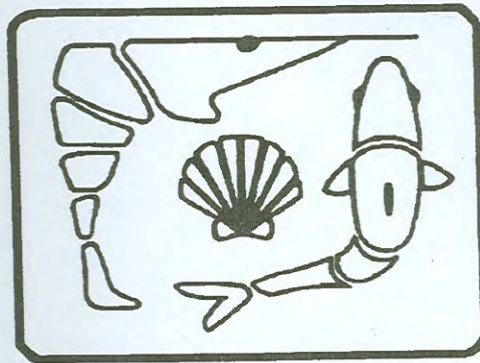




EL SABER DE MIS HIJOS  
HARÁ MI GRANDEZA

**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 la microalga *Nannochloropsis oculata* y en mezclas con *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* sobre el desarrollo larvario de zoeas del 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:**

**JOSÉ FRANCISCO CONSTANTINO FRANCO**

# 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.	vii
I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.	1
I.1. Características de las microalgas.	5
II.- OBJETIVOS.	7
II.1.- Objetivo general.	7
II.2.- Objetivos particulares.	7
III.- MATERIALES Y MÉTODOS.	8
III.1.- Primer experimento.	8
III.2.- Segundo experimento.	10
III.3.- Cultivo de microalgas.	11
III.4.- Determinaciones bioquímicas.	12
III.5.- Análisis de datos.	13
IV.- RESULTADOS.	14
IV.1.- Análisis bioquímicos	14
IV.1.1.- Composición proximal de las microalgas	14
IV.1.2.- Composición de ácidos grasos de las microalgas.	20
IV.1.3.- Composición proximal de las larvas del primer experimento.	22
IV.1.4.- Composición de ácidos grasos de las larvas del primer experimento.	27

IV.1.5.- Composición proximal de larvas para el segundo experimento.	30
IV.1.6.- Composición de ácidos grasos de las larvas del segundo experimento.	35
IV. 2.- Supervivencia.	37
IV.2.1.- Supervivencia de las larvas zoeas en el primer experimento.	37
IV.2.2.- Supervivencia de las larvas zoeas en el segundo experimento.	38
IV.3.- Longitud de las larvas.	39
IV.3.1.- Longitud de las larvas zoeas en el primer experimento.	39
IV.3.2.- Longitud de las larvas zoeas para el segundo experimento.	42
IV.4.- Desarrollo larvario.	45
IV.4.1.- Desarrollo de las larvas zoeas en el primer experimento.	45
IV.4.2.- Desarrollo de las larvas zoeas en el segundo experimento.	46
V.- DISCUSIONES.	47
VI.- CONCLUSIONES.	54
VII.- RECOMENDACIONES.	55
VIII.- LITERATURA CITADA.	56

## RESUMEN

Se realizó un análisis del efecto nutricional de las microalgas *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri* sobre el crecimiento, sobrevivencia y desarrollo larval desde nauplios hasta larvas zoeas del camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. Para este planteamiento se probaron las microalgas como dietas mono-específicas con la microalga *N. oculata*, como una especie potencialmente nutricional y en combinación con las otras microalgas. Se realizó un control con las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri*. Previamente a la alimentación de las larvas se analizó la composición bioquímica de cada especie microalgal, así como de los nauplios; al final de experimento se determinó la composición proximal y perfil de ácidos grasos en las larvas de cada tratamiento. Los resultados de los análisis proximales de las microalgas indicaron valores de materia orgánica y cenizas muy similares en *I. galbana* (0.83 y 0.106 g l<sup>-1</sup>) y *C. muelleri* (0.75 y 0.133 g l<sup>-1</sup>), pero no así con la especie de *N. oculata* que presentó menor cantidad de cenizas (0.59 g l<sup>-1</sup>) y una mayor concentración de materia orgánica (0.252 g l<sup>-1</sup>). De igual modo la concentración de las proteínas, carbohidratos y lípidos fueron más altos en la microalga *N. oculata* (0.113g l<sup>-1</sup>, 0.032g l<sup>-1</sup>, 0.038g l<sup>-1</sup>) que en *I. galbana* (0.054g l<sup>-1</sup>, 0.010g l<sup>-1</sup>, 0.017g l<sup>-1</sup>) y *C. muelleri* (0.078g l<sup>-1</sup>, 0.011g l<sup>-1</sup>, 0.020g l<sup>-1</sup>) respectivamente. Se encontraron en las microalgas ácidos grasos saturados con valores que oscilaron entre 26.1 a 39.8 mg/100 mg, monoinsaturados (21.1 a 51.2 mg/100 mg), poliinsaturados (5.6 a 13.0 mg/100 mg) y altamente insaturados (4.1 a 8.6 mg/100 mg). Los resultados indicaron que las larvas con la dieta monoalgal de *N. oculata* presentaron una menor respuesta zootécnica, comparado con las otras dos dietas monoalgales. Sin embargo se establece que una combinación de *N. oculata* y *Chaetoceros muelleri* es capaz de sustentar un buen desarrollo larvario comparable al uso de la dieta control, que es utilizada para la producción comercial. La mejor combinación de microalgas fue con *N. oculata* y *Chaetoceros muelleri* a densidades de 225, 000 y 75 000 cel ml<sup>-1</sup>, respectivamente, donde se encontró mayor crecimiento y desarrollo larvario en seis días, comparado con siete que fue para las otras mezclas.

## ABSTRACT

In order to analyze the effect on the growth, larval development, and survival, from nauplii to the zoea larvae of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*, we realized a monoespecific schedule feeding regimen with the microalgae species of *Nannochloropsis oculata*, as potentially high nutritional species, and in combination with *Isochrysis galbana* and *Chaetoceros muelleri*. A treatment control was with *I. galbana* and *C. muelleri*. Previously to feeding the larvae, there were analyzed the biochemical composition of each species of microalgae and posterior to feeding, also the larvae were analyzed on their proximate determination, and fatty acid profiles. The results of proximate analysis in the microalgae, in ash content and organic matter, were similar between the microalgae *I. galbana* (0.83 and 0.106 g l<sup>-1</sup>) and *C. muelleri* (0.75 and 0.133 g l<sup>-1</sup>), but *N. oculata* demonstrated the lower values in ash content (0.59 g l<sup>-1</sup>) and a high matter organic concentration (0.252 g l<sup>-1</sup>). In the same way, proteins, sugars and lipids were highest in *N. oculata* (0.113g l<sup>-1</sup>, 0.032g l<sup>-1</sup>, 0.038g l<sup>-1</sup>) than *I. galbana* (0.054g l<sup>-1</sup>, 0.010g l<sup>-1</sup>, 0.017g l<sup>-1</sup>) and *C. muelleri* (0.078g l<sup>-1</sup>, 0.011g l<sup>-1</sup>, 0.020g l<sup>-1</sup>) respectively. In the microalgae the values of the saturated fatty acids ranged from 26.1 to 39.8 mg/100 mg. The monounsaturated fatty acid ranged 21.1 to 51.2 mg/100 mg; the poliunsaturated were 5.6 to 13.0 mg/100 mg; and the highly unsaturated were: 4.1 to 8.6 mg/100 mg). The feeding shrimp larvae on *N. oculata* exhibited a lower response on the survival, growth and development, comparatively with the other monoalgal schedule feeding regimen. However, it is established that a combination of *N. oculata* and *Chaetoceros muelleri* are able to support a good larval development, comparatively with the commercial schedule feed. The best microalgae combination was feeding with *N. oculata* y *Chaetoceros muelleri* at densities of 225, 000 and 75 000 cel ml<sup>-1</sup>, respectively. It is due to the best larval growth was attained in six days comparing to seven in the other mixes.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

- |   |  |    |
|---|--|----|
| 1 | Concentración promedio de cenizas ( $\text{g l}^{-1}$ con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).   | 15 |
| 2 | Concentración promedio de materia orgánica ( $\text{g l}^{-1}$ con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).  | 16 |
| 3 | Concentración promedio de proteína ( $\text{g l}^{-1}$ con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).  | 17 |
| 4 | Concentración promedio de carbohidratos ( $\text{g l}^{-1}$ con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).   | 18 |
| 5 | Concentración promedio de lípidos ( $\text{mg l}^{-1}$ con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).  | 19 |
| 6 | Concentración promedio de cenizas ( $\text{g larva}^{-1}$ con base en el peso seco) en las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: <i>Chaetoceros muelleri</i> e <i>Isochrysis galbana</i> ; T2: <i>Nannochloropsis oculata</i> ; T3: <i>Nannochloropsis oculata</i> y <i>Chaetoceros muelleri</i> ; T4: <i>Nannochloropsis oculata</i> e <i>Isochrysis galbana</i> .        | 22 |
| 7 | Concentración promedio de materia orgánica ( $\text{g larva}^{-1}$ con base en el peso seco) en las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: <i>Chaetoceros muelleri</i> e <i>sochrysis galbana</i> ; T2: <i>Nannochloropsis oculata</i> ; T3: <i>Nannochloropsis oculata</i> y <i>haetoceros muelleri</i> ; T4: <i>Nannochloropsis oculata</i> e <i>Isochrysis galbana</i> . | 23 |
| 8 | Concentración promedio de proteína ( $\text{g larva}^{-1}$ con base en el peso seco) en las larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba <i>a posteriori</i> de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: <i>Chaetoceros muelleri</i> e <i>Isochrysis galbana</i> ; T2: <i>Nannochloropsis oculata</i> ; T3: <i>Nannochloropsis oculata</i> y <i>Chaetoceros muelleri</i> ; T4: <i>Nannochloropsis oculata</i> e <i>Isochrysis galbana</i> .       | 24 |

- 9 Concentración promedio de carbohidratos (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*. 25
- 10 Concentración promedio de lípidos (mg larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*. 26
- 11 Concentración promedio de cenizas (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml. 30
- 12 Concentración promedio de materia orgánica (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml. 31
- 13 Concentración promedio de proteína (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml. 32



- 14 Concentración promedio de carbohidratos (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml. 33
- 15 Concentración promedio de lípidos (mg larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml. 34
- 16 Supervivencia promedio final de larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei* con las cuatro dietas de microalgas utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*. 37
- 17 Supervivencia final de larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei* con las cinco dietas de microalgas utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; 75-150 x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300 x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375 x10<sup>3</sup> cel/ml. 38
- 18 Longitud promedio (mm) de las larvas Zoeas I de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*. 39
- 19 Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas II de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*. 40

- 20 Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas III de *Litopenaeus vannamei* 41  
utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias  
significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas  
(LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T3: *Nannochloropsis*  
*oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis*  
*galbana*.
- 21 Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas I de *Litopenaeus vannamei* 42  
utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias  
significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas  
(LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros*  
*muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri*  
y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y  
*Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.
- 22 Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas II de *Litopenaeus vannamei* 43  
utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias  
significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas  
(LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros*  
*muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri*  
y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y  
*Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.
- 23 Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas III de *Litopenaeus vannamei* 44  
utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias  
significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas  
(LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros*  
*muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri*  
y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y  
*Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.
- 24 Desarrollo de las larvas Zoeas a Mysis I de *Litopenaeus vannamei* en el primer 45  
experimento. T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*;  
T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros*  
*muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.
- 25 Desarrollo de las larvas Zoeas a Mysis I de *Litopenaeus vannamei* en el segundo 46  
experimento. T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros*  
*muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri*  
y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y  
*Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.46

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		
I	Densidad de microalgas para cada tratamiento y estadio larval en el primer experimento.	9
II	Densidad de microalgas para cada tratamiento y estadio larval en el segundo experimento.	11
III	Medio f/2 de Guillard modificado para la producción de microalgas utilizado en la Unidad Experimental de Puerto Peñasco (Báez <i>et al</i> , 1993). Las cantidades son agregadas a un litro de agua destilada.	11
IV	Volumen recomendado para el filtrado de microalgas (ml) para el análisis proximal y bioquímico para cada especie de microalga. Tomado de López-Elías, <i>et al</i> (1993).	12
V	Concentración promedio con base en peso seco ( $\pm$ desviación estándar) de los análisis proximales en las microalgas.	14
VI	Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en las microalgas.	21
VII	Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en nauplios y larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> de los diferentes tratamientos del primer experimento.	29
VIII	Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en nauplios y larvas de <i>Litopenaeus vannamei</i> de los diferentes tratamientos del segundo experimento.	35

## **I.- INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.**

Debido a que la captura de camarón ha llegado a su rendimiento máximo sostenible, es necesario promover el incremento de la producción mediante la acuicultura, y es preciso eficientizar las técnicas de cultivo para satisfacer la demanda de estas especies (Arredondo, 1990). A pesar de que la acuicultura se inició aproximadamente hace cinco siglos, el desarrollo del cultivo de camarón se promovió hasta finales de los años 30, cuando se completó un ciclo larvario de *Litopenaeus japonicus*. A partir de ese momento se han desarrollado experimentos y mejores técnicas de cultivo (Chiu-Liao y Lang-Huang, 1982).

En la actualidad el incremento de las granjas de engorda de camarón ha ido en aumento, lo cual hace necesario eficientizar las técnicas de cultivo principalmente en el área de obtención de postlarvas ya que éstas son las primeras limitantes de estos sistemas (Jory, 1996a). Una de las principales fuentes de obtención de postlarvas es la producción en laboratorio que día con día incrementa su importancia para el mercado. Actualmente numerosos países entre los que destacan Japón, Estados Unidos, Francia, Filipinas, Panamá, Ecuador, Taiwan y México producen a nivel comercial postlarvas bajo condiciones controladas. Sin embargo, para poder producir postlarvas de calidad en los laboratorios de incubación es necesario vigilar el desarrollo de los cultivos; particularmente en lo que se refiere a la satisfacción de las demandas nutricionales ya que el suministro es muy variable (Jory, 1996 b, Jory, 1996 c).

No obstante de que se han obtenido grandes avances en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de los camarones peneidos, y se cuenta en la actualidad con un número muy importante de productos artificiales, que son sugeridos para utilizarse como dietas únicas o complementos para la alimentación de las larvas, los alimentos vivos siguen siendo los principales insumos utilizados en los cultivos larvarios (Boeing, 1999)<sup>1</sup>.

Trujillo y Voltolina (1994) mencionan que las microalgas constituyen el punto biológico inicial del flujo energético a través de las cadenas tróficas, por lo que han sido investigadas como alimento principalmente para la producción de larvas y juveniles de organismos marinos.

---

<sup>1</sup> Boeing, Phil. 1999. Larval Feed Alternatives. Citado en [www.aquafauna.com](http://www.aquafauna.com)

En el desarrollo larvario y principalmente durante la etapa zoea, cuando los camarones peneidos poseen hábitos alimenticios predominantemente herbívoros, ya que han dejado de nutrirse del vitelo del huevo, la alimentación con diferentes especies de microalgas es la principal fuente de nutrición (Jory, 1996a) para satisfacer entre otras cosas la demanda de proteínas, carbohidratos y lípidos. Estos últimos particularmente contienen los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA Poli Unsaturated Fatty Acids por sus siglas en inglés), que son esenciales para el desarrollo de las larvas (Brown *et al.*, 1989; Tacon, 1989).

Colvin y Brand, (1977) recomiendan para *Penaeus vannamei* un 25-40 % de proteína para un tamaño de clase de 0.032-0.05 g ya que las proteínas son los principales materiales orgánicos para los crustáceos como fuente de energía, para el crecimiento y para la reparación de tejidos, por lo que es indispensable adicionarlos en el porcentaje adecuado (Akiyama *et al.*, 1993). Cuando una cantidad de proteína está disponible, las proteínas pueden ser metabolizadas y utilizadas para construir estructuras para el crecimiento.

Los carbohidratos son la forma energética más barata de energía dietética para los organismos, pero su utilización y metabolismo por el camarón es limitada. Sin embargo, en ausencia de carbohidratos o lípidos adecuados, el camarón puede utilizar a las proteínas para cubrir sus necesidades energéticas. Los carbohidratos también pueden servir como precursores de varios metabolitos intermediarios, necesarios para el crecimiento (Tacon, 1989; Akiyama, *et al.*, 1993).

Los lípidos son compuestos alimenticios importantes en la nutrición de los crustáceos, ya que son una fuente concentrada y altamente digerible de energía y son una fuente de ácidos grasos esenciales, necesarios para el crecimiento y sobrevivencia de todos los organismos (Tacon, 1989; Akiyama *et al.*, 1993).

Dentro de los ácidos grasos poliinsaturados, los ácidos grasos de las series de los linolénicos (n-3) y linoléicos (n-6) son esenciales en el desarrollo de los camarones. Sin embargo los ácidos grasos eicosapentanoico, EPA (Eicosapentanoic Acid por sus siglas en inglés 20:5n-3) y el docosahexaenoico, DHA (Docosahexaenoic Acid por sus siglas en inglés 22:6n-3) son los de mayor importancia dentro de los linolénicos (Renaud *et al.*, 1991; Akiyama, *et al.*, 1993).

Los EPA son esenciales en el desarrollo de larvas de peces y crustáceos ya que son parte estructural de las membranas celulares (Watanabe, *et al.* 1978). Además son precursores de algunas prostaglandinas y otros compuestos biológicos que regulan el crecimiento y funciones reproductivas (Stanley, 1987; Akiyama *et al.*, 1993; De Petrocellis, 1994)

De Pauw *et al.* (1984) y Kuban *et al.*, (1985) mencionan que algunos ácidos grasos poliinsaturados, sintetizados por las algas, como los linolénicos y linoléicos son esenciales para el crecimiento y desarrollo de larvas de peces marinos, camarones y moluscos.

Existen más de 40 especies de microalgas que se cultivan en diferentes partes del mundo para la alimentación de una variedad de organismos marinos de cultivo larvario. Entre estas destacan *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* spp., *Tetraselmis* spp., *Chaetoceros* spp., *Isochrysis* spp., *Dunaliella* spp., *Chlamydomonas* spp., *Chlorella* spp. y *Nannochloropsis* spp. Dichas microalgas han sido seleccionadas debido a su efectividad como alimento y por su valor nutricional para especies de interés comercial (De Pauw y Persoone, 1988). Brown *et al.*, (1989) sugieren que hay que tomar en consideración diversas características de las microalgas para poder explicar el éxito de una dieta con ellas. En primer lugar, no ser tóxicas, deben tener un tamaño adecuado para poder ser ingeridas, tener una pared celular digerible y además contener todos los constituyentes bioquímicos esenciales.

Las microalgas más utilizadas en los laboratorios de producción de postlarvas de camarón son algunas especies de los géneros *Chaetoceros*, *Isochrysis* y *Tetraselmis*. (Trujillo y Voltolina, 1994). No obstante, la diversidad de las especies de microalgas de diferentes tamaños y composición bioquímica, ofrece la oportunidad de investigar la utilidad de algunas de ellas para mejorar las condiciones nutricionales de los cultivos larvarios (Leger y Sorgelos, 1992). Mayormente si satisfacen los requerimientos cualitativos y cuantitativos para lograr el desarrollo y la supervivencia de la especie a alimentar, bajo los niveles necesarios que aseguren el éxito de las operaciones comerciales.

Entre algunas otras especies, cuyo uso no es muy difundido en la acuicultura, la microalga eustigmatofita, *Nannochloropsis oculata*, contiene relativamente grandes cantidades de lípidos (Sukenic, *et al.* 1993). Tiene el tamaño adecuado para ser ingerida en los estadios tempranos de larvas de penaeidos y sus lípidos son ricos en ácidos grasos poliinsaturados, principalmente el eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3). Lim *et al.*, (1997) encontraron que los

ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA son promotores del crecimiento en juveniles de *Penaeus vannamei*. D'Souza y Loneragan (1999) consideran que el DHA para las etapas de nauplio es necesario para promover el desarrollo de las larvas de *Penaeus monodon*. También mencionan que las dietas de microalgas pueden proveer los nutrientes necesarios para un buen desarrollo larvario al aportar los ácidos grasos necesarios para un mayor crecimiento y sobrevivencia.

En algunos trabajos se ha demostrado que *Nannochloropsis oculata* es asimilada por algunos organismos como los rotíferos, *Brachionus plicatilis*, los cuales al ser posteriormente administrados a larvas de peces, crustáceos y moluscos, les transfieren los ácidos grasos poliinsaturados que han obtenido en su alimentación (James y Abu-Rezeq, 1988; Renaud *et al.*, 1991, Tamaru *et al.*, 1993; Ruedas-Jasso, 1996). No obstante, debido a que los organismos acuáticos no tienen la capacidad metabólica para sintetizar *de novo* ácidos grasos de la serie de los HUFA (High Unsaturated Fatty Acid, por sus siglas en inglés), estos deben de ser incorporados en forma ya elaborada en la dieta (Tacon, 1989).

Sukenik *et al.*, (1993), mencionan que *Nannochloropsis* presenta variaciones en la cantidad y calidad de ácidos grasos esenciales, dependiendo de los niveles de exposición a la luz. Al respecto Renaud *et al.*, (1991) consideran que disminuyendo la cantidad de luz se produce una mayor concentración de ácidos grasos del grupo eicosapentanoicos y solo trazas de docosahexaenoico.

En el DICTUS se ha desarrollado recientemente una línea de investigación relativa al uso de *Nannochloropsis oculata* en el cultivo larvario de camarones peneidos. Se ha demostrado que ofrecida en mezclas con otras especies de microalgas, no produce diferencias significativas en el crecimiento y sobrevivencia en el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei*, si se comparan con los valores obtenidos cuando se utilizan las microalgas tradicionales (Carrillo-Sanchez, 2000). Sin embargo la rica composición bioquímica de *N. oculata* ofrece la posibilidad de investigar mas finamente su posible aporte nutricional en el cultivo larvario de camarones peneidos en general. Particularmente para *L. vannamei*, ya que es una especie plenamente adaptada a los sistemas de producción masiva que podría resultar una buena alternativa importante para el desarrollo de la camaronicultura.

En este escrito se informan los resultados obtenidos de un trabajo de investigación desarrollado para analizar la utilidad de *Nannochloropsis oculata* en el cultivo larvario de *L. vannamei*, que se obtuvieron mediante la ejecución experimental con dicha microalga en conjunto con las de uso tradicional en la camaronicultura: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*, y ofrecidas en mezclas y como dietas mono-específicas como una alternativa para la alimentación de larvas zoeas del camaron blanco, *Litopenaeus vannamei*.

### **I.1. Características de las microalgas.**

#### *Nannochloropsis oculata.*

Pertence a la eustigmatofitas, esta especie llega a medir de 1.8 a 2 micras, presenta poco movimiento en la columna de agua, se reproduce lentamente al comienzo del cultivo pero al llegar a la fase logarítmica de crecimiento llega hasta los 100 millones de células por mililitro. Contiene relativamente grandes cantidades de lípidos (Sukenik *et al.*, 1993). En la fase estacionaria acumula lípidos y ácidos grasos poliinsaturados, sobre todo EPA.

#### *Chaetoceros muelleri.*

Se encuentra ubicada en la clase Bacillariophyta a la que pertenecen todas las diatomeas. Son células unicelulares constituidas de valvas de silicio, presentan un tamaño de 4 a 9 micras. Forman cadenas mediante setas que sobresalen de las valvas. Las valvas son elípticas, aplanadas formando cajas débilmente cóncavas o convexas. Contiene grandes cantidades de ácidos grasos monoinsaturados como el ácido mirístico C14:0 y los palmitoléicos 16:2w7, 16:3w4, 16:4w1. Los ácidos grasos como el eicosapentanoico 20:5w3 y el docosahexaenoico 22:6w3 se presentan también pero en menor proporción que *Nannochloropsis* e *Isochrysis*.



*Isochrysis galbana.*

Pertenece al orden de las algas Primmnesioficeas; son células de forma redonda con dos flagelos móviles, el tamaño varia de 6-8 micras. Su órgano más importante es el haptoma, circundado por pequeños relieves. Conocida también como *Isochrysis* "Tahiti". Debido a su tamaño y a que es un flagelado desnudo es fácilmente digerible por los consumidores. Con un alto valor nutricional, algunos autores consideran que es la especie más importante para la alimentación de bivalvos marinos (Paniagua *et al.*, 1986). Esta especie presenta un alto contenido lipídico y proteínico, pero relativamente bajo contenido de HUFA (Phatarpekar *et al.*, 2000).

## II.- OBJETIVOS

### II.1.- Objetivo general

En este estudio se propuso el análisis de la microalga *Nannochloropsis oculata* y su uso como dieta monoalgal así como en mezclas con las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros muelleri* para el cultivo de zoeas del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

### II.2.- Objetivos particulares

Analizar el contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos de las especies de microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*, cultivadas en condiciones de laboratorio.

Analizar el contenido de proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos en larvas zoeas de *L. vannamei* alimentadas con las microalgas *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* aplicadas como dietas monoalgales y de mezclas biespecíficas.

Valorar el efecto de dichas dietas sobre el desarrollo y la sobrevivencia de las larvas zoeas de *L. vannamei*.

### III.- MATERIALES Y MÉTODOS.

Se llevaron a cabo por separado dos experimentos en los cuales se utilizaron como alimento tres especies de microalgas, mezcladas o como dietas monoespecíficas para evaluar y comparar su efecto sobre el desarrollo, la sobrevivencia y la composición bioquímica de las larvas del camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

El trabajo se realizó a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental de Puerto Peñasco (UEP) Sonora, perteneciente al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora .

Los organismos utilizados en ambos experimentos fueron camarones de *Litopenaeus vannamei* en el estadio nauplio V provenientes de un laboratorio comercial.

En ambos experimentos se utilizó una densidad de siembra inicial de 100 nauplios/l y se utilizaron como acuarios, recipientes de 8 litros de capacidad (cubetas de plástico blanco) que se mantuvieron sumergidos en un baño maría en estanques de fibra de vidrio para mantener la temperatura constante a 28 °C, con una salinidad de 37 ‰. En todos los acuarios se aplicó aireación moderada y se adicionaron 2.5 ml de EDTA como quelante.

#### III.1.- Primer experimento.

En el primer experimento se practicaron cuatro tratamientos por triplicado para evaluar la estrategia alimenticia sobre la crianza de las larvas zoeas, y cuyas características se muestran en la Tabla I.

En el primer tratamiento (T1) o dieta control del experimento se utilizó una mezcla de las microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* para alimentar los organismos en experimentación. Esta estrategia se utiliza con éxito en el cultivo larvario de camarones peneidos en la Unidad Experimental de Puerto Peñasco. La densidad de cada microalga en el cultivo fue de 75,000 cels/ml.

El segundo tratamiento (T2) consistió en la aplicación de una dieta monoalgal de *Nannochloropsis oculata*. Dado que esta microalga es una especie más pequeña que *C. muelleri* e *I. galbana*, la densidad de *N. oculata* en los tratamientos se determinó por una

relación que igualó la biomasa del tratamiento control, de tal manera que se proporcionaron 300,000 cel/ml

El tercer tratamiento (T3) consistió en la aplicación de la mezcla de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* y el cuarto tratamiento (T4) en la aplicación de la mezcla de *Isochrysis galbana* y *N. oculata*. Las densidades de *N. oculata* en los tratamientos 3 y 4 se determinaron por una relación de biomasa de esta microalga de 1:1.5 con respecto a las de las microalgas con que se mezcló, de tal manera que se aplicaron 75,000 cel/ml de *C. muelleri* o *I. galbana* y 225,000 cel/ml de *N. oculata* en cada caso.

Tabla I. Densidad de microalgas para cada tratamiento y estadio larval en el primer experimento.

ESTADIO LARVARIO	T1		T2	T3		T4	
	microalgas cel/ml (miles)		microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)		microalgas cel/ml (miles)	
	Chaeto	Iso	Nanno	Chaeto	Nanno	Iso	Nanno
Zoea I	75	75	300	75	225	75	225
Zoea II	75	75	300	75	225	75	225
Zoea III	75	75	300	75	225	75	225

Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Iso = *Isochrysis galbana*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*

La densidades celulares de las microalgas en el cultivo y administradas a los tratamientos fueron cuantificadas por conteo celular directo con un hematocitómetro Neubauer de 0.1 mm de profundidad, y fue monitoreada diariamente, ajustándose a la densidad requerida para cada tratamiento con la fórmula siguiente (Alonso *et al.* 1987):

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

En 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.

Diariamente se observaron los estadios de desarrollo larvario de cada tratamiento y con ayuda de un microscopio estereoscópico con ocular graduado se midieron cinco larvas, y se registró la longitud de éstas cada vez que el 90% de la población experimental cambió de un subestadio a otro.

Una vez que se observó el paso de más del 90% de la población al estadio de mysis, se contaron los organismos y se estimó la sobrevivencia final en cada estanque.

### **III.2.- Segundo experimento.**

En el segundo experimento se practicaron cinco tratamientos con tres repeticiones cada uno para evaluar la estrategia alimenticia para el mantenimiento de las larvas zoeas, y cuyas características se muestran en la tabla II.

Con base en los resultados del primer experimento en los que se apreció que *Nannochloropsis oculata* no sostuvo por si sola el desarrollo de las zoeas, y por el contrario al aplicarse de manera mezclada, se notaron ciertos efectos positivos que se presentarán en los resultados, en el segundo experimento se utilizaron dietas con base en la mezcla de *Chaetoceros muelleri* y *N. oculata*, aplicada esta última en diferentes concentraciones, con el objeto de efectuar comparaciones con el primer experimento, además se utilizaron dietas monoalgales y también fueron comparadas con los primeros resultados.

El primer tratamiento (T1) consistió de una dieta monoalgal de *Isochrysis galbana* y el segundo tratamiento (T2) de una dieta monoalgal de *Chaetoceros muelleri*. Las densidades celulares de estos tratamientos fueron equivalentes a la biomasa del tratamiento control del primer experimento por lo que se aplicaron 150,000 cel/ml en cada caso. En los tratamientos 3, 4 y 5 se utilizaron las mezclas de las microalgas *C. muelleri* y *N. oculata* en concentraciones de 75,000+150000 cels/ml, 75,000+300,000 cels/ml, y 75,000+375,0000 cels/ml respectivamente, y que correspondieron a relaciones de biomasa 1:1, 1:2 y 1:2.5 respectivamente.

Tabla II. Densidad de microalgas para cada tratamiento y estadio larval en el segundo experimento.

ESTADO LARVARIO	T1	T2	T3		T4		T5	
	microalgas cel/ ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)	microalgas cel/ml (miles)
	Chaeto	Iso	Chaeto	Nanno	Chaeto	Nanno	Chaeto	Nanno
Zoea I	150	150	75	150	75	300	75	375
Zoea II	150	150	75	150	75	300	75	375
Zoea III	150	150	75	150	75	300	75	375

Chaeto = *Chaetoceros muelleri*, Iso = *Isochrysis galbana*, Nanno = *Nannochloropsis oculata*

El manejo de las poblaciones experimentales y las dietas se llevó a cabo de igual manera que en el primer experimento.

### III.3.- Cultivo de microalgas.

Las microalgas fueron producidas en el laboratorio de la UEP con un medio de Guillard f/2 modificado (Tabla III). La producción de microalgas se llevó a cabo en recipientes de 19 litros con una iluminación artificial y constante. Después de 2-3 días de cultivo estático, las microalgas se utilizaron para la alimentación de las larvas zoeas del camarón.

Tabla III. Medio f/2 de Guillard modificado para la producción de microalgas utilizado en la Unidad Experimental de Puerto Peñasco (Báez *et al*, 1993). Las cantidades son agregadas a un litro de agua destilada.

Compuesto	Cantidad
Fosfato de sodio monobásico	0.0362 moles
Nitrato de potasio	0.0989 moles
Sulfato de amonio férrico	0.0239 moles
Metasilicato de sodio	0.0176 moles
Cianocobalamina	0.001 mg
Tiamina	2 mg

### III.4.- Determinaciones bioquímicas.

Cada vez que se observó un cambio en los subestadios larvarios del camarón blanco durante el experimento, se obtuvieron muestras de microalgas para realizar el análisis bioquímico de las mismas.

Las muestras de microalgas se obtuvieron mediante el filtrado de volúmenes de entre 5 y 250 ml dependiendo del análisis a realizar según la Tabla IV. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio (Whatman GFC) de acuerdo con las recomendaciones del método descrito por López-Elías, *et al* (1993). Para cuantificar la producción de microalgas en el cultivo, se determinó el peso seco con la técnica descrita por el citado autor.

Tabla IV. Volumen recomendado para el filtrado de microalgas (ml) para el análisis proximal y bioquímico para cada especie de microalga. Tomado de López-Elías, *et al* (1993).

Especie	Proteínas	Lípidos	Carbohidratos	Ácidos grasos
<i>Nannochloropsis oculata</i>	5-10	10-15	5-10	100-300
<i>Chaetoceros muelleri</i>	5-10	10-15	5-10	100-300
<i>Isochrysis galbana</i>	5-10	10-15	5-10	100-300

Para conocer la composición bioquímica de las microalgas se determinaron proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos grasos. En la determinación de proteínas de las microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* se empleó la metodología descrita por Lowry *et al.* (1951) modificada por Malara y Charra (1972a). Para la determinación de proteínas de la microalga *Nannochloropsis oculata* se utilizó una concentración de NaOH al 0.5N, a una temperatura de 100 °C en un baño maría y por un tiempo de 30 minutos, con el fin de obtener el óptimo de extracción (López-Elías, *et al.* 1993).

Para la determinación de carbohidratos, para las tres especies, se utilizó el método descrito por Dubois *et al.* (1956) modificado por Malara y Charra (1972b).

La determinación de lípidos se llevó a cabo por el método de Bligh y Dyer (1959) modificado por López-Elías, *et al* (1993); y la determinación de ácidos grasos se llevó a

cabo por el método descrito por AOCS, Ce 2-66 de ácidos grasos (AOCS, 1993). Los ácidos grasos fueron separados e identificados por capilaridad en un cromatógrafo de gas líquido (Varian) utilizando una columna sílica Omegawax 250 (0.25 mm i.d. x 30 m. Supelco, Inc, Bellefonte, Pa).

Se realizaron también análisis proximales y bioquímicos de las larvas antes y después de los tratamientos con las técnicas anteriormente mencionadas.

### **III.5.- Análisis de los datos.**

A los datos de la composición bioquímica de las microalgas así como a los de las larvas se les aplicó una prueba estadística *a priori* de normalidad de Shapiro-Wilks y de homocedasticidad de Bartlett. Posteriormente se realizó un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05%. En los casos en los que se detectaron diferencias significativas en los análisis de varianza, se realizaron pruebas *a posteriori* de comparaciones múltiples por el método de diferencias mínimas significativas (LSD) (Zar, 1974).

Los datos de longitud y sobrevivencia de las larvas obtenidos en los experimentos se manejaron también de la misma manera que en el caso anterior. En el caso de los porcentajes de sobrevivencia, los datos fueron tratados con una transformación al arcoseno previamente a la elaboración del análisis estadístico correspondiente.

En el caso de no cumplirse con las suposiciones de los métodos estadísticos paramétricos se utilizó un análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis, y en el caso de encontrarse diferencias significativas se empleó el método de comparaciones múltiples para la prueba de estadística de Kruskal-Wallis (Zar, 1974).

La evaluación estadística se realizó utilizando el paquete estadístico STATISTICA ver. 5.5 para Windows.



## IV.- RESULTADOS.

### IV.1.- Análisis bioquímicos.

#### IV.1.1.- Composición proximal de las microalgas.

En general los resultados de la composición bioquímica de las microalgas en los dos experimentos, cultivadas bajo condiciones de laboratorio y administradas como alimento, presentaron valores muy similares y se mantuvieron constantes durante el desarrollo de los mismos, por lo que se presentan los valores promedios para ambos experimentos (Tabla V).

Dentro de la materia orgánica se obtuvo una mayor concentración de proteínas, seguida de lípidos y carbohidratos para las tres microalgas. *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* presentan valores proximales relativamente parecidos, no así la microalga *Nannochloropsis oculata* que presentó valores mayores en promedio que las otras dos microalgas, excepto para la concentración de cenizas. (Tabla V).

Tabla V. Concentración promedio con base en peso seco ( $\pm$  desviación estándar) de los análisis proximales en las microalgas.

	<i>Nannochloropsis oculata</i>	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Isochrysis galbana</i>
Cenizas g l <sup>-1</sup>	0.059 $\pm$ 0.012	0.075 $\pm$ 0.038	0.083 $\pm$ 0.004
Materia Orgánica g l <sup>-1</sup>	0.252 $\pm$ 0.030	0.133 $\pm$ 0.027	0.106 $\pm$ 0.025
Proteínas g l <sup>-1</sup>	0.113 $\pm$ 0.011	0.078 $\pm$ 0.010	0.054 $\pm$ 0.006
Carbohidratos g l <sup>-1</sup>	0.032 $\pm$ 0.006	0.011 $\pm$ 0.003	0.010 $\pm$ 0.003
Lípidos mg l <sup>-1</sup>	0.038 $\pm$ 0.006	0.020 $\pm$ 0.008	0.017 $\pm$ 0.005

Los datos de cenizas no presentaron homocedasticidad por lo que se procedió a utilizar una prueba de Kruskal-Wallis. La concentración de cenizas no presentó diferencias significativas entre las tres especies de microalgas ( $X^2_{0.05,2}=0.71145$ ,  $p>0.05$ ), las cuales tuvieron valores que fluctuaron entre los  $0.0313 \text{ g l}^{-1}$  y  $0.1907 \text{ g l}^{-1}$  (Fig. 1).

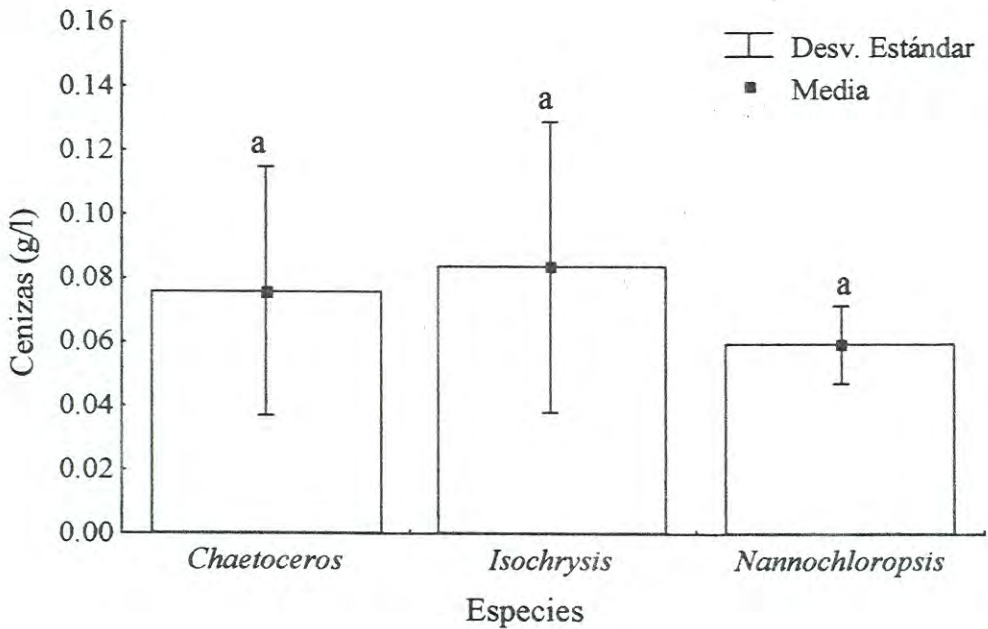


Figura 1. Concentración promedio de cenizas ( $\text{g l}^{-1}$  con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).

Asimismo los resultados obtenidos de la concentración de la materia orgánica indicaron que hubo diferencias significativas entre las microalgas ( $F_{0.05,2,42} = 115.228$ ,  $p < 0.05$ ). La mayor concentración de materia orgánica la presentó *Nannochloropsis oculata* ( $0.25212 \text{ g l}^{-1}$ ); seguida de *Chaetoceros muelleri* ( $0.13333 \text{ g l}^{-1}$ ) e *Isochrysis galbana* ( $0.10657 \text{ g l}^{-1}$ ) que presentó la menor concentración (Fig. 2).

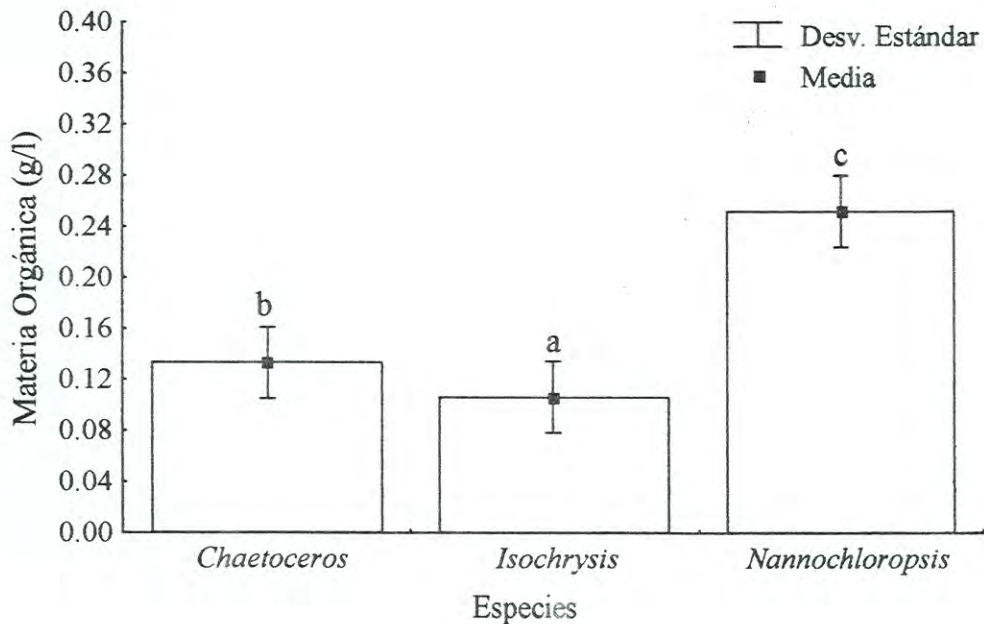


Figura 2. Concentración promedio de materia orgánica ( $\text{g l}^{-1}$  con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).

Al comparar las concentraciones de proteínas entre las tres especies de microalgas se encontraron diferencias significativas entre ellas ( $F_{0.05,2,42} = 141.8954$ ,  $p < 0.05$ ). *Nannochloropsis oculata* presentó la mayor concentración de proteínas ( $0.11319 \text{ g l}^{-1}$ ) seguida de *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* con la menor concentración (Fig. 3).

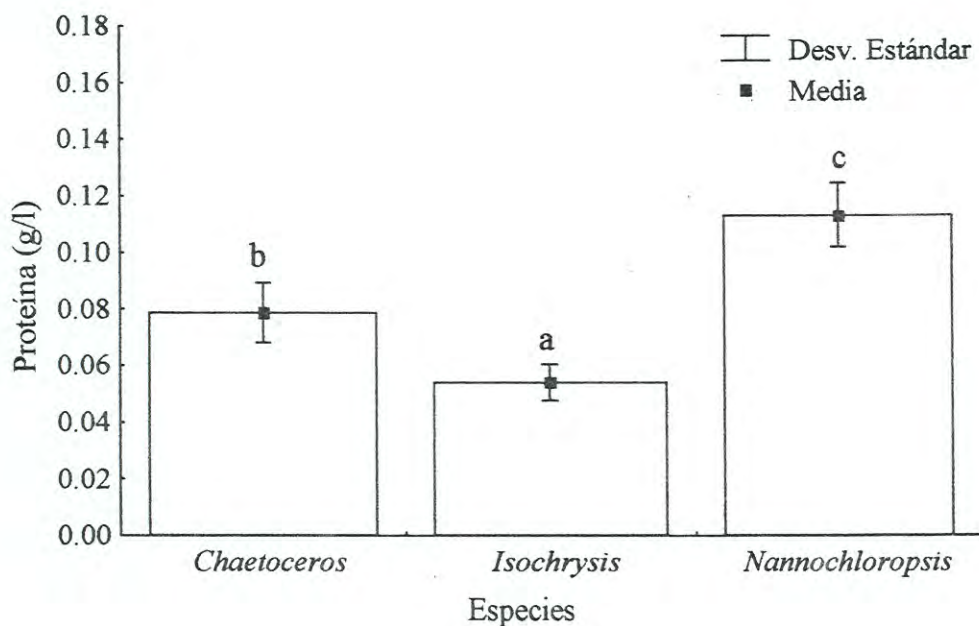


Figura 3. Concentración promedio de proteína ( $\text{g l}^{-1}$  con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).

Para los resultados de carbohidratos se realizó un análisis de Kruskal-Wallis, debido a que los datos no presentaron normalidad y homogeneidad de varianzas. El análisis demostró la existencia de diferencias significativas entre las concentraciones de carbohidratos de las distintas microalgas ( $X^2_{0.05,2} = 24.723$ ,  $p < 0.05$ ). *Nannochloropsis oculata* registró la mayor concentración de carbohidratos ( $0.03211 \text{ g l}^{-1}$ ); y entre *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* no existieron diferencias significativas (Fig. 4).

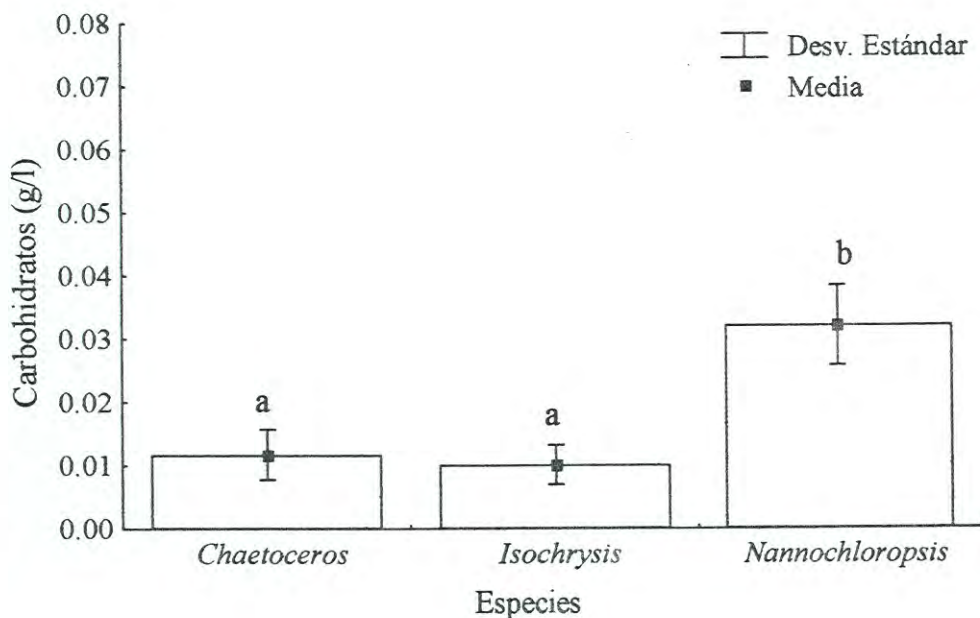


Figura 4. Concentración promedio de carbohidratos ( $\text{g l}^{-1}$  con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).

El análisis de los datos de lípidos indicó diferencias significativas entre las concentraciones de las microalgas ( $F_{0.05,2,42} = 43.30$ ,  $p < 0.05$ ). El análisis *a posteriori* demostró que *Nannochloropsis oculata* presentó una significativa mayor concentración de lípidos ( $0.03882 \text{ mg l}^{-1}$ ) que las otras dos microalgas. Entre las microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* no existieron diferencias significativas (Fig. 5).

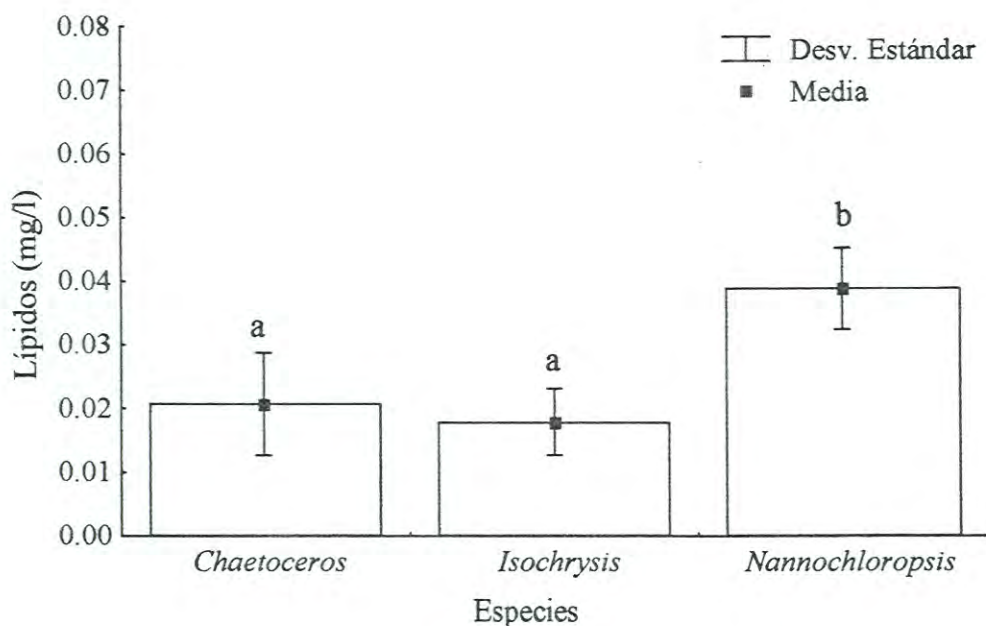


Figura 5. Concentración promedio de lípidos ( $\text{mg l}^{-1}$  con base en el peso seco) en las microalgas utilizadas en los experimentos. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD).

#### IV.1.2.- Composición de ácidos grasos de las microalgas.

La composición de ácidos grasos de las microalgas utilizadas en este experimento fue diferente entre sí. En *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* se obtuvo una mayor concentración de ácidos grasos saturados, seguido de los ácidos grasos monoinsaturados, polinsaturados y altamente insaturados. Para *Nannochloropsis oculata* se obtuvo una mayor concentración en ácidos grasos monoinsaturados, seguidos de los ácidos grasos saturados, altamente insaturados y en menor grado los polinsaturados.

En la microalga *Chaetoceros muelleri* los ácidos grasos saturados presentaron la mayor concentración, de los cuales el ácido 14:0 y el anteiso-16:0 fueron los más abundantes. De los ácidos grasos monoinsaturados los de mayor concentración fueron el ácido graso 16:1 y en menor grado el 16:1(n-5). Los ácidos grasos polinsaturados con mayor concentración fueron el 16:2(n-4) y el 16:2(n-7) en menor grado. El 20:5(n-3) y en menor proporción el 20:4(n-3) fueron los ácidos grasos altamente insaturados encontrados en *C. muelleri* (Tabla VI).

En *Isochrysis galbana* se encontró la mayor concentración de ácidos grasos saturados, donde el 14:0 y el anteiso-16:0, al igual que en el caso anterior fueron los de mayor concentración. Los ácidos grasos monoinsaturados en mayor concentración fueron el 16:1 seguido por el 18:1(n-9) y 18:1(n-7). Los ácidos grasos poliinsaturados 16:2(n-7), 16:2(n-4) y 16:3(n-4) fueron los de mayor concentración. Esta microalga tuvo muy bajas concentraciones de ácidos grasos altamente insaturados de los cuales el 18:4(n-3) fue el más abundante seguido del 22:6(n-3) (Tabla VI).

La microalga *Nannochloropsis oculata* presentó la mayor concentración del total de ácidos grasos, así como un mayor número de ácidos grasos detectados. Esta microalga presentó una mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados, seguido de los saturados y los altamente insaturados. Los más bajos fueron los ácidos grasos poliinsaturados. Los ácidos grasos saturados más abundantes fueron el anteiso-16:0, seguido por el 14:0. Dentro de los ácidos grasos monoinsaturados se encontraron más abundantes los 16:1, 16:1(n-7), 18:1(n-9) y 16:1(n-5). Los ácidos grasos poliinsaturados más abundantes fueron el 16:3(n-4), el 16:2(n-7) y el 16:2(n-4). Los ácidos altamente insaturados fueron representados principalmente por el 20:5(n-3) (Tabla VI).

Tabla VI. Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en las microalgas.

Ácido Grasos	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Isochrysis galbana</i>	<i>Nannochloropsis oculata</i>
<b>Saturados</b>			
14:00	22.576	32.655	6.949
Anteiso-16:0	13.558	11.228	16.061
18:00	2.889	1.298	2.811
20:00	nd	1.6035	nd
22:00	nd	nd	0.278
<b>Total</b>	<b>39.024</b>	<b>46.785</b>	<b>26.101</b>
<b>Monoinsaturados</b>			
16:01	19.644	12.775	27.602
16:1(n-7)	nd	nd	10.515
16:1(n-5)	4.1595	1.454	2.081
18:1(n-9)	nd	3.316	5.718
18:1(n-7)	1.44	2.247	3.827
20:1(n-9)	0.655	1.338	0.687
22:1(n-11)	nd	nd	0.563
22:1(n-9)	nd	nd	0.568
<b>Total</b>	<b>25.898</b>	<b>21.130</b>	<b>51.561</b>
<b>Poliinsaturados</b>			
16:2(n-7)	4.233	3.022	1.370
16:2(n-4)	7.629	3.031	1.328
16:3(n-4)	nd	1.458	1.853
18:2(n-6)	0.690	0.766	0.483
18:2(n-4)	0.533	nd	nd
18:3(n-6)	nd	nd	0.725
<b>Total</b>	<b>13.085</b>	<b>8.277</b>	<b>5.759</b>
<b>Altamente insaturados</b>			
18:4(n-3)	0.691	3.263	0.391
18:5(n-3)	0.367	nd	nd
20:4(n-6)	nd	nd	0.983
20:4(n-3)	1.589	nd	0.340
20:5(n-3)	5.104	nd	6.676
22:5(n-3)	nd	nd	0.226
22:6(n-3)	0.484	0.910	nd
<b>Total</b>	<b>8.235</b>	<b>4.173</b>	<b>8.616</b>
<b>Total de Ac. Grasos</b>	<b>86.2455</b>	<b>80.3665</b>	<b>92.04315</b>

nd: No determinado



#### IV.1.3.- Composición proximal de las larvas del primer experimento.

Debido a que las larvas alimentadas con la dieta monoespecífica de *Nannochloropsis oculata* interrumpieron su desarrollo en el estadio de Zoea II, su composición bioquímica fue analizada en dicho estadio.

Las larvas de los distintos tratamientos tuvieron diferencias significativas en la concentración de cenizas ( $F_{0.05,3,20} = 27.88$ ,  $p < 0.05$ ). Las larvas de los tratamientos biespecíficos 1, 3 y 4 que incluyeron las mezclas de microalgas presentaron concentraciones de cenizas entre  $2.00 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> y  $2.41 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> que no difirieron entre sí, pero que fueron significativamente mayores que la concentración de las larvas del tratamiento monoalgal de *Nannochloropsis oculata* ( $0.75 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup>) (Fig. 6).

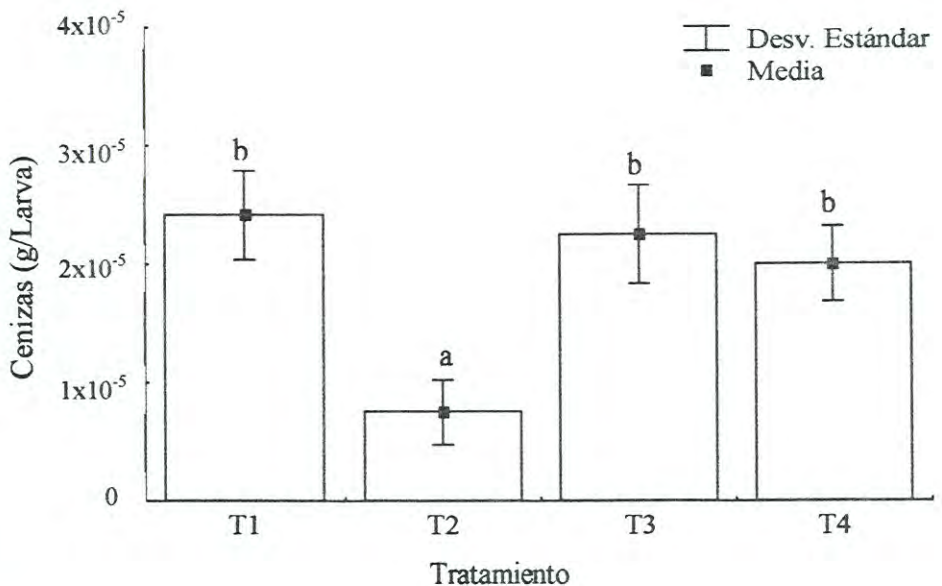


Figura 6. Concentración promedio de cenizas (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

La concentración de materia orgánica difirió significativamente entre las larvas de los diferentes tratamientos ( $F_{0.05,3,20} = 3.90, p < 0.05$ ). La mayor concentración de materia orgánica se obtuvo en las larvas alimentadas con la mezcla de *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* ( $0.000012 \text{ g larva}^{-1}$ ); la menor concentración se presentó en las larvas alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* e *I. galbana* ( $0.000005 \text{ g larva}^{-1}$ ) (Fig. 7).

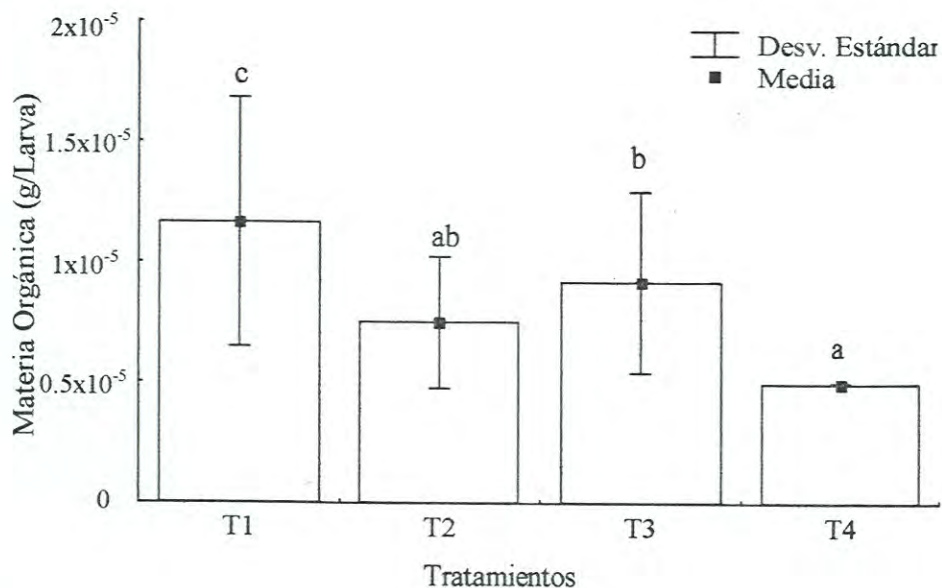


Figura 7. Concentración promedio de materia orgánica ( $\text{g larva}^{-1}$  con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

El análisis estadístico de la concentración de proteínas en las larvas indicó diferencias significativas entre los tratamientos ( $F_{0.05,3,20} = 6.611, p < 0.05$ ). Las larvas de los tratamientos 1, 3 y 4 presentaron concentraciones de proteínas que no fueron diferentes entre sí estadísticamente y que variaron dentro de valores promedio de  $0.07 \times 10^{-5} \text{ g larva}^{-1}$  a  $0.13 \times 10^{-5} \text{ g larva}^{-1}$ , pero que fueron todas significativamente mayores al valor promedio de las larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* ( $0.001 \times 10^{-5} \text{ g larva}^{-1}$ ) (Fig. 8).

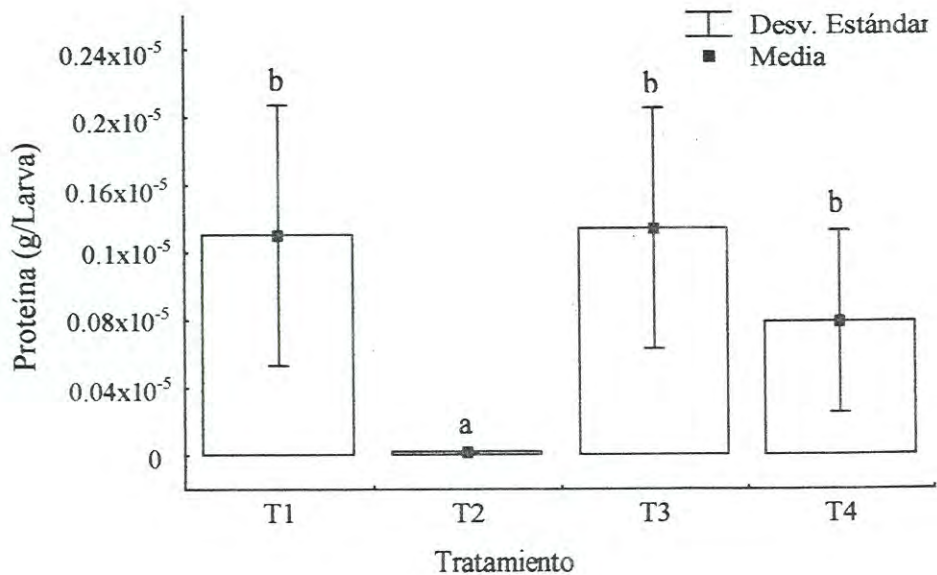


Figura 8. Concentración promedio de proteína ( $\text{g larva}^{-1}$  con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

La concentración de carbohidratos en las larvas también fue estadísticamente diferente entre los tratamientos ( $F_{0.05,3,20} = 4.616, p < 0.05$ ). Al igual que en el caso anterior, las larvas de los tratamientos que utilizaron las mezclas de microalgas tuvieron concentraciones de carbohidratos que no difirieron entre sí, más bien fueron iguales con valores entre los  $0.039 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> y  $0.04 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> y significativamente mayores al valor obtenido por las larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* ( $0.01 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> (Fig. 9).

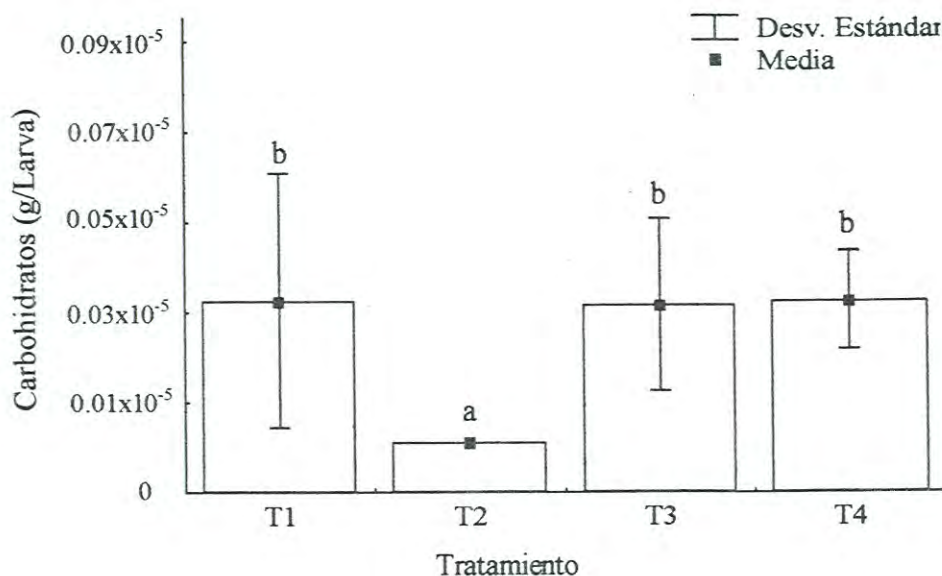


Figura 9. Concentración promedio de carbohidratos (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

La concentración de lípidos en las larvas de los diferentes tratamientos difirió significativamente ( $X^2_{0.05,3} = 12.0, p < 0.05$ ). Las larvas alimentadas con las mezclas de microalgas (Tratamientos 1, 3 y 4) tuvieron concentraciones de lípidos estadísticamente similares, con valores que fluctuaron entre  $0.32 \times 10^{-5}$  mg larva<sup>-1</sup> y  $0.39 \times 10^{-5}$  mg larva<sup>-1</sup>. Las larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* presentaron una concentración de lípidos significativamente menor ( $0.23 \times 10^{-5}$  mg larva<sup>-1</sup>) que las de los tratamientos restantes, con excepción de las del tratamiento 4 en el que se utilizó la mezcla de *N. oculata* e *Isochrysis galbana* (Fig. 10).

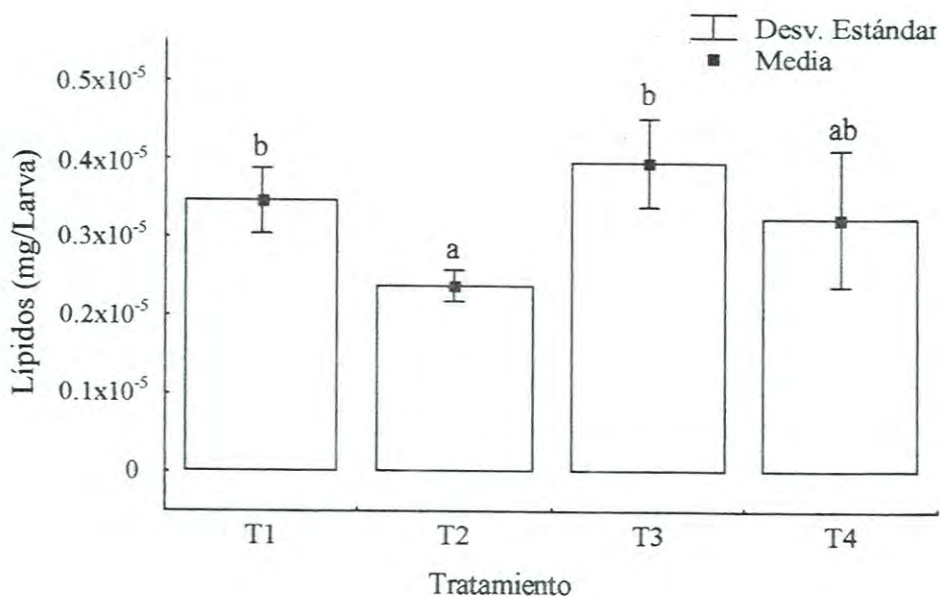


Figura 10. Concentración promedio de lípidos (mg larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

#### IV.1.4.- Composición de ácidos grasos de las larvas del primer experimento.

Los ácidos grasos encontrados en los nauplios y en las larvas zoeas producidas en los diferentes tratamientos se muestran en la tabla VII.

Los nauplios tuvieron una baja variedad de ácidos grasos y no se detectaron entre ellos ácidos grasos saturados ni poliinsaturados. En estos organismos se observó una mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados, principalmente de 22:1(n-9), seguido de 18:1(n-5) y 22:1(n-11). Los ácidos grasos altamente-insaturados presentes en estas larvas fueron el 22:6w3 seguido del 18:5(n-3), y el 20:4(n-6)

Para las zoeas en general, la composición de ácidos grasos de las larvas de los diferentes tratamientos fue muy variable en cuanto a la concentración y tipos encontrados. En cuanto a la concentración total de ácidos grasos, las larvas alimentadas con las mezclas de microalgas (tratamientos 1, 3 y 4) tuvieron valores muy similares, entre 71.7 y 77.6 mg/100 mg de lípidos.

Las larvas del tratamiento 1, alimentadas con la mezcla de las microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* mostraron una baja concentración de ácidos grasos saturados y altamente insaturados, y no presentaron ácidos grasos poliinsaturados.

De los primeros, el único presente fue el 18:0 y de los ácidos grasos altamente insaturados el de mayor concentración fue el 20:4(n-6).

Los ácidos grasos monoinsaturados representaron en cambio el 90.33% del total de ácidos grasos, y dentro de éstos, destacó la gran concentración del 16:1, el cual representó más de la mitad de los ácidos grasos totales (Tabla VII).

Las larvas del tratamiento 2, alimentadas únicamente con *Nannochloropsis oculata* tuvieron una concentración menor de ácidos grasos totales que las larvas de los demás tratamientos, sin embargo estas larvas tuvieron la mayor diversidad de ácidos grasos, y fueron las únicas en las que se detectaron ácidos grasos poliinsaturados.

Estas larvas presentaron una mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados, seguido de los ácidos grasos saturados, y una concentración similar de ácidos grasos poliinsaturados y altamente-insaturados. Ningún ácido graso alcanzó una concentración mayor a 7.5 mg/100 mg de lípidos; en los ácidos grasos saturados por su mayor concentración destacaron el anteiso-16:0 y el 18:0; el 16:1 entre los

monoinsaturados, el 18:2(n-6) en los poli-insaturados, y el 22:5(n-3) en los altamente-insaturados (Tabla VII).

La larvas alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* presentaron solamente ácidos grasos monoinsaturados y altamente insaturados, siendo estos últimos los de mayor concentración.

El ácido graso monoinsaturado de mayor concentración fue el 22:1(n-11). De los ácidos grasos altamente insaturados los de mayor concentración fueron el 22:5(n-3), 22:6(n-3) y el 20:4(n-3) (Tabla VII).

Se presentaron únicamente tres ácidos grasos en las larvas que fueron alimentadas con la mezcla *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*, donde la mayor concentración fue para el ácido graso monoinsaturado 16:1(n-5), seguido de 16:1 y del ácido graso saturado 14:0 (Tabla VII).

Tabla VII. Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en nauplios y larvas de *Litopenaeus vannamei* de los diferentes tratamientos del primer experimento.

Ácidos Grasos	Nauplios	T1	T2	T3	T4
<b>Saturados</b>					
14:00	nd	nd	nd	nd	19.412
Anteiso-16:0	nd	nd	7.275	nd	nd
18:00	nd	3.521	6.185	nd	nd
20:00	nd	nd	1.555	nd	nd
<b>Total</b>		<b>3.521</b>	<b>15.015</b>		<b>19.412</b>
<b>Monoinsaturados</b>					
16:01	nd	49.999	7.275	nd	24.537
16:1(n-7)	nd	nd	1.335	nd	nd
16:1(n-5)	nd	13.0735	1.302	nd	33.661
18:1(n-9)	nd	2.5565	3.563	1.4985	nd
18:1(n-7)	nd	nd	3.729	nd	nd
18:1(n-5)	13.593	nd	nd	nd	nd
20:1(n-9)	nd	1.341	1.482	nd	nd
22:1(n-11)	5.190	0.5555	2.282	10.4335	nd
22:1(n-9)	16.382	0.845	nd	1.687	nd
24:1(n-9)	nd	0.432	nd	nd	nd
<b>Total</b>	<b>37.165</b>	<b>68.803</b>	<b>20.968</b>	<b>13.619</b>	<b>58.198</b>
<b>Poliinsaturados</b>					
16:2(n-7)	nd	nd	2.574	nd	nd
16:2(n-4)	nd	nd	1.835	nd	nd
16:3(n-4)	nd	nd	2.612	nd	nd
18:2(n-6)	nd	nd	3.07	nd	nd
20:3(n-6)	nd	nd	1.562	nd	nd
<b>Total</b>			<b>11.653</b>		
<b>Altamente insaturados</b>					
18:4(n-3)	nd	nd	1.621	1.991	nd
18:5(n-3)	9.666	0.592	1.448	nd	nd
20:4(n-6)	4.507	1.158	1.422	3.897	nd
20:4(n-3)	nd	0.5815	1.940	12.242	nd
20:5(n-3)	nd	0.458	1.663	nd	nd
22:5(n-6)	nd	0.4025	nd	3.014	nd
22:5(n-3)	6.074	nd	3.035	23.5865	nd
22:6(n-3)	10.611	0.649	nd	13.4	nd
<b>Total</b>	<b>30.858</b>	<b>3.841</b>	<b>11.129</b>	<b>58.130</b>	
<b>Total de Ác. Grasos.</b>	<b>66.023</b>	<b>76.1645</b>	<b>58.765</b>	<b>71.7495</b>	<b>77.61</b>

T1: Larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: Larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata*; T3: Larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: Larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.



#### IV.1.5.- Composición proximal de larvas para el segundo experimento.

En las concentraciones de cenizas de las larvas de los diferentes tratamientos no hubo diferencias significativas ( $F_{0.05,4,10} = 1.710$ ;  $p > 0.05$ ). Se registraron valores desde  $2.166 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> en el tratamiento T1 hasta  $3.333 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> en el tratamiento T2 (Fig. 11).

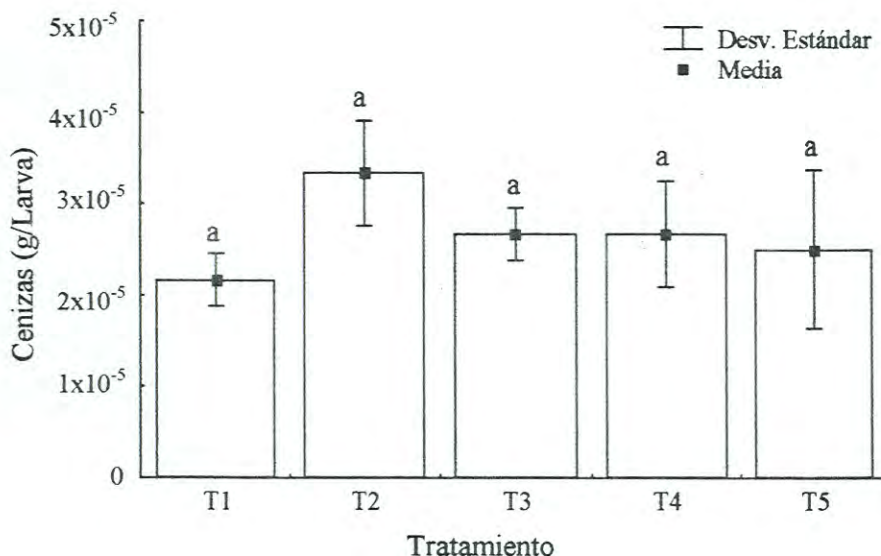


Figura 11. Concentración promedio de cenizas (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml.

La concentración de materia orgánica en las larvas de los diferentes tratamientos tampoco presentó diferencias significativas ( $F_{0.05,4,10} = 1.909$ ;  $p > 0.05$ ). La concentración de materia orgánica varió de  $0.83 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> en el tratamiento T1 hasta  $1.66 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> en los tratamientos T2 y T4 (Fig. 12).

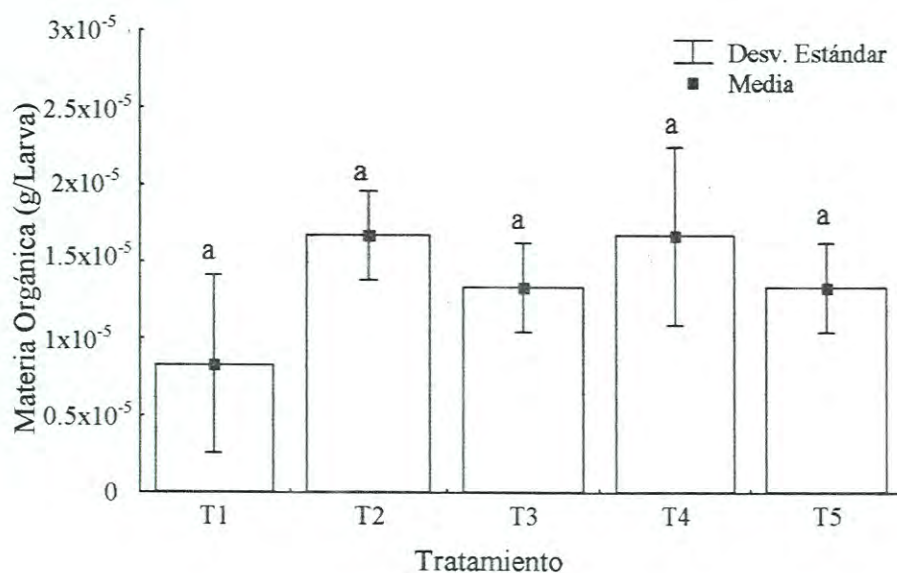


Figura 12. Concentración promedio de materia orgánica (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150 × 10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300 × 10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375 × 10<sup>3</sup> cel/ml.

De acuerdo a los resultados del análisis estadístico, en las concentraciones de proteínas en las larvas de los diferentes tratamientos no hubo diferencias significativas. ( $F_{0.05,4,10} = 1.909$ ;  $p > 0.05$ ). La concentración de proteínas en las larvas varió entre  $0.25 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> del tratamiento T1 y  $0.5 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> del tratamiento T3 (Fig. 13).

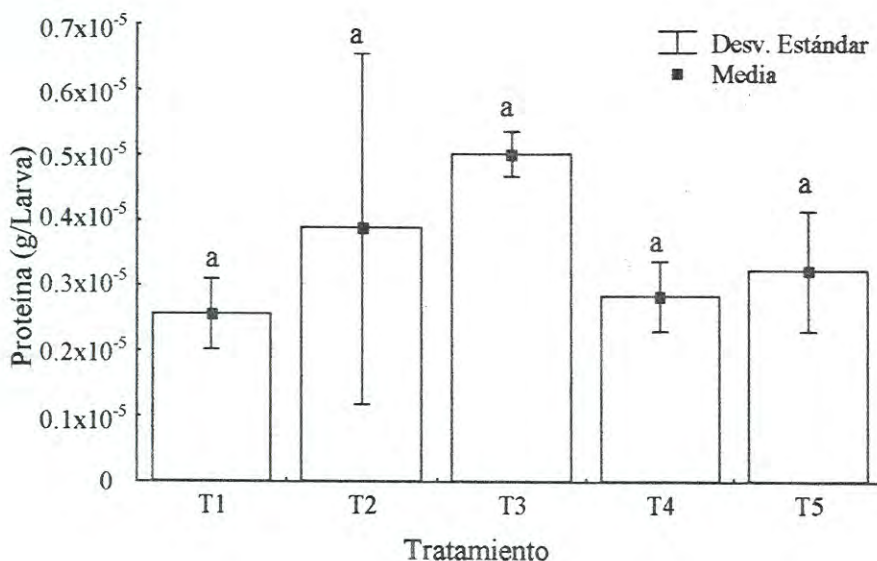


Figura 13. Concentración promedio de proteína (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150 × 10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300 × 10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375 × 10<sup>3</sup> cel/ml.

Los datos de las concentraciones de carbohidratos de las larvas de los distintos tratamientos no presentaron diferencias significativas ( $F_{0.05,4,10} = 1.885$ ;  $p > 0.05$ ), y se mantuvieron en un intervalo entre  $0.039 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> para las larvas del tratamiento T1 y  $0.084 \times 10^{-5}$  g larva<sup>-1</sup> para los del tratamiento T5 (Fig. 14).

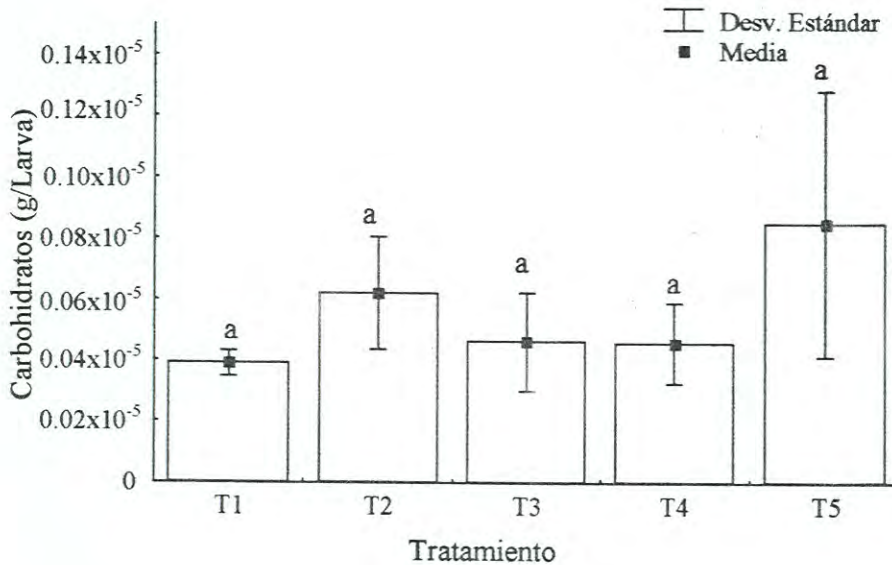


Figura 14. Concentración promedio de carbohidratos (g larva<sup>-1</sup> con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375x10<sup>3</sup> cel/ml.

En cuanto a las concentraciones de lípidos en las larvas de los diferentes tratamientos tampoco se detectaron diferencias significativas ( $F_{0.05,4,10} = 0.8816$ ;  $p > 0.05$ ). La concentración de lípidos fluctuó entre  $0.30 \times 10^{-5}$  g larva $^{-1}$  en las larvas del tratamiento T1 y  $0.40 \times 10^{-5}$  g larva $^{-1}$  en las del tratamiento T4 (Fig. 15).

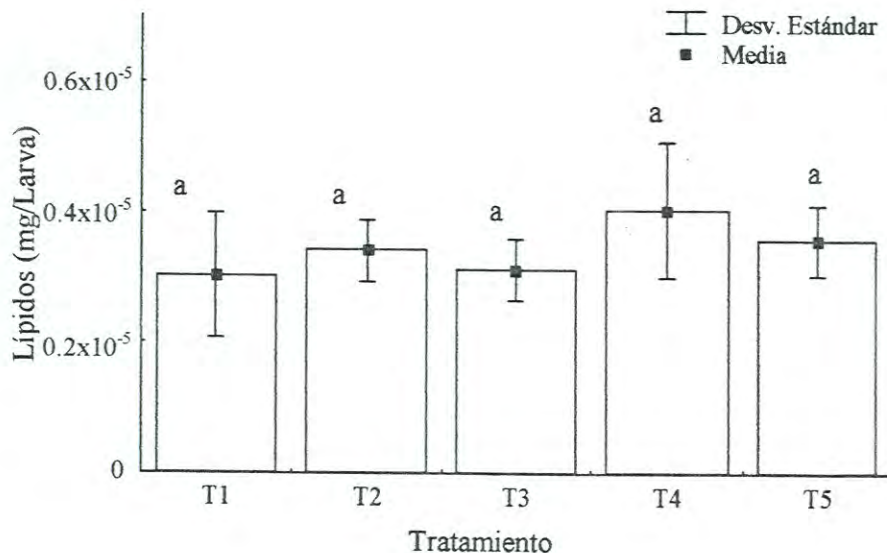


Figura 15. Concentración promedio de lípidos (mg larva $^{-1}$  con base en el peso seco) en las larvas de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-150 \times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-300 \times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-375 \times 10^3$  cel/ml.

#### IV.1.6.- Composición de ácidos grasos de las larvas del segundo experimento.

Las concentraciones de ácidos grasos en los nauplios y en las zoeas al del segundo experimento se muestran en la Tabla VIII. No se reportaron concentraciones de ácidos grasos para las larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri* y en las larvas con *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* en una densidad de 75-375,000 cels/ml debido a la falta de muestras.

Tabla VIII. Composición de ácidos grasos (mg/100 mg de lípidos) en nauplios y larvas de *Litopenaeus vannamei* de los diferentes tratamientos del segundo experimento.

Ácido Grasos	Nauplios	T1	T3	T4
<b>Saturados</b>				
18:00	nd	nd	7.849	nd
20:00	1.942	nd	nd	nd
<b>Total</b>	<b>1.942</b>		<b>7.849</b>	
<b>Monoinsaturados</b>				
16:01	10.325	10.985	nd	22.702
16:1(n-7)	0.753	nd	nd	nd
16:1(n-5)	2.475	19.763	nd	nd
18:1(n-9)	1.02	nd	7.388	2.854
22:1(n-11)	nd	nd	4.314	nd
24:1(n-9)	1.557	14.277	nd	nd
<b>Total</b>	<b>16.13</b>	<b>45.025</b>	<b>11.702</b>	<b>25.556</b>
<b>Poliinsaturados</b>				
18:2(n-6)	Nd	nd	nd	8.902
20:3(n-6)	0.82	nd	nd	nd
<b>Total</b>	<b>0.82</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>8.902</b>
<b>Altamente insaturados</b>				
18:4(n-3)	2.476	nd	nd	nd
20:4(n-6)	3.701	nd	4.508	3.083
20:4(n-3)	0.826	nd	nd	nd
20:5(n-3)	5.855	nd	nd	10.227
22:5(n-3)	1.022	nd	7.392	4.391
22:6(n-3)	nd	10.722	nd	1.539
<b>Total</b>	<b>13.88</b>	<b>10.722</b>	<b>11.9</b>	<b>19.24</b>
<b>Total de Ác. Grasos</b>	<b>32.772</b>	<b>55.747</b>	<b>31.451</b>	<b>53.698</b>

T1: Larvas alimentadas con *Isochrysis galbana*; T3: Larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150x10<sup>3</sup> cel/ml; T4: Larvas alimentadas con *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300x10<sup>3</sup> cel/ml. nd: no determinado

La composición de ácidos grasos de los nauplios estuvo representada principalmente por concentraciones similares de ácidos grasos monoinsaturados y altamente insaturados. Los ácidos grasos poliinsaturados fueron los de mas baja concentración.

De los ácidos grasos saturados solo se detectó el 20:00. El ácido graso monoinsaturado de mayor concentración fué el 16:1. De los poliinsaturados solo se detectó el 20:3(n-6); y de los altamente insaturados los de mayor concentración fueron el 20:5(n-3) y el 20:4(n-6) (Tabla VIII).

En general en las larvas de los distintos tratamientos se detectaron relativamente una baja variedad de ácidos grasos, entre 4 y 7 distintos; con los ácidos saturados y poliinsaturados poco o no representados.

En las larvas alimentadas con la dieta monoalgal *Isochrysis galbana* se encontró una alta concentración, más del 80 %, de ácidos grasos monoinsaturados. Entre éstos, el 16:1(n-5) fue el de mayor concentración. Se detectó un solo ácido graso altamente-saturado, que fue el 22:6(n-3). No se detectaron ácidos grasos saturados ni poli-insaturados (Tabla VIII).

En las larvas alimentadas con la mezcla de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* a una concentración de 75,000-150,000 cels/ml respectivamente, se registró una concentración mayor de ácidos grasos altamente insaturados y monoinsaturados cuyos valores fueron muy similares. De los ácidos grasos altamente insaturados el de mayor concentración fue el 22:5(n-3). El ácido graso mono-insaturado en mayor concentración fue el 18:1(n-9). El único ácido graso saturado determinado en estas larvas fue el 18:0. No se determinaron ácidos grasos poli-insaturados en estas larvas (Tabla VIII).

Las larvas alimentadas con la mezcla de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* a una concentración de 75,000-300,000 cels/ml respectivamente, presentaron una mayor concentración de ácidos grasos monoinsaturados de los cuales el 16:1 fue el de mayor concentración. Estas larvas también tuvieron una alta concentración de ácidos grasos altamente insaturados, de los cuales el 20:5(n-3) fue el de mayor concentración. El ácido graso poliinsaturado 18:2(n-6) fue el único que se determinó en estas larvas y no se detectaron ácidos grasos saturados (Tabla VIII).

## IV. 2.- Supervivencia.

### IV.2.1.- Supervivencia de las larvas zoeas en el primer experimento.

La supervivencia promedio final de las poblaciones del primer experimento fue estadísticamente diferente ( $F_{0.05,3,20}=7.95$   $p<0.05$ ). El valor mínimo de la supervivencia se registró para las larvas alimentadas con *Nannochloropsis oculata* como único alimento con un 26 % (T2). Este valor fue significativamente menor que el obtenido para las poblaciones restantes correspondientes a la alimentación con las mezclas de microalgas, cuya supervivencia no difirió estadísticamente entre sí. El valor máximo registrado de 78.8% fue para las larvas del tratamiento T1 alimentadas con la mezcla de microalgas *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*, valor que resultó igual al de las poblaciones del tratamiento T3, que fueron alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* (Fig. 16).

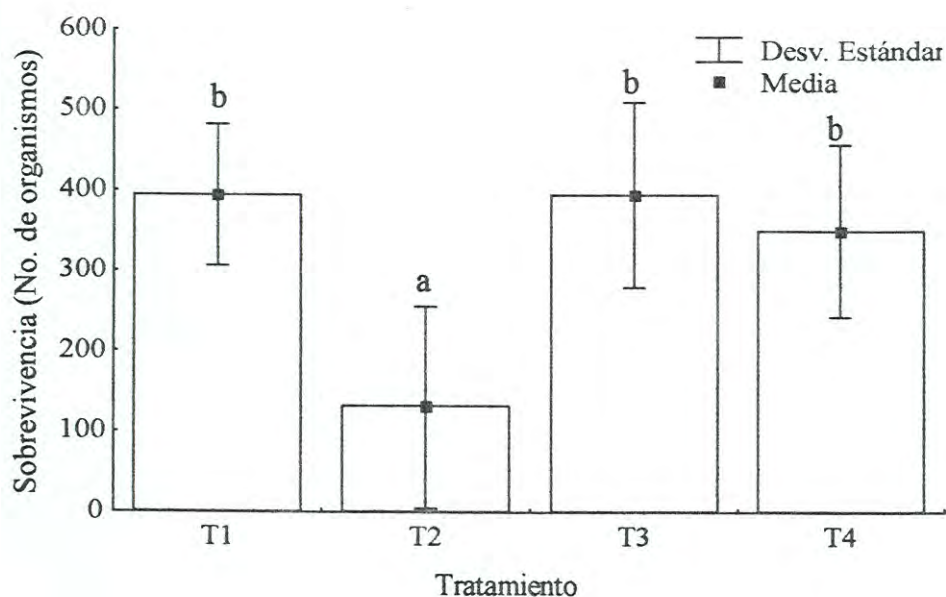


Figura 16. Supervivencia promedio final de larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei* con las cuatro dietas de microalgas utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.



#### IV.2.2.- Supervivencia de las larvas zoeas en el segundo experimento.

Aunque se observó una menor supervivencia (68 a 70 %) en las poblaciones de los tratamientos T1 y T2, correspondientes a las dietas monoalgales, y supervivencias mayores en los tratamientos con las diferentes mezclas (74 a 80 %), el análisis estadístico no indicó que dichas diferencias fueran significativas entre las larvas de los distintos tratamientos ( $X^2_{0.05,4}$ ,  $P > 0.05$ ) (Fig. 17).

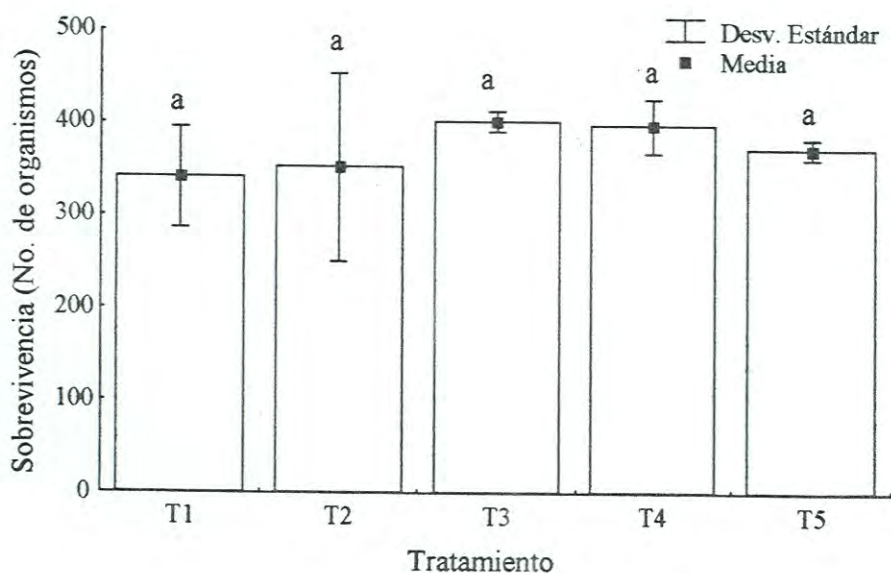


Figura 17. Supervivencia final de larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei* con las cinco dietas de microalgas utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.

### IV.3.- Longitud de las larvas.

#### IV.3.1.- Longitud de las larvas zoeas en el primer experimento.

En el desarrollo larvario de las zoeas se observó que los organismos alimentados con la dieta monoalgal de *Nannochloropsis oculata* no alcanzaron el estadio de zoea III por lo que no se hicieron mediciones de estas larvas; solamente se tomaron las mediciones del estadio de zoeas I.

La talla final de las larvas zoeas I no presentó diferencias significativas ( $\chi^2_{0.05,3}=0.100$ ;  $p>0.05$ ) entre los tratamientos, con valores de longitud que fluctuaron entre 0.80 y 0.82 mm (Fig. 18).

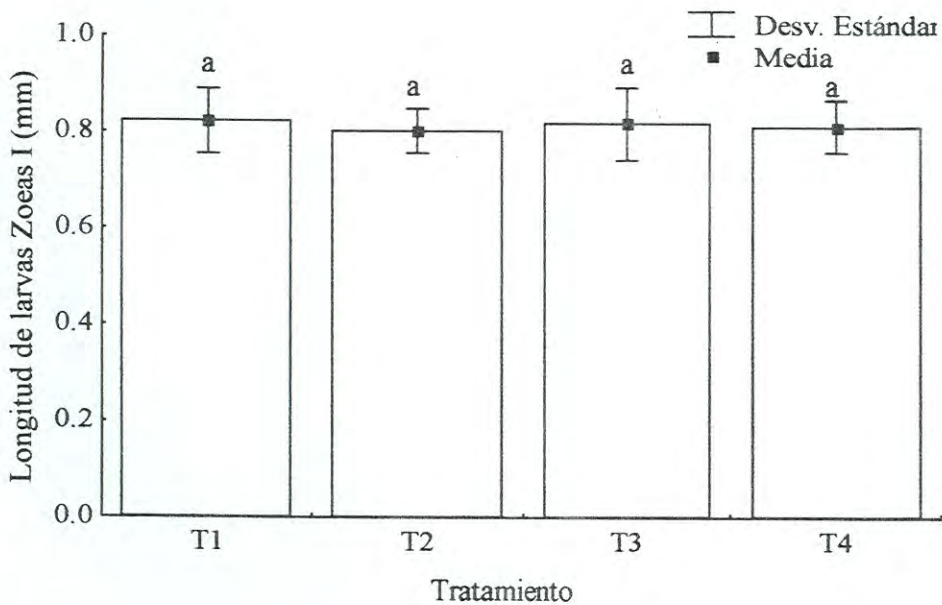


Figura 18. Longitud promedio (mm) de las larvas Zoeas I de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

En la longitud promedio de las larvas zoeas II se registraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $F_{0.05,2,42}=18.076$ ;  $p<0.05$ ). La longitud promedio de las larvas del tratamiento T1 que se alimentaron con la mezcla de *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* no fue significativamente diferente a la de las larvas del tratamiento T2 alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* (1.60 y 1.61 mm respectivamente). Sin embargo, el valor promedio de la longitud de las larvas del tratamiento T4 que se alimentaron con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana* (1.49 mm) fue significativamente menor al valor de las larvas de los tratamientos anteriores (Fig. 19).

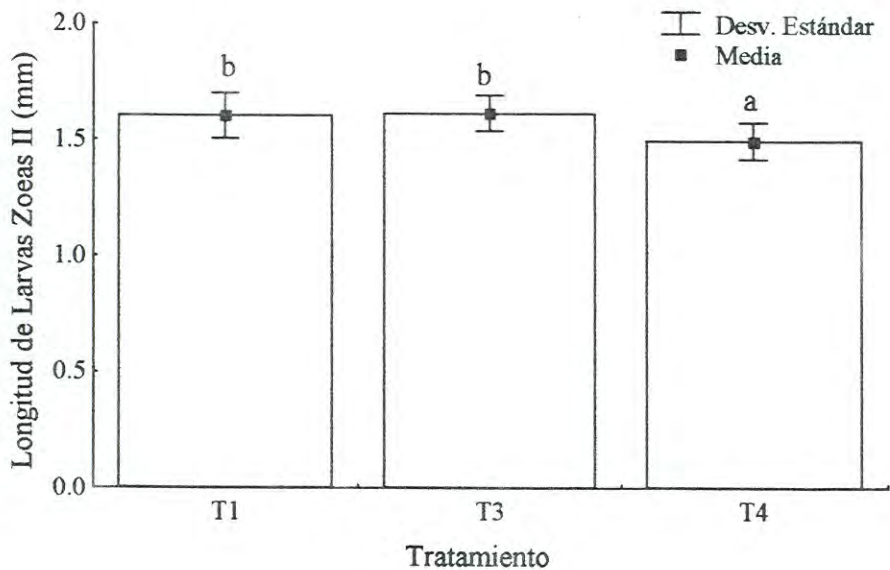


Figura 19. Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas II de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

Debido a que los datos de longitud de las larvas Zoeas III no presentaron homocedasticidad, se procedió realizar una prueba estadística de Kruskal-Wallis. Las longitudes promedio de las larvas entre los tratamientos tuvieron diferencias significativas ( $\chi^2_{0.05,2}=41.886$ ;  $p<0.05$ ). La mayor longitud promedio se obtuvo en las larvas del tratamiento T3 alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* (2.51 mm), mientras que la menor talla se registró en las larvas del tratamiento T4 alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana* (2.15 mm) (Fig. 20).

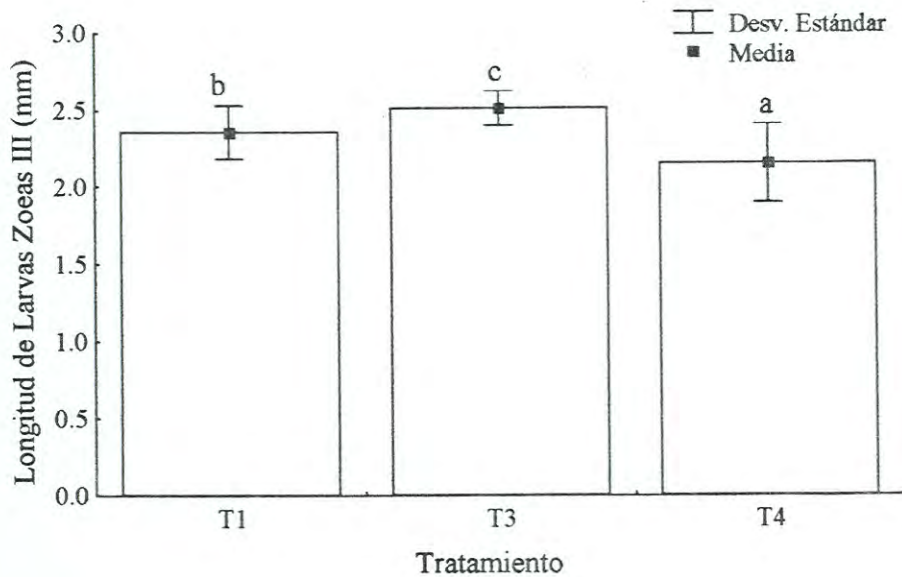


Figura 20. Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas III de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el primer experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.

#### IV.3.2.- Longitud de las larvas zoeas para el segundo experimento.

Las longitudes promedio de las larvas zoeas I de los distintos tratamientos no presentaron diferencias significativas ( $F_{0.05,4,70}=0.816$ ;  $p>0.05$ ); los valores fueron muy similares y fluctuaron entre los 0.840 y los 0.846 mm (Fig. 21).

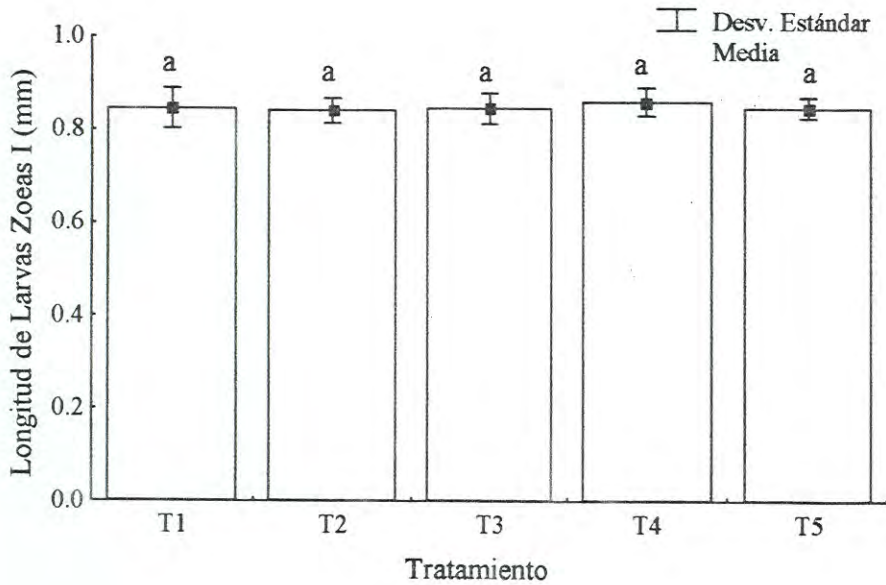


Figura 21. Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas I de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-150 \times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-300 \times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*  $75-375 \times 10^3$  cel/ml.

Las longitudes promedio de las larvas zoeas II del segundo experimento tampoco presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos ( $F_{0.05,4,70}=2.144$ ;  $p>0.05$ ); estos valores fluctuaron entre 1.58 y 1.64 mm (Fig. 22).

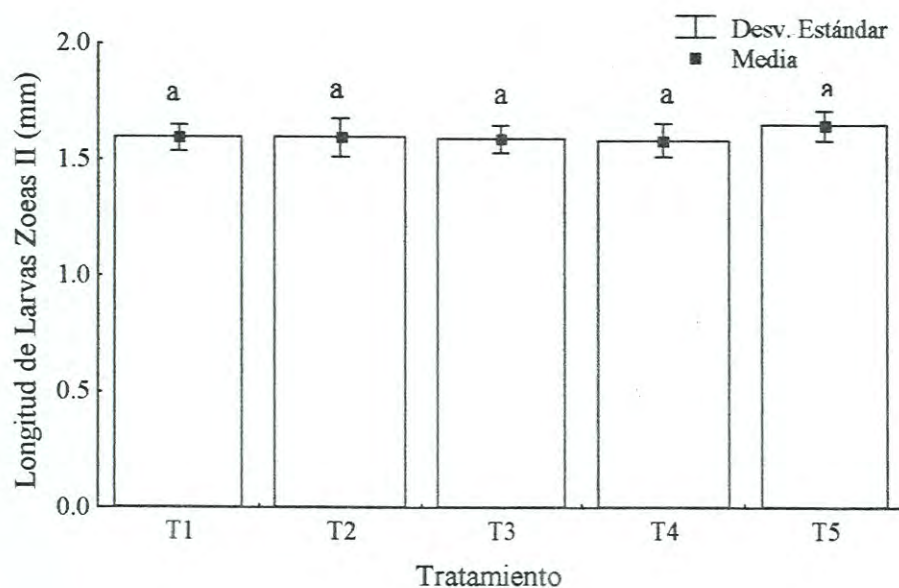


Figura 22. Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas II de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.

Las longitudes promedio de las larvas zoeas III del segundo experimento no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $F_{0.05,4,70}=1.726$ ;  $p>0.05$ ). Las tallas finales registradas variaron entre los 2.45 y los 2.54 mm (Fig. 23).

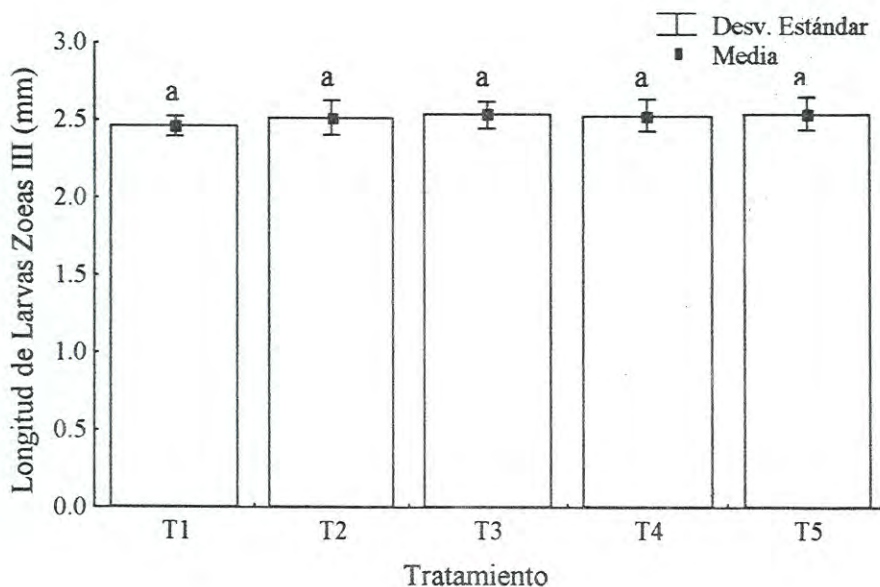


Figura 23. Longitudes promedio (mm) de las larvas Zoeas III de *Litopenaeus vannamei* utilizadas en el segundo experimento. Las letras diferentes marcan diferencias significativas con la prueba *a posteriori* de Diferencias Mínimas Significativas (LSD). T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.

#### IV.4.- Desarrollo larvario.

##### IV.4.1.- Desarrollo de las larvas zoeas en el primer experimento.

En las poblaciones del tratamiento T3, alimentadas con la mezcla de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*, un 80.57% de la población alcanzó el estadio de mysis I después de seis días de cultivo. Al término del mismo número de días sólo el 44.5% de las larvas del tratamiento T1, alimentadas con la mezcla de *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*, llegaron al estadio de mysis I, y muy pocas, el 3.8%, de las larvas del tratamiento T4, alimentadas con *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*, alcanzaron esta condición. Como ya se mencionó anteriormente, las larvas que recibieron la dieta monoalgal de *Nannochloropsis oculata* no sobrepasaron el estadio de zoea II (Fig. 24).

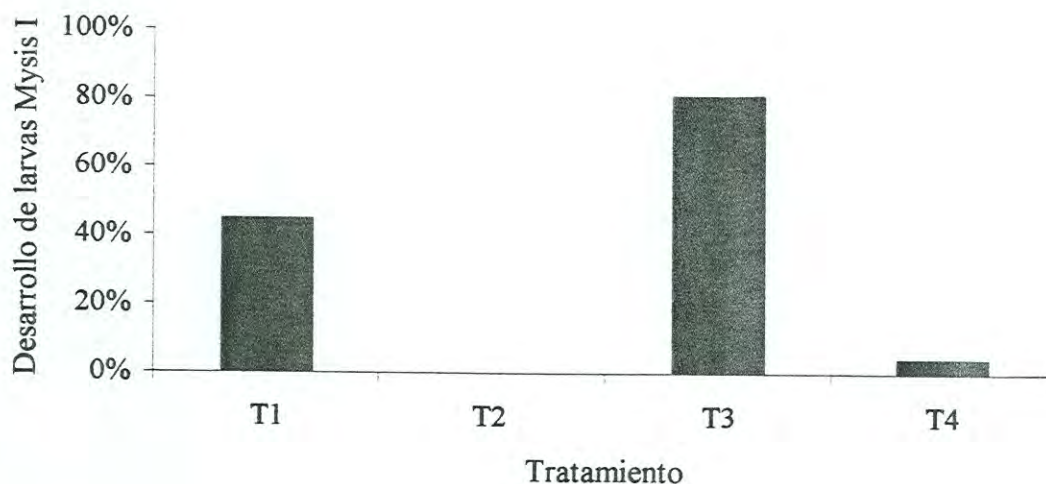


Figura 24. Desarrollo de las larvas Zoeas a Mysis I de *Litopenaeus vannamei* en el primer experimento. T1: *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*; T2: *Nannochloropsis oculata*; T3: *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri*; T4: *Nannochloropsis oculata* e *Isochrysis galbana*.



#### IV.4.2.- Desarrollo de las larvas zoeas en el segundo experimento.

A los seis días de cultivo las poblaciones alimentadas con las mezclas de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* registraron los mayores porcentajes de larvas en el estadio de mysis I (71.67%, 70.33% y 68.94% para los tratamientos T3, T4 y T5 respectivamente). Al final del mismo período de tiempo las poblaciones del tratamiento T2 alimentadas con la dieta monoalgal de *Chaetoceros muelleri* registraron un 47.6% de mysis I, y sólo el 13.6% de las larvas del tratamiento T1 alimentadas con la dieta monoalgal de *Isochrysis galbana* alcanzaron ese estadio (Fig. 25).

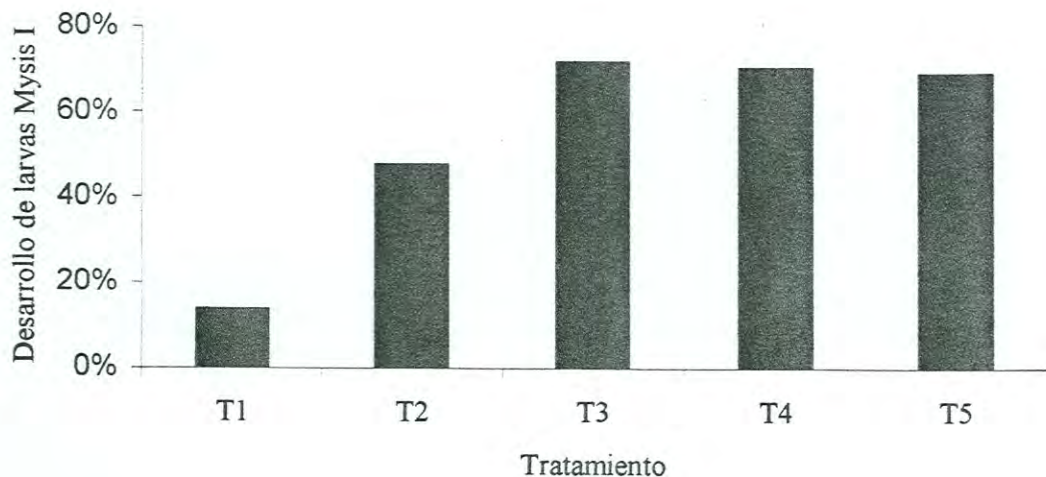


Figura 25. Desarrollo de las larvas Zoeas a Mysis I de *Litopenaeus vannamei* en el segundo experimento. T1: *Isochrysis galbana*; T2: *Chaetoceros muelleri*; T3: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-150  $\times 10^3$  cel/ml; T4: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-300  $\times 10^3$  cel/ml; T5: *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* 75-375  $\times 10^3$  cel/ml.

## V.- DISCUSIONES.

Si se consideran los parámetros zootécnicos como la sobrevivencia observada en el primer experimento, puede declararse que cuando la microalga *Nannochloropsis oculata* es utilizada en una dieta mono-específica no es adecuada para el cultivo de larvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*; juicio que se desprende de las altas mortalidades registradas en este estudio en las larvas sometidas a dicho tratamiento.

Por el contrario, las sobrevivencias observadas en las poblaciones experimentales de los tratamientos restantes fueron altas en todos los casos, y correspondieron a las expectativas que pueden generarse de la observación de las operaciones comerciales en las que esta especie de camarón es alimentada de manera exitosa.

En el segundo experimento, tanto la dieta mono-específica de *Chaetoceros muelleri* como la dieta mono-específica de *Isochrysis galbana*, produjeron valores altos de la sobrevivencia de las larvas zoeas en comparación con lo obtenido con *Nannochloropsis oculata*.

Aunque *Chaetoceros muelleri* es una especie de amplio uso en el larvicultivo de peneidos, para la que se ha demostrado que en dietas monoalgales puede sostener el estándar de producción en operaciones comerciales de producción de postlarvas de camarón; el uso de mezclas de microalgas es ampliamente difundido en estos laboratorios, ya que esta estrategia se considera como la alternativa más adecuada para ofrecer un amplio espectro de nutrientes, específicamente ácidos grasos.

Con relación a las dietas monoalgales en este segundo experimento, se observó que la dieta bio-específica de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*, produjo un incremento de la sobrevivencia, aunque sin significancia estadística. Es importante sin embargo mencionar esta cuestión, ya que como se verá más adelante, la adición de *N. oculata* en dietas bio-específicas mejoró los valores de otros parámetros zootécnicos.

Conforme transcurrió el primer experimento, en el crecimiento y desarrollo larval se observó un incremento estadísticamente significativo de la longitud promedio en las poblaciones alimentadas con la dieta mixta de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*, de tal manera que en el estadio de Zoea III esta dimensión fue significativamente mayor de la obtenida en las poblaciones experimentales alimentadas con la dieta

*Chaetoceros-Isochrysis* que fue menor, y que a su vez fue significativamente diferente del valor obtenido en las poblaciones experimentales alimentadas con la mezcla *Nannochloropsis-Isochrysis*, cuya longitud promedio fue aún mas pequeña.

Debe destacarse sin embargo que en el segundo experimento la longitud promedio de las poblaciones alimentadas no difirió estadísticamente en ningún caso, es decir que se obtuvieron las mismas tallas finales con las dietas monoalgales de *Chaetoceros* e *Isochrysis*, que con las dietas a base de mezclas de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata*. Esto puede hacer concluir desde esta perspectiva que la adición de esta última especie en la estrategia de alimentación no produce ningún efecto positivo en el estándar del cultivo, sin embargo si se recuerda que el porcentaje de transferencia entre los estadios de Zoea III y Mysis I al 6 día del cultivo fue mucho mayor en las poblaciones alimentadas con las mezclas de *Chaetoceros muelleri* y *Nannochloropsis oculata* en ambos experimentos, debe concluirse que esta última especie aporta sin duda algún elemento importante para el desarrollo larvario.

Puede decirse entonces con cierta propiedad desde la perspectiva zootécnica, que aunque la microalga *Nannochloropsis oculata* aplicada en dietas monoespecíficas no sostiene el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei*, su aplicación en mezclas mejora el estándar del cultivo. Sin embargo es necesario discutir primero algunos aspectos de la composición bioquímica de las microalgas y de las larvas antes de concluir este análisis.

Los componentes bioquímicos de las diferentes especies de microalgas pueden variar según las condiciones ambientales en que se desarrollen, como la temperatura, la salinidad, el pH, la fuente de nitrógeno, los medios de cultivo, la intensidad luminosa, la tasa de dilución del cultivo, la fase del cultivo en que se encuentre, etc. (Brown *et al.*, 1989; Sukenik y Wahnon, 1990; Nelson *et al.*, 1992; Sukenik *et al.*, 1993; Renaud *et al.*, 1991).

Durante el desarrollo de ambos experimentos, las condiciones ambientales de las unidades experimentales permanecieron prácticamente constantes, por lo que las concentraciones bioquímicas de las microalgas permanecieron así mismo relativamente constantes durante este periodo.

En general, las tres especies de microalgas utilizadas en este experimento presentaron la misma tendencia en cuanto a la composición de los constituyentes principales. Esto es, tuvieron una mayor concentración de proteínas, seguidas en mucho

menor grado por los lípidos, y por una concentración de carbohidratos ligeramente menor al respecto de estos últimos.

Para *Nannochloropsis oculata*, estos resultados concuerdan con lo reportado por Renaud *et al.* (1991) cultivada bajo condiciones muy similares a las de este experimento, y difieren de los resultados de Carrillo (2000) quién informa concentraciones bajas de proteínas, lo cual puede ser atribuible a condiciones de temperatura diferentes a las aquí manejadas.

Una composición bioquímica proximal similar a la registrada en este estudio para *Chaetoceros muelleri*, ha sido registrada por López-Elías (1999) y Carrillo (2000). Resultados similares han sido informados por otros autores para *Chaetoceros calcitrans* (Brown *et al.*, 1989; Renaud *et al.*, 1991; Boeing, 1999; Phatarpekar *et al.*, 2000).

Para el caso de *Isochrysis galbana* este mismo patrón en la composición bioquímica ha sido encontrada por varios autores (Brown *et al.*, 1989; Renaud *et al.*, 1991; Carrillo, 2000).

A pesar de la tendencia general comentada en su composición bioquímica, las microalgas utilizadas en este estudio presentaron una composición bioquímica en la que se observaron diferencias entre las proporciones de algunos de sus componentes, lo cual es más evidente la diferente composición de *Nannochloropsis oculata* al respecto de las demás especies.

Bajo las condiciones de este experimento, esta especie que es la más pequeña de las tres, presentó la mayor concentración de componentes orgánicos. Esta microalga tuvo también una concentración más grande de proteínas, de lípidos y de carbohidratos que *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana*, lo cual la hace desde la perspectiva de su composición bioquímica aparentemente adecuada para la nutrición de larvas de camarones.

La composición bioquímica de las larvas alimentadas con la dieta monoalgal de *Chaetoceros muelleri*, sugiere que los compuestos orgánicos de esta microalga son digeridos y asimilados eficientemente por las larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei*. Esta misma apreciación concuerda con los juicios de D'Souza y Loneragan (1999) para el caso de las larvas de *Penaeus japonicus*, y de Naranjo (1999) para el caso de *P. californiensis*.

Al respecto de los ácidos grasos presentes en las microalgas y bajo las condiciones de este trabajo, de las tres especies utilizadas *Nannochloropsis oculata* fue también la más

diferente. Esta especie presentó la mayor concentración total de ácidos grasos, así como la mayor variedad de éstos presentes en cualquiera de los grupos. Se distinguió por una alta concentración de ácidos monoinsaturados, los cuales fueron seguidos por los saturados, y los altamente insaturados, tal como es encontrado por Dunstan *et al.* (1993). No obstante, Carrillo (2000) encontró una mayor proporción de ácidos saturados que monoinsaturados, lo cual puede ser atribuible a las diferentes condiciones de cultivo.

Dentro de los ácidos grasos monoinsaturados, el grupo 16:1 fué el de mayor concentración, mientras que el palmítico (16:00) fue el más abundante dentro del grupo de los saturados. De los ácidos altamente insaturados destacó por su mayor concentración el ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5n-3), y en mucha menor concentración el araquidónico (20:4n-6). En general los registros mencionados coinciden con lo reportado por Dunstan *et al.* (1993).

A su vez, en *Chaetoceros muelleri* se encontró una mayor concentración de ácidos grasos saturados, seguidos por los monoinsaturados, resultados que concuerdan con los obtenidos por Napolitano (1990) y Carrillo (2000) para esta misma especie. Entre los primeros, el merístico (14:00) fue el más abundante, y entre los monoinsaturados, los del grupo 16:1 fueron los de mayor concentración, al igual que en *N. oculata*. De los ácidos altamente insaturados, también al igual que *N. oculata*, el más abundante fue el EPA (20:5n-3).

La composición de ácidos grasos de *Isochrysis galbana* fue muy similar a la de *Chaetoceros muelleri*, ya que se registró una mayor concentración de ácidos grasos saturados, seguidos por los monoinsaturados, los poliinsaturados, y en menor abundancia los altamente insaturados. Esto es similar a lo encontrado por Napolitano (1990), Dunstan *et al.*, (1993), Saoudi-Helis *et al.* (1994), y Carrillo (2000). Al igual que en *Chaetoceros muelleri*, también el ácido merístico y los del grupo de 16:1 fueron los de mayor concentración en los ácidos saturados y monoinsaturados respectivamente, así como los de 16 carbonos en el grupo de los poliinsaturados.

En el caso *Isochrysis galbana*, a diferencia de *Nannochloropsis oculata* y *Chaetoceros muelleri* se encontró una baja concentración de ácidos grasos altamente insaturados, con poca representatividad numérica en cuanto al tipo de estos ácidos presentes, ya que sólo se detectaron los ácidos 18:4(n-3) y el 22:6(n-3). Resultados

similares para esta especie son reportados por Napolitano *et al.*, (1990), Renaud *et al.* (1991), Dunstan *et al.*, (1993) y Saoudi-Helis *et al.*, (1994).

Los ácidos grasos esenciales son necesarios para el mantenimiento e integridad de las membranas celulares, se requieren para un transporte de lípidos óptimo y son precursores de prostaglandinas. Los ácidos grasos esenciales de cadena larga como el EPA (20:5n-3) y el Araquidónico 20:4(n-6) provienen de sus precursores el linoleico (18:2n-6) y el linolénico (18:3n-3) los cuales no pueden ser sintetizados *de novo* por los camarones, organismos que además tienen una muy limitada capacidad de sintetizar sus ácidos grasos de cadena larga a partir de dichos precursores por lo que se requiere que ambos tipos de ácidos grasos sean incluidos en la dieta para satisfacer las demandas metabólicas (Kanazawua, *et al.*, 1979, Jones *et al.*, 1997). Desde esta perspectiva es posible considerar que la aportación de ácidos grasos por parte de *I. galbana* es menos importante que la que ofrecen *C. muelleri* o *N. oculata*.

En cuanto a la composición bioquímica de las larvas, en los nauplios utilizados en estos experimentos, los ácidos grasos monoinsaturados fueron los que se encontraron en mayor concentración, seguidos por los altamente insaturados. D'Souza (1999), encontró que en los nauplios de *Penaeus spp.*, los ácidos grasos altamente insaturados fueron los de mayor concentración, seguidos por los saturados y los monoinsaturados. La concentración de ácidos grasos juega un papel muy importante en el desarrollo de las larvas, ya que como mencionan Mourente y Rodríguez (1997), el desarrollo larval y la metamorfosis dependen de la utilización eficiente de las reservas energéticas, especialmente de los lípidos.

En este estudio se observaron diferencias en la composición bioquímica de las larvas de los diferentes tratamientos, que al parecer son atribuibles al uso de la microalga *N. oculata* cuando ésta es utilizada como alimento único. Esto se sustenta porque en el primer experimento, las larvas del tratamiento en el que se utilizó la dieta monoalgal de esta especie tuvieron la composición bioquímica proximal más pobre, en el sentido de que su concentración de proteínas, lípidos y carbohidratos, fue menor que la de las larvas de los tratamientos restantes, cuya composición en este sentido fue prácticamente igual entre sí.

Las larvas alimentadas con la dieta monoalgal de *Nannochloropsis oculata* tuvieron una menor concentración de lípidos, seguidos por los carbohidratos y al final por las proteínas. Aunque las larvas alimentadas con las otras dietas también tuvieron una mayor

concentración de lípidos, presentaron una cantidad mayor de proteínas que de carbohidratos, lo anterior a pesar de que *N. Oculata* en sí, tuvo una alta concentración de proteínas con relación a las otras microalgas.

Con respecto a los lípidos, las larvas alimentadas con la dieta monoalgal de *N. oculata* tuvieron la menor concentración de ácidos grasos, con un valor muy similar al de los nauplios. Sin embargo, estas larvas tuvieron la mayor variedad de ácidos grasos en cualquiera de los grupos detectados, con respecto a las larvas de los otros tratamientos, de manera similar a lo registrado para las microalgas, ya que la mayor variedad de ácidos grasos se encontró en *N. oculata*, por lo que puede decirse que al parecer sí existe algún aporte de la microalga en términos nutricionales, además del aporte nutricional de la misma larva en sí, pero no el suficiente para sustentar el desarrollo larvario.

Dado lo anterior es posible que la pared celular de esta microalga fuera digerida de una manera poco eficiente, ya que además, según las observaciones realizadas *in situ* se observaron células no digeridas en el tubo digestivo y las heces fecales, tal como ha sido documentado por Sánchez (1986) y Carrillo (2000).

Las larvas de los tratamientos restantes, aunque presentaron una concentración de ácidos grasos más alta y muy semejante, presentaron una composición de éstos muy diferente entre sí. Aquéllas alimentadas con la mezcla *Chaetoceros muelleri* e *Isochrysis galbana* y las alimentadas con la mezcla *I. galbana* y *N. oculata* tuvieron altas concentraciones de ácidos monoinsaturados, no presentaron ácidos poliinsaturados, y tuvieron una escasa abundancia de ácidos altamente insaturados o ausencia de éstos, como fue el caso de las larvas alimentadas con la mezcla *I. galbana* y *N. oculata*.

Las larvas alimentadas con la mezcla *C. muelleri* y *N. oculata*, presentaron en cambio una muy alta concentración de ácidos altamente insaturados, y dada la importancia de este tipo de componentes de la dieta ya mencionada anteriormente, además de los resultados de la sobrevivencia y el desarrollo registrados en este estudio, puede considerarse que esta es la mejor dieta de todas las utilizadas en este trabajo para el cultivo de las zoeas de *Litopenaeus vannamei*.

El nivel de actividad enzimática juega un papel muy importante en la digestión del alimento, al respecto, Bengtson (1993) y Rodríguez *et al.* (1994) mencionan que en las larvas de camarones, los niveles enzimáticos están influidos por las dietas, y que el

incremento de dicha actividad puede ser una importante adaptación de las larvas a la alimentación con fitoplancton. Así, Donald (1990) y Rodríguez *et al.* (1994) documentan para *Penaeus setiferus* y para *P. japonicus* que las esterasas, las fosfatasas ácidas y alcalinas, las amilasas, tripsinas y proteasas están presentes desde los primeros estadios larvarios cuando éstas se alimentan con *Isochrysis sp.*, *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis chui*.

Para el caso que aquí compete, es probable que *Nannochloropsis oculata* sea poco eficiente en la promoción de la actividad de ciertas enzimas requeridas para el rompimiento de la pared celular, tal vez esa sea la causa de que al ofrecerse como único alimento a las larvas zoeas, no sustente el desarrollo larvario a pesar de su aparentemente adecuado perfil nutricional.

En el segundo experimento, el análisis estadístico de los resultados no detectó diferencias significativas en la composición proximal de las larvas de los diferentes tratamientos, y además la composición de ácidos grasos en las larvas de los tres tratamientos analizados, no tuvo una tendencia que pudiera relacionarse claramente con la observada en el análisis del primer experimento, por lo que en este caso poco puede discutirse sobre la relación de la composición bioquímica con los parámetros zootécnicos.

Sin embargo con relación a esto último, debe destacarse que en el segundo experimento las poblaciones alimentadas con las dietas monoalgales de *C. muelleri* y de *I. galbana*, aunque produjeron una sobrevivencia estadísticamente similar a la observada en las poblaciones alimentadas con las mezclas de *C. muelleri* y *N. oculata*, tuvieron un bajo porcentaje de transferencia al estadio de Mysis I, de manera mas acusada en el caso de la alimentación con *I. galbana*, por lo que desde esta perspectiva puede declararse que la adición de *N. oculata* como parte de una mezcla en la alimentación promueve cierto efecto positivo en el desarrollo larvario, que dentro de los rangos utilizados en el segundo experimento, dicho efecto no dependió de la concentración celular de *N. oculata* en la dieta.



## VI.- CONCLUSIONES.

- La microalga *Nannochloropsis oculata* tiene un perfil bioquímico proximal y una composición de ácidos grasos adecuados para la alimentación de larvas zoeas de *Litopenaeus vannamei*. Sin embargo, cuando la microalga *N. oculata* es aplicada como dieta monoalgal no es digerida eficientemente por las larvas zoeas, por lo tanto esta microalga por sí sola no es útil para el cultivo larvario de *L. vannamei*.
- La microalga *Chaetoceros muelleri* tiene un perfil bioquímico proximal y una composición de ácidos grasos adecuados para la alimentación de larvas zoeas de *L. vannamei*, y cuando es aplicada en una dieta monoalgal, es capaz de sustentar el desarrollo larvario de esta especie de camarón, incluso en los estándares zootécnicos requeridos por las operaciones comerciales de producción de postlarvas.
- Si la microalga *N. oculata* es suministrada en la alimentación de las zoeas de *L. vannamei* en mezcla con *Chaetoceros muelleri*, se mejora la tasa de desarrollo de las larvas con relación a la observada en poblaciones alimentadas con una dieta monoalgal de esta última especie de microalga. Por lo tanto la aplicación de *N. oculata* en mezcla con *C. muelleri* mejora el estándar del cultivo larvario y puede ser útil en operaciones comerciales.
- La mezcla de *N. oculata* con *Isochrysis galbana* aplicada en la alimentación larvaria de *L. vannamei*, produce resultados mas pobres en el estándar del cultivo larvario con relación a los obtenidos con la dieta monoalgal de *C. muelleri*, y con relación a los obtenidos con la mezcla de *C. muelleri* y *N. oculata*, aparentemente por la mas pobre composición de ácidos grasos en *I. galbana* y la digestión ineficiente de *N. oculata*. Por lo tanto esta mezcla no es útil para su utilización en operaciones comerciales.

## VII.- RECOMENDACIONES.

- Aunque este estudio no resultó ser del todo conclusivo a la utilidad de *Nannochloropsis oculata* como dieta monoespecífica, puede recomendarse su utilización en el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei* en operaciones comerciales en combinación con otras microalgas, ya que promueve un mas rápido desarrollo. Sin embargo es necesario tomar en cuenta las siguientes observaciones, para evaluar mas finamente su utilidad acuicultural en lo que a la alimentación de larvas de camarón se refiere:

La composición de ácidos grasos de *N. oculata*, cultivada en condiciones de laboratorio, fue rica desde la perspectiva que ofrece el análisis proximal y el análisis de los ácidos grasos, por lo que es necesario investigar si su potencial incluye el mantenimiento de estas cualidades al producirse en sistemas de cultivo masivo en condiciones ambientales variables diurna y estacionalmente, que son los sistemas típicos de producción de microalgas en los estados de Sinaloa y Sonora.

Es necesario dilucidar desde el punto de vista fisiológico la problemática de su digestión, para saber si estimula o no la actividad enzimática propia de la alimentación fitoplanctofaga al aplicarse como dieta monoalgal, o cuando se aplica en diferentes mezclas, para poder optimizar su aplicación en el cultivo larvario.

## VIII- LITERATURA CITADA.

- Akiyama, D. M. W. G. Dominy y A. Lawrence. ASA-Singapur. 1993. Nutrición de camarones peneidos para la industria de alimentos comerciales (*Penaeid shrimp nutrition for the commercial feed industry*) In: Memorias del Primer Simposium Internacional de Nutrición y Tecnología de Alimentos para Acuicultura. Cruz-Suarez, L. E.; Ricque Marie, D. y Mendoza-Alfaro (editores). Monterrey N. L. 43-80 pp.
- 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.
- Arredondo-Figueroa, J. L. 1990. Análisis del cultivo de camarón en México al término de 1989. La Acuicultura en México: de los conceptos a la producción. Instituto de Biología. UNAM. 77-104 p.
- AOCS, 1993. Preparation of methyl esters of long-chain fatty acid composition by gas chromatography. In: Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 15<sup>th</sup> by the association of official analytical chemists, Inc. USA. Edit. By Kenneth Heltich.
- Báez, M. C., A. López-Eliás; L. Bringas y S. Galaviz M. 1993. Nutrición. En: Cultivo de camarones peneidos. R. Martínez-Cordoba (ed.). 283pp.
- Bengtson, D. 1993. A comprehensive program for the evaluation of artificial diets. Journal of the world aquaculture society. Vol. 24, No.2. 285-293p.
- Boeing, Phil. 1999. Larval Feed Alternatives. Citado en [www.aquafauna.com](http://www.aquafauna.com)

- Brow, R. M., S. W. Jeffrey y C. D. Garland. 1989. Nutritional aspects of Microalgal used in Mariculture; a literature review. CSIRO ed. CSIRO Marine Laboratories Report 205, Australia 44 pp.
- Carrillo-Sánchez, 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.
- Chiu-Liao, I. y T. Lang-Huang. 1982. Status and prospect of the culture of two important Penaeid prawns in Asia. IV Simposio latinoamericano de Acuicultura, Memorias. ALA, Panamá. 1-32 pp.
- Covin, L. y C. Brand. 1977. Meeting the protein requirement of Penaeid shrimp at various life-cycle stages with compounded diets in controlled environment systems. J. World Mariculture Soc. 8:821-840
- Bligh, E. and W. Dyer. 1959. Rapid method of total lipid extraction and purification. J. Biochem. Physiol.; 37:911-917 pp.
- De Pauw, N., J. Morales; and J. Persoone. 1984. Mass culture of microalage in aquaculture system: progress and constraint. Hydrobiologia. 116/117:121-134
- De Pauw N. and G. Persoone. 1988. Micro-algae for aquaculture. 197-221 In: M.A. Borowitzka (Eds.) Micro-algal biotechnoly. Cambridge University Press.
- De Petrocellis, L. and V. Di Marzo. 1994. Aquatic invertebrates open up new perspectives in eicosanoid research. Biosynthesis and bioactivity. Prosta-glandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids 51: 215-229.

- D'Souza 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.
- Dubois, M. G., J. Gilles and P. Hamilton. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28:350-356 pp.
- 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.
- D'Souza, F. M. L. y n. R. Loneragan. 1999. effects of mono specific and mixed-algae diets on survival, development and fatty acid composition of penaeid prawn (*Penaeus* spp.) larvae. *Mar. Biol.* 133:621-633 pp.
- James, C. M. and T. S. Abu-Rezeq. 1988. Effect of different cell density of *Chlorella capsulata* and a marine *Chlorella* sp. for feeding the rotifer *Brachimus plicatilis*. *Aquaculture*, 69:43-56.
- 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. 6.353-389.
- Jory, D. E. 1996a. Penaeid Shrimp Hatcheries: Part I, An Overview of Current Practices and Methods. *Aquaculture Magazine* September/October. 85-91p
- Jory, D. E. 1996b. Penaeid Shrimp Hatcheries: Part II, Broodstock Maturation. *Aquaculture Magazine* November/December. 77-86p
- Jory, D. E. 1996c. Penaeid Shrimp Hatcheries: Part III, Larval Rearing. *Aquaculture Magazine* January/February. 67-75p.

- Kuban, F. D., Lawrence, A. L. y Wilkiefeld, J. S. 1985. Survival metamorphosis and growth of larvae from four penaeid species fed six food combinations. *Aquaculture*. Amsterdam 47:151-162.
- Kanazawa, A., Teshima, S., y Ono, K. 1979. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. *Comp. Biochem. Physiol.*, 63B:295-298.
- Leger, P. And P. Sorgeloos. 1992. Optimized Feeding Regimes in Shrimp Hatcheries *In: Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Arlo W. Fast and L. J. Lester (eds). Elsevier Science Publishers B. V. 225-243 pp.
- Lim, C., H. Ako; C. L. Brown and K. Hahn. 1997. Growth response and fatty acid composition of juvenile *Penaeus vannamei* fed different sources of dietary lipid. *Aquaculture*, Vol 151(1-4) 143-153 pp.
- Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough; A. L. Farr y R. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193:265-275 pp.
- López-Eliás, J.; Ma. C. Baez-Dueñas y N. Huerta-Aldaz. 1993. Manual de técnicas analíticas aplicadas al cultivo de microalgas. Departamento del Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, Universidad de Sonora. 93 pp
- López-Eliás, A.R. Encinas; A.C. García; J. Vladés y F. Hoyos. 1999. Producción anual de *Isochrysis* sp. y *Chaetoceros muelleri* Lemmerman en un centro acuícola en Bahía Kino, Sonora. *Oceanides*, 13(2), 14(1):59-65.
- Malara G. and R. Charra. 1972a. Dosage des protéines particulières de selon la méthode de Lowry. Université de Paris. Station Zoologique. Villefranche-Sur-mer. Notes de travail No. 5, 11 pp.

- Malara G. and R. Charra. 1972b. Dosage des glucides particuliers de phytoplancton selon la méthode de Dubois. Université de Paris. Station Zoologique. Villefranche-Sur-Mer. Notes de travail No. 6, 12 pp.
- 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., Guarda,-S.; Cowell,-L.E.; Heffernan,-P.B. 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, pp. 357-377
- Paniagua-Michel, J., L. F. Bückle R.; C. Granados M. y D. H. Loya S. 1986. Manual de metodologías y alternativas para el cultivo de microalgas. Informe especial OCS-86-01. CICESE, Ensenada 93 pp
- 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.
- Renaud, S. M., D. L. Parry, L. V. Thinh; C. Kuo; A. Padovan and N. Sammy. 1991. Effect of light intensity of the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture. *Journal of Applied Phycology* 3:43-53,1991

- 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.
- Rueda-Jasso, R. A. 1996. Efecto nutricional de tres microalgas y una cianobacteria en el cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* Muller: 1786. *Ciencias Marinas CICIMAR*, 22(3)313:328 pp.
- Sánchez M., R. 1986. Efecto nutricional relativo de cuatro especies de algas como alimento de larva de *Penaeus vannamei*. *Aquaculture* 58:139-144
- 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* 6:315-322.
- Stanley-Samuels, D. W. 1987. Physiological roles of prosta-glandins and other eicosanoids in invertebrates. *Biological Bulletin* 173:92-109.
- 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., Odi Zmora and Y. Carmeli. 1993. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. II. *Nannochloropsis* sp. *Aquaculture*, 117:313-326
- Tacon, A. G. 1989. nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. *Manual de capacitación*. FAO-Italia. 572pp.



- Tamaru, C. S., R. Murashige, C. Lee, H. Ako and V. Sato. 1993. Rotifers fed diets of baker's yeast and/or *Nannochloropsis oculata* and their effect on the growth and survival of striped mullet (*Mugil cephalus*) and milkfish (*Chanos chanos*) larvae. *Aquaculture*. Vol. 110 (3-4)361-372 pp
- Trujillo, V. Y D. Voltolina. 1994. Cultivo de microalgas para la acuicultura. *Serie Cient.*, Vol 2 (No. Esp. Microalgas 1) 73:86.
- Watanabe, T., F. Oowa, C. Kitajima and S. Fujita. 1978 . Nutritional quality of brine shrimp *Artemia salina* as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Bulletin of Japanese Society of Scientific Fisheries* 40:1115-1122.
- Zar, H. J., 1974. *Biostatistical Analysis*. Second edition. Prentice-Hall. 718 pp