGAS
PRODUCIDAS EN UN LABORATORIO COMERCIAL, EN EL DESARROLLO
LARVARIO DE ZOEAS DE CAMARÓN BLANCO *Litopenaeus vannamei*
(Boone, 1931).**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS, con especialidad en Cultivo de Crustáceos
Presenta:

ERIKA OLIMPIA RODRÍGUEZ MORALES

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

ÍNDICE

RESUMEN	i
ABSTRACT	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
IV. RESULTADOS	28
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
I. 1. Características de las especies de microalgas	6
I. 2. Generalidades de <i>Litopenaeus</i>	10
I. 3. Características del desarrollo larvario	11
I. 4. Requerimientos nutricios de las larvas de peneidos	12
II. OBJETIVOS	14
II.1. Objetivo general	14
II.2. Objetivos particulares	14
III. MATERIAL Y MÉTODOS	15
III. 1. Localización geográfica del área de estudio	15
III. 2. Descripción del laboratorio de producción	16
III. 3. Descripción de cultivos masivos de microalgas	16
III. 4. Diseño experimental	18
III. 4. 1. Dietas monoalgales y mezcla	18
III. 4. 2. Descripción del sistema experimental	19

ÍNDICE

RESUMEN	<i>i</i>
ABSTRACT	<i>ii</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>iii</i>
ÍNDICE DE TABLAS	<i>vi</i>
I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	1
I. 1. Características de las especies de microalgas	6
I. 2. Generalidades de <i>Litopenaeus</i>	10
I. 3. Características del desarrollo larvario	11
I. 4. Requerimientos nutricios de las larvas de peneidos	12
II. OBJETIVOS	14
II.1. Objetivo general	14
II.2. Objetivos particulares	14
III. MATERIAL Y MÉTODOS	15
III. 1. Localización geográfica del área de estudio	15
III. 2. Descripción del laboratorio de producción	16
III. 3. Descripción de cultivos masivos de microalgas	16
III. 4. Diseño experimental	18
III. 4. 1. Dietas monoalgales y mezcla	18
III. 4. 2. Descripción del sistema experimental	19

III. 5. Rutina de alimentación	20
III. 6. Análisis bioquímico de las microalgas	21
III. 6. 1. Extracción y determinación de los ácidos grasos de las microalgas	22
III. 7. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas	23
III. 8. Análisis bioquímico de las larvas	24
III. 8. 1. Extracción y determinación de los ácidos grasos de las larvas	24
III. 9. Análisis de los datos	25
IV. RESULTADOS	26
IV. 1. Composición bioquímica proximal de las dietas microalgales	26
IV. 1.1. Dieta 1: <i>Isochrysis galbana</i>	26
IV. 1.2. Dieta 2: <i>Chaetoceros muelleri</i>	28
IV. 1.3. Dieta 3: Mezcla <i>Isochrysis-Chaetoceros</i>	30
IV. 1.4. Análisis de materia orgánica y cenizas	32
IV. 1.5. Análisis de proteínas, carbohidratos y lípidos	32
IV. 1.4. Perfil de Ácidos grasos en las dietas microalgales	33
IV. 2. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas	36
IV. 3. Composición bioquímica proximal de las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i>	38
IV. 3.1. Nauplio	39
IV. 3.2. Larvas alimentadas con la Dieta 1 (<i>Isochrysis galbana</i>)	40
IV. 3.3. Larvas alimentadas con la Dieta 2 (<i>Chaetoceros muelleri</i>)	41
IV. 3.4. Larvas alimentadas con la Dieta 3 (<i>Isochrysis-Chaetoceros</i>)	42
IV. 3.5. Análisis estadístico de materia orgánica y cenizas en los nauplios y las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	43
IV. 3.6. Análisis estadístico de proteínas, carbohidratos y lípidos en los nauplios y las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> .	43
IV. 3.7. Perfil de ácidos grasos en los nauplios y las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i>	45

V.	DISCUSIÓN	49
V. 1.	Evaluación de la biomasa y composición bioquímica de las microalgas producidas en un sistema comercial	49
V. 1.1.	Ácidos grasos en las microalgas	51
V. 1.2.	Ácidos grasos esenciales en las microalgas	53
V. 2.	Efecto nutricional de las dietas microalgales en las larvas de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	54
V. 2.1.	Ácidos grasos en los nauplios y las larvas de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	56
V. 2.2.	Ácidos grasos esenciales en las larvas de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	57
V. 3.	Crecimiento y sobrevivencia de las larvas de camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i>	58
VI.	CONCLUSIONES	59
VII.	RECOMENDACIONES	61
VIII.	LITERATURA CITADA	63
IX.	APÉNDICES	73

RESUMEN

Se evaluó la biomasa, la composición bioquímica y el perfil de ácidos grasos de *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* y la mezcla de ambas. Asimismo, se valoró el efecto nutricional de las dietas microalgales en el desarrollo larvario de zoeas hasta mysis de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931); además se analizó la composición bioquímica, el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas. El porcentaje de proteínas promedio fue más alto con *C. muelleri* (28.1%) que con *I. galbana* (17.0%), y de carbohidratos y lípidos fueron más altos con *I. galbana* (9.1 y 12.8%), que con *C. muelleri* (5.4 y 8.3%). La composición de ácidos grasos para las dietas algales fueron principalmente saturados (SFAS 60-73%), seguidos de los monoinsaturados (MUFAS 11-17%), altamente insaturados (HUFAS 2-5%) y poliinsaturados (PUFAS 0.3-1.1%). Los componentes bioquímicos de las larvas fueron mayoritariamente las proteínas con valores que oscilaron entre 67.3% y 70%, seguido de carbohidratos (26.7% y 30.7%) y lípidos (1.9% a 3.3%), independientemente de las dietas suministradas. El porcentaje de MUFAS (8.9-23.2%) y HUFAS (11-14%) fue más alto en las larvas que en las microalgas; lo cual evidencia que el organismo fue capaz de bioconvertir los ácidos grasos monoinsaturados de la dieta microalgal. La mayor concentración de EPA y DHA se encontró en las larvas alimentadas con *C. muelleri* (11.2-10.9%) y en menor proporción en las larvas alimentadas con *I. galbana* (4.3-7.1%) y la mezcla (3.4-10.0%). Las microalgas analizadas se consideran adecuadas como dietas monoalgales y mezcla, con aceptables parámetros de sobrevivencia y crecimiento en las larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT

It was evaluated biomass, biochemical composition and profile of fatty acids of *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* and the mixture of both. Also it was valued the nutritional effect of microalgae diets on larvae development from zoea to mysis of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) and it was analyzed biochemical composition, growth and survival of larvae. Percent of protein was higher with *C. muelleri* than with *I. galbana*. Carbohydrates and lipids were higher with *I. galbana* than with *C. muelleri*. The more abundant fatty acids were saturated, after monounsaturated. The less percents were unsaturated and polyunsaturated. Independent of the diet, larvae protein was the principal component (67.3-70.0 %) after carbohydrates (26.77 y 30.7 %) and finally lipids (1.9-3.3 %). Larvae MUFAS and HUFAS was greater than microalgae diet. It was evidence that larvae has the capacity of bio-convert monounsaturated from HUFAS and MUFAS of algal diet. The highest concentration of EPA and DHA was found in larvae fed with *C. muelleri* and the less proportion was with *I. galbana* and the mixture. In conclusion all diets were good food for larvae of white shrimp *Litopenaeus vannamei*.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Laboratorio de producción de postlarvas Aremar, ubicado en la UEP-Unidad Experimental de Puerto Peñasco, Sonora. Convenio de colaboración Aremar-UNISON.	15
2. Diagrama de flujo de los cultivos de microalgas en el Cepario de la UEP.	16
3. Area de producción de microalgas: tanques cilíndricos de 200 l y 800 l	17
4. Esquema del acuario contenedor de las unidades experimentales	19
5. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de <i>Isochrysis galbana</i> como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 1er. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.	26
6. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de <i>Isochrysis galbana</i> como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.	27
7. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de <i>C. muelleri</i> como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 1er. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.	28
8. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de <i>C. muelleri</i> como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.	29
9. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de <i>I. galbana</i> y <i>C. muelleri</i> como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 1er. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.	30

10. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *I. galbana* y *C. muelleri* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos. 31
11. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la microalga *Isochrysis galbana*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Iso-I= 1er. Experimento; Iso-II,III= 2do. y 3er. Experimento. 33
12. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la microalga *Chaetoceros muelleri*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Cha-I= Experimento I; Cha-II,III= Experimento II y III. 34
13. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la mezcla de *Iso-Cha*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Iso-Cha-I= Experimento I. Iso-Cha-II,III= Experimento II y III. 35
14. Talla promedio (mm) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* en los estadios Zoea I a III (desviación estándar y media de cada tratamiento). 36
15. Porcentaje promedio de sobrevivencia final en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas microalgales, en los tres experimentos. 37
16. Concentración de la materia orgánica y cenizas en los nauplios y las larvas alimentadas con dietas microalgales durante los tres experimentos. (a) Nauplio sembrado en cada experimento. (b) Larvas alimentadas con *Isochrysis galbana*. (c) Larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri*. (c) Larvas alimentadas con la Mezcla *Iso-Cha*. 38
17. Concentración de los constituyentes bioquímicos de los nauplios *Litopenaeus vannamei* utilizados en los experimentos. 39
18. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Isochrysis galbana* durante los experimentos. 40
19. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Chaetoceros muelleri* durante los experimentos. 41

20. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la mezcla de *Isochrysis galbana*-*Chaetoceros muelleri* durante los experimentos. 42
21. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en los nauplios de *Litopenaeus vannamei* al inicio del experimento III. 45
22. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Isochrysis galbana*. D1 I= Larvas del 1er. Experimento, D1 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento. 46
23. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Chaetoceros muelleri*. D2 I= Larvas del 1er. Experimento, D2 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento. 47
24. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la mezcla *Iso- Cha*. D3 I= Larvas del 1er. Experimento, D3 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento. 48
25. Valores promedio de la biomasa y composición bioquímica de las dietas microalgales, nauplio y larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (a) Dieta 1: *I. galbana*. (b) Dieta 2: *C. muelleri* y (c) Dieta 3: Iso-Cha. 74
26. Valores promedio del perfil de ácidos grasos de las dietas microalgales, nauplio y larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (a) D1: dieta *I. galbana*. (b) D2: dieta *C. muelleri* y (c) D3: dieta Iso-Cha. 75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
I.	Composición bioquímica (% peso seco) de microalgas comúnmente usadas en maricultura. (Brow <i>et al.</i> 1989).	8
II.	Composición bioquímica (promedio con base en peso seco) (%±1SE) de microalgas empleadas como alimento en larvas de camarón (<i>Penaeus</i> spp.). (D'Souza y Loneragan, 1999).	8
III.	Porcentaje con base en peso seco de los principales constituyentes celulares de <i>Isochrysis</i> sp. (T-ISO) y <i>Chaetoceros muelleri</i> cultivadas en tanques (días 2 y 4) (López-Elías, <i>et al.</i> 1999).	9
IV.	Producción promedio de biomasa de dos especies de microalgas marinas (López-Elías, <i>et al.</i> 1999).	9
V.	Tiempo de desarrollo larval de <i>L. vannamei</i> bajo condiciones óptimas (27°C).	11
VI.	Densidades óptimas del alimento proporcionado durante el desarrollo larval.	13
VII.	Tratamientos: dieta microalgal.	18
VIII.	Distribución de tratamientos en cada bioensayo.	18
IX.	Volumen filtrado de microalgas para la determinación de los constituyentes bioquímicos.	22
X.	Valores promedio de los principales constituyentes bioquímicos de las dietas de microalgas <i>Isochrysis galbana</i> , <i>Chaetoceros muelleri</i> y la mezcla. Valor de la media en g/l, ± desviación estándar. (*) valores que no presentan diferencias significativas, (b) valores con diferencia significativa (p= 0.05).	32
XI.	Porcentaje de sobrevivencia en las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> alimentadas con tres dietas microalgales.	37
XII.	Valores promedio de los principales constituyentes bioquímicos de los nauplio y las larvas de camarón blanco <i>L. vannamei</i> . Valor de la media en mg/larva con base en peso seco, ± desviación estándar. (*) valores que no presentan diferencias significativas, (b) valores con diferencia significativa (p= 0.05).	44

I. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Las actividades acuaculturales han adquirido mayor importancia, creciendo de forma ascendente y sostenida en los últimos años (Alvarez-Torres, *et al.* 1996). Éstas se han centrado principalmente en el cultivo de: crustáceos, peces y moluscos (De La Lanza y Arredondo, 1990). A nivel mundial, la industria camaronícola inició desde los años 30s, cuando científicos japoneses comenzaron a trabajar con *Penaeus japonicus*, sin embargo, hasta los 70's se inició el auge de producción masiva en las granjas (García, 1994).

La camaronicultura en México comenzó con cultivos experimentales de investigación en Guaymas Sonora, en la década de los 70's; la especie utilizada fue camarón azul *Penaeus stylirostris*. Asimismo, en 1973 se inició la investigación y desarrollo de las técnicas de cultivo en la Unidad Experimental de Puerto Peñasco, Sonora (Martínez-Cordoba, 1999; Flores-Tom y Garmendia, 1991). A partir de esta década, continua el desarrollo y expansión de los cultivos de camarón principalmente en la región noroeste de México (sur de Sonora, Sinaloa, norte de Nayarit y Baja California Sur) (Orbe y Arias, 1987; Arredondo-Figueroa, 1990).

En Sonora, el volumen de la producción de camarón en peso vivo para el año de 1997, fue de 19,504 toneladas, de las cuales 4,688 toneladas correspondieron a la actividad acuícola (Semarnap, 1998). De acuerdo con los resultados del Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora en el ciclo 2000 la producción obtenida de esta actividad se triplico, incrementándose a 12,500 toneladas; y solo se aprovecha el 7.5 % del litoral potencial para la acuicultura (Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, 2001).

Actualmente, existen 65 grupos productores que desarrollan la actividad camaronícola para lo cual emplean 7,500 hectáreas de 100,000 consideradas aptas. Asimismo, se cuenta con 11 laboratorios de producción de postlarva, que en total tienen una capacidad instalada de producción de 200 millones de postlarvas por mes. Estos centros de producción se encuentran distribuidos tanto en la zona norte, centro y sur del estado del Sonora. (Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora, 2001).

Una de las principales consideraciones para el desarrollo de las granjas camaroneras es el abastecimiento de postlarvas para la siembra de estanques. El abastecimiento de estos organismos es a partir de la producción obtenida de los laboratorios de cultivo larvario. Lo cual hasta cierto punto asegura la posibilidad de abasto de "semilla certificada". La producción larvaria se enfoca básicamente a cubrir la demanda existente en cantidad y calidad de estas (Flores-Tom, 1988; García, 1994; Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999). Las áreas prioritarias, desde este punto de vista, son: maduración controlada, nutrición de larvas y postlarvas y el control de enfermedades, por lo cual dada su importancia reciben mayor atención (Flores-Tom, 1988; Wyban y Sweeney, 1991).

Actualmente en los laboratorios de postlarvas los manejos se han diversificado enormemente, pero el eje fundamental sigue siendo la maduración controlada de los reproductores para la obtención del nauplio. Una vez obtenidos los nauplios se mantienen en condiciones de cultivo adecuados y el protocolo de alimentación y manejo incluye microalgas, nauplios de *Artemia* sp. y alimentos artificiales, adición de antibióticos, y otros agentes terapéuticos (Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999; Treece y Yates, 1990).

Los métodos de cultivo larvario que se conocen tienen algunas variantes de acuerdo con la especie que se esté manejando y las características de la región en que se encuentre. Se conocen dos métodos de cultivo larvario el método Japonés y el método Galveston:

El método Japonés: emplea tanques con cultivos de microalgas integrados por florecimiento plactónico con fertilizantes inorgánicos, densidad del cultivo media o baja y calculada en función del número de hembras depositadas en el tanque. Se tiene control escaso de parámetros fisicoquímicos y la temperatura del agua es ambiental (García, 1994).

El método Galveston: también denominado de agua clara, se caracteriza por el uso de tanques cilindrocónicos de fibra de vidrio de 2000 l a los que se les aplica alta densidad larvaria, cultivo de microalgas por separado y añadido continuo de las mismas al sistema,

control estricto de la calidad del agua (salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y amonio). Se cosecha en el estadio de postlarvas (Wyban y Sweeney, 1991; García, 1994; Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999). Los parámetros sugeridos en el cultivo larvario de peneidos son: temperatura del agua 28°C (con variación máxima diaria menor a 0.5 ° C); salinidad en un intervalo de 28 a 35 ppm (con variación máxima diaria menor a 1ppm); oxígeno disuelto mantenerlo cercano a la saturación; amonia y nitritos menores a 0.05 ppm; el valor de pH entre 7.8 y 8.4; fotoperiodo de 13 a 14 horas de luz; intensidad de luz 0.5 uE/m²/seg; con un recambio de agua ideal entre 200 a 300 % diario (RPI, 1989).

En los camarones peneidos después de la eclosión del huevo, las larvas presentan tres estadios larvarios sucesivos conocidos como nauplio, zoea y mysis. Cada uno de estos estadios se distinguen morfológicamente, con transiciones marcadas por mudas. En los primeros estadios de desarrollo, el nauplio se alimenta de las reservas de vitelo, que suplen los requerimientos nutricionales. Después de cinco mudas, las reservas de vitelo se han agotado y el organismo pasa al estadio zoea (Treece y Yates, 1990; Wyban y Sweeney, 1991; Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999). Es en este punto donde inicia la alimentación con microalgas y tradicionalmente se les ha suministrado fitoplancton; ya que en esta etapa son de hábitos herbívoros (Flores-Tom, 1988; Cruz-Suárez, 1988). Además del aporte nutricio el fitoplancton proporciona enzimas que el sistema fisiológico de la larva no sintetiza (Jones *et al.* 1997; Boeing, 1999).

Las diversas investigaciones realizadas en el desarrollo larvario han demostrado que esta etapa es crítica. En el proceso de metamorfosis, las larvas necesitan de nutrientes que satisfagan sus requerimientos energéticos (Cruz-Suárez, 1988). Se ha determinado que las diferencias en las tasas de crecimiento y composición bioquímica de las larvas están asociados a las diferencias en la composición de proteínas, lípidos y en particular ácidos grasos en la dieta algal (D'Sousa y Loneragan, 1999). Por lo anterior, es de gran importancia que la calidad de la(s) especie(s) de microalgas proporcionada como alimento, sea la requerida por la larva. Lo anterior garantiza una buena sobrevivencia y un cultivo exitoso. (Cruz-Suárez, 1988).

La acuicultura industrial depende de algunas especies de microalgas para alimentar a las larvas de crustáceos, utilizadas exitosamente como alimento (Brow *et al.* 1989). Estas microalgas son seleccionadas por su tamaño, por la digestibilidad de la proteína y la composición de los ácidos grasos de la fuente lipídica (Vonshak, 1986; Brow *et al.* 1989; Tacon, 1989; Ramos y Salazar, 1990). Recientemente D'Sousa y Loneragan (1999) sugieren que el valor nutritivo de una especie de microalga está principalmente relacionado en el contenido de lípidos, carbohidratos y los ácidos grasos polinsaturados 18:2(ω -6), 18:3(ω -3), 20:4(ω -6), 20:5(ω -3) y 22:6(ω -3).

Se ha enfatizado en numerosas investigaciones la importancia de las microalgas como alimento vivo, para diferentes especies de peneidos, específicamente en los estadios tempranos de desarrollo (Alfonso y Leal, 1985; Sánchez, 1986; Brown *et al.* 1989; Jones *et al.* 1997). Las microalgas son la principal fuente de lípidos, proteínas, carbohidratos y otros compuestos nutritivos, por ello la importancia de estos cultivos (Brown *et al.* 1989; Boeing, 1999). Varias especies de microalgas han sido utilizadas tradicionalmente como alimento en los laboratorios de producción de larvas de camarón, principalmente *Chaetoceros "gracilis"*, *C. muelleri*, *Isochrysis galbana*, T-ISO, *Tetraselmis suecica*, *Skeletonema costatum*, *Dunalliella tertiolecta* entre otras (Brown *et al.* 1989, Trace y Yates, 1990; Wyban y Sweeney, 1991; Coutteau y Sorgeloos, 1992; Trujillo y Voltolina, 1994; Boeing, 1999; Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999; López-Elías, 1999, Nieves *et al.* 2000a, Nieves *et al.* 2000b). Sin embargo, existen diversos factores que afectan la composición química de la microalga, como son edad del cultivo, fase de crecimiento, intensidad de luz, temperatura, disponibilidad de nutrientes y la densidad celular del cultivo (Brow *et al.* 1989; Boeing, 1999 López-Elías *et al.* 1999).

Las microalgas tradicionalmente empleadas en los cultivos masivos que permiten mantener la producción comercial rentable son *Skeletonema*, *Isochrysis*, *Dunaliella*, *Chaetoceros*, *Phaeodactylum*, *Thalassiosira*, *Tetraselmis*, *Pavlova* entre otras (Cruz-Suárez, 1988; Brown *et al.* 1989; Ramos y Salazar, 1990). Es importante mencionar que la biomasa de microalgas es producida a nivel masivo, por lo que se requiere de mano de obra especializada,

monitoreos constantes y de limpieza e higiene (Flores-Tom, 1988; González *et al.* 1995). Lo anterior tiene como consecuencia que la producción de alimento vivo sea costosa, por lo tanto se debe considerar un diseño de producción adecuado, para evitar altos costos de producción de alimento vivo (Cruz-Suárez, 1988).

Se han desarrollado diversos medios de cultivos así como de metodologías para cultivos masivos de microalgas (González, *et al.* 1995). Las tecnologías de cultivo son muy variadas dependiendo de la finalidad del cultivo, las técnicas desarrolladas son: cultivos estáticos, cultivos estáticos sincronizados, cultivos continuos y cultivos semicontinuos (Vonshak, 1986). Asimismo, existen dos modalidades muy comunes de cultivo masivo que pueden realizarse: al interior o al exterior. Por lo anterior, las condiciones de cultivo son diferentes en cuanto a calidad y cantidad de luz, temperatura, fotoperíodo y se manifiesta en la biomasa algal y la calidad de la misma (Ramos y Salazar, 1990).

La composición bioquímica de las microalgas se ve afectada principalmente por la edad del cultivo, la densidad celular, la intensidad de luz, la temperatura, la limitación y fuente de nutrimentos (Brow *et al.* 1989; Boeing, 1999). Aunado a lo anterior la calidad de la microalga varía dependiendo de la fase de crecimiento en la que se cosecha, además presenta variación estacional y de acuerdo a el contenedor o nivel del cultivo (López-Elías *et al.* 1999). Por lo que si la calidad nutricia de las microalgas se ve afectada por las condiciones de cultivo es de gran importancia el diseño de los sistemas de producción masiva.

Debido a la importancia de las microalgas como alimento en la industria de la maricultura, se han desarrollado numerosas investigaciones enfocadas a conocer el valor nutricional de las mismas (Brow *et al.* 1989; Renaud, *et al.* 1991; Dustan *et al.* 1993; Boeing, 1999; López-Elías *et al.* 1999; Phatarpekar *et al.* 2000). Aunado a lo anterior, también se han realizado estudios para conocer los requerimientos nutricionales en los peneidos, en las diversas etapas de su ciclo de vida (Kanazawa, 1984; Brow *et al.* 1989; Kurmaly, *et al.* 1989a y b; Akiyama *et al.* 1992; Jones *et al.* 1997). En este contexto, se ha descrito que conocer el perfil de ácidos grasos es de gran importancia para valorar una dieta algal. De esta manera las líneas

de investigación en nutrición de larvas, van desde determinar el perfil de ácidos grasos en la dieta y en las larvas, hasta evaluar su efecto en el crecimiento y sobrevivencia de las larvas; así como determinar la bioconversión de los ácidos grasos en los crustáceos (Ward *et al.* 1979; Sánchez, 1986; Napolitano *et al.* 1990; Teshima *et al.* 1992; Rodríguez *et al.* 1994; Coutteau y Mourente, 1997; D'Souza y Loneragan, 1999)

I. 1. Características de las especies de microalgas

Las microalgas *Chaetoceros* sp. e *Isochrysis* sp. han sido empleadas satisfactoriamente como dietas en las etapas tempranas de peneidos, ya que la calidad nutricia de estas especies se ha demostrado en diversas investigaciones (Brow *et al.* 1989; Phatarpekar *et al.* 2000). Particularmente en los centros de producción de larvas de México, se utilizan estas especies como alimento natural (Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999; López-Elías *et al.* 1999; Nieves *et al.* 2000a; Nieves *et al.* 2000b). En estos laboratorios se cuenta con la infraestructura y la experiencia en el manejo de estos cultivos (Trujillo y Voltolina, 1994).

La especie *Chaetoceros muelleri* se caracteriza por que son células constituidas de valvas de material silicio y forman cadenas. Son organismos fotosintéticos de hábitat planctónico, su tamaño fluctúa entre 4-9 μ (Hendey, 1964; Lee, 1980). Las características bioquímicas con base en peso seco se presentan en las Tabla I, II y III, asimismo la producción en biomasa (peso seco, materia orgánica y cenizas) se muestran en la Tabla IV. Esta especie presenta mayor porcentaje de carbohidratos que *Isochrysis* sp. Sin embargo, *Chaetoceros* es generalmente preferida por sobre *Isochrysis* por la superioridad nutricional, que radica particularmente en el contenido de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) (Napolitano *et al.* 1990; Phatarpekar *et al.* 2000).

Recientemente D'Souza y Loneragan (1999) encontraron en la evaluación del perfil de ácidos grasos de *C. muelleri* mayoritariamente a los polinsaturados (29.8 %), seguido de los altamente insaturados (27.1 %), monoinsaturados (21.1 %) y saturados (17.2 %). En otro

estudio Boeing (1999) reporta para la especie *C. gracilis* que el grupo dominante fueron los monosaturados con 39.2 % seguido de los saturados y polinsaturados con 37.1 y 22.3 %. Asimismo es similar a lo descrito por Brown *et al* (1989), mencionan que los ácidos grasos mayoritarios para *C. calcitrans* fueron los monoinsaturados y saturados (33.8 y 30.2 % respectivamente). Carrillo (2000) encontró en la evaluación del perfil de ácidos grasos de *C. muelleri* ácidos grasos saturados (60.66 %) específicamente el mirístico y el palmítico como dominantes; seguido de los monoinsaturados (21.9 %), altamente insaturados (10.6 %) y poliinsaturados (0.83 %).

Se ha encontrado los ácidos grasos esenciales EPA y DHA en *C. muelleri*, en mayor proporción el EPA (23.3% y 2.8%) que DHA (1.8% y 0.66%) (D'Sousa y Loneragan, 1999; Carrillo, 2000); y para *C. gracilis* se reporta EPA como el dominante (18.39%, 4.6%, 5.15%) con respecto al DHA (2.67%, 0.3%, 0.3%) (Napolitano *et al.* 1990; Rodríguez *et al.* 1994; Boeing, 1999).

La especie *Isochrysis galbana* (Parke) son células de 6 - 8 μ de tamaño y con dos flagelos móviles. El intervalo de temperatura óptimo para su crecimiento varía de 16 a 20 °C, a una salinidad de 25-28 ppm y una iluminación de 4000 lux. Debido a su tamaño y a que es un flagelado desnudo es fácilmente digerible por los consumidores. Con un alto valor nutritivo, la sitúan como la especie más importante para la alimentación en acuicultura (Paniagua, *et al.* 1986). Las características bioquímicas con base en peso seco se presentan en la Tabla I, II y III, asimismo la producción en biomasa (peso seco, materia orgánica y cenizas) se muestran en la Tabla IV. Esta especie presenta un alto contenido lipídico y proteínico, pero relativamente bajo contenido de HUFAs, la ventaja que presenta es su tamaño pequeño, adecuado como alimento en estadios de protozoa (Phatarpekar *et al.* 2000). Sin embargo, D'Souza y Loneragan (1999) mencionan que los ácidos grasos dominantes en *Isochrysis* sp. fueron los altamente insaturados (37.7 %) seguido de los saturados (23.5 %), monoinsaturados (19.2 %), y poliinsaturados (12.2 %). En otro estudio Boeing (1999) reporta, que los ácidos grasos mayoritarios para T.ISO fueron los poliinsaturados con 41.3 %, seguidos de saturados y monoinsaturados con 32.2 y 26.1 % respectivamente. Brown *et al.* (1989) que menciona que

en esta especie los ácidos grasos mayoritarios fueron los saturados (37.0 %) y monoinsaturados (30.4 %). Asimismo concuerda con Carrillo (2000) que encontró en los cultivos de *I. galbana* que los ácidos grasos saturados fueron los más abundantes (70.6 %), seguidos de monoinsaturados (20.53 %), altamente insaturados (5.86 %) y polinsaturados (1.03 %).

Los ácidos grasos esenciales DHA y EPA se han encontrado en T.ISO (*Isochrysis* sp), en mayor proporción el DHA (20.4%, 5.3-10.3%, 1.6%, 8.3%, 13.7% y 1.16%) que el EPA (0.89%, 0.6-4.1%, 0.2%, 0.3% y 0.26%) (Napolitano *et al.* 1990; Renaud, 1991; Saoudi-Helis *et al.* 1994; Boeing, 1999; D'Souza y Loneragan, 1999 y Carrillo, 2000).

Tabla I. Composición bioquímica (% peso seco) de microalgas comúnmente usadas en maricultura. (Brow *et al.* 1989).

<i>Especie</i>	<i>Proteína</i> (%)	<i>CHO</i> (%)	<i>Lípido</i> (%)	<i>Mineral</i> (%)	<i>Total</i> ⁺ (%)
<i>Isochrysis galbana</i>	41	5	21	13	80
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	33	17	10	29	89

* Proteína cruda, determinada como N x 6.25. ⁺ La desviación del 100% de la suma total de los diferentes metabolitos es atribuido al error del análisis y estimación.

Tabla II. Composición bioquímica (promedio con base en peso seco) (%±1SE) de microalgas empleadas como alimento en larvas de camarón (*Penaeus* spp.). (D'Souza y Loneragan, 1999).

<i>Especie</i>	<i>Polisacarido</i> (%)	<i>Lípido</i> (%)
<i>Isochrysis</i> sp.	14.8±0.6	19.3±0.9
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	12.3±0.5	21.0±0.2

Tabla III. Porcentaje con base en peso seco de los principales constituyentes celulares de *Isochrysis* sp. (T-ISO) y *Chaetoceros muelleri* cultivadas en tanques (días 2 y 4) (López-Elías, *et al.* 1999).

<i>Especie</i>	<i>Proteína (%)</i>	<i>CHO (%)</i>	<i>Lípido (%)</i>
<i>Isochrysis</i> sp. (T-ISO)	15.0 (día 2)	4.8 (día 2)	7.5 (día 2)
	7.1 (día 4)	3.3 (día 4)	5.5 (día 4)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	29.7 (día 2)	3.5 (día 2)	7.3 (día 2)

Tabla IV. Producción promedio de biomasa de dos especies de microalgas marinas (López-Elías, *et al.* 1999).

<i>Especie</i>	<i>Peso seco (g/l)</i>	<i>Materia Orgánica (g/l)</i>	<i>Cenizas (%)</i>
<i>Isochrysis</i> sp. (T-ISO)	0.036 (día 2)	0.017 (día 2)	53.8 (día 2)
	0.079 (día 4)	0.034 (día 4)	52.7 (día 4)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	0.031 (día 2)	0.011 (día 2)	57.1 (día 2)

I. 2. Generalidades de *Litopenaeus*

Los camarones constituyen un grupo muy numeroso, se han descrito aproximadamente 2,500 especies, de las cuales solo 300 son de interés económico y 100 de estas constituyen las capturas comerciales (Hendrickx, 1995).

México cuenta con un gran potencial de especies nativas, de estas, ocho especies de los subgéneros *Farfantepenaeus* y *Litopenaeus* son de interés comercial. México se encuentra entre los países de Latinoamérica con mayor desarrollo en la tecnología de cultivo de peneidos, principalmente de *L. stylirostris* y *L. vannamei* (Arredondo-Figueroa, 1990; Hendrickx, 1995). Entre ellos destaca el camarón blanco *L. vannamei* que se distribuye en las costas del Pacífico, desde Sonora a Chiapas (Arredondo-Figueroa, 1990). Esta especie es característica de fondos lodosos (o arenosos). Los adultos son esencialmente marinos y han sido capturados entre los 5 y 72 m de profundidad, pero en aguas costeras marinas se encuentran entre 1 y 4 m. La especie depende de los sistemas lagunares y estuarinos para su crecimiento (Hendrickx, 1995).

La Taxonomía de esta especie se describe a continuación: (Hendrickx, 1995; Martínez-Córdoba, 1999).

Phylum CRUSTÁCEA

Clase	MALACOSTRACA, Latreille, 1806
Subclase	EUMALACOSTRACA, Grobben, 1892
Cohorte	EUCARIDA, Calman, 1904
Orden	DECAPODA, Latreille, 1803
Suborden	DENDROBRANCHIATA Bate, 1888
Superfamilia	PENAEOIDEA Rafinesque, 1815
Familia	PENAEIDAE Rafinesque, 1815
Especie	<i>Litopenaeus vannamei</i> (Boone 1931)

I. 3. Características del desarrollo larvario

El ciclo de vida de los peneidos comprende varias etapas de desarrollo. El ciclo inicia con el desove de los huevos, que eclosionan aproximadamente a las 24 horas. Posteriormente comienzan los estadios de nauplio I, II, III, IV y V; lo cual ocurre en un tiempo de 20 a 24 horas. La transición de Nauplio V a Zoea I, se considera la etapa más crítica del desarrollo larvario, es en esta etapa donde el organismo empieza a alimentarse. Los estadios de Zoea I, II y III, se desarrollan en un lapso de tiempo de 96 a 120 horas. La siguiente etapa Mysis esta constituida por los subestadios I, II y III que se desarrollan aproximadamente en 72 horas. Finalmente el estadio de Poslarva se caracteriza por que el organismo presenta características morfológicas similares a las de un adulto. Una vez alcanzada esta etapa los organismos continúan creciendo cada 24 horas (Treece y Yates, 1990; Wyban y Sweeney, 1991; Aguirre-Hinojosa *et al.* 1999). El tiempo aproximado de desarrollo larval hasta Poslarva I, descrito para cada estadio de *L. vannamei* se resume en la Tabla V

<i>Día</i>	<i>Estadio presente</i>
1	Nauplio 4/5
2	Zoea 1
3	Zoea ½
4	Zoea 2
5	Zoea 2/3
6	Zoea 3
7	Mysis 1
8	Mysis 2
9	Mysis 3
10	Postlarva 1

I. 4. Requerimientos nutricios de las larvas de peneidos

La alimentación de los camarones varía en las diferentes etapas de vida, estas diferencias se deben principalmente a las condiciones del hábitat propio de la especie que se trate (Báez *et al.*, 1999). Por lo que los requerimientos nutricios de peneidos cambian dependiendo la etapa de desarrollo (Akiyama *et al.* 1992; Jones *et al.* 1997).

En este aspecto, la etapa de desarrollo es importante, por ejemplo, es conocido que de acuerdo a la edad de el organismo conforme el crecimiento decrece también disminuye la tasa metabólica y con ello los requerimientos de proteína (Báez *et al.* 1999). Además, los componentes de la dieta suministrada interactúan en el metabolismo e influyen en la utilización de proteína. Se ha demostrado, que los carbohidratos y lípidos pueden ser catabolizados en energía y estos a su vez desdoblados a proteínas (Brown *et al.* 1989; Tacon, 1989). En etapas larvarias, se recomienda que el alimento suministrado como alimento tenga una concentración de proteína de 30-60% (peso seco). Otro componente importante son los carbohidratos. La importancia de estos radica en que proporcionan energía fácilmente digerible. La composición de carbohidratos es muy variable en las especies de algas. Los niveles óptimos de carbohidratos se establecieron entre 15-25% en peso seco. El aspecto más importante de lípidos en la nutrición animal es el contenido y proporción de ácidos grasos en las microalgas. Se considera que los ácidos grasos más importantes son 18:2 ω 6, 18:3 ω 3, 20:5 ω 3, 22:6 ω 3 (Akiyama y Dominy, 1989; Brown *et al.* 1989; Jones *et al.* 1997). Renaud, *et al.* (1991) mencionan que el valor nutricio de las microalgas esta asociado a los ácidos grasos insaturados (HUFA), en particular a dos miembros del grupo omega-3, ácido eicosapentanoico (EPA) 20:5 (ω -3), y del ácido docosahexanoico (DHA) 22:6 (ω -3).

En la actualidad se tienen diversos métodos de alimentación, Wyban y Sweeney (1991) recomiendan que a partir de nauplio 5 se debe proporcionar microalgas, la densidad por estadio se presenta en la Tabla VI.

Tabla VI . Densidades óptimas del alimento proporcionado durante el desarrollo larval (Wyban y Sweeney, 1991).		
Estadio larval	Densidad algal (10 ³ cél/ml)	Densidad de artemia (ind/ml)
N-5	100	-
Z-1	130	-
Z-2 (inicial)	150	-
Z-2 (terminal)	150	-
Z-3 (inicial)	150	-
Z-3 (terminal)	150	2
M-1	120	3
M-2	120	5
M-3	120	5
PL-1 a PL-7	80-120	7-8

En general, la mayoría de los laboratorios producen microalgas masivamente para ser suministradas como alimento a las larvas de camarón, siendo las más comunes *Chaetoceros*, *Isochrysis*, *Dunaliella* y *Tetraselmis*. Estas microalgas son producidas con diferentes sistemas variando el tamaño y forma de los recipientes de cultivo y la producción al interior y al exterior. La composición bioquímica es muy diferente, dependiendo del sistema de producción empleado (Ramos y Salazar, 1990), por lo que se supone que utilizar una sola especie en los diferentes laboratorios, puede ocasionar efectos no deseados en los cultivos larvarios de camarón. Además, la producción de microalgas puede ser inducida, manejando en lo posible las condiciones de cultivo, a producir altas concentraciones de compuestos de interés tales como, proteínas, lípidos, almidón, glicerol y pigmentos naturales (González, *et al.* 1995). Por lo tanto, es relevante conocer los componentes bioquímicos de las microalgas producidas en los cultivos masivos, evaluando su efecto como dietas monoalgales y bialgales en el desarrollo, crecimiento y sobrevivencia en los cultivos larvarios de *Litopenaeus vannamei*. Además de enfocarse particularmente al contenido de los ácidos grasos (DHA-EPA) en la dieta, ya que estos juegan un papel preponderante en el crecimiento de estos organismos.

II. OBJETIVOS

II.1. Objetivo general

Evaluar la calidad nutricional de los cultivos de microalgas, producidas en un laboratorio comercial, y su efecto como dietas en el desarrollo larvario del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931).

II.2. Objetivos particulares

- Evaluar el efecto de *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana* y la mezcla de ambas especies, en términos de crecimiento, metamorfosis y sobrevivencia en desarrollo larvario de *L. vannamei*, hasta Mysis I.
- Cuantificar la biomasa con base al peso seco, materia orgánica y cenizas en *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*.
- Cuantificar la biomasa con base al peso seco, materia orgánica y cenizas en las larvas antes y después de cada tratamiento
- Determinar la composición bioquímica: proteínas, carbohidratos, lípidos y perfil de ácidos grasos en *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*.
- Determinar la composición bioquímica: peso seco, proteínas, carbohidratos, lípidos y perfil de ácidos grasos en las larvas antes y después de cada tratamiento.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

III. 1. Localización geográfica del área de estudio.

El experimento se realizó en las instalaciones de la Unidad Experimental de Puerto Peñasco (UEP), Son. de la Universidad de Sonora. La Unidad Experimental se encuentra en la costa de Puerto Peñasco en el alto Golfo de California.

La evaluación de la calidad de las microalgas producidas masivamente se realizó en el Laboratorio Comercial de Producción de Postlarvas "Aremar" S. A. de C. V. Este laboratorio se encuentra ubicado en las instalaciones de la UEP. El laboratorio Comercial es un proyecto que funciona como un Convenio de Colaboración Aremar-UNISON (Fig. 1).



Figura 1. Laboratorio de producción de postlarvas Aremar, ubicado en la UEP-Unidad Experimental de Puerto Peñasco, Sonora. Convenio de colaboración Aremar-UNISON.

III. 2. Descripción del laboratorio de producción.

El Laboratorio Comercial de Producción de Postlarvas “Aremar” cuenta con dos áreas tipo invernadero translúcidos. Una de las áreas está acondicionada para la cría larvaria y la otra para la producción de alimento vivo: microalgas y *Artemia* sp. Las rutinas de trabajo del personal de ambas áreas, están sincronizadas para cubrir la demanda de alimento vivo según las necesidades del área de cría de larvaria.

La cría larvaria se lleva a cabo en tanques rectangulares de 20,000 litros equipados con una red de aireación en el fondo. Para el control de la calidad de agua se cuenta con equipo para el monitoreo de la temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH y amoníaco. El abastecimiento de agua de mar es a partir de un pozo en la playa, que cuenta con un sistema de filtrado. El volumen de producción por año es de 90 millones de postlarvas, ajustado a la demanda.

III. 3. Descripción de los cultivos masivos de microalgas.

La UEP cuenta con un Cepario para el cultivo de microalgas. La secuencia de los cultivos se inician con 3 ml de la cepa pura en tubos de ensaye de 15 ml. Una vez que se ha alcanzado la biomasa algal deseada (aproximadamente 3 días), se transfiere el cultivo a volúmenes mayores: 25 ml, 2, 8 y 20 l (Martínez-Córdoba, 1999). En el cepario se lleva a cabo el cultivo hasta los garrafones de 20 l (Fig. 2).

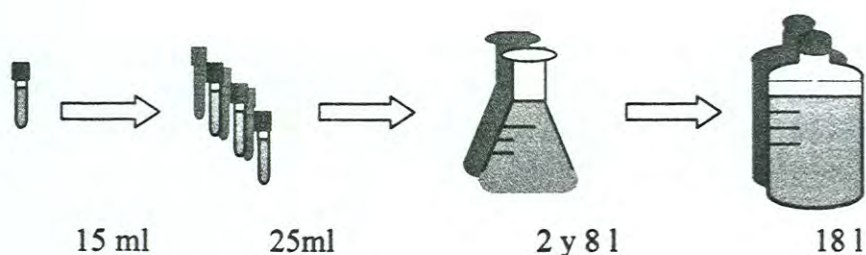


Figura 2. Diagrama de flujo de los cultivos de microalgas en el Cepario de la UEP.

El Laboratorio Comercial “Arema” dispone de un invernadero de láminas translúcidas para la producción masiva de microalgas. La producción se inicia en los tanques cilíndricos de 200 l y se escala al tercer día del cultivo a 800 l (Fig. 3). Los tanques cilíndricos de 200 l se llenan con agua de mar y 10% de agua dulce, para la desinfección se adicionan 100 ml. de cloro (12.5 % de cloro activo) se deja actuar por un periodo aproximado de 24 horas sin aireación. Una vez transcurrido este tiempo se agregan 10 gr. de tiosulfato de sodio para neutralizar el cloro residual y se deja reposar por dos horas. En seguida se enriquece el agua con el medio comercial f/2 de Guillard y se inocula con dos garrafones de 18 l. Los garrafones con cultivos monoalgales se obtienen del Cepario de la UEP. Para la producción en los tanques de 800 l se realiza la misma rutina y solo se adiciona el cloro y el tiosulfato de sodio proporcionalmente al volumen. Se inocula con $\frac{1}{2}$ o 1 cilindro de 200 l en función de la densidad algal alcanzada. Los tanques se mantienen con aireación constante, con temperatura y luz ambiental. El agua es abastecida por bombeo, a partir de un pozo en la playa. El agua es filtrada con un filtro de tela de 5μ . Las especies que se cultivan son *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*.

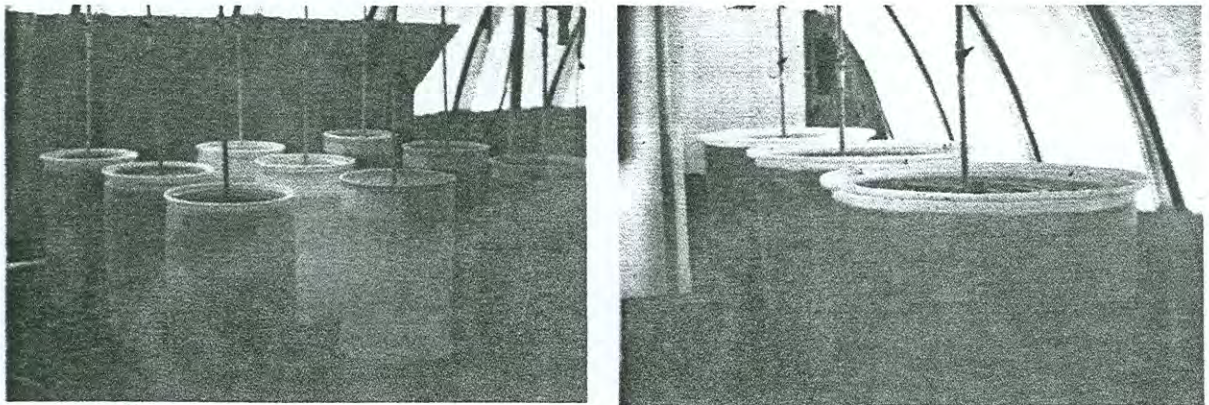


Figura 3. Área de producción de microalgas: tanques cilíndricos de 200 l y 800 l.

III. 4. Diseño experimental

III. 4. 1. Dietas monoalgales y mezcla

Los tratamientos consistieron en tres dietas de microalgas y se evaluaron en el desarrollo, crecimiento y sobrevivencia de larvas de camarón blanco desde nauplio V hasta mysis I. La densidad algal se ajustó diariamente a 100,000 cél/ml en las dietas monoalgales y a 50,000 cél/ml de cada especie en la dieta bialgal (Tabla VII).

Tabla VII. Tratamientos: dieta microalgal.

Dieta algal	Densidad algal (cél/ml)
T 1 <i>Isochrysis galbana</i>	100,000
T 2 <i>Chaetoceros muelleri</i>	100,000
T 3 Mezcla de ambas especies	50,000 de cada una de las especies

Se realizaron tres bioensayos con los tratamientos anteriormente descritos, se utilizaron cuatro replicas por tratamiento en cada bioensayo (Tabla VIII), manteniéndose lo más semejante posible las condiciones de cultivo.

Tabla VIII. Distribución de tratamientos en cada bioensayo.

I bioensayo	Tratamiento	Cuatro Replicas (Núm. de unidad experimental)
Fecha de inicio 26 de Agosto de 1999	1. Iso	3, 4, 6 y 8
	2. Cha	1, 9, 10 y 12
	3. Iso-Cha	2, 5, 7 y 11
II bioensayo	Tratamiento	Cuatro Replicas (Núm. de unidad experimental)
Fecha de inicio 13 de Septiembre de 1999	1. Iso	5, 7, 10 y 12
	2. Cha	2, 3, 8 y 11
	3. Iso-Cha	1, 4, 6 y 9
III bioensayo	Tratamiento	Cuatro Replicas (Núm. de unidad experimental)
Fecha de inicio 13 de Septiembre de 1999	1. Iso	3, 4, 5 y 10
	2. Cha	1, 6, 7 y 9
	3. Iso-Cha	2, 8, 11 y 12

III. 4. 2. Descripción del sistema experimental

La UEP cuenta con un laboratorio de producción larvaria, el cual esta integrado por varias unidades tales como área de maduración, de desove y eclosión, de cría larvaria, maternidad y de producción de alimento vivo. El cultivo larvario se realizó en el área de desove y eclosión. El área esta equipada con un calentador y enfriador de aire. Asimismo toda la estructura del cuarto esta revestida con material aislante. Lo anterior permite un mejor control de la temperatura en el cuarto.

Las unidades experimentales empleadas consistieron en recipientes de plástico de 8 litros de capacidad. Se colocaron cuatro unidades experimentales en un acuario de 90 l para mantenerlos en un baño de agua de mar con flujo continuo (Fig. 4). Lo cual permitió un mejor control de la temperatura en el agua.

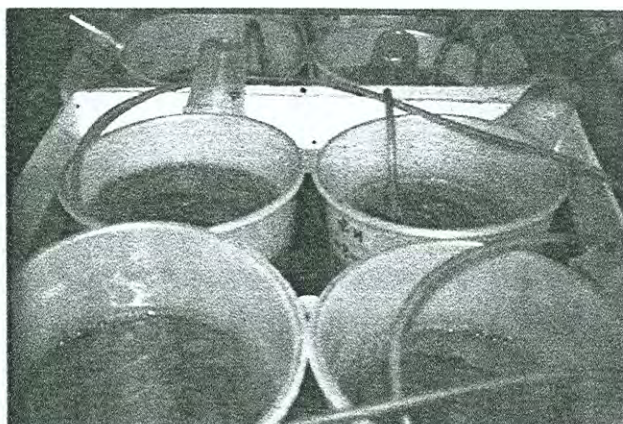


Figura 4. Esquema del acuario contenedor de las unidades experimentales.

Cada recipiente se llenó con 5 l de agua de mar previamente filtrada y se colocó un aireador por recipiente. Se designó un número a cada unidad experimental y se distribuyeron azarosamente las dietas. Al inicio del bioensayo se adicionó EDTA (10ppm) y se agregó el volumen de la dietas de microalgas en cada unidad experimental. En la recepción del nauplio se tomaron tres alicuotas de 305 ml para cuantificar el número de organismos y calcular el

volumen a sembrar por unidad experimental. La densidad de siembra fue de 100 nauplios/litro, es decir en cada unidad experimental se sembró un total de 500 nauplios.

El seguimiento del crecimiento larval fue desde Nauplio V a Mysis I. Los nauplios utilizados para cada experimento fueron provenientes de desoves de una sola hembra, se obtuvieron del Laboratorio de Producción de Postlarvas Génesis, S. A. De C.V. Se monitoreo la temperatura ambiente y de cada unidad experimental diariamente, por la mañana, tarde y noche. Se realizó diariamente un recambio del 20-50% dependiendo de los sólidos sedimentados.

III. 5. Rutina de alimentación

La alimentación diaria de las larvas se llevó a cabo en tres fases:

1. *Conteo de la Densidad celular.* Con la finalidad de conocer la concentración de cada una de las especies de microalgas que se utilizaron como alimento para las larvas, se cuantificó la densidad algal. Para lo cual se tomó una muestra de los cultivos de microalgas de los tanques de 200 l. La muestra se colocó en un tubo de ensaye, al cual se le adicionó una gota de lugol como fijador. Para el conteo se utilizó un hematocitómetro de 0.1mm de profundidad.

2. *Conteo de la microalga residual de las unidades experimentales:* para conocer el volumen de microalga para alimentar se contabilizó la densidad del alga residual de cada unidad experimental. Se tomó una muestra de cada unidad experimental, se colocó en un tubo de ensaye y se fijó con una gota de lugol. Para el conteo se utilizó un hematocitómetro de 0.1mm de profundidad.

3. *Alimentación:* Con los datos obtenidos de densidad algal y microalga residual, se calculó el volumen de microalga a agregar a cada unidad experimental. Se ajustó el número de células a 100,000 cél/ml en las dietas monoalgales y en la dieta bialgal se ajusto a 50,0000 cél/ml de cada una de las especies.

Se utilizó la siguiente fórmula para el cálculo del alimento a agregar (Alonso *et al.* 1987).

$$V_A = \frac{V_R (C_D - C_R)}{C_A - C_D}$$

Donde:

V_A = volumen de alimento a añadir,

V_R = volumen de agua en el tanque de larvas,

C_D = concentración deseada de alimento (cél./ml),

C_R = concentración residual,

C_A = concentración del alimento

III. 6. Análisis bioquímico de las microalgas

Cuando el 100 % de las larvas se encontraron en el subestadio Zoea I, II y III se tomó una muestra del cultivo de microalgas con el que se alimentó. Se utilizó un sistema de filtrado con una bomba de vacío, se emplearon filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 25 y 47mm de diámetro respectivamente. Se filtró un determinado volumen para la cuantificación de la biomasa en base seca: Peso seco, cenizas y materia orgánica (López-Elías *et al.* 1993).

En el caso de los filtros empleados para peso seco se lavaron con agua destilada y secaron en una estufa a 100° C por 4 horas posteriormente fueron quemados en una mufla a 500° C por 4 horas. Una vez eliminada la materia orgánica se pesó cada filtro en una balanza analítica (López-Elías *et al.* 1993). Se filtró un volumen por triplicado para la determinación de peso seco, de proteínas, de lípidos y de carbohidratos; y por cuatuplicado en el caso del volumen filtrado para ácidos grasos. El volumen varió entre 10 y 500 ml, calculado de acuerdo a la densidad celular. (Tabla IX).

Tabla IX. Volumen filtrado de microalgas para la determinación de los constituyentes bioquímicos.

Volumen filtrado del cultivo de microalgas (de acuerdo a la densidad celular).					
Especie	Peso seco (ml)	Proteínas (ml)	Lípidos (ml)	Carbohidratos (ml)	Ác. grasos (ml)
<i>Chaetoceros muelleri</i>	100-200	10-15	25-50	10-20	350-500
<i>Isochrysis galbana</i>	100-300	10-15	20-40	10-15	100-350

Las proteínas se extrajeron con hidróxido de sodio 0.1 N, a 60° C en un periodo de 10 minutos para *Isochrysis galbana*; y en el caso de la microalga *Chaetoceros muelleri* igual que la especie anterior pero a una temperatura de 100° C (López-Elías *et al.* 1999). Se determinaron las proteínas por el método Lowry *et al.* (1951) modificado por Malara y Charra (1972a). En la determinación de lípidos se utilizó el método descrito por Bligh y Dyer (1959) y Pande *et al.* (1963) modificado por López-Elías *et al.* (1993). En el caso de los carbohidratos se utilizó la método de Dubois *et al.* (1956) modificado por Malara y Charra (1972b). Para conocer la concentración de cada una de las determinaciones se empleo un espectofotómetro Perkin-Elmer UV/vis, modelo $\lambda 25$.

III. 6. 1. Extracción y determinación de los ácidos grasos de las microalgas

Para llevar a cabo la determinación de los ácidos grasos se extrajeron los lípidos de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959) modificado por López-Elías *et al.* (1993) y una vez separada la bifase en la parte final de la extracción, se prosiguió a la eliminación de los solventes de la muestra. Para lo cual se utilizó un Rotavapor R-Buchi, CH 9230 Flawil/Schweiz y una bomba de vacío DOA-PIQ4B de 115volts. Se mantuvo en un baño a 40° C, en un tiempo de 15 a 30 minutos. Posteriormente se llevo a cabo la metil-esterificación descrita por AOCS (1993). La muestra obtenida se analizó por cromatografía de gas líquido en

un Cromatógrafo Mod. Varian. Se utilizó una columna capilar de sílica Omegawax 250 (0.25 mm de diámetro interno X 30m de longitud) Supelco Inc. (Bellefonte, Pennsylvania). La programación de la temperatura fue 5 minutos a 205°C y se incrementó 4°C/minuto desde 205° hasta 240°C (Carrillo-Sánchez, 2000). La identificación del perfil de ácidos grasos se obtuvo por comparación con los tiempos de retención del estándar PUFA-1 (origen marino): No. 4-7033 Supelco, Inc. (Bellefonte, Pennsylvania). Posteriormente se cuantificaron los ácidos grasos de acuerdo a los porcentajes en los cromatogramas de cada una de las muestras analizadas.

III. 7. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas

El seguimiento del desarrollo larvario fue por la observación diaria de una muestra representativa de larvas de cada unidad experimental. Se evaluó la condición general de la larva y se cuantificó el porcentaje de organismos que mudaban diariamente. De esta forma se llevó a cabo el seguimiento de la metamorfosis y el cambio de cada subestadio larvario. Para conocer el crecimiento se midieron 5 organismos de cada unidad experimental, cuando más del 80% de las larvas se encontraron en el subestadio Zoea I, II y III. Las larvas muestreadas se colocaron en un porta-objetos y se observaron en un microscopio estereoscópico Zeiss con reglilla para determinar la talla. Las mediciones obtenidas fueron longitud total y longitud patrón, la primera fue tomada a partir del rostrum a la furca y la segunda desde el rostrum a la base de la furca. Una vez obtenidas las tallas los organismos eran regresados a su respectiva unidad experimental. Al finalizar el experimento, cuando el 80 a 100% de la población se encontraba en el estadio *Mysis*, se cuantificó la sobrevivencia. Esta se estimó a partir del conteo de tres muestras de 100 mililitros, tomadas de cada unidad experimental, que previamente se agitó para uniformizar la distribución de los organismos.

III. 8. Análisis bioquímico de las larvas

Se tomó una muestra de organismos de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* estadio nauplios larvas previo al inicio del experimento, con la finalidad de conocer la composición bioquímica antes de los tratamientos. Asimismo, al finalizar cada experimento después de haber estimado la sobrevivencia, se tamizaron todas larvas de cada unidad experimental. Se eliminó el exceso de agua de cada muestra y se colocó por separado en viales para su congelación. Se determinó el peso seco de las larvas y se realizó el calculo para conocer el número mínimo de larvas necesarias para la determinación de proteínas, carbohidratos y lípidos. Una vez conocido el número de larvas necesarias para cada determinación se realizó el conteo y se separaron las larvas en un filtro de fibra de vidrio Whatman GF/C de 25 mm de diámetro. Se emplearon las mismas técnicas de determinación de los componentes bioquímicos descritas para las microalgas, en este caso no se requirió de solventes.

III. 8. 1. Extracción y determinación de los ácidos grasos de las larvas

Para la extracción y determinación de los ácidos grasos de las larvas se utilizaron todos los organismos restantes de cada experimento y se colocaron por separado en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C de 25 mm de diámetro. Se extrajo la fracción lipídica de acuerdo al método de Bligh y Dyer (1959) modificado por López-Elías *et al.* (1993). No se empleo solvente. El resto del proceso fue el mismo empleado para las microalgas. Se obtuvieron los cromatogramas, se identificaron los ácidos grasos y la cantidad por muestra. Se utilizó el perfil de ácidos grasos del estándar PUFA-1 (origen marino): No. 4-7033 Supelco, Inc. (Bellefonte, Pennsylvania) comparando los tiempos de retención

III. 9. Análisis de los datos

Se utilizó el paquete estadístico STATISTICA ver. 1984-2000 para conocer la distribución de los datos y por lo tanto la decisión del modelo estadístico a aplicar. A los datos de composición bioquímica de larvas y microalgas, así como a los datos crecimiento y sobrevivencia obtenidos en el experimento se les aplicó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilks y de homocedasticidad de Bartlett (Zar, 1984).

Se utilizó análisis de variancia (ANDEVA) para comparar las dietas microalgales y cada uno de los constituyentes bioquímicos analizados: materia orgánica, cenizas, proteínas, carbohidratos y lípidos. De igual manera, se utilizó análisis de variancia para los datos de la bioquímica de las larvas, el crecimiento y sobrevivencia. En el caso de los datos que no presentaron distribución normal y homocedasticidad se utilizó la prueba homóloga de la estadística no paramétrica (Zar, 1984).

IV. RESULTADOS

IV. 1. Composición bioquímica proximal de las dietas microalgales

IV. 1.1. Dieta 1: *Isochrysis galbana*

La biomasa de esta microalga en el experimento I fluctuó de 49 a 60 % de materia orgánica y de 39 a 50 % la porción de cenizas. Se presentó una concentración mayor de materia orgánica en la dieta suministrada en el subestadio Zoea III. Los valores de las proteínas oscilaron desde 12 a 23 %. La fracción de lípidos varió de 6 a 9 % y la proporción de carbohidratos varió del 4 al 9 % (Fig. 5).

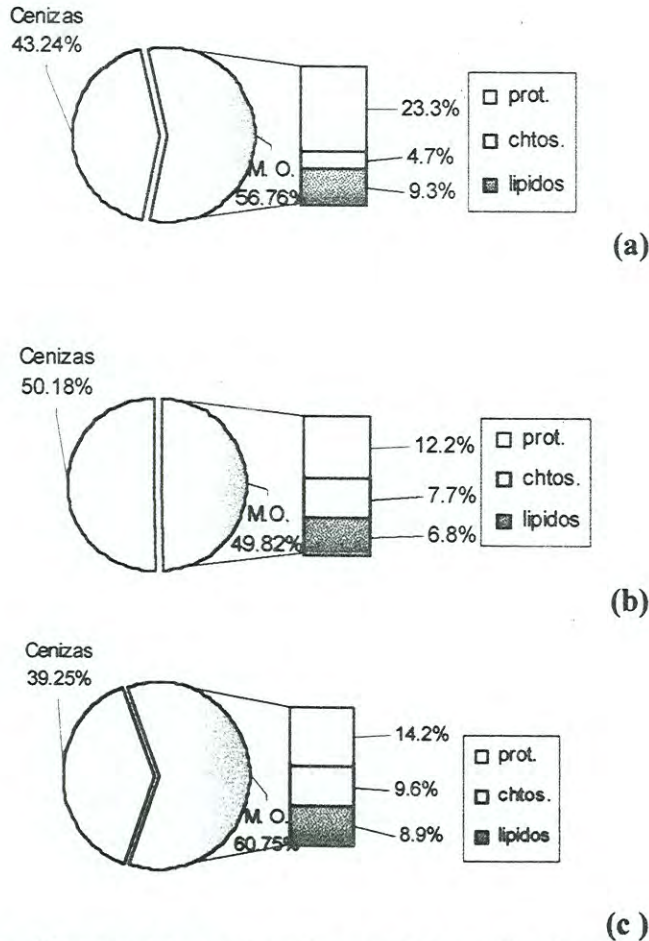
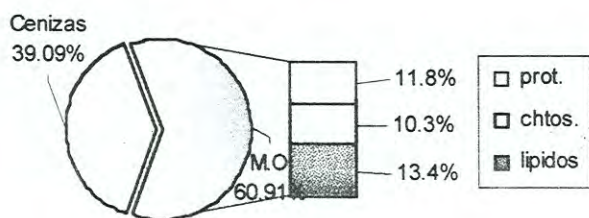
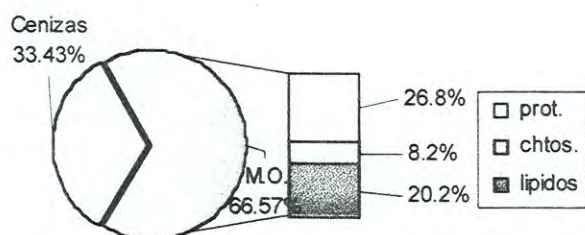


Figura 5. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *Isochrysis galbana* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el Ier. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

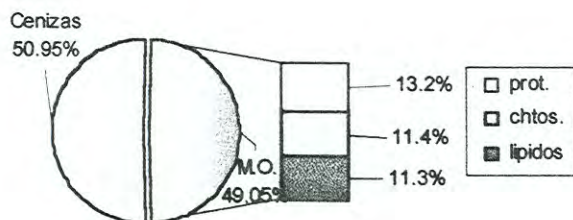
La biomasa adicionada como alimento en el segundo y tercer experimento varió de 49 a 66 % en la materia orgánica y de 33 a 50 % en la cantidad cenizas. En el estadio Zoea II se cuantificó el mayor porcentaje de materia orgánica, que fue donde se adicionó la mayor concentración de lípidos y proteínas. El porcentaje de proteínas fue la fracción mayoritaria y varió de 11 a 26 % mientras que la fracción lipídica fluctuó de 11 a 20 % y los carbohidratos se mantuvieron estables (8 a 11 %) (Fig. 6).



(a)



(b)



(c)

Figura 6. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *Isochrysis galbana* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

IV. 1.2. Dieta 2: *Chaetoceros muelleri*

La porción orgánica encontrada en esta especie como dieta para larvas de camarón blanco en el primer experimento fluctuó entre 48 y 68 %; y la fracción inorgánica entre 31 y 51 %, con diferencias mínimas entre en la composición proximal de la dieta en cada subestadio. Se encontró que la mayor proporción orgánica suministrada como dieta fue en el estadio Zoea III. La porción de proteínas fue la más alta con valores entre 23 y 31 %, seguido de los lípidos con variaciones altas de 5 a 20 % y en menor proporción los carbohidratos con valores de 3 a 11 % (Fig. 7). La variabilidad presentada en los componentes de reserva fue muy alta durante el bioensayo con las larvas.

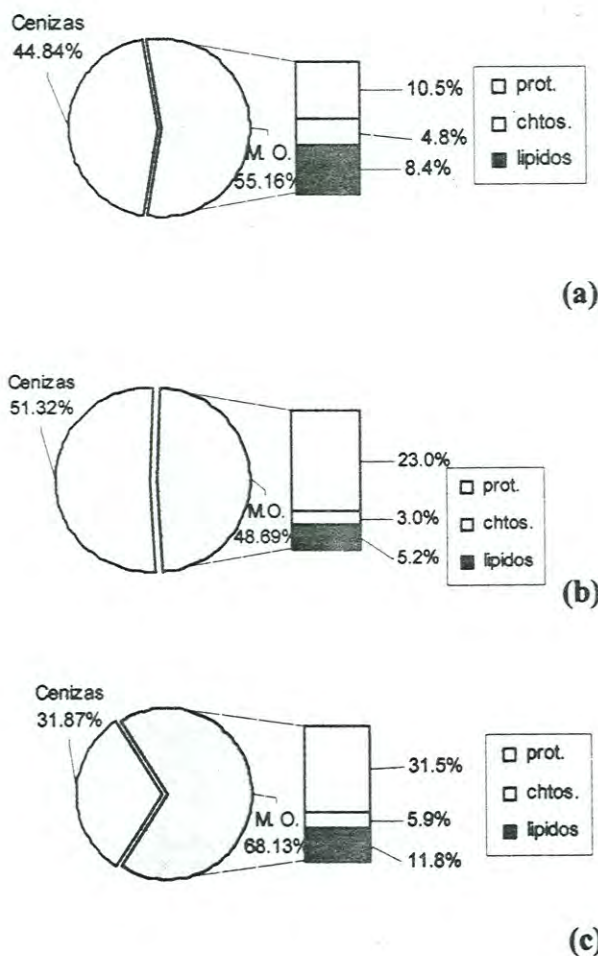


Figura 7. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *C. muelleri* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 1er. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

En el segundo y tercer experimento el porcentaje de cenizas fluctuó entre el 41 y 43% y de materia orgánica de 56 a 58 % (Fig. 7). El porcentaje de proteínas varió de 25 a 32%, mientras que la fracción de lípidos cambió de 5 a 12 % y la porción de carbohidratos se mantuvo constante (4 a 6 %). La concentración de lípidos presentó mayor variabilidad durante los experimentos. En general se apreció que en el subestadio Zoea III la dieta suministrada proporcionó la mayor cantidad de los tres constituyentes (Fig. 8).

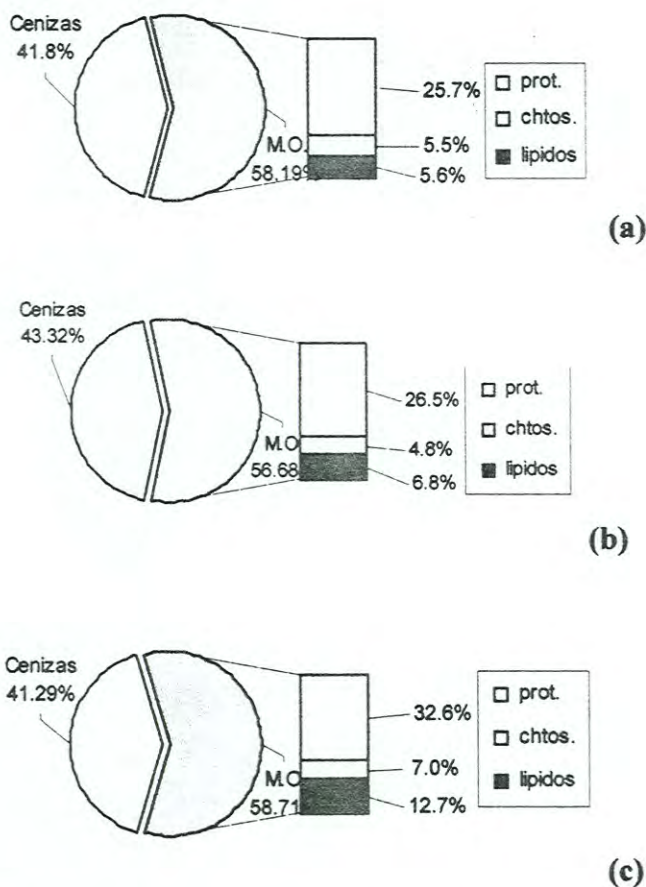
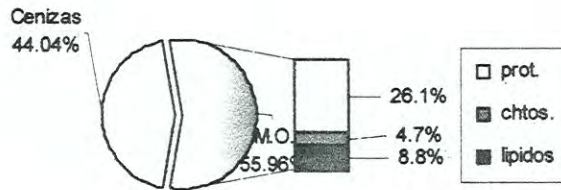


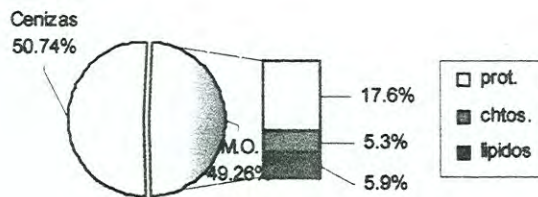
Figura 8. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *C. muelleri* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

IV. 1.3. Dieta 3: Mezcla *Isochrysis-Chaetoceros*

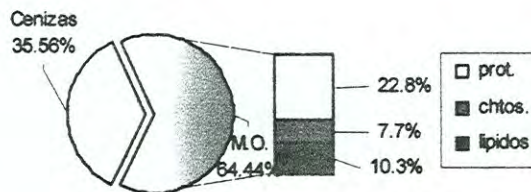
La porción orgánica encontrada en esta especie como dieta para larvas de camarón blanco en el primer experimento fluctuó entre 49 y 64 %; y la fracción inorgánica entre 35 y 50 %, con diferencias marcadas en las concentraciones de proteínas y lípidos. Se encontró que la mayor proporción orgánica suministrada como dieta fue en el estadio Zoea III. La proporción de proteínas fue la más alta con porcentajes desde 17 a 26 %; la fracción de lípidos varió de 5 a 10 % y los carbohidratos se cuantificaron entre 4 y 7 %. En esta dieta se observó alta variabilidad en las concentraciones de los componentes orgánicos (Fig. 9).



(a)



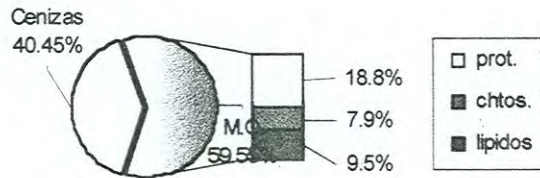
(b)



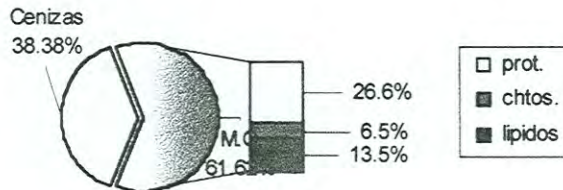
(c)

Figura 9. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *I. galbana* y *C. muelleri* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 1er. Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

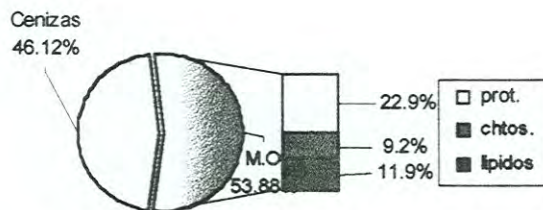
En la dieta mezcla proporcionada como alimento en el segundo y tercer experimento el porcentaje de materia orgánica fluctuó de 53 a 61 % y de cenizas de 38 a 46 %. El porcentaje de materia orgánica más alto se observó en el estadio Zoea II, por lo que los valores de los constituyentes fueron ligeramente más elevados. En general el porcentaje de proteína fue mas alto con concentración de 18 a 26 %, la fracción lipídica varió de 9 a 13 % mientras que la porción de carbohidratos cambio de 6 a 9 %. Se observó que la concentración de lípidos presentó mayor variabilidad durante el experimento. En general se apreció que en el subestadio Zoea III la dieta suministrada proporcionó la mayor cantidad de los tres constituyentes (Fig. 10).



(a)



(b)



(c)

Figura 10. Composición bioquímica expresada en porcentaje de materia orgánica de *I. galbana* y *C. muelleri* como dieta en (a): Zoea I, (b): Zoea II y (c): Zoea III; durante el 2do. y 3er Experimento. MO: materia orgánica, prot: proteína, chtos: carbohidratos y lípidos.

IV. 1.4. Análisis de materia orgánica y cenizas

Las dietas de *I. galbana*, *C. muelleri* y la mezcla de ambas especies se evaluaron como nutrientes en las larvas con base a gramos por litro, encontrándose que la cantidad de materia orgánica y cenizas de las tres dietas fue estadísticamente igual ($F_{0.05, 2, 51}=0.00063$, $p>0.05$; $F_{0.05, 2, 51}=0.00750$, $p>0.05$ respectivamente) (Tabla X).

IV. 1.5. Análisis de proteínas, carbohidratos y lípidos

En lo referente a la composición química de las dietas, la cantidad de proteínas (g/l) fue mayor en la dieta suministrada con *Chaetoceros muelleri* y la mezcla que con la dieta de *Isochrysis galbana* ($F_{0.05, 2, 51}=7.1491$, $p<0.05$). El aporte de carbohidratos (g/l) fue estadísticamente mayor con la dieta de *I. galbana* que con *C. muelleri* y la dieta mezcla ($X^2_{0.05, 2, 51}=11.11$, $p<0.0039$). Finalmente la cantidad de lípidos (g/l) proporcionada con las dos dietas monoalgales y la mezcla fueron estadísticamente iguales ($X^2_{0.05, 2, 51}=1.777$, $p>0.4111$). (Tabla X).

Tabla X. Valores promedio de los principales constituyentes bioquímicos de las dietas de microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* y la mezcla. Valor de la media en g/l, \pm desviación estandar. (*) valores que no presentan diferencias significativas, (b) valores con diferencia significativa ($p= 0.05$).

COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA (g/l)	Dieta 1: <i>Isochrysis galbana</i>	Dieta 2: <i>Chaetoceros muelleri</i>	Dieta 3: Mezcla
CENIZAS	0.0277, \pm 0.0158 ^a	0.0275, \pm 0.0109 ^a	0.0276, \pm 0.0118 ^a
MATERIA ORGÁNICA	0.0411, \pm 0.0182 ^a	0.0417, \pm 0.0114 ^a	0.0414, \pm 0.0127 ^a
PROTEÍNAS	0.0121, \pm 0.0071 ^a	0.0193, \pm 0.0049 ^b	0.0157, \pm 0.0051 ^b
CARBOHIDRATOS	0.0057, \pm 0.0034 ^b	0.0035, \pm 0.0010 ^a	0.0046, \pm 0.0019 ^a
LÍPIDOS	0.0079, \pm 0.0042 ^a	0.0057, \pm 0.0022 ^a	0.0068, \pm 0.0022 ^a

IV. 1.6. Perfil de ácidos grasos en las dietas microalgales

El contenido celular de ácidos grasos en *Isochrysis galbana* durante los tres experimentos fue muy similar. Se observó que la mayor concentración de los ácidos grasos correspondió a los saturados como el mirístico y el palmítico, con valores entre 32.09 y 71.17mg/100mg. Los ácidos grasos del tipo monosaturados como el oleico y palmitoleico se presentaron en concentraciones de 2.46 hasta 9.23 mg/100mg. Los ácidos grasos altamente insaturados DHA y Octadecatetraeónico solo se encontraron en el experimento II-III con concentraciones desde 3.9 hasta 4.188mg/100mg (Fig. 11).

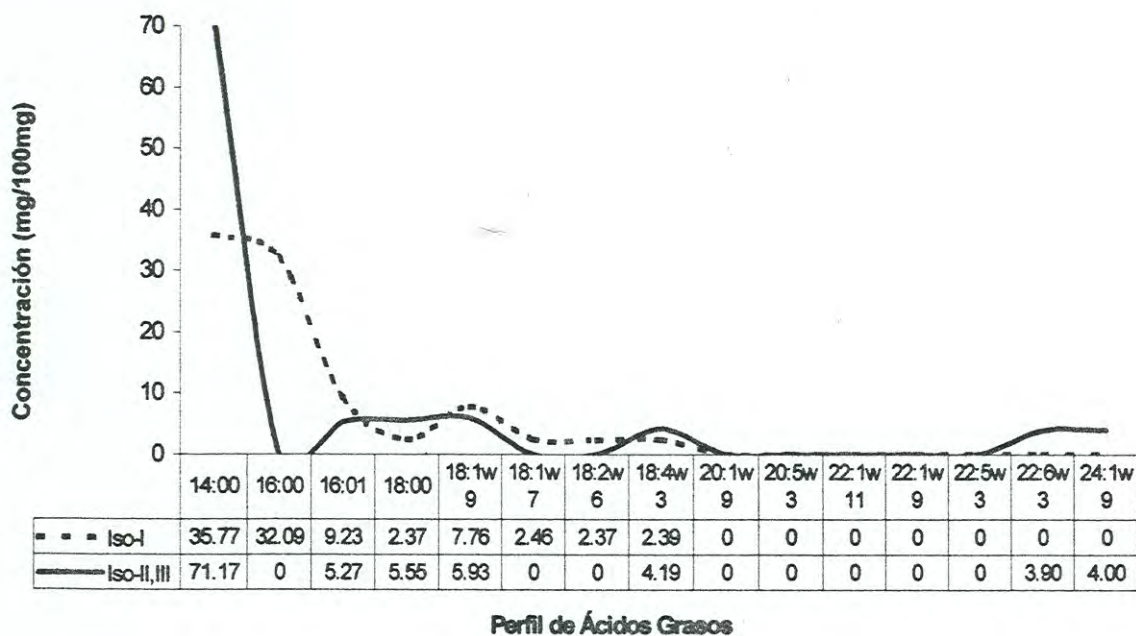
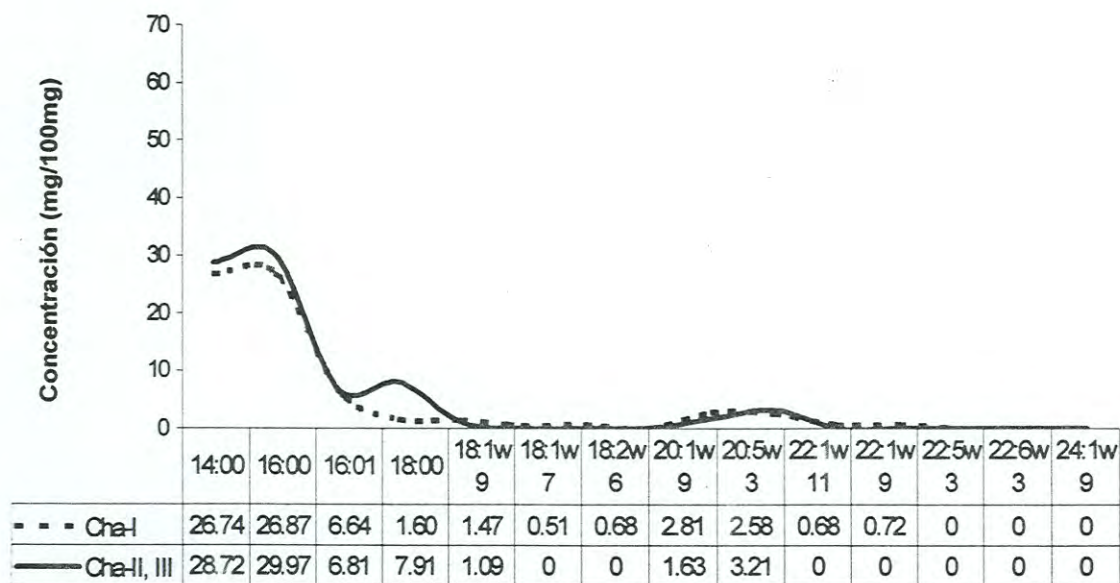


Figura 11. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la microalga *Isochrysis galbana*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Iso-I= 1er. Experimento; Iso-II,III= 2do. y 3er. Experimento.

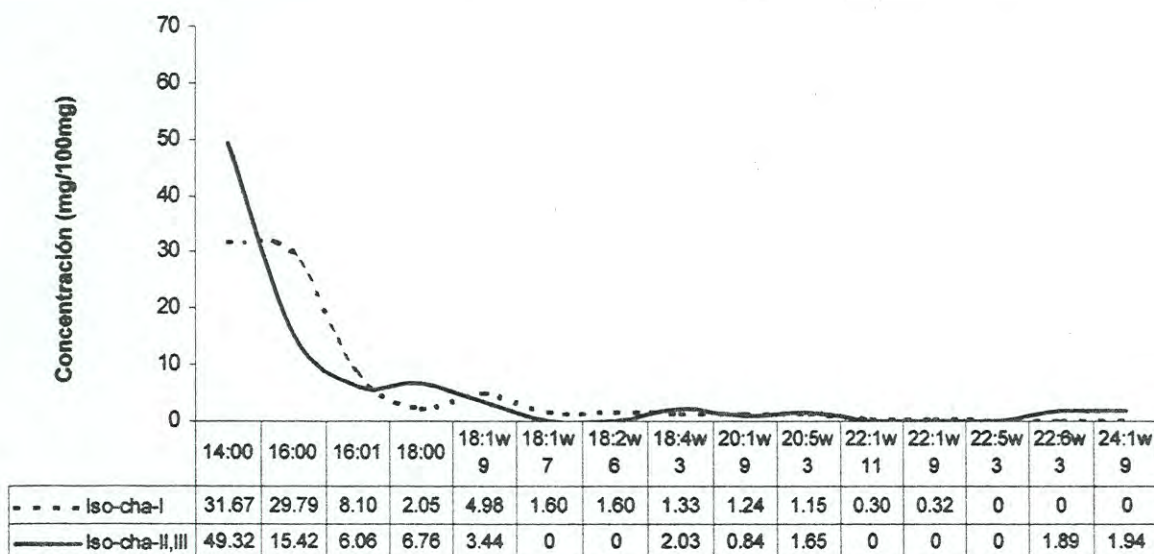
La microalga *Chaetoceros muelleri* presentó un perfil de ácidos grasos muy constante (Fig. 12). Aproximadamente de 50 a 60 mg/100mg correspondieron a los ácidos grasos saturados como el mirístico, palmítico y esteárico, en los tres experimentos. El resto de los ácidos grasos se cuantificaron entre 0.71 hasta 6.81mg/100mg. Cabe destacar que aunque no se presentaron los DPA y DHA sí se registró EPA con valores de 2.58 a 3.21mg/100mg (Fig. 12).



Perfil de Ácidos Grasos

Figura 12. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la microalga *Chaetoceros muelleri*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Cha-I= Experimento I; Cha-II,III= Experimento II y III.

Al igual que en los resultados anteriores, en la dieta mezcla *Iso-Cha* se registró la mayor concentración de ácidos grasos saturados, principalmente mirístico y palmítico con valores desde 15.43 hasta 49.3mg/100mg. Es decir poco más del 50% del perfil de ácidos grasos correspondió a los saturados. Los valores de concentración de esta dieta para el resto de los ácidos oscilaron entre 0.83 a 8.103mg/100mg. Se observaron muy bajas concentraciones de los ácidos grasos altamente insaturados por ejemplo el Octadecatetraenoico fluctuó de 1.33 a 2.03mg/100mg, los EPA con 1.15 a 1.65mg/100mg, en ambos experimentos. Los DHA se cuantificaron solo en el experimento II-III con un concentración de 1.89mg/100mg (Fig. 13).



Perfil de Ácidos Grasos

Figura 13. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) de la mezcla de *Iso-Cha*, proporcionada como dieta en larvas de *Litopenaeus vannamei*. Iso-Cha-I= Experimento I. Iso-Cha-II,III= Experimento II y III.

IV. 2. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas

La mediciones de las larvas en los estadios presentaron ligeras variaciones. En el estadio Zoea I las tallas oscilaron entre 0.8 y 1.04 mm (Fig. 14a), no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($X^2_{0.05,2}=0.94$, $p>0.05$). Las tallas de las larvas en Zoea II y III variaron de 1.24 a 1.90mm y de 2.14 a 2.80mm respectivamente (Fig. 14b y c). Se encontraron diferencias estadísticas en las tallas de estos estadios: $X^2_{0.05,2}=9.24$, $p<0.05$ y $X^2_{0.05,2}=13.81$, $p<0.05$. Se observaron mayores tallas en la zoeas III cuando se alimentaron con la mezcla y con *Chaetoceros*.

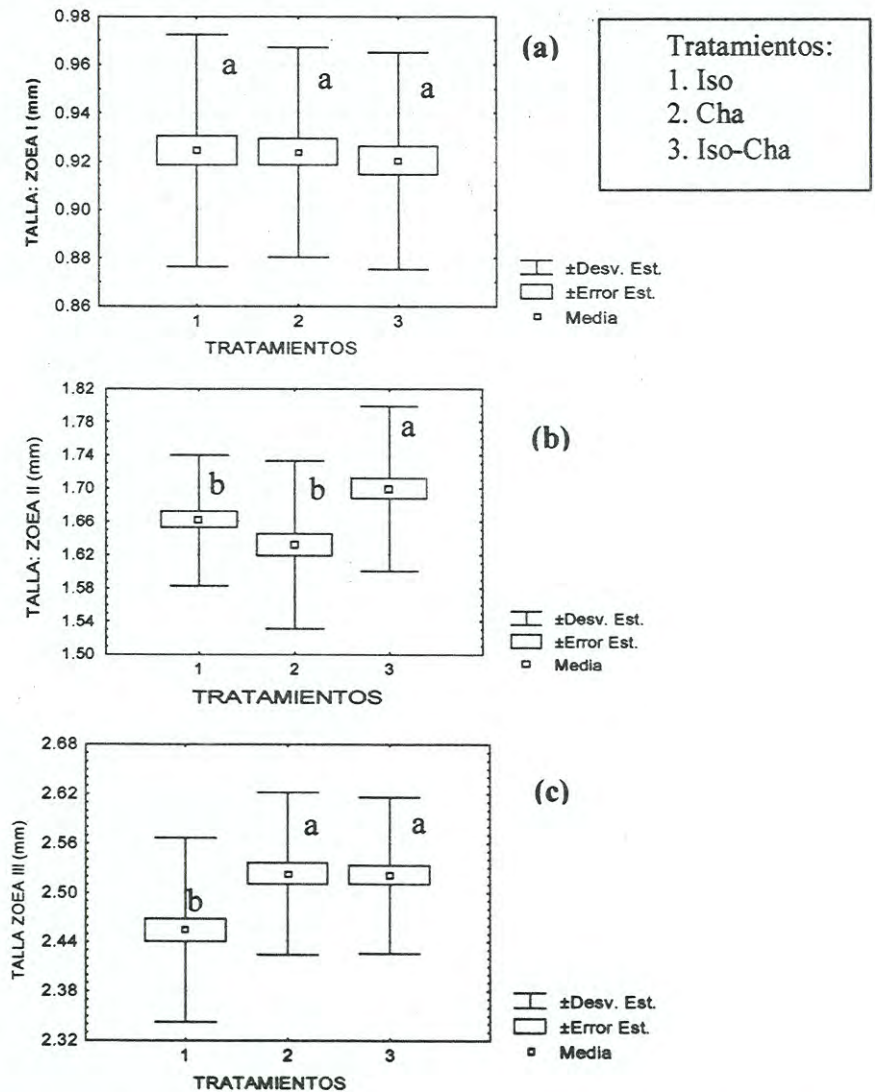


Figura 14. Talla promedio (mm) de las larvas de *Litopenaeus vannamei* en los estadios Zoeas I (a), Zoeas II (b) y Zoeas III (c). (Desviación estándar y media de cada tratamiento).

Los resultados de la sobrevivencia de las larvas alimentadas con las tres dietas microalgales fueron iguales en los experimentos. Los valores oscilaron entre 56.75 a 61.60% en el primer experimento y en el segundo y tercer experimento fluctuó desde 76.33 hasta 87.63 % (Tabla XI).

Tabla XI. Porcentaje de sobrevivencia en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas microalgales.

Experimento	<i>Isochrysis</i>	<i>Chaetoceros</i>	<i>Iso/Cha</i>
1	57.21 %	56.75 %	61.60 %
2	87.63 %	83.33 %	76.61 %
3	77.42 %	80.64 %	76.33 %

El porcentaje promedio de sobrevivencia de las larvas fue igual en los tres tratamientos ($X^2_{0.05,2}=0.2250000$, $p>0.05$). (Fig. 15).

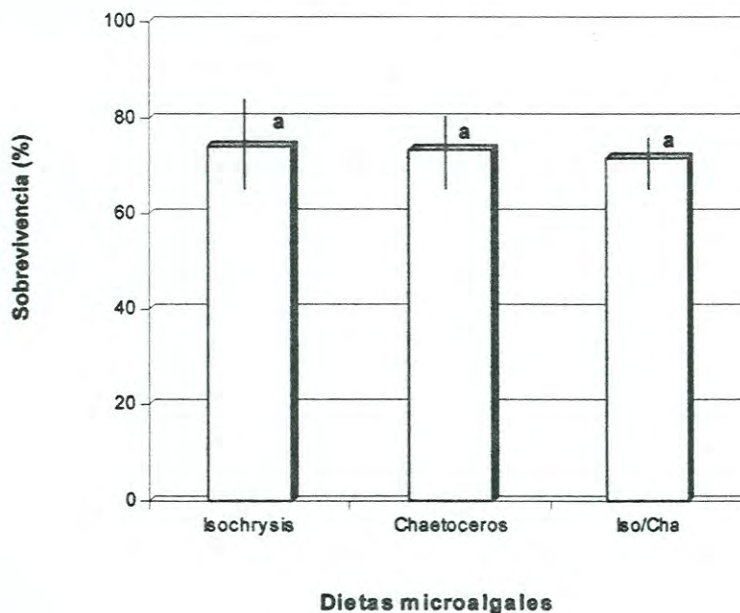


Figura 15. Porcentaje promedio de sobrevivencia final en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con tres dietas microalgales, en los tres experimentos.

IV. 3. Composición bioquímica proximal de las larvas de *Litopenaeus vannamei*

Los resultados obtenidos en el análisis de la bioquímica de los nauplios (lote inicial) indicaron que la cantidad de materia orgánica y cenizas fue muy similar en los tres experimentos no obstante que los nauplios provinieron de desoves de hembras diferentes (Fig 16a).

La cantidad de materia orgánica y cenizas en las larvas (cosechadas en estadio mysis) alimentadas con cultivos monoalgales y la mezcla presentó ligeras fluctuaciones durante los tres experimentos. Las larvas alimentadas con la dieta 1 presentaron valores de materia orgánica entre 25 y 47 % y de cenizas desde 52 a 74 % (Fig. 16b). La materia orgánica de las larvas de la dieta 2 se mantuvo en un intervalo de 25 a 54 % y de cenizas de 45 a 74 % (Fig. 16c). Por último, en la dieta 3 los valores de los organismos analizados oscilaron de 39-53 % y 46-60 % de materia orgánica y cenizas respectivamente (Fig. 16d).

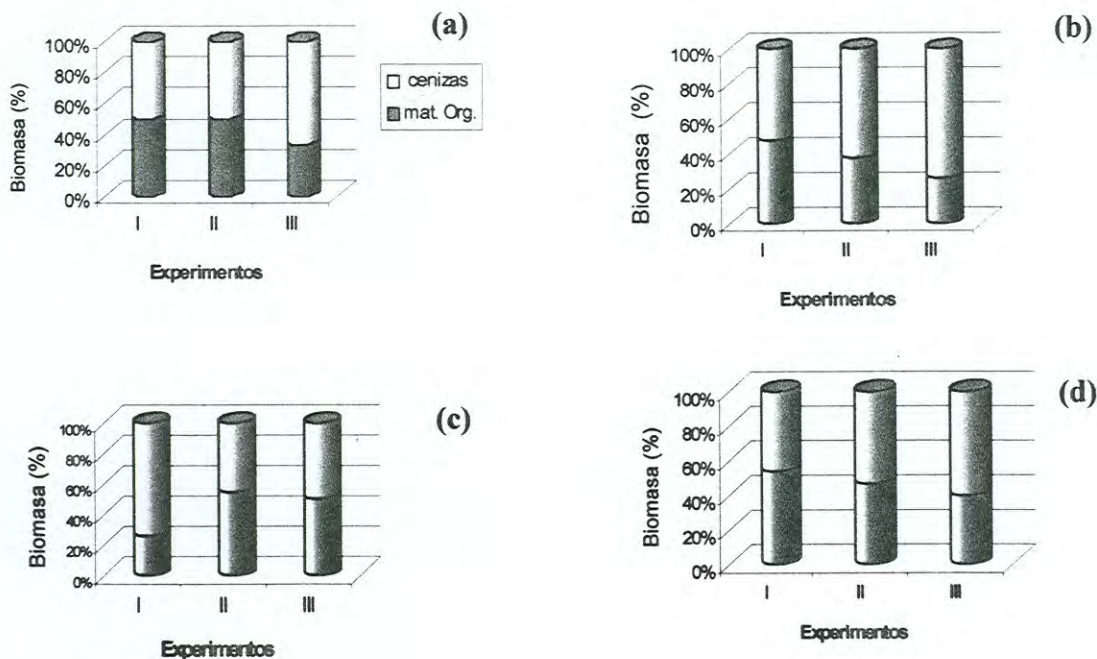


Figura 16. Concentración de la materia orgánica y cenizas en los nauplios y las larvas (cosechadas en estadio mysis) alimentadas con dietas microalgales durante los tres experimentos. (a) Nauplio sembrado en cada experimento. (b) Larvas alimentadas con *Isochrysis galbana*. (c) Larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri*. (d) Larvas alimentadas con la Mezcla *Iso-Cha*.

IV. 3.1. Nauplio

Los componentes bioquímicos como la fracción de proteínas, carbohidratos y lípidos que se detectaron en los nauplios fueron valores distintos en los tres experimentos, con porcentajes desde 1 a 40%. La diferencia mayor se observó en los nauplios del experimento I donde se cuantificó la mayor concentración de proteínas. Los carbohidratos fueron el componente mayoritario en el experimento II y la porción de lípidos mas alta se registró en el nauplio del experimento III (Fig. 17).

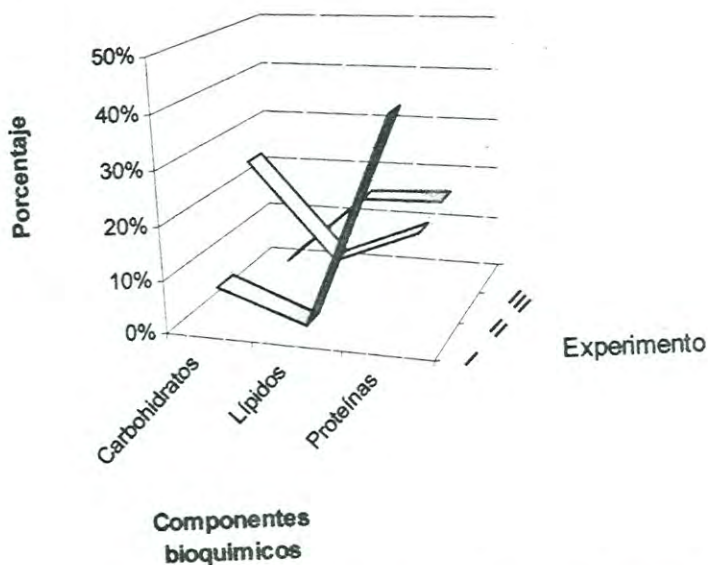


Figura 17. Concentración de los constituyentes bioquímicos de los nauplios *Litopenaeus vannamei* utilizados en los experimentos.

IV. 3.2. Larvas alimentadas con la Dieta 1 (*Isochrysis galbana*)

El contenido de proteínas, carbohidratos y lípidos, en las larvas alimentadas con la dieta 1, cosechadas al final del bioensayo en estadio mysis, fue muy variable en cada experimento. La fracción de carbohidratos fluctuó desde 5 a 13 %, el porcentaje de proteínas osciló desde 19 a 32 % y la porción de los lípidos se encontró en baja concentración con valores de 0.28 a 1.7 %. Las larvas del experimento I presentaron el mayor porcentaje de los constituyentes bioquímicos (Fig. 18).

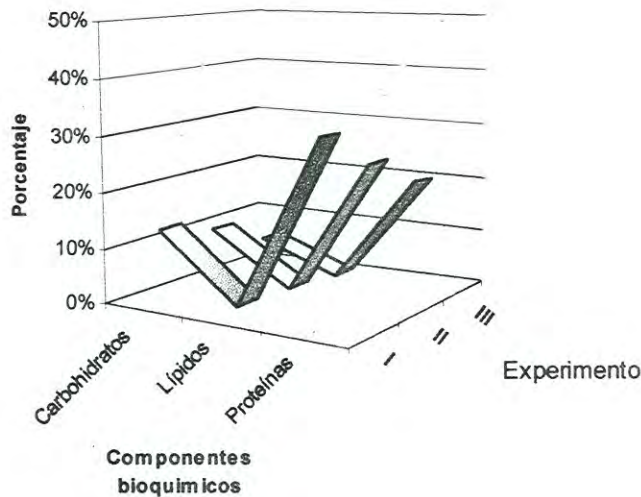


Figura 18. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Isochrysis galbana* durante los experimentos.

IV. 3.3. Larvas alimentadas con la Dieta 2 (*Chaetoceros muelleri*)

El total de los componentes bioquímicos que se cuantificaron (proteínas, carbohidratos y lípidos) en las larvas alimentadas con la dieta 2, cosechadas en estadio mysis, fueron variables. En el experimento I se determinó el contenido más bajo de los componentes bioquímicos. Mientras que en las larvas de el experimento II los carbohidratos fueron la fracción mayoritaria con un valor de 23.7 %, en el experimento III se observó la porción de proteínas más alta con un 43.6 %. Cabe destacar que las larvas del experimento II contenían en total la fracción mayoritaria de lípidos y carbohidratos (Fig. 19).

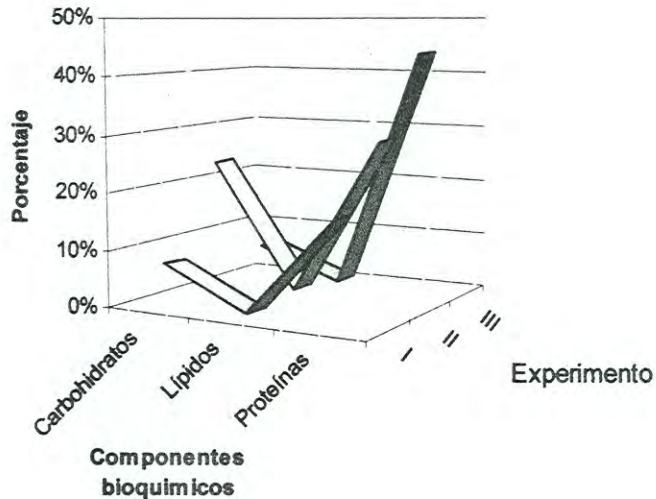


Figura 19. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Chaetoceros muelleri* durante los experimentos.

IV. 3.4. Larvas alimentadas con la Dieta 3 (*Isochrysis-Chaetoceros*)

Por último, los valores obtenidos de las larvas alimentadas con la Dieta 3, y que fueron cosechadas al alcanzar el estadio mysis, indican menor variación en los porcentajes de los componentes bioquímicos. Los componentes más constantes de esta dieta fueron la porción de proteínas y la fracción lípidica, con valores de 30.1 a 32.7 % y de 0.5 a 1.3 % respectivamente. La fracción de carbohidratos fue el constituyente mas cambiante con concentraciones de 7.5 a 22.27 % (Fig. 20).

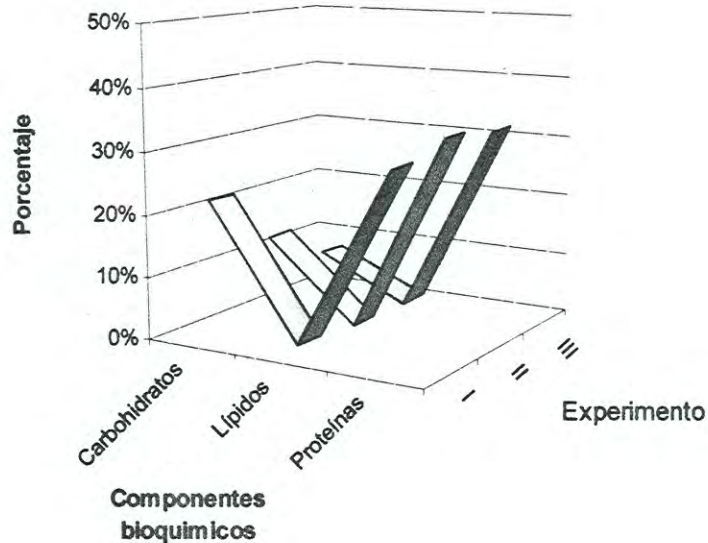


Figura 20. Concentración de los constituyentes bioquímicos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la mezcla de *Isochrysis galbana*-*Chaetoceros muelleri* durante los experimentos.

IV. 3.5. Análisis estadístico de materia orgánica y cenizas en los nauplios y las larvas de *Litopenaeus vannamei*.

La concentración de materia orgánica y cenizas en los nauplios oscilaron entre 0.0025 a 0.0050 mg/nauplio, estas concentraciones fueron más bajas que los encontrados para las larvas (Tabla XII).

La materia orgánica y las cenizas se determinaron en mg/larva en las larvas mysis de camarón blanco de cada tratamiento. Se encontró mínima variación de estos componentes con valores de 0.005 a 0.030mg/l para materia orgánica y 0.005 a 0.020mg/l para cenizas. El contenido de materia orgánica y cenizas fueron iguales entre las larvas mysis alimentadas con las tres dietas: ($X^2_{0.05, 2, 33}=0.4645162$, $p<0.05$ y $X^2_{0.05, 2, 33}=1.107692$, $p>0.05$ respectivamente) (Tabla XII).

IV. 3.6. Análisis estadístico de proteínas, carbohidratos y lípidos en los nauplios y las larvas de *Litopenaeus vannamei*.

Los nauplios sembrados contenían niveles de carbohidratos constantes con un valor promedio de 0.00002mg/nauplio. Los valores de proteínas y carbohidratos oscilaron entre 0.00001 a 0.00024 mg/nauplio. La concentración de los lípidos varió de 0.0000049 a 0.0000097 mg/nauplio (Tabla XII).

Al determinar la composición química de las larvas mysis de camarón, la concentración de proteínas (mg/larva) en las larvas alimentadas con las dietas microalgales fue igual independientemente de la dieta suministrada ($F_{0.05, 2, 33}=0.0314$, $p>0.05$) (Tabla XII). La cantidad promedio de carbohidratos en las larvas fue muy constante. Presentando una ligera variación en las larvas alimentadas con la dieta 3. Aunque estadísticamente no se encontraron diferencias significativas en el contenido de carbohidratos con las tres dietas: ANOVA $F_{0.05, 2, 33}=0.296110$, $p>0.05$ (Tabla XII).

La cantidad de lípidos encontrados en las larvas mysis fue estadísticamente igual al comparar entre las dietas suministradas ($X^2_{0.05, 2, 33}=0.8916408$, $p>0.05$; Tabla XII). Los valores fluctuaron entre 0.000196 hasta 0.000236 mg/larva. Sin embargo, la dieta 1 suministró mayor concentración de lípidos a las larvas que la dieta 2 y 3. Es notable que la dieta que menor concentración de lípidos suministró fue la dieta 3.

Tabla XII. Valores promedio de los principales constituyentes bioquímicos de los nauplio y las larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Valor de la media en mg/larva con base en peso seco, \pm desviación estandar. (*) valores que no presentan diferencias significativas, (b) valores con diferencia significativa ($p= 0.05$).

COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA (mg/larva)	Stock inicial	Dieta 1: <i>Isochrysis galbana</i>	Dieta 2: <i>Chaetoceros muelleri</i>	Dieta 3: Mezcla
CENIZAS	0.00500, \pm 0.00000	0.0133330, \pm 0.003892 ^a	0.012500, \pm 0.005000 ^a	0.013333, \pm 0.003892 ^a
MATERIA ORGÁNICA	0.00417, \pm 0.00144	0.007917, \pm 0.003965 ^a	0.009583, \pm 0.004502 ^a	0.012500, \pm 0.006908 ^a
PROTEÍNAS	0.00008, \pm 0.00013	0.000570, \pm 0.000358 ^a	0.000562, \pm 0.000413 ^a	0.000535, \pm 0.000303 ^a
CARBOHIDRATOS	0.00002, \pm 0.00002	0.000202, \pm 0.000133 ^a	0.000196, \pm 0.000140 ^a	0.000236, \pm 0.000143 ^a
LÍPIDOS	0.0000065, \pm 0.0000027	0.000021, \pm 0.000013 ^a	0.000016, \pm 0.000008 ^a	0.000014, \pm 0.000005 ^a

IV. 3.7. Perfil de ácidos grasos en los nauplios y las larvas de *Litopenaeus vannamei*

En la determinación del perfil de ácidos grasos en los nauplios sembrados en los tres bioensayos, se encontraron principalmente ácidos grasos saturados y monoinsaturados como el palmítico, estearico y palmitoleico con concentraciones desde 1 hasta 23.4mg/100mg. Siendo el palmitoleico el ácido graso dominante con 23 % del total de los ácidos. Seguido de los ácidos grasos estearico y palmítico con 12 % cada uno. Se detectó un ácido graso poliinsaturado el linoléico, con un valor de 3.54mg/100mg.(Fig. 21).

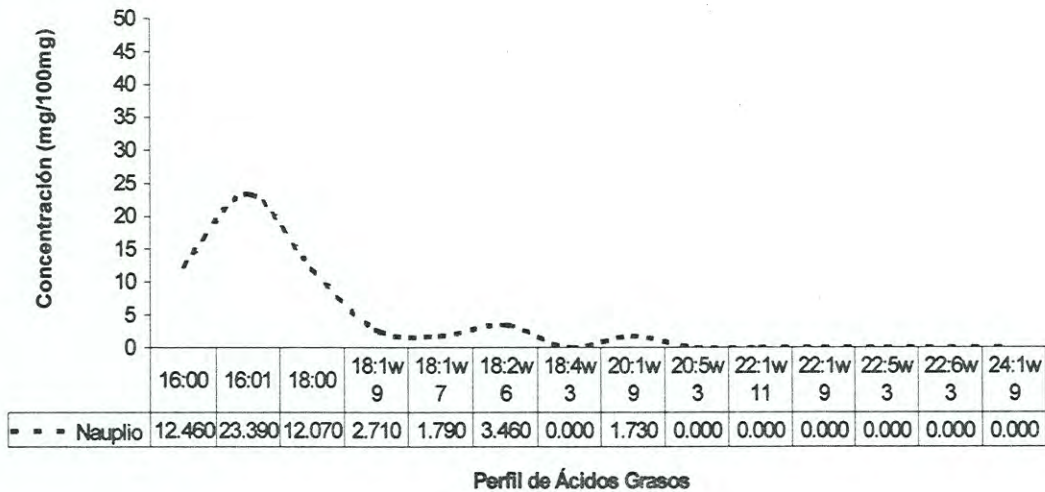
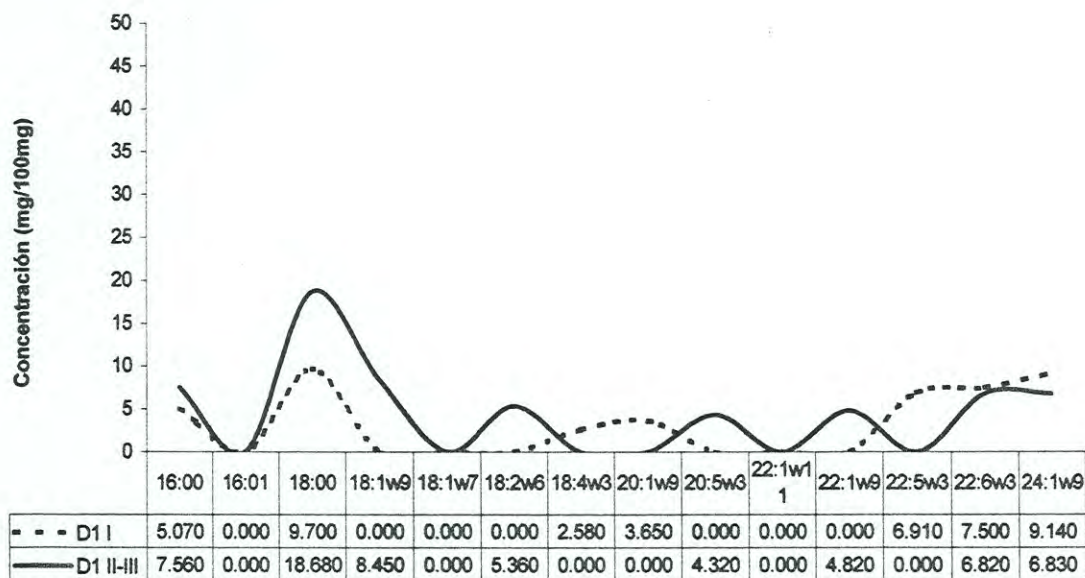


Figura 21. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en los nauplios de *Litopenaeus vannamei*.

En el análisis de las larvas mysis de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la dieta *Isochrysis galbana* se encontró un perfil de ácidos grasos muy amplio. Los ácidos grasos saturados como el mirístico y el esteárico se encontraron con valores de 5.1 a 8.5mg/100mg. Los ácidos grasos monoinsaturados fueron los de mayor proporción con un total de 50.1mg/100mg, se identificaron el oleico, eicosaenoico, docosa-9-enoico y tetracosa-21-enoico los valores oscilaron desde 3.6 a 9.1mg/100mg. Los ácidos grasos altamente insaturados como el octadecatetraenoico se encontró con una valor de 4.3mg/100mg, en el primer experimento. Los DPA y los DHA se detectaron en los muestras con concentraciones de 6.9mg/100mg y 6.8-7.5mg/100mg respectivamente (Fig. 22).

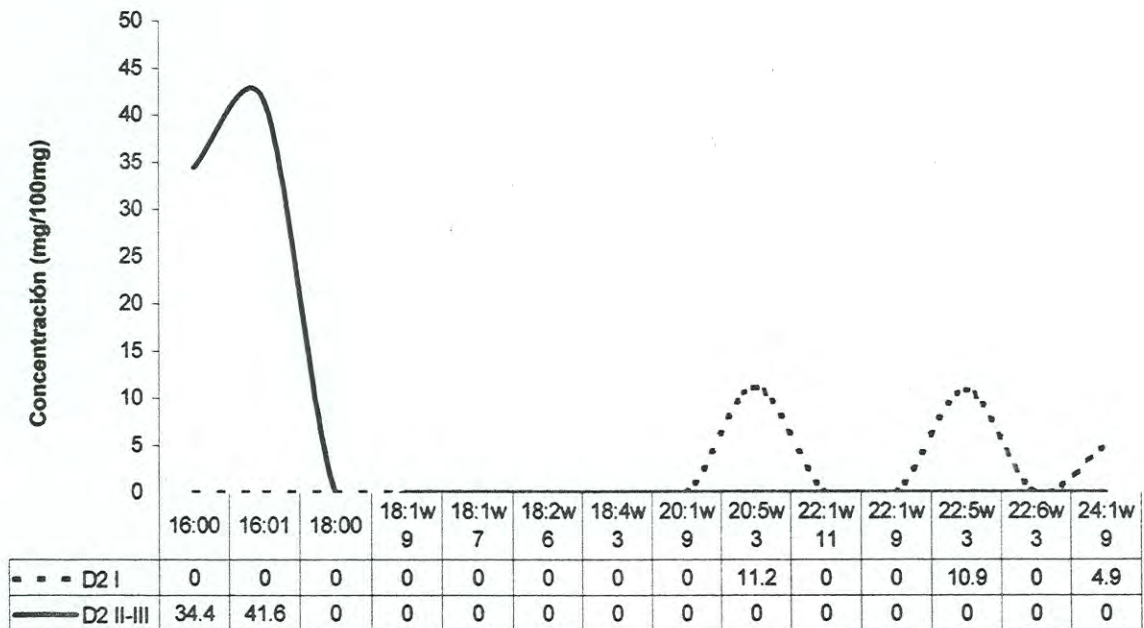


Perfil de Ácidos Grasos

Figura 22. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Isochrysis galbana*. D1 I= Larvas del 1er. Experimento, D1 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento.

En el perfil de ácidos grasos en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la dieta *Chaetoceros muelleri* se evidenció gran diferencia entre el Ier. y el II-III experimento. Mientras que en el Ier experimento los ácidos grasos encontrados fueron los PUFAS y HUFAS; en el II-III experimento fueron ácidos grasos saturados y monosaturados.

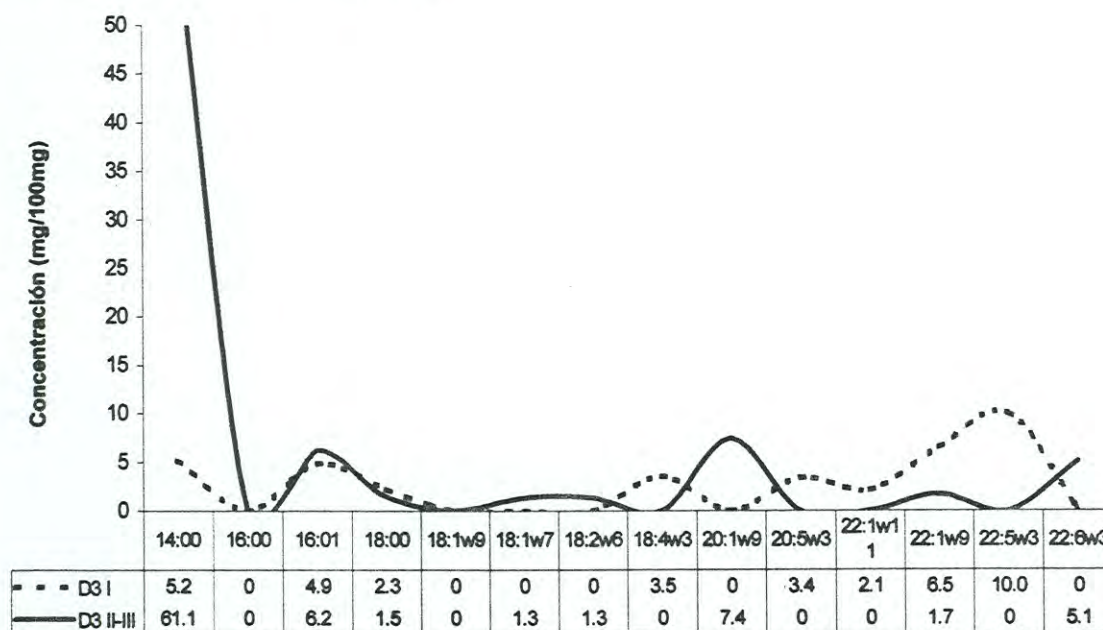
En las larvas analizadas del I experimento se cuantificó el EPA con 11.2mg/100mg, el DPA con 10.9mg/100mg y tetracosa-21-enoico con 4.9 mg/100mg. En el II-III experimento se encontró la mayor concentración de ácido palmitoléico con 41.6mg/100mg, seguido del ácido palmítico con 34.4 mg/100mg (Fig. 23).



Perfil de Ácidos Grasos

Figura 23. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con *Chaetoceros muelleri*. D2 I= Larvas del 1er. Experimento, D2 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento.

En el perfil de ácidos grasos de las larvas *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la dieta *Iso-Cha* se identificaron concentraciones de ácidos grasos saturados, monosaturados polinsaturados y altamente insaturados. Las larvas analizadas del experimento I presentaron ácidos saturados como el mirístico con 5.2mg/100mg y estearico con 2.3mg/100mg. La mayor concentración se registró para los ácidos monoinsaturados como el oleico, eicosaenoico y docoesanoico con un total de 22.8mg/100mg los valores oscilaron entre 1.3 a 9.9mg/100mg. Seguidos de los ácidos grasos altamente insaturados con un total de 15.6mg/100mg. Estos fueron el octadecatetraenoico el DPA y EPA, siendo este último el mas alto con 10.0mg/100mg. En el análisis de los ácidos grasos de las larvas del II-III experimento se obtuvo la más alta concentración del ácido graso mirístico con un valor de 61.1mg/100mg. El total de monoinsaturados fue 12.4mg/100mg, se identificaron el palmitoleico, oleico, eicosaenoico, docoesanoico y tetracosa-21-enoico, los valores oscilaron desde 1.1 a 6.2mg/100mg. La concentración de los ácidos grasos altamente insaturados como el linoléico fue de 2.5mg/100mg y para el DHA de 5.1mg/100mg (Fig. 24).



Perfil de Ácidos Grasos

Figura 24. Perfil de ácidos grasos (mg/100mg) determinado en las larvas de *Litopenaeus vannamei* alimentadas con la mezcla *Iso-Cha*. D3 I= Larvas del 1er. Experimento, D3 II, III= Larvas del 2do. y 3er. Experimento.

V. DISCUSIÓN

V. 1. Evaluación de la biomasa y composición bioquímica de las microalgas producidas en un sistema comercial

En esta investigación se evaluó la producción de biomasa y composición bioquímica de las microalgas comúnmente empleadas en la larvicultura, *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri* y la mezcla de ambas. Estas microalgas se cultivan a nivel masivo en los laboratorios de producción. En México, en los laboratorios comerciales de larvas de camarón, se logran alcanzar densidades celulares desde 0.24×10^6 cél/ml hasta 1×10^6 , para lo cual se emplean cilindros de 300 l hasta pilas de 8000 l en laboratorios como CREMES, Camarón Dorado, Maricultura, Generación Cincuenta, Aqualab entre otros (López-Elías, 1999; Carrillo, 2000; Nieves *et al.* 2000a, Nieves *et al.* 2000b).

En el Laboratorio de Producción de Postlarvas “Aremar” Puerto Peñasco, los cultivos se inician con pequeños volúmenes axénicos que se inoculan en recipientes progresivamente mayores hasta recipientes de 200 y 800 l en un área invernadero con condiciones ambientales semi-controladas. Se obtuvieron densidades celulares en los cultivos desde 0.20×10^6 cél/ml hasta 2.02×10^6 de *Isochrysis galbana* y desde 0.62×10^6 cél/ml a 1.4×10^6 cél/ml de *Chaetoceros muelleri*, por lo que los niveles de producción se encuentran en los intervalos aceptables comparado con otros laboratorios de producción (López-Elías, *et al.* 1999; Nieves *et al.* 2000a, Nieves *et al.* 2000b).

Cabe destacar que el cultivo masivo de *Isochrysis galbana*, presentó una desventaja ya que al segundo día de inocular se formaban aglomeraciones de células, que se depositaban. Es posible que en condiciones de alta temperatura, así como las registradas en el invernadero de “Aremar” (35° C), se presentaran exudados microalgales que sirven como sustrato a bacterias potencialmente patógenas (Huerta-Aldaz, 1997).

Los valores promedio de materia orgánica y cenizas obtenidos de *I. galbana* y *C. muelleri* fueron similares a lo encontrado por López-Elías *et al.* (1999) en cultivos de estas especies en cilindros de 250 l en verano-otoño.

En el análisis de los constituyentes el porcentaje de proteínas fue el componente de mayor proporción y fue ligeramente más alto para *Chaetoceros muelleri* (28.1 %) que para *Isochrysis galbana* (17.0 %), lo cual es parecido a los resultados de López-Elías *et al.* (1999) con valores más altos de este constituyente para *C. muelleri* (39.3 %) que para *Isochrysis* sp. (30.4%) cultivadas en la misma época del año en condiciones similares en un área tipo invernadero. Asimismo es similar a lo registrado por Nieves *et al.* (2000a) en el Laboratorio Generación Cincuenta S. A. de C. V. con la microalga *Chaetoceros*, que registró un nivel de proteínas de 30.4 %. Por lo tanto en la producción de microalgas del Laboratorio "Aremar" solo la especie *C. muelleri* contiene los niveles de proteína adecuados y la especie *I. galbana* se encuentra por debajo del nivel encontrado en otras investigaciones (Brown *et al.* 1989).

Los porcentajes de carbohidratos y lípidos que se obtuvieron fueron levemente más altos con *I. galbana* (9.1 y 12.8 %, respectivamente) que con *C. muelleri* (5.4 y 8.3 %). Estos datos son coherentes a lo registrado para *Isochrysis* en la que se han encontrado valores de 4 y 15.4 % de carbohidratos y lípidos, y para *C. muelleri* con 2.5 y 10.4 % de carbohidratos y lípidos (López-Elías *et al.* 1999). También es semejante a lo reportado en el Laboratorio Generación Cincuenta S. A. de C. V. para la microalga *Chaetoceros* con valores de carbohidratos 7.1 % y lípidos 9.3 % (Nieves *et al.* 2000a). En el análisis que Brown *et al.* (1989) realizaron, mencionan que el porcentaje carbohidratos y lípidos para *I. galbana* es 5 y 21 % y para la especie *C. calcitrans* es de 17 y 10 % respectivamente. Por lo anterior se puede decir que los niveles de estos constituyentes bioquímicos en las microalgas *I. galbana* y *C. muelleri* producidas masivamente en el Laboratorio "Aremar" son congruentes con los resultados de estudios anteriores.

Es relevante mencionar que en el Laboratorio comercial "Arema" la producción escalonada por desdoblamiento en los niveles de producción de microalgas inicia en el cepario con temperaturas de 18° C y finaliza en el invernadero con temperaturas promedio de 30° C. Lo cual se refleja con crecimientos iniciales lentos al exterior de *C. muelleri* y más evidente en el caso de *I. galbana*, ya que si bien es cierto que el aumento de temperatura contribuye a que se aceleren las reacciones metabólicas (Eppley, 1972), el intervalo es mayor para esperar una respuesta favorable. Nelson y colaboradores (1992) encontraron que *I. galbana* y *C. muelleri* crecen con niveles aceptables bajo temperaturas de 30 ° C y 35 ° C respectivamente. De acuerdo con los resultados obtenidos en el Laboratorio "Arema", se encontró que la cantidad producida de los constituyentes celulares es adecuada como alimento para las larvas de *L. vannamei*, aunque cabe destacar que se debe considerar la estación del año en la que se llevó a cabo el experimento.

V. 1. 1. Ácidos grasos en las microalgas

En general, el perfil de los ácidos grasos fue relativamente constante en las dietas de microalgas, siendo los más abundantes los ácidos grasos saturados, se presentó mayor variación en los monoinsaturados, poliinsaturados y altamente insaturados. En *I. galbana* se encontraron principalmente los ácidos grasos saturados (73.47 %), dominando el mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0); y en menor proporción los monoinsaturados (17.32%) altamente insaturados (5.24%) y poliinsaturados (1.18%). Lo anterior coincide con lo encontrado por Carrillo (2000) para esta especie en condiciones de cultivo similares y con lo citado en el trabajo de Brown *et al.* (1989) para la misma especie.

Al igual que en *I. galbana* la composición de ácidos grasos de *C. muelleri* fueron principalmente los ácidos grasos saturados (60.91%), predominando el mirístico (C14:0) y el palmítico (C16:0); y en menor proporción los monoinsaturados (11.18%), altamente insaturados (2.89%) y poliinsaturados (0.34%). Los resultados de esta investigación son comparables a lo obtenido por Carrillo (2000) que evaluó la misma especie y con Brown *et al.* (1989) para la especie *C. calcitrans*.

Sin embargo, cabe destacar que la presencia de estos ácidos grasos en el contenido celular de la microalga son muy variables ya que al comparar con otros estudios se encontraron diferencias, por ejemplo D'Souza y Loneragan (1999) citaron que los ácidos grasos dominantes para *Isochrysis* sp. fueron los HUFAS y en *C. muelleri* los PUFAS. Por otra parte Boeing (1999) menciona que en T-ISO los ácidos grasos mayoritarios fueron los PUFAS y en *C. gracilis* los MUFAS. Investigaciones anteriores han confirmado que la composición bioquímica y por lo tanto el perfil de ácidos grasos es muy alterable y depende de diversos factores, como disponibilidad de nutrientes, temperatura, intensidad de luz, longitud de onda, fotoperíodo y la fase de crecimiento al tiempo de cosecha (Brown *et al.* 1989; Sukenik y Wahnnon, 1990; Lopez-Elías *et al.* 1999; DSousa y Kelly; 2000; Phatarpekar *et al.* 2000).

La variabilidad en el perfil de ácidos grasos se corrobora con la investigación llevada a cabo por Sukenik y Wahnnon (1990) que describen que *Isochrysis* aff. *galbana* (T-ISO) cultivada con altas intensidades de luz acumuló carbohidratos, mientras que la cantidad celular de lípidos decreció. Lo relevante en este estudio es que encontraron que la variación de los lípidos celulares están asociados con cambios en la composición de ácidos grasos y son relacionados con una relativa abundancia de los ácidos palmítico (C16:0) y oleico (C18:1) y decrece el porcentaje de los ácidos grasos poliinsaturados (C18:4) (Sukenik y Wahnnon, 1990; Renaund *et al.* 1991). De acuerdo con lo anterior el principal parámetro físico-químico que afectó los cultivos de microalgas en "Aremar" fue el nivel de irradiancia. En los meses en los que se realizaron los bioensayos los valores de irradiancia

al medio día en el invernadero fueron de $\sim 520 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$, cuando el óptimo sugerido por Sukenik *et al.* (1991) para cultivos masivos de *I. galbana* al exterior es de $200 \mu\text{M}/\text{m}^2/\text{s}$. Por lo tanto, se deduce que estas condiciones determinaron la composición bioquímica de *I. galbana* y por consecuencia el incremento de los ácidos grasos saturados con respecto de los HUFAS (Renaund *et al.* 1991).

V. 1. 2. Ácidos grasos esenciales en las microalgas

De manera similar a lo registrado en estudios previos, los ácidos grasos altamente insaturados considerados esenciales en la alimentación de peneidos DHA (C22:6w3) y EPA (C20:5w3), estuvieron presentes en las dietas microalgales pero en bajas concentraciones. En el caso de *Isochrysis* únicamente se detectó el DHA con 3.99%, y en *Chaetoceros* se cuantificó el EPA con 2.89 %. Cabe destacar que la dieta mezcla presentó ambos ácidos grasos aunque en menor proporción que las dietas monoalgales. Al comparar estos resultados con estudios previos se encontró que en estas especies siempre se detectaron ambos ácidos grasos: EPA y DHA. Además estas investigaciones mencionan que los valores para T.ISO (*Isochrysis* sp) el DHA se encontró en mayor proporción que el EPA (Napolitano *et al.* 1990; Renaud, 1991; Saoudi-Helis *et al.* 1994; Boeing, 1999; D'Sousa y Loneragan, 1999; y Carrillo, 2000). En el caso de *C. muelleri* y *C. gracilis* se encontró mayor proporción de EPA que de DHA (Napolitano *et al.* 1990; Rodríguez *et al.* 1994; Boeing, 1999; D'Sousa y Loneragan, 1999; Carrillo, 2000). Las diferencias de estos resultados y el presente estudio pueden ser atribuidas a deficiencias de nutrimento (s) en el cultivo, Brown *et al.* (1989) mencionan que en condiciones limitantes de nitrógeno o silicato la concentración de DHA en *C. gracilis* se redujo y cuando el nitrógeno fue limitante el nivel de EPA en *I. galbana* disminuyó. Estos resultados coinciden con esta investigación puesto que *C. muelleri* presentó solo el EPA y en *I. galbana* solo se encontró DHA. Sin embargo, no se debe descartar que la técnica de extracción de la fracción lipídica es una etapa del método con riesgo y ante posibles errores de extracción, los ácidos grasos que se encuentran en muy baja concentración puedan no ser detectados. En general el DHA

y el EPA se encuentran en baja proporción en las muestras analizadas en otras investigaciones, incluso menores al 1% (Rodríguez *et al.* 1994; Saoudi-Helis *et al.* 1994; Boeing, 1999 y Carrillo, 2000).

Es relevante mencionar que a pesar que *I. galbana* solo contenía DHA y *C. muelleri* solo EPA, de acuerdo con Akiyama *et al.* (1992) y Chen (1993) las dietas cumplen con el mínimo recomendado que es 1.5% de ácidos grasos esenciales. Por lo que se puede enfatizar que las dietas monoalgales y la mezcla aquí analizadas cubren con el porcentaje de EFA (ácidos grasos esenciales) recomendado.

V. 2. Efecto nutricional de las dietas microalgales en las larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

El efecto de los tratamientos en las larvas de camarón se evaluó al analizar y comparar la composición bioquímica de los nauplios, de la dieta y de las mysis obtenidas al final de cada bioensayo. En general, los valores obtenidos en los análisis proximales del nauplio y las larvas fueron similares, donde los valores de materia orgánica y cenizas fueron muy constantes.

En las dietas se cuantificó mayor proporción de materia orgánica que en las mysis y los nauplios, y de cenizas menor en las dietas que en las mysis y los nauplios (Apéndice 1). Esto es congruente ya que en las larvas el remanente de la cutícula (exoesqueleto) puede generar hasta un 24 % de cenizas en proporción al peso de la larva (Rodríguez *et al.* 1994), aunque esta proporción fue más evidente en las mysis que en los nauplios.

Por otra parte los componentes como proteínas, carbohidratos y lípidos presentaron una tendencia similar en las tres dietas y a lo obtenido en las mysis y los nauplios (Apéndice 1). El porcentaje de proteínas en las larvas fue el componente mayoritario, con valores que alcanzaron hasta un 70 %, seguido de los carbohidratos (26.7-30.7%) y en

menor proporción los lípidos (1.9-3.3 %). Los datos de proteínas coinciden con Rodríguez, *et al.* (1994) que describen para larvas de *P. japonicus* alimentadas con *C. gracilis* valores de hasta 59.6% de proteínas. Mientras que los valores de lípidos y carbohidratos fueron muy diferentes (34.9% y 5.2% respectivamente). A su vez semejante a lo obtenido por D'Souza y Loneragan (1999) que evaluaron el género *Penaeus* spp y D'Souza y Kelly (2000) que estudiaron la especie *P. semisulcatus*.

Cabe destacar que el porcentaje de las proteínas y los carbohidratos se encontraron levemente más altos en las larvas alimentadas con la dieta 3, que en las larvas alimentadas con las dietas 1 y 2 (que presentaron valores similares a lo observado en los nauplios). Es decir el aporte nutricional de la dieta 3 sí presentó un ligero incremento en los constituyentes de las mysis alimentadas con esta dieta, pero no presentó ventajas evidentes al comparar con las otras dietas. Sin embargo, es necesario enfatizar que las dietas mixtas son recomendadas por que presentan un mejor balance de nutrimentos que una dieta monoalgal. Brown *et al.* (1989) mencionan que la eficiencia de una dieta está en función de los componentes esenciales y que la deficiencia de alguno puede reducir el valor nutricional de el alga, y por lo tanto una dieta mixta ofrece una adecuada cantidad de micronutrientes.

Un aspecto relevante en la composición bioquímica fue que la proporción de lípidos de las larvas en los tres tratamientos siempre fue menor que lo obtenido en los nauplios y en la dieta microalgal. Lo anterior está relacionado al gasto energético elevado por los cambios metamórficos de las larvas en un periodo muy corto. Por ejemplo, se ha descrito que para *P. monodon*, que es una especie omnívora como *L. vannamei*, el requerimiento de lípidos cambia de 4.2% en estadio zoea hasta 16% en estadios de mysis a postlarva (Kurmaly *et al.* 1989b) y que está estrechamente vinculado al desarrollo del tracto digestivo y al nivel trófico de la larva (Jones; *et al.* 1997). Por lo tanto se corrobora de manera indirecta, que el cambio de estadio zoea a mysis conlleva un requerimiento mayor en el nivel de lípidos y que debe ser suministrado en la dieta. En los laboratorios de producción de postlarvas esto se logra adicionando nauplios de *Artemia* sp. a razón de 2 *Artemia*/ml, desde el estadio mysis hasta postlarva (Wyban y Sweeney, 1991).

Kurmaly *et al.* (1989 a, b) sugieren que una dieta adecuada para estadios larvarios de *P. monodon* (omnívoro) debe contener entre 48-52% de proteínas, de 24-33% de carbohidratos y de lípidos de 4.3%. Al comparar estos requerimientos de las larvas con lo que aportaron las dietas microalgales evaluadas, estas cubrieron parcialmente las necesidades nutricias ya que las proteínas y los carbohidratos se encontraron por debajo del nivel y solo los lípidos se encontraron en cantidades superiores a lo recomendado.

V. 2. 1. Ácidos grasos en los nauplios y las larvas de camarón blanco

Litopenaeus vannamei

En la composición de ácidos grasos de los nauplios prevalecieron los MUFAS (29.6%) seguido de SFAS (24.5%) y PUFAS (3.5%). Al comparar los resultados con D'Souza y Loneragan (1999) y D'Souza y Kelly (2000) con nauplio de *Penaeus* spp. y *P. semisulcatus* encontraron valores semejantes para los MUFAS (21.1%, 21%) seguido de SFAS (32.3%, 30%) y PUFAS (4.4%, 2.4%) pero fue mayor la concentración de HUFAS (34%, 32.1%).

Los resultados del perfil de ácidos grasos de las larvas, muestran ligeras variaciones entre los principales grupos. Las larvas alimentadas con la dieta 1 presentaron como principal componente a los SFAS, seguido de los MUFAS, HUFAS y en menor concentración PUFAS, que coincide con lo encontrado por D'Souza y Loneragan, (1999) en larvas de *Penaeus* spp., alimentadas con *Isochrysis* sp.

Las larvas alimentadas con la dieta 2 presentaron como grupo dominante los MUFAS seguido de SFAS y HUFAS. Al comparar con D'Souza y Loneragan (1999) que describen para larvas de *Penaeus* spp. alimentadas con *C. muelleri* se observa que los MUFAS presenta un valor similar, pero los porcentajes del resto de los grupos fueron superiores.

Las larvas alimentadas con la dieta 3 (mezcla) presentaron en mayor proporción SFAS seguido de HUFAS, MUFAS, y en bajo porcentaje PUFAS. Esto indica que la dieta 3 presentó una concentración y composición de ácidos grasos intermedia por el aporte combinado que ofrece una dieta bialgal (Rodríguez *et al.* 1994).

Al comparar la composición de los ácidos grasos de las microalgas y las larvas mysis de camarón blanco, se encontró que el perfil de los organismos alimentados presentaron valores superiores al perfil de las dietas, por lo menos de los MUFAS y HUFAS; lo cual evidencia que el organismo fue capaz de bioconvertir los ácidos grasos saturados y monoinsaturados, presentes mayoritariamente en la dieta microalgal (Apéndice 2). Lo anterior concuerda con otros reportes, como se ha descrito para larvas juveniles de *Litopenaeus vannamei* (Montaño y Navarro; 1996; Lim *et al.* 1997). De la misma forma, Teshima y colaboradores (1992) describieron que en estadios zoea, mysis y postlarva de *P. japonicus* alimentadas con C18:3w3 en la dieta, las larvas presentaron moderada conversión de este ácido a HUFAS.

V. 2. 2. Ácidos grasos esenciales en las larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*

La larvas en estadio mysis con mayor porcentaje de EPA-DHA fueron las larvas alimentadas con *C. muelleri* (11.2-10.9%) y en menor proporción en las larvas alimentadas con *I. galbana* (4.3-7.1%) y la mezcla (3.4-10.0%). Al comparar con Teshima *et al.* (1992) y Rodríguez *et al.* (1994) encontraron para larvas de *P. japonicus* que la relación de EPA-DHA fue de 1.8-2.5% y 7.4-2.5% respectivamente; similar a lo cuantificado en nuestra investigación. Debido a que no existe consistencia en los porcentajes de EPA-DHA en las larvas en las que se ha investigado el perfil de ácidos grasos, se puede inferir que el contenido de EFA (ácidos grasos esenciales) en el organismo, depende de la disponibilidad de estos en la dieta y del remanente de estos en el nauplio (Ward *et al.* 1979; Jones *et al.* 1997).

V. 3. Crecimiento y sobrevivencia de las larvas de camarón blanco de *Litopenaeus vannamei*.

El crecimiento promedio de las larvas de *Litopenaeus vannamei* en los estadios Zoea I al III se encontraron dentro del intervalo de tallas descrito para el desarrollo larvario (Treece y Yates, 1990); además es similar a lo descrito para otras especies de peneidos (Alfonso y Leal, 1985; Leal *et al.* 1985).

La sobrevivencia obtenida de las mysis se encontró en los intervalos adecuados (56-86%) si se compara con otras investigaciones como Alfonso y Leal (1985). En nuestra investigación no se obtuvieron diferencias entre los tratamientos, sin embargo D'Souza y Loneragan (1999) indicaron *C. muelleri* proporcionó notoria ventaja en la sobrevivencia con respecto de T-ISO y que algunas mezclas tuvieron resultados de alta sobrevivencia y un desarrollo más rápido de las larvas que las obtenidas con dietas monoalgales. Sin embargo, si consideramos que las condiciones de cultivo en esta investigación provocaron que *Isochrysis* produjera la suficiente cantidad de nutrientes tales como los ácidos grasos esenciales para las larvas de camarón, se explica la diferencia a lo reportado por estos autores. Asimismo, Phatarpekar *et al.* (2000) puntualizan en la importancia de las dietas mixtas de algas en los cultivos de camarón, indican que estas dietas presentaron mejores crecimientos que los monocultivos. En este sentido la dieta 3 presentó mayor constancia en los resultados obtenidos; de ahí la importancia de una dieta bialgal que proporciona un mayor espectro de componentes nutricios que una dieta monoalgal pueda carecer (Alfonso y Leal, 1985; Loya-Javellana, 1989; Brown *et al.* 1989; Rodríguez *et al.* 1994; D'Souza y Loneragan, 1999; Carrillo, 2000; Phatarpekar *et al.* (2000).

VI. CONCLUSIONES

1. La biomasa de las microalgas producidas a nivel masivo en el invernadero del Laboratorio comercial "Aremar" se encuentran en los intervalos aceptables para *Chaetoceros muelleri* pero sumamente variables para *Isochrysis galbana*.
2. El porcentaje de proteínas promedio fue más alto para *C. muelleri* (28.1%) que con *I. galbana* (17.0%); sin embargo, carbohidratos y lípidos fueron superiores en *I. galbana* (9.1 y 12.8%), que con *C. muelleri* (5.4 y 8.3%).
3. La composición de ácidos grasos para las dietas algales fueron mayoritariamente ácidos grasos saturados (SFAS) y en menor proporción los monoinsaturados (MUFAS), altamente insaturados (HUFAS) y poliinsaturados (PUFAS). El porcentaje de EFA (ácidos grasos esenciales) para *I. galbana* fue el DHA y para *C. muelleri* fue el EPA y la mezcla presentó ambos (DHA y EPA), por lo tanto las dietas algales cumplen con el mínimo recomendado que es 1.5% de ácidos grasos esenciales.
4. En la composición bioquímica de las larvas, el porcentaje de proteínas fue el componente mayoritario, con valores que oscilaron entre 67.3% y 70%, seguido de carbohidratos (26.7% y 30.7%) y en menor proporción los lípidos (1.9% a 3.3%), los nauplios presentaron mayor concentración de lípidos que las larvas.

5. Los perfiles de ácidos grasos en las larvas presentaron valores superiores a los perfiles de ácidos grasos de las dietas microalgales, por lo menos de los MUFAS y HUFAS, lo cual es un indicativo de que el organismo fue capaz de bioconvertir los ácidos grasos monoinsaturados.
6. Las larvas con mayor porcentaje de los ácidos grasos EPA-DHA fueron las larvas alimentadas con *C. muelleri* (11.2-10.9%) y en menor proporción las larvas alimentadas con *I. galbana* (4.3-7.1%) y la mezcla (3.4-10.0%).
7. Se puede inferir que el contenido de EFA (ácidos grasos esenciales) en el organismo, depende de la disponibilidad de estos en la dieta y del remanente en el nauplio.
8. Las microalgas analizadas se consideran adecuadas como dietas monoalgales y mezcla, con aceptables parámetros de sobrevivencia y crecimiento en las larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei*; aunque se observó que es más constante la composición proximal en las larvas alimentadas con la dieta Iso-Cha.

VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar los parámetros óptimos para la producción en los sistemas tipo invernadero, donde se obtenga menor variación de la biomasa de las microalgas producidas.
- Determinar las condiciones de temperatura, nutrientes e irradiancia particulares de cada sistema de producción, para una mayor constancia en los componentes bioquímicos de las especies de microalgas producidas.
- Evaluar las dietas microalgales y su efecto en las larvas, cuantificando la composición proximal en las larvas, para una mejor interpretación del efecto nutricional en el organismo.
- Evaluar en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei* la habilidad de bioconvertir los ácidos grasos saturados y monoinsaturados a HUFAS, tales como EPA (C20:5w3) y DHA (C22:6w3).
- Para los análisis proximales de las larvas se sugiere que en la colecta de las muestras éstas se separen previamente por estadios y se congelen para cada determinación: peso seco, proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos.
- Analizar la digestibilidad y el efecto de las mezclas de microalgas como dieta larvaria.

- Evaluar las dietas microalgales que aporten un mayor espectro de componentes nutricios, como los aminoácidos y ácidos grasos esenciales.
- Al evaluar la dieta microalgal se deben considerar como principales componentes bioquímicos el perfil y el porcentaje de las proteínas y el perfil y porcentaje de los lípidos, incluidos los ácidos grasos.
- Analizar dietas microalgales en donde se evalué el porcentaje del ácido graso linolénico que es el principal precursor de PUFAS.

VIII. LITERATURA CITADA

- Aguirre-Hinojosa, E.; M. López y M. C. Garza A. 1999. Cultivo larvario de camarones peneidos. *En: Cultivo de camarones peneidos*. R. Martínez-Cordoba (ed.). Editorial A.G.T. México. 283pp.
- Akiyama D. M. y W. G. Dominy. 1989. Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry. Texas Shrimp Farming Manual. Vol. 1: Growout Technology, Technical Report of the agricultural Extension Service and Texas A&M University Sea Grant College Program.
- Akiyama, D. M.; G. Warren y A. Lawrence. 1992. *Penaeid shrimp nutrition*. In: Marine Shrimp Culture: Principles and Practices. A. Fast y J. Lester (ed). Elsevier Science Publishers. 535-565p.
- Alonso E. y S. Leal. 1985. Ensayos sobre alimentación de protozoas de *Penaeus notialis* en el Laboratorio. Revista de Investigaciones Marinas. Vol. VI, No, 1. 79-86p.
- Alonso E.; L. Martínez; R. Gelabert y S. Leal. 1987. Alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti*. I. Diatomeas y Flagelados. Centro de Investigaciones Marinas. 47-57p.
- Alvarez-Torres, P.; F. Soto; S. Avilés; C. Díaz y L. Treviño. 1996. Panorama de la investigación y su repercusión sobre la producción acuícola en México. Memorias del III Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León. México.

- AOCS, 1993. Preparation of methyl esters of long-chain fatty acids. Fatty acids composition by gas chromatography. *En: Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Published by the Association of Official Analytical Chemists, Inc. E.U.A. Ed. Kenneth Hellich.
- Arredondo-Figueroa, J. L. 1990. Análisis del cultivo de camarón en México al termino de 1989. *En: La Acuicultura en México: De los Conceptos a la Producción*: Instituto de Biología. UNAM. México. 77-104p.
- Báez, M. C.; A. López-Elías; L Bringas y S. Galaviz M. 1999. Nutrición. *En: Cultivo de camarones peneidos*. R. Martínez-Cordoba (*ed.*). Editorial A.G.T. México. 283pp.
- Bligh, E. G. y W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37: 911-917p.
- Boeing, P. 1999. Larval feed alternatives. Marine Aquafauna. Inc. Internet: www.Aquafauna.com/larvalfeedalt.htm
- Brow, M. R.; S. W. Jeffrey y C. D. Garland. 1989. Nutritional Aspects of Microalgae used in Maricultura; a Literature Review. Csiro Marine Laboratories. Report 205. Australia. 1-44p.
- Carrillo, S. A. 2000. Evaluación del potencial nutricional se *Nannochloropsis oculata* en mezclas microalgales para larvas de camarón azul, *Litopenaeus stylirostris* Stimpson. Tesis de Maestría. CICTUS, Universidad de Sonora, México. 101pp.
- Chen, Houn-Yung. 1993. Recent advances in nutrition of *Penaeus monodon*. Journal Aquaculture Society. Vol. 24, No. 2. 231-239p.

- Coutteau, P. y P. Sorgeloos. 1992. The use of algae substitutes and the requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve mollusks: and international survey. *J. Shellfish Res.*, 2:467-476p.
- Coutteau P. y G. Mourente. 1997. Lipid classes and their content of n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Marine Biology*. 130: 81-91p.
- Cruz-Suárez, L. E. 1988. Alimentación de larvas de peneidos con micropartículas. *En: Seminario Nacional de Cultivo larvario de Camarón Peneido. Memorias*. San Blas, Nayarit.
- De La Lanza, G. y Arredondo-Figueroa, J. L. 1990. La Acuicultura en México: De los Conceptos a la Producción. Instituto de Biología. UNAM. México. 256pp.
- D'Sousa F. M. y N. R. Loneragan. 1999. Effects of monospecific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of penaeid prawn (*Penaeus* spp.) larvae. *Marine Biology*. 133: 621-633p.
- D'Sousa F. M. y G. J. Kelly. 2000. Effects of a diets of a nitrogen-limited alga (*Tetraselmis suecica*) on growth, survival and biochemical composition of tiger prawn (*Penaeus semisulcatus*) larvae. *Aquaculture*. 181: 311-329p.
- Dubois, M.; K. A. Guilles, J. K. Hamilton; P. A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*. 28: 350-356p.
- Dustan G. A.; J. K. Volkman; S. M. Barrett y C. D. Garland. 1993. Changes in the lipid composition and maximization of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grow in mass culture. *Journal of Applied Phycology* 5: 71-83p.

- Encinas A., A. R. y García V.; A. C. 1992. Composición bioquímica de dos especies de microalgas, durante invierno y primavera en un sistema de producción de larvas de ostión. Tesis de Licenciatura. Universidad de Sonora. Escuela de Ciencias Químico-Biológicas. 83pp.
- Eppley, R.W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin*, 70 (4): 1063-1085.
- Flores-Tom, A. 1988. Aspectos generales de la producción larvaria de camarón. *En: Seminario Nacional de Cultivo larvario de Camarón Peneido. Memorias*. San Blas, Nayarit.
- Flores-Tom A. y E. A. Garmendia. 1991. *Marine shrimp Aquaculture in Mexico: current status*. *In: Shrimp Culture in North America and the Caribbean*. (ed.): P.A. Sandifer. Vol. 4: 70-82p.
- García, M. 1994. Influencia de la temperatura en el desarrollo larvario del camarón café. Tesis Profesional. U.A.B.C.S. México. 82pp.
- González, M. O. Parra y A. Cifuentes. 1995. Técnicas de cultivo de microalgas en laboratorio. *En: Manual de Métodos Ficológicos*. K. Alveal, E. Ferrario, E. Oliveira y E. Sar (eds.). Universidad de Concepción. Chile. 219-250p.
- Hendey, I. N. 1964. An Introductory Account of the smaller algae of British Coastal Waters. Part V: Bacillariophyceae (Diatoms). Series IV. 1-196p.
- Hendrickx, M. E. 1995. Camarones. *En: Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental*. Vol. 1. Plantas e Invertebrados. 418-537p.

- Huerta Aldaz, N. 1997. Concentración bacteriana del género *Vibrio* y *Pseudomonas* en cultivos de microalgas en un centro de producción acuícola del estado de Sonora. Tesis de Licenciatura no publicada. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. 88 pp.
- Instituto de Acuicultura del Estado de Sonora. 2001. Directorio Estatal de Acuicultores. México. 42 pp.
- Jones, A., A. Yule y D. Holland. 1997. Larval nutrition. *In*: Crustacean nutrition. D'Ambrano, R. L. ; D. Conklin y D. Akiyama (eds.). World Aquaculture Society. Vol. 6. 353-389p.
- Kanazawa, A. 1984. Nutrition of Penaeid Prawns and Shrimps. Firths International Conference on the Culture of Penaid Prawns/Shrimp. Aquaculture Department. Philippines. 1-8p.
- Kurmaly, K.; A. B. Yule y D.A. Jones. 1989a. An energy budget for the larvae of *Penaeus monodon* (Fabricius). *Aquaculture*. 81: 13-25p.
- Kurmaly, K.; D.A. Jones; A. B. Yule y J. East. 1989b. Comparative analysis of the growth and survival of *Penaeus monodon* (Fabricius) larvae from protozoa I to postlarva I, on live feeds, artificial diets and on combinations of both. *Aquaculture*. 81: 27-45p.
- Leal, S.; E. Alonso E. y A. Gainza. 1985. Recomendaciones sobre la alimentación de larvas de camarones *Penaeus notialis* y *P. schmitti* en cultivo. *Revista de Investigaciones Marinas*. Vol. VI, No. 1. 79-86p.
- Lee, R. E. 1980. *Phycology*. Cambridge University Press. E.U.A. 478pp.

- Lim, C.; H. Ako; C. L. Brown y K. Hahn. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture* Vol. 151 (1-4). 143-153p.
- López-Elías, J. A.; M. C. Baéz-Dueñas y N. Huerta-Aldaz. 1993. Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas. Dpto. DICTUS. Universidad de Sonora., FOMES 92-27-01. 93pp.
- López-Elías, J. A.; A. Encinas; A. Valenzuela; J. Valdés y F. Hoyos. 1999. Producción anual de *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros muelleri* Lemmerman en un centro acuícola en Bahía Kino, Sonora. *Oceánides*. 13 (2), 14(1): 59-65p.
- Lowry, O. H.; J. Rosebrough; A. L. Far and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275p.
- Loya-Javellana, G. 1989. Ingestion saturation and growth responses of *Penaeus monodon* larvae to food density. *Aquaculture*, 81 329-336p.
- Malara, G. y R. Charra. 1972a. Dosage des protéines particulières selon la méthode de Lowry. Université de Paris. Station Zoologique. Villefranche-Sur-Mer. Notes de travail, No. 5, 7pp.
- Malara, G. y R. Charra. 1972b. Dosage des glucides particulières de phytoplancton selon la méthode de Dubois. Université de Paris. Station Zoologique. Villefranche-Sur-Mer. Notes de travail, No. 6, 12pp.
- Martínez-Córdoba, L. R. 1999. Cultivo de camarones Peneidos. Ed. AGT. CICTUS-UNISON. México. 283pp.

- Montaño, M. y J.C. Navarro. 1996. Fatty acids of wild and cultured *Penaeus vannamei* larvae from Ecuador. *Aquaculture* Vol. 142 (3-4). 259-268p.
- Napolitano G.; R. Ackman y W. M. Ratnayake. 1990. Fatty acid composition of three cultured algal species (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* and *Chaetoceros calcitrans*) used as food for Bivalve larvae. *Journal of World Aquaculture Society*. 21(2): 122-129p.
- Nelson, J.R.; S. Guarda; I. E. Cowell y P. B. Heffernan. 1992. Evaluation of microalgal clones for mass culture in a subtropical greenhouse bivalve hatchery: Growth rates and biochemical composition at 30 degree C. *Aquaculture*. Vol. 106, no. 3-4, 357-377p.
- Nieves M. S.; P. Piña; D. Voltolina L.; B. Cordero y J. A. López-Elías. 2000 a. Evaluación de los sistemas de producción de microalgas en Laboratorios Comerciales de Larvas de Camarón: Informe Técnico Anual. SIMAC 980106076. Universidad Autónoma de Sinaloa. Generación Cincuenta S. A. de C.V. 22pp.
- Nieves M. S.; P. Piña; D. Voltolina L.; B. Cordero y J. A. López-Elías. 2000 b. Evaluación de los sistemas de producción de microalgas en Laboratorios Comerciales de Larvas de Camarón: Informe Técnico Anual. SIMAC 980106076. Universidad Autónoma de Sinaloa. Maricultura del Pacífico S. A. de C.V. 43pp.
- Orbe, A. y A. Arias. 1987. Métodos de Cultivo del Camarón en México. SEPESCA. México. 26pp.
- Pande, S. V.; R. P. Khan y T. A. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analyt. Biochem.* 6: 415-423p.

- Paniagua, M.; F. Buckle, C. Granados y D. Loya. 1986. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. CICESE. México. 94pp.
- Phatarpekar P. V.; R. A. Screepada; P. Chhaya y C. Achuthankutty. 2000. A comparative study on grow performance and biochemical composition of mixed culture of *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros calcitrans* with monocultures. *Aquaculture*. 181: 141-155p.
- Ramos, A. y M. Salazar. 1990. Uso potencial de los cultivos masivos de microalgas. *En: La Acuicultura en México: De los Conceptos a la Producción: Instituto de Biología. UNAM. México. 274-288p.*
- Renaud, S. M., D. L. Parry, Luong-Van, Thinh, C. Kuo, A. Padovan y N. Sammy. 1991. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. *Nannochloopsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied Phycology*. 3: 43-53p.
- Rodríguez, A. L. Vay; G. Mourente y D. Jones. 1994. Biochemical composition and digestive enzymes activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Marine Biology*. 118: 45-51p.
- R. P. I. 1989. Penaeid: Technical Short Course. *CET: Centro de Estudios Tecnológicos del Mar. La Paz, México. Abril de 1989. Cap. A-P.*
- Saoudi-Helis, L.; J. P. Dubacq; Y. Marty; J. F. Samain y C. Gudin. 1994. Influence of growth rate on pigment and lipid composition of the microalga *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-iso. *Journal of Applied Phycology*. 6: 315-322p
- Sánchez, M. R. 1986. Efecto nutricional relativo de cuatro especies de algas como alimento de la larva de *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*. 58:139-144p.

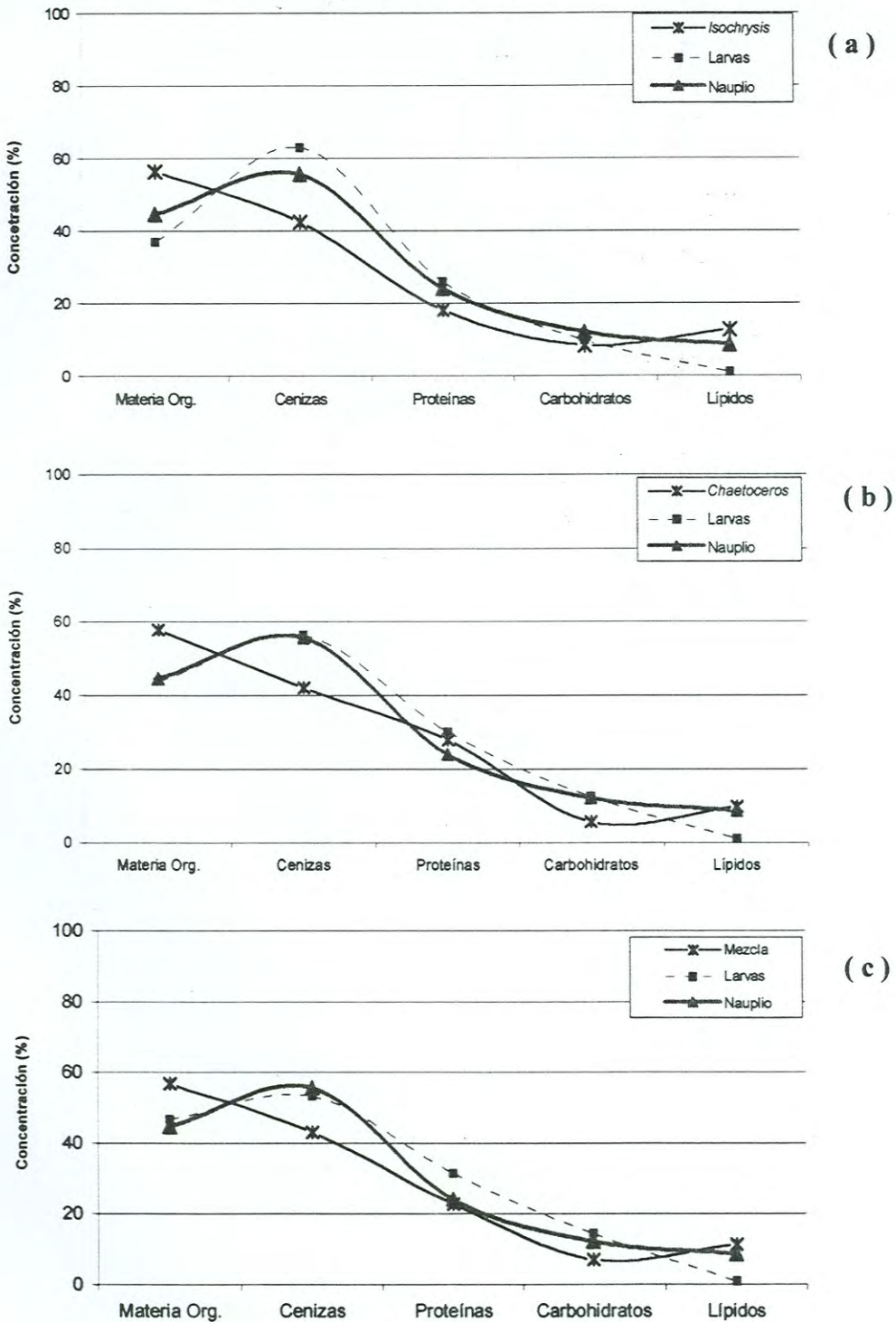
- SEMARNAP. 1998. Anuario Estadístico de Pesca 1997. México, D.F. 241pp.
- Sukenik A. y R. Wahnou, 1990. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition *Isochrysis galbana*. *Aquaculture* Vol. 97 (1). 61-72p.
- Sukenik A.; R. S. Levy; Y. Levy; P. G. Falkowski y Z. Dubinsky. 1991. Optimizing algal biomass production in an outdoor pond: simulation model. *Journal of Applied Phycology*. 3: 191-20p.
- Tacon, A. G. 1989. nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. FAO-Italia. 572pp.
- Teshima S.; A. Kanazawa y S. Koshio. 1992. Ability for bioconversion of n-3 fatty acids in fish and crustaceans. *Océanis*. 18: 67-75p.
- Treece, G. y M. Yates. 1990. Laboratory manual for the culture of Penaeid Shrimp larvae. Marine Advisory Service Sea Grant College Program Texas A&M University. 95pp.
- Trujillo V. y D. Voltolina. 1994. Cultivos de microalgas para la acuicultura. *En: Tópicos Selectos sobre Microalgas*. D. A. Siqueiros - Beltrones; D. Voltolina y A. Jaramillo (eds.). *Serie Científica*. Universidad Autónoma de Baja California Sur. México. 2(1): 73-85p.
- Vonshak, A. 1986. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. *En: Handbook of microalgal mass culture*. A. Richmond (ed.). C.R.C. Press. E.U.A. 117-146p.

- Ward D. G.; B. Middleditch; S. Missler y A. Lawrence. 1979. Fatty acid changes during larval development. *Proc. World Maricul. Soc.* 10: 464-471p.
- Wyban, J. y J. Sweeney. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. The Oceanic Institute Shrimp Manual. Hawaii. 158pp.
- Zar, J. 1984. Biostatistical Analysis. Prentice-Hall, Inc. E.U.A. 718pp.

IX. APÉNDICES

APÉNDICE 1.

Figura 25. Valores promedio de la biomasa y composición bioquímica de las dietas microalgales, nauplio y larvas de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (a) Dieta 1: *I. galbana*. (b) Dieta 2: *C. muelleri* y (c) Dieta 3: Iso-Cha.



APÉNDICE 2.

Figura 26. Valores promedio del perfil de ácidos grasos de las dietas microalgales, nauplio y larvas de camarón blanco *L. vannamei* (a) D1: dieta *I. galbana*. (b) D2: dieta *C. muelleri* y (c) D3: dieta Iso-Cha.

