

Centro de Investigacion Cientifica y de Educacion Superior de Ensenada

EVALUACION NUTRICIONAL DE *Artemia franciscana*
Kellogg, 1906, CRUSTACEA ; BRANCHIOPODA
ALIMENTADA CON *Chaetoceros* sp. ENRIQUECIDO
CON FOSFOLIPIDOS EN EMULSION

TESIS

MAESTRIA EN CIENCIAS

EDUARDO JUAREZ CARRILLO

ENSENADA, B. C. MEXICO. ABRIL DE 1995.

RESUMEN de la tesis de Eduardo Juárez-Carrillo presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en OCEANOLOGIA con opción en ECOLOGIA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Abril de 1995.

"EVALUACION NUTRICIONAL DE *Artemia franciscana*, Kellogg, 1906, (CRUSTACEA:BRANCHIOPODA) ALIMENTADA CON *Chaetoceros* sp. ENRIQUECIDO CON FOSFOLIPIDOS EN EMULSION

Resumen aprobado por:

Se presentan los resultados de dos experimentos de alimentación de *Artemia franciscana* con la microalga *Chaetoceros* sp., dos emulsiones de fosfolípidos. La primera en base seca y la segunda emulsificada en aceite de Macarela. Los fosfolípidos se administraron en concentraciones de 2.5%, 5% y 7.5%, en base al peso seco de microalga.

La dieta propuesta en este trabajo para *Artemia franciscana* resulta en mejores tasas de crecimiento pues la formación de primeras parejas permanentes es de 11 días.

Se observan efectos benéficos de la adición de los fosfolípidos, en concentraciones de 2.5% tanto en base seca o en aceite de macarela, sobre la sobrevivencia de *Artemia franciscana*. El efecto de los fosfolípidos en el crecimiento no es claro.

La composición química de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con fosfolípidos se ve modificada sólo en los porcentajes de lípidos. Esta mejoría es de aproximadamente un 80% más con respecto al control.



CICESE



ACUICULTURA

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

DIVISIÓN DE OCEANOLOGÍA

DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA

"EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE *Artemia franciscana*,
Kellogg, 1906, (CRUSTACEA:BRANCHIOPODA)
ALIMENTADA CON *Chaetoceros* sp. ENRIQUECIDO CON
FOSFOLÍPIDOS EN EMULSIÓN.

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos
necesarios para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS
presenta

Biol. EDUARDO JUÁREZ CARRILLO

Ensenada, B. C., México. Abril de 1995

NUTRITIONAL EVALUATION OF *Artemia franciscana*, Kellog,
1906, (CRUSTACEA:BRANCHIOPODA) FED WITH *Chaetoceros* sp.
ENRICHED WITH EMULSIFIED PHOSPHOLIPIDS.

ABSTRACT

Results of two experiments are presented on the feeding *Artemia franciscana* with the microalgae *Chaetoceros* sp. supplemented with two different phospholipid emulsions. The first with phospholipids in powder form and the second emulsified in mackerel oil. Phospholipid concentrations based on the dry weight of microalgae of 2.5%, 5% and 7.5% were tested.

The during this work chosen feeding regime for *Artemia franciscana* in rapid metamorphosis and the formation of permanent couples in only 11 days.

The addition of phospholipids in a concentration of 2.5%, as well in powder form as emulsified in mackerel oil resulted in a higher survival rate of *Artemia franciscana*. The in a higher survival rate of *Artemia franciscana*. The effect of phospholipids on the growth rate is not clear.

Feeding *Artemia franciscana* with phospholipids changed only the concentration of lipids which was 80% higher than the control. The concentration of proteins and carbohydrates was not changed significantly through the supplementation with phospholipids.

DEDICATORIA.

Quiero dedicar este trabajo a mis padres Hugo y Nini por haberme brindado siempre su apoyo y cariño, para ustedes mil gracias sin su apoyo no hubiera sido posible.

También quiero dejar patente mi infinito agradecimiento a mis hermanos: Hugo, Willy, Betty, Tita, Claudia, Nacho y Marcela. A mis cuñadas y cuñados, Marbella, Adriana, Peque, Rene y Arturo. Hay siete pequeños ciudadanos de este mundo a los que quiero mucho y vayan para ellos mis mejores deseos, Leslie, Hugo, Karina, Alejandra, Melisa, Daniela y Adrianita.

A la memoria de mi amigo Biol. Edgardo Minjares Lozano.

AGRADECIMIENTOS.

Expreso mi sincero agradecimiento al Dr. Ludwig Naegel por la asesoría y apoyo brindado al presente trabajo.

A los miembros de mi comité de Tesis: Dra. Diana Tentori Santacruz, Dra. Teresa Viana Castrillon, Dr. Francisco Correa Sandoval, Dr. Jesús Paniagua Michell.

Al M. en C. Ana Denisse Re Araujo por el apoyo brindado al principio de éste trabajo.

Al Dr. Domenico Voltolina por los consejos y regaños durante la fase de cultivo de microalgas.

A las Dra. Pilar Sánchez Saavedra y Dra. Beatriz Cordero Esquivel. y el Ocean. Gabriel Correa Reyes por su apoyo durante la fase experimental.

Al Ocean. Leticia Monroy Lara por su apoyo y asesoría durante los análisis químicos.

Al M. en C. Lourdes Trujillo Valle por facilitarme la cepa de microalga utilizada en el experimento.

Al Biol. Norberto Flores por su apoyo y sabios consejos.

Al CICESE por el apoyo brindado.

Al Departamento de Acuicultura y su personal.

Al Sr. David y Sra. Lourdes Ruedas y sus hijos Pipo, Yaya y Lulú. También a Adriana, el Chacha y Deivid.

A Abbie, Linda, Lupita y Ana Rosa.

Al Dr. Francisco Ulbrich y Sra. Mirna Ulbrich por su apoyo durante mi estancia en Ensenada.

A mi **ALMA MATER** la H. Universidad de Guadalajara porque de ella vengo y hacia ella voy.

Elisa, Alfredo, Alf, Mari, Gabo, Lety, Mónica, Siu, Iriana, Carla, Maggie, Pepe, Ponchito, Lupita y Luis Enrique, por los momentos padres que pasamos.

Al CONACyT por la beca otorgada.

Al M. en C Miguel Humberto Carrillo Mendivil y familia.

Al DREAM TEAM.

CONTENIDO

	<u>PAGINA</u>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	9
III. ANTECEDENTES	10
IV. METODOS Y MATERIALES	14
IV.1 SELECCIÓN DE MICROALGAS	14
IV.2 QUISTES Y NAUPLIUS	16
IV.3 BIOENSAYO DE ALIMENTACIÓN	17
IV.4 EMULSIÓN Y LIPOSOMAS	18
IV.5 SELECCIÓN DE LA LECITINA	19
IV.6 SOBREVIVENCIA	20
IV.7 CRECIMIENTO	22
IV.8 ANÁLISIS QUÍMICO	23
V RESULTADOS	26
V.1 CULTIVO DE <i>Chaetoceros</i> sp.	26
V.2 CRECIMIENTO DE <i>Artemia franciscana</i> ALIMENTADA CON <i>Chaetoceros</i> sp. Y DISTINTAS EMULSIONES DE FOSFOLÍPIDOS	30
NAUPLIUS	30
JUVENILES	31
ADULTOS	32
V.3 SOBREVIVENCIA	39
ALIMENTACIÓN DE <i>Artemia franciscana</i> CON <i>Chaetoceros</i> sp./FOSFOLÍPIDOS	39

CONTENIDO (Continuación)

V.IV.	ANÁLISIS QUÍMICO DE ADULTOS DE <i>Artemia franciscana</i> ALIMENTADA CON <i>Chaetoceros sp./FOSFOLÍPIDOS</i> Y <i>Chaetoceros sp./FOSFOLÍPIDOS</i> EN EMULSIÓN	47
	PROTEÍNAS	47
	CARBOHIDRATOS	47
	LÍPIDOS	48
	PESO SECO ORGÁNICO	49
	MATERIA ORGÁNICA	49
VI	DISCUSIÓN	60
	VI.1 ALIMENTACIÓN DE <i>Artemia franciscana</i>	60
	VI.2 CRECIMIENTO	62
	VI.3 SOBREVIVENCIA	66
	VI.4 VALOR NUTRICIO <i>Artemia franciscana</i>	69
VII	CONCLUSIONES	74
	LITERATURA CITADA	75

LISTA DE FIGURAS

<u>FIGURA</u>		<u>PÁGINA</u>
1	Valores promedio de la densidad óptica (a 550 nm), antes y después de diluir, del cultivo semicontinuo de <i>Chaetoceros</i> sp.	28
2	Valores promedio de temperatura del cultivo semicontinuo de <i>Chaetoceros</i> sp.	28
3	Valores promedio de pH durante el cultivo semicontinuo de <i>Chaetoceros</i> sp., con suministro constante de CO ₂ .	29
4	Valores promedio de salinidad del cultivo semicontinuo de <i>Chaetoceros</i> sp.	29
5	Curva de crecimiento promedio de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos (A) y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión (B)1.	34
6	Valores promedio de sobrevivencia de <i>Artemia</i> cultivada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos (A) y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión (B).	41

LISTA DE TABLAS

<u>TABLA</u>		<u>PÁGINA</u>
I	Régimen alimenticio propuesto por de Tackaert, 1987 y régimen propuesto para el presente trabajo.	18
II	Tallas promedio y desviación estándar, de adultos de <i>Artemia franciscana</i> alimentadas con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión.	35
III	Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis (K-W), para el tamaño de los nauplius de <i>Artemia franciscana</i> al eclosionar. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	35
IV	Tallas promedio y desviación estándar, de juveniles de <i>Artemia franciscana</i> alimentadas con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y <i>Chaetoceros</i> sp. fosfolípidos en emulsión.	35
V	Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis (K-W), para la talla de los juveniles de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos, al sexto día de iniciado el experimento. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	36
VI	Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, para el tamaño de los juveniles de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión, al sexto día de iniciado el experimento y comparación múltiple por el método de Dunn (Q). Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	36
VII	Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, para tallas de los Adultos de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y comparación múltiple por el método de Dunn. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	37
VIII	Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, para tallas de Adultos de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión y comparación múltiple por el método de Dunn. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	38

LISTA DE TABLAS (Continuación)

IX	Sobrevivencia promedio y error estándar, de sobrevivencia de adultos de <i>Artemia franciscana</i> alimentadas con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión.	42
X	Análisis de Varianza no paramétrico de Kuskal-Wallis (K-W), calculado con los valores de la sobrevivencia para los días 3, 6, y 11, en <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	43
XI	Análisis de Varianza de una vía paramétrico, calculado con los valores de sobrevivencia para los días 2, 4, 6, 8 y 10 en <i>Artemia franciscana</i> , alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp y fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	44
XII	Valores promedio, diferencia de medias, número de medias en el rango (p), rango de student (q) y comparaciones a posteriori vía SNK, de los valores de sobrevivencia para las diferentes fechas, para <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	45
XIII	Porcentaje y desviación estándar de los porcentajes de proteína equivalente de adultos de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión.	51
XIV	Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis, de los porcentajes de proteína equivalente de adultos de <i>Artemia franciscana</i> , alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	51
XV	Comparación múltiple por el método de Dunn, de los porcentajes de proteínas equivalente de adultos de <i>Artemia franciscana</i> , alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos y <i>Chaetoceros</i> sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.	52

LISTA DE TABLAS (Continuación)

- XVI** Porcentaje de carbohidratos y desviación estándar de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$. 53
- XVII** Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis, de los porcentajes de carbohidratos de adultos de **Artemia**, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$. 53
- XVIII** Comparación múltiple por el método de Dunn, de los porcentajes de proteína de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$. 54
- XIX** Porcentaje y desviación estándar, de lípidos (en peso seco) de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$. 55
- XX** Análisis de varianza de una vía paramétrico, de los porcentajes de lípidos (en peso seco) de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha= 0.05$. 55
- XXI** Valores promedio, diferencia de medias, número de medias en el rango (p), rango estudentizado (q) y comparaciones *a posteriori* vía SNK, de los porcentajes de lípidos para adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha= 0.05$. 56
- XXII** Porcentaje y desviación estándar de peso orgánico seco, de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$. 57

LISTA DE TABLAS (Continuación)

- XXIII** Análisis de varianza de una vía paramétrico, de los porcentajes de peso orgánico seco de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. 57
- XXIV** Valores promedio, diferencia de medias, número de medias en el rango (p), rango estudentizado (q) y comparaciones a *posteriori* vía SNK, de los porcentajes de peso seco orgánico para adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. 58
- XXV** Porcentaje y desviaciones estándar de proteínas, carbohidratos, lípidos, porcentaje de peso seco orgánico y total de materia orgánica explicada, de adultos *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. 59

EVALUACIÓN NUTRICIONAL DE *Artemia franciscana* KELLOG, 1906,
(CRUSTACEA:BRANCHIOPODA) ALIMENTADA CON *Chaetoceros* sp.
ENRIQUECIDO CON FOSFOLÍPIDOS EN EMULSIÓN.

I INTRODUCCION

La utilización de los nauplius del Crustáceo Branchiopodo *Artemia* spp. en la acuicultura esta ampliamente distribuída, el 90% de los criaderos de larvas de peces y crustáceos la utilizan en conjunto con las microalgas como primer alimento (Watanabe et al., 1983). Además, la utilización de biomasa viva de adultos de *Artemia* es también muy popular, especialmente para la maduración gonádica de camarones peneidos (Sorgeloos com. pers.)

Seale (1933) y Rollefson (1939) (citado por Léger et al., 1986). fueron los primeros en señalar que el uso de los nauplius era adecuado para la cría de larvas de peces y crustáceos carnívoros

Artemia fué descrita por primera vez por Schlosser en el año de 1755 (Persoone y Sorgeloos, 1980) y es muy utilizado como objeto de experimentación biológica y médica (Douilliet, com. pers.)

Artemia es un crustáceo de la Clase Branchiopoda, Orden Anostraca (Barnes, 1984; Brusca y Brusca, 1990) distribuido en los cinco continentes desde las latitudes

bajas hasta latitudes medias, tanto en la zona costera como en regiones alejadas por cientos de kilómetros de las costas. Presenta una historia de vida que empieza con un huevo; en el cual se desarrolla un embrión que al eclosionar resulta en una larva tipo naupli, que después de una serie de cambios metamórficos pasa a ser una larva tipo metanaupli, juvenil y por último adulto (Sorgeloos, 1980).

Una de las características importante de *Artemia* es la producción de quistes (embriones en diapausa o aquiescencia) que se da cuando las condiciones del medio no son las adecuadas para el crecimiento y la reproducción ovovivípara. Los quistes son liberados al medio y eclosionan cuando las condiciones ambientales son las adecuadas, pudiendo pasar para esto grandes períodos de tiempo (hasta diez mil años).

Se las encuentra en pozas y lagos salados o carbonatados donde el rigor ambiental es extremo, soportando salinidades de hasta 340 ppm. Por las condiciones propias estos biotopos, existen pocos depredadores y organismos que compitan con *artemia*, ocasionando que muchas veces sostengan a una población con características particulares (Sorgeloos, 1980). No tolera temperaturas superiores de 35°C ni menores de 6°C. Se le encuentra en zonas donde las concentraciones de oxígeno oscilan desde 1 ppm hasta la saturación. (Persoone, 1980).

La *Artemia* es un filtroalimentador no selectivo, utiliza los apéndices torácicos para nadar, respirar, así como para coleccionar partículas de alimento. El tamaño de las partículas a ser ingeridas debe de ser de entre 20 a 30 μ m para los nauplius y no mayores de 50 μ m para los adultos (Dobbeleir et al., 1980)

El alimentar larvas de peces y crustáceos, exclusivamente con *Artemia*, produce con frecuencia altas mortalidades en varias especies de peces marinos, Algunas especies de lenguado, la lisa *Liza haemotocheila*, el salmón *Plecoglossus altivelis* y las larvas del Carangidae cola amarilla *Seriola quinqueradiata* se ven muy afectadas por este fenómeno. Además, se han registrado grandes pérdidas de peso en larvas de cangrejos, camarones y peces alimentados con larvas de *Artemia* del lago Utah (Watanabe et al., 1983).

En Japón, hacia los principios de los ochenta, las larvas de *Chysophyrus major* se cultivaban en grandes cantidades alimentándose con rotíferos y *Chlorella*. Encontrándose que cuando se alimentaba a los rotíferos con levadura, las larvas presentaban patologías como; coloración negra, pérdida de apetito, aletargamiento y grandes mortalidades. Atribuyéndose estos síntomas a deficiencias en los ácidos grasos esenciales de rotíferos, *Chlorella* sp. y levaduras. Los síntomas observados en estos organismos eran

muy similares a los observados cuando se utilizaban nauplius de *Artemia* (Watanabe, 1983).

Artemia puede ser clasificada en base a su composición de ácidos grasos como del tipo marino o del tipo de agua dulce. La del tipo de agua dulce contiene grandes concentraciones de ácidos grasos del tipo 18:3 ω 3 (ácido linolénico) que es un ácido graso esencial para las larvas de peces de agua dulce. El tipo marino tiene altas concentraciones del AG 22:6 ω 3 (ácido docosahexaenóico) y 20:5 ω 3 (ácido eicosapentaenóico) que son esenciales para peces marinos (Watanabe, 1980).

Fukusho (1974) demostró que al alimentar a los nauplius de *Artemia* con copépodos marinos de los géneros *Tigropus* sp. y *Acartia* sp. el valor nutritivo de este organismo se mejoró. Además, Watanabe et al. (1983) mencionan que *Artemia* alimentada con *Chlorella* sp. y levaduras- ω , ambas con altas concentraciones de ácidos grasos esenciales, su valor nutritivo aumentó.

La calidad nutritiva de *Artemia* puede ser manipulado de distintas maneras. Mediante la alimentación de distintas microalgas, levaduras- ω , microcápsulas y emulsiones (Léger, et al., 1986). El uso de microalgas para el enriquecimiento de *Artemia*, no es muy recomendado, pues son pocas las microalgas que son ricas en AG esenciales, 20:5 ω 3 (ácido eicosapentaenóico) y 22:6 ω 3 (ácido docosahexaenóico),

este último poco común en microalgas. El uso de levaduras es bueno para mejorar los perfiles de AG pero la disponibilidad de éstas en el mercado es poca. La utilización de dietas formuladas emulsificadas en aceites que contengan grandes concentraciones de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en inglés highly unsaturated fatty acids) es tal vez la mejor manera para el enriquecimiento de *Artemia* a gran escala. Por su parte Ozkizilcik y Chu (1994 a y b) manipulan los perfiles de AG. en nauplius de *Artemia* mediante la alimentación de liposomas.

El conocimiento de los requerimientos nutricionales de los organismos acuáticos aún es escaso. Este es el reto más grande en la industria acuícola. La producción animal terrestre se basa principalmente un pequeño número de especies. En cambio en la acuicultura existe una amplia variedad de especies con posibilidades de ser explotadas comercialmente y los requerimientos de una especie en particular, no son necesariamente aplicables a otra especie de la misma familia zoológica (Hertrampf, 1991).

El aumento de la rentabilidad en la producción de crustáceos sólo será mejorado en los próximos años, con el mejor conocimiento de sus requerimientos nutricios (Hertrampf, 1991). Consecuentemente, el metabolismo de los lípidos y el papel de los fosfolípidos en varias especies de crustáceos es estudiado por un gran número de investigadores.

Los lípidos son un grupo heterogéneo de sustancias, encontradas tanto en tejidos vegetales como animales, se caracterizan por ser relativamente insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, como el éter, cloroformo y benceno (Tacon, 1990). Se pueden clasificar en dos grupos básicos; los basados en el alcohol glicerol y los basados en compuestos diferentes al glicerol (ceras, cerebrosidos, esteroides, terpenos y las sifinosielinas). Los primeros a su vez se clasifican en simples y compuestos. Los simples incluyen a los triglicéridos (grasas y aceites) y los compuestos a los Glicolípidos (glucolípidos y galactolípidos) y los fosfolípidos (lecitinas y cefalinas o también conocidas como lípidos polares) (Hertrampf, 1991; Tacon, 1990).

Los lípidos son una fuente importante de energía metabólica, como lo es el Adenosin Trifosfato (ATP). Entre los nutrientes principales (lípidos, carbohidratos y proteínas), los lípidos son los compuestos más energéticos, el valor global de cada uno es el siguiente; lípidos 9.5 Kcal/g, Proteínas 5.6 Kcal/g y carbohidratos 4.1 Kcal/g.

Los lípidos son componentes esenciales de todas las membranas celulares y subcelulares, sirven como vehículo biológico en la absorción de vitaminas liposolubles A, E y K. Son fuente de ácidos grasos esenciales, mismos que son indispensables para el crecimiento y la integridad de las membranas celulares. Se requieren para el óptimo transporte

lipídico (ligados a los fosfolípidos como agentes emulsificantes) y son precursores de la hormona prostaglandina. Son un colchón mecánico de los órganos vitales y ayudan en el mantenimiento de la flotabilidad neutra. Son fuente de esteroides esenciales, mismos que desempeñan una gran gama de funciones biológicas importantes. Estos ayudan a reducir el polvo en los alimentos y juegan un papel importante en la palatabilidad de los mismos (Tacon, 1990).

Los fosfolípidos representan dentro del cuerpo del animal, el segundo componente lipídico más abundante después de los triglicéridos. Todos los fosfolípidos son sólidos grasos de color amarillo, y comparten la propiedad de ser solubles en solventes orgánicos, con excepción de la acetona (Bonacker, 1988).

A semejanza de las grasas y aceites, los fosfolípidos son ésteres de ácidos grasos y glicerol. Sin embargo, mientras que en las grasas simples y aceites, el alcohol glicerol está esterificado a tres ácidos grasos, en los fosfolípidos únicamente dos de los grupos del alcohol glicerol están esterificados y el grupo restante tiene unido un ácido fosfórico y una base nitrogenada. Dependiendo de la base nitrogenada presente, los fosfolípidos pueden dividirse en dos grupos: lecitinas (la base nitrogenada es la colina) y

cefalinas (la base nitrogenada es la etanolamina) (Tacon, 1990).

II OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el valor nutricional de *Artemia franciscana* alimentada con la microalga *Chaetoceros* sp y distintas concentraciones de lecitinas ricas en fosfolípidos, para su potencial uso en la acuicultura.

OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar y comparar las tasas de sobrevivencia y crecimiento de *Artemia franciscana* con las distintas dietas experimentales.

Proponer una dieta para *Artemia franciscana* con la microalga *Chaetoceros* sp. aislada por el personal del cepario de C.I.C.E.S.E..

Analizar la composición química proximal de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con las dietas propuestas, mediante los análisis proximales de: lípidos, carbohidratos, proteínas y cenizas

III ANTECEDENTES

En la década pasada, el valor nutritivo de *Artemia* como alimento para larvas de peces y crustáceos a estado en el primer plano (Léger et al., 1987). Los estudios del mejoramiento nutricional de *Artemia* datan de la década de los sesenta cuando a base de microalgas se intentó mejorar su calidad, (Morris, 1956; Forster and Wickins, 1967; Wickins 1976 Kelly et al., 1977; Bromley, 1978; Howell, 1979; Howell et al., 1981. citado por Léger, et al., 1986).

Navarro et al. (1992) alimentaron a *Artemia* con cepas de *Dunaliella tertiolecta* y *Tetraselimis suecica* y modificaron los perfiles de ácidos grasos.

Sánchez-Saavedra (1994) modificó la composición bioquímica de la microalga *Chaetoceros* sp. cultivándola con distintos tipos de luz, alimentando *Artemia* con microalga cultivada con luz azul y azul-blanca donde no obtuvo una clara modificación de la composición bioquímica proximal, ni de ácidos grasos y perfiles de aminoácidos.

Coutteau et al. (1990) modificaron la pared celular de levaduras, mediante tratamientos químicos para obtener protoplastos (levadura, pero sin pared celular), lo cual mejoró su digestibilidad, obteniéndose resultados buenos en el crecimiento y sobrevivencia de *Artemia*.

Uno de los campos más prometedores del enriquecimiento de *Artemia* es el del tratamiento de enfermedades mediante la incorporación de agentes antimicrobianos. Nelis *et al.* (1991) añadieron Trimetoprim y Sulfametoxazol a *Artemia* para su uso en el tratamiento de enfermedades en peces. Verpraet *et al.* (1992) también enriquecieron *Artemia* con los agentes antimicrobianos Trimetoprim y Sulfametoxazol. Aguilar-Aguila *et al.* (1994) mencionan de manera similar el mejoramiento de nauplius de *Artemia* con terapéuticos solubles en agua.

Otra área en la que la incorporación de sustancias bioactivas a nauplius de *Artemia* está siendo utilizada, es la inducción a la feminización de organismos. Martin-Robichaud *et al.* (1994) feminizan a la lamprea *Cyclopterus lumpus* L. mediante la incorporación de 17β estradiol en *Artemia* produciendo poblaciones monosexuales para el cultivo.

Sin embargo, el campo más estudiado en la incorporación de sustancias bioactivas en *Artemia*, es la de los ácidos grasos de cadena larga y su posterior uso en la alimentación de organismos de interés acuicultural.

Desde el año de 1978 el grupo de investigación de Watanabe ha trabajado en el mejoramiento de la calidad nutricia de *Artemia*. Primeramente modificó los perfiles de ácidos grasos alimentando *Artemia* con *Chlorella* y levaduras- ω (1978 y 1980). Posteriormente utilizó emulsiones de yema de

huevo y levaduras- ω (1982) y con emulsiones de aceite de pescado ricas en ácidos grasos poliinsaturados.

Léger et al. (1985) trabajaron con el enriquecimiento de *Artemia* mediante la alimentación de levaduras- ω y biencapsulados ricos en ácidos grasos utilizándola como alimento de larvas de *Penaeus stylirostris*. Posteriormente, en 1987, estos autores añadieron distintos tipos de emulsiones y micropartículas ricas en ácidos grasos a la *Artemia* para alimentar al crustáceo *Mysidopsis bahia*. Las investigaciones concluyeron que las emulsiones ricas en ácidos grasos fueron las más efectivas para el crecimiento de *Mysidopsis bahia*.

Dhert et al. (1990) presentaron un trabajo en el que enriquecen *Artemia*, específicamente con emulsiones de ácido docosahexaenóico (DHA) y ácido eicosapentaenóico (EPA). Lo más importante en este trabajo, es que la razón DHA/EPA puede ser modificada *ad libitum* mediante la simple manipulación físico-química de las emulsiones y la selección de la cepa utilizada.

Diversos autores han usado *Artemia* enriquecida con ácidos grasos poliinsaturados ω -3 en peces; *Scophthalmus maximus* (Gatesoupe, 1991), *Paralichthys olivaceus* (Izquierdo et al., 1992), *Morone saxatilis* (Tuncer y Harrel, 1992), *Spaurus aurata* (Mouronte et al., 1993a y Mouronte y Tocher, 1993b), *Mugil cephalus* (Ako et al., 1994) y en larvas de

Penaeus monodon (Rees et al., 1994). En todos los casos se obtuvieron siempre mejores sobrevivencias, crecimientos y aumento de resistencia al estrés, causado por la manipulación.

IV MATERIALES Y METODOS

IV.1 SELECCION DE LA MICROALGA

La microalga seleccionada para este trabajo es la diatomea *Chaetoceros* sp. Se eligió esta microalga debido a su eficiencia comprobada en diferentes trabajos por, Correa-Sandoval 1991, Arriaga-Haro 1993, Correa-Reyes 1993, Sánchez-Saavedra 1994, Cordero-Esquivel 1994.

Chaetoceros sp es una microalga costera aislada localmente que se encuentra en el cepario del **C.I.C.E.S.E.** con la clave **CH-X-1** (Trujillo-Valle 1993). Posee características adecuadas de crecimiento, en donde es posible obtener constantemente concentraciones celulares de aproximadamente 1×10^6 cel./ml (López-Elías y Voltolina, 1993)

Esta microalga, posee rápido crecimiento y se adapta fácilmente a las condiciones de laboratorio comunes en actividades acuiculturales. Su valor nutritivo y tamaño es el adecuado para la alimentación de *Artemia*, larvas de peces y crustáceos.

Se realizaron cultivos semicontinuos con diluciones diarias del 50% del volumen en garrafones de 18 litros, con 15 l de agua de mar enriquecida con el medio "F" propuesto por Guillard y Ryther (1962), con doble concentración de

silicatos. El agua de mar utilizada se tomo del sistema cerrado del laboratorio de acuicultura del **C.I.C.E.S.E.**, filtrada a través de una serie de filtros primero uno biológico y sucesivamente, uno de arena, un filtro de diatomita y por último otro de carbón activado. Para su uso, se irradió con luz ultravioleta (Luz **U.V.**) y finalmente se esterilizó con hipoclorito de sodio (5.6 mg Cl/l) neutralizado con tiosulfato de sodio según lo propuesto por Hemmerik (1973).

El pH, en las unidades de producción de microalgas, osciló entre 6.3 y 9.0, con la inyección constante de CO₂ al sistema de aire, utilizado para mantener en suspensión constante a las microalgas. Entre 6 y 10 garrafrones de cultivo se utilizaron dependiendo de las necesidades del experimento.

El conteo de microalgas se llevó a cabo con un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad. Debido a que el conteo de hasta 10 garrafrones era muy tardado, se procedió a elaborar una curva de calibración para la estimación de la biomasa algal. Esta curva se elaboró midiendo la absorvancia del cultivo con un espectrofotómetro Hach/2000 a una longitud de onda de 550 nm para evitar los picos de absorción de la clorofila. Posteriormente se hicieron diluciones sucesivas del cultivo madre que se leyeron al espectro y se fijaron con una solución de lugol. Las microalgas fijadas se contaron al

microscopio y posteriormente se elaboro una regresión entre los datos de absorvancia y el número de algas por mililitro. Con estos datos se obtuvo una ecuación que se utilizó para determinar la concentración de algas por mililitro.

Para corroborar la estabilidad de los cultivos la D.O. se midió antes y después de la dilución. Con los datos obtenidos se efectuó una prueba de significancia de pendiente de la regresión ($\beta=0$) entre las dos variables (Zar, 1984).

IV.2 QUISTES Y NAUPLIUS

Se utilizaron quistes de *Artemia franciscana* de la empresa Argent Chemical Laboratories Co. (Redmond, WA. USA.), de la cepa *Artemia franciscana* del lote 03H637 (Argentemia). Estos quistes se descapsularon según la técnica propuesta por Sorgeloos et al. (1977). Una vez que se observó el primer naupli, se esperó 8 horas antes de extraerlos por sifoneo con el fin de asegurarse de que fueran de la misma cohorte.

Los nauplius se concentraron en un volumen conocido, de agua (4 l), el medio se homogeneizó y se tomaron 50 alicuotas de 1 ml y se contaron en un microscopio estereoscópico. Se les aplicó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza.

Los nauplius fueron distribuídos a razón de 10 mil organismos por acuario en 16 unidades (cuatro por

tratamiento), experimentales de 18 l de capacidad con 13 l de agua de mar en el primer experimento y en 8 unidades (2 por tratamiento), en el segundo experimento,

A cada uno de los tratamientos aplicados se les asignaron nombres clave. En el primer experimento el control se alimentó únicamente con *Chaetoceros* sp.. Las otras tres pruebas: 2.5%, 5% y 7.5% de fosfolípidos en polvo más *Chaetoceros* sp. (**2.5%-s**, **5%-s** y **7.5%-s**). En el segundo ensayo como control se proporcionó *Chaetoceros* sp. y una emulsión de aceite de macarela (**control-a**) y fosfolípidos a concentraciones de 2.5%, 5% y 7.5% como tratamientos (**2.5%-a**, **5%-a** y **7.5%-a**).

IV.3 BIOENSAYO DE ALIMENTACION

En un primer experimento realizado se observó que la primera formación de parejas se logró en 21 días, cuando con la misma microalga se habían obtenido parejas entre los 10 y 13 días (Correa-Sandoval, 1993, Arriaga-Haro, 1993 y Sánchez-Saavedra, 1994). Por lo que a sugerencia del Dr. Patrick Sorgeloos, se decidió aumentar la dosis de microalgas análogamente a la propuesta por Tackaert (1987) que utilizó *Dunaliella tertiolecta* (tabla I).

Tabla I. Régimen alimenticio propuesto por de Tackaert, 1987 y régimen propuesto para el presente trabajo.

Día	Dieta propuesta por Tackaert, 1987. Con <i>Dunaliella</i> . cel/individuo	Dieta propuesta para este trabajo con <i>Chaetoceros</i> sp. cel/individuo
1	150,000	150,000
2	300,000	300,000
3	300,000	450,000
4	300,000	600,000
5	450,000	900,000
6	450,000	1×10^6
7	600,000	1.25×10^6
8	750,000	1.5×10^6
9	1.12×10^6	1.8×10^6
10	1.14×10^6	1.9×10^6
11	1.14×10^6	2×10^6
12, 13	1.8×10^6	
14, 15	2.16×10^6	

IV.4 EMULSIONES Y LIPOSOMAS

Una emulsión se puede definir como la mezcla de partículas de un líquido en un segundo líquido, siempre que uno de los dos sea de naturaleza acuosa. Los tipos de emulsiones más comunes son las de agua/aceite y las aceite/agua. El término aceite denota insolubilidad en el agua, (Adamson, 1982).

Por sus características emulsificantes la lecitina forma pequeños glóbulos denominados liposomas. Un liposoma se define como sacos elaborados de distintos fosfolípidos que constituyen las membranas. Estos sacos se pueden llenar con

gran variedad de sustancias terapéuticas y debido a su similitud con las membranas no son tóxicas. Por su insolubilidad en el agua éstas membranas protegen las sustancias con que se elaboran del medio (Ostro, 1987; Lasic, 1992).

IV.5 SELECCION DE LA LECITINA

La lecitina de soya usada fué la proporcionada por la empresa ADM (Arches Daniels Midland Company de Decatur, Illinois, USA.) Esta empresa comercializa lecitina en polvo y líquida. La lecitina líquida en ensayos preliminares tenía problemas para disolverse debido a su alta densidad, por lo que se utilizó la presentación en polvo de dicha Marca pues se disolvía con facilidad en el agua de mar formando una emulsión de color blanquecino.

El término lecitina proviene de la palabra Griega Lekithos, yema de huevo, por su alta concentración en las yemas de huevo. Lecitina es un sinónimo de fosfolípidos. Estos pertenecen al grupo llamado de lípidos polares. En el contexto de este texto fosfolípidos será referido a los fosfolípidos de mayor interés: fosfatidilcolina (el principal) fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina.

La primera forma de administración de lecitina fué en polvo, ésta se proporcionó en forma directa en base al

peso seco de la microalga ($32.5 \mu\text{g}/1 \times 10^6 \text{ cel}$) suministrada diariamente, en concentraciones de 2.5% 5% y 7.5%.

La segunda forma de administración de lecitina fué en emulsión de agua (42.5%), en aceite de macarela (52%) y polisorbatos(5.5%) (Gulf Pacific Industries, Nueva Zelanda). Debido a que se administraba aceite de pescado, el control en este experimento fué: microalga + fosfolípidos en emulsión; a diferencia del primer experimento, el control fué sólo de microalga.

Los fosfolípidos eran disueltos en el aceite en emulsión. Las concentraciones fueron iguales que en el primer experimento; 2.5%, 5% y 7.5% del peso seco de la microalga. En este mismo experimento las cantidades de aceite se corrigieron para que todas las unidades experimentales recibieran la misma cantidad.

IV.6 SOBREVIVENCIA

La sobrevivencia se midió en el primer experimento cada tercer día. Cada muestra se tomó con una pipeta de 5 ml del medio homogeneizado. Esto se repitió 30 veces. La media de los datos obtenidos se multiplicó por el volumen del agua contenido en el acuario, obteniéndose el número de organismos por unidad experimental. Los datos obtenidos no eran normales y la variabilidad era muy grande para poder inferir de manera

segura sobre la sobrevivencia. Los datos se contrastaron primero dentro de grupos y después entre grupos. Al no haber diferencias dentro de grupos los datos se agruparon por tratamientos y se contrastaron entre ellos mediante las pruebas no paramétricas apropiadas.

La variabilidad de los datos y el no haber obtenido resultados normales nos obligó a diseñar otro tipo de conteo. Esta nueva manera de contar consistió primero, en fabricar pequeños depósitos de 40, 50, 67 y 100 ml. Previa homogeneización del medio, se tomaron 30 muestras, éstas se transferían a un tamiz transparente, y los individuos se contaban en una cámara de conteo de colonias. Posteriormente se aplicó una prueba de normalidad y homogeneidad de varianza para los datos obtenidos. Pasando todos ambas pruebas. Se pretendía que en cada colecta se obtuvieran, en un principio, alrededor de 30 individuos para de esa manera disminuir los coeficientes de variabilidad (Kemp *et al.*, 1993). Al final del experimento la cantidad de individuos disminuyó, aun así los datos resultaban normales. La media de los datos era usada para calcular la sobrevivencia total por acuario. Los datos se procesaron igual que en el primer experimento aplicándose la estadística paramétrica apropiada.

IV.7 CRECIMIENTO

En el primer día de cada experimento se colectaron 100 organismos del recerborio general (4 l) y se fijaron para evaluar su tamaño. Los días 6 y 11 se fijaron 30 organismos de cada unidad experimental en una solución de 25 ml de formol con un pH ajustado a 8, con glicerofosfato de sodio, 5 ml de propilfenoxitol y 50 ml de propilenglicol, aforados a 500 ml con agua destilada (Correa-Sandoval y Bückle-Ramírez, 1993). Posteriormente fueron medidos en un microscopio estereoscópico "Olympus" con una rejilla ocular, utilizando los datos de calibración del aparato para la obtención de la longitud en micras.

A los datos se les aplicó una prueba de normalidad de Kolmogorv-Smirnoff y de homogeneidad de varianzas comparándose dentro de grupos mediante una análisis de varianza de una sola vía. Al no detectarse diferencias se agruparon y se trataron como un solo grupo. Cuando se detectaron diferencias significativas entre grupos se utilizaron las pruebas *a posteriori* adecuadas. Al igual que para la sobrevivencia, si los datos no cumplían con los preceptos básicos de la estadística paramétrica se aplicaron las pruebas no paramétricas adecuadas.

IV.8 ANÁLISIS QUÍMICOS

Los análisis químicos se evaluaron de la siguiente manera:

Para la obtención del **peso seco total y orgánico**, se utilizaron las técnicas propuestas por Sorokin (1973). Los filtros precalcificados con un número determinado de artemias se introdujeron a una estufa a 60°C durante un período de 6 horas posteriormente se colocaron en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se pesaron en una balanza analítica con una precisión de ± 0.1 mg. Los filtros se introdujeron a una mufla y se calcinaron a 450°C por un período de 6 horas posteriormente se procedió a pesar el filtro como se describió anteriormente. La diferencia del primer peso (peso seco total) y el segundo (peso de cenizas) sirvió como indicador del porcentaje de materia orgánica de la biomasa de *Artemia franciscana*.

La **proteína** equivalente se determinó mediante la modificación de Peterson (1977) a la microtécnica de Lowry et al. (1951). (Kit de SIGMA, p5656, Saint Louis, MO., USA) para la microdeterminación de proteína. Esta técnica utiliza dodecilsulfato de sodio en el reactivo de Lowry para facilitar la disolución de las relativamente insolubles lipoproteínas

Los **lípidos** se extrajeron mediante una mezcla de cloroformo-metanol-agua según lo descrito por Bligh y Dyer (1959), modificado por Chiaverini (1972), para semimicrodeterminación. Ésta consiste en doblar las cantidades de solventes y agua para una mejor extracción. La determinación se realizó por el método de Pande *et al.* (1963). Éste consiste en la oxidación de los lípidos por medio de una solución de dicromato de potasio al 2% en ácido sulfúrico.

Los **carbohidratos** se determinaron según la técnica del fenol sulfúrico de acuerdo a Dubois *et al.* (1956), que consiste en reducir las pentosas y hexosas a un complejo furfural en presencia de un ácido mineral fuerte, el cual al combinarse con fenol da un color amarillo-anaranjado.

El **análisis estadístico** de los datos se llevo a cabo con la hoja de cálculo EXCEL® y el paquete estadístico SIGMASTAT® para WINDOWS®. En todos los casos se aplicaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza. Pruebas de ANOVA para detectar diferencias dentro de grupos, cuando no hubo diferencias las distintas repeticiones se agruparon y se trataron como una sola unidad experimental. Cuando los datos pasaban las pruebas de normalidad y homogeneidad se uso la estadística paramétrica adecuada (ANOVA y Prueba *a posteriori*

de SNK), cuando no fueron normales se uso la estadística no paramétrica (ANOVA por rangos y Prueba de Dunn).

V RESULTADOS

V.1 CULTIVO DE *Chaetoceros* sp.

Al comparar las lecturas de densidad óptica antes y después de la dilución de *Chaetoceros* sp., se encontró que los cultivos se mantuvieron estables por 38 días (figura 1). Las fluctuaciones observadas, de 20 a 25° C., se debieron a la inestabilidad de la temperatura, en el laboratorio de cultivo (figura 2) posiblemente porque el sistema de aire acondicionado tuvo problemas de funcionamiento durante un período de 5 meses. Los valores de pH del cultivo fluctuaron entre 6.3 y 9 (figura 3) y la de salinidad entre 32 y 35 ppm. (figura 4).

López-Elías y Voltolina (1993) demostraron que con diluciones diarias del 50% de los cultivos de *Chaetoceros* sp., se mantenían en la fase exponencial de crecimiento. Lo que permite tener disponible una cantidad de algas suficiente para los experimentos. Las concentraciones celulares diarias variaron entre los 1×10^6 cel/ml y 1.2×10^6 cel/ml. Para corroborar lo anterior se efectuó una prueba de significancia de la pendiente de $\beta=0$. Esta prueba indica si los datos obtenidos se comportan como una recta con una pendiente de cero (Mendelhall, 1987 y Daniel, 1991). La prueba se realizó con los promedio de la densidad óptica durante la fase de

alimentación de *Artemia franciscana*. Encontrándose que el valor de f calculada (0.0838) era menor que el de f tabulada (0.800), lo que indica que la pendiente de la recta no es estadísticamente diferente de cero.

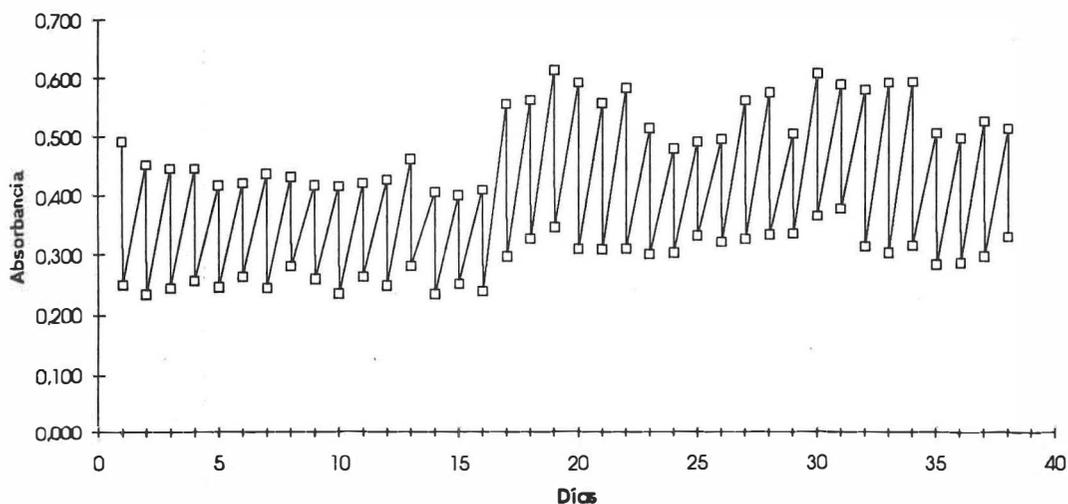


Figura 1 Valores promedios de la densidad óptica (a 550 nm), antes y después de diluir, del cultivo semicontinuo de *Chaetoceros* sp..

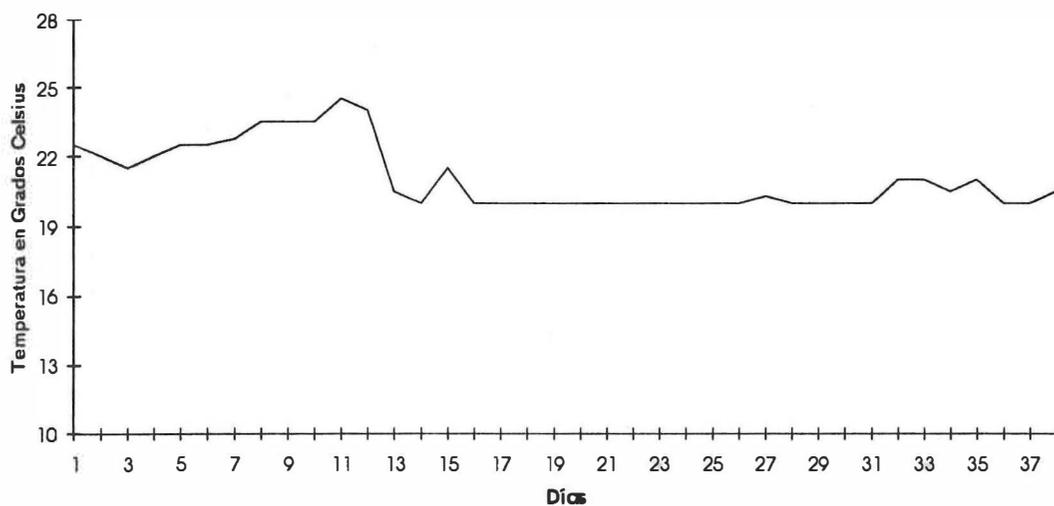


Figura 2. Valores promedio de temperatura del cultivo semicontinuo de *Chaetoceros* sp..

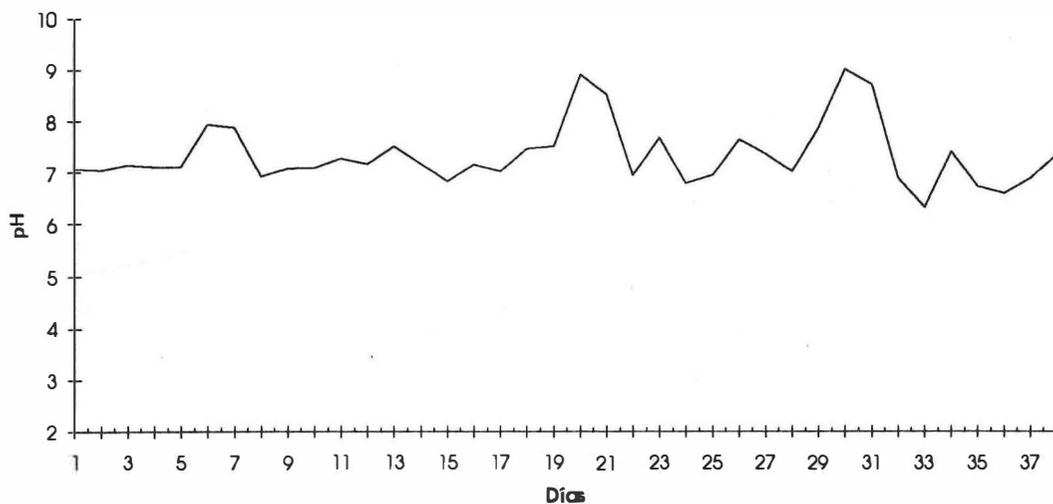


Figura 3. Valores promedio de pH durante el cultivo semicontinuo de *Chaetoceros* sp., con suministro constante de CO_2 ,

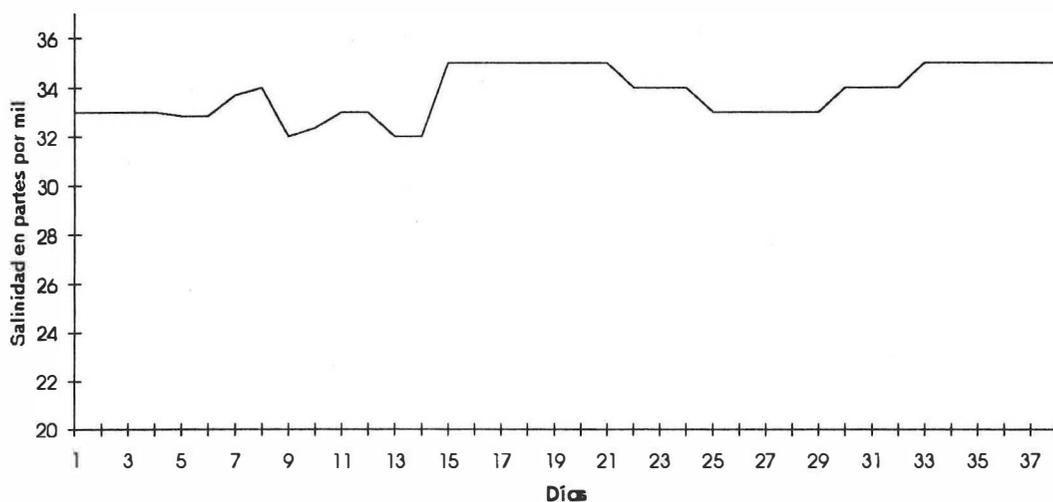


Figura 4. Valores promedio de salinidad del cultivo semicontinuo de *Chaetoceros* sp..

V.2 CRECIMIENTO DE *Artemia franciscana*. ALIMENTADA CON *Chaetoceros* sp. Y DISTINTAS EMULSIONES DE FOSFOLÍPIDOS.

El tamaño promedio general de las artemias adultas, alimentadas con fosfolípidos, fué de 4.67 mm mientras que las cultivadas con emulsiones, fué de 5.17 mm (tabla II). A pesar de estas diferencias, las pendientes de la curvas de crecimiento no son muy diferentes. Aunque las artemias alimentadas con emulsiones son constantemente más grandes (figura 5), por lo que se procedió a hacer un análisis con los datos de los días 6 y 11. Se consideró adultos o juveniles a los organismos, cuando el 50% mas uno de los individuos presentaban las características morfológicas correspondiente a cada estadio.

NAUPLIUS

Como primera parte se realizó una comparación de la talla de los nauplius al eclosionar (hasta 8 horas después de ser observado el primer naupli). Este análisis indicaría si los organismos utilizados pertenecían a la misma cohorte o no. Como los quistes provenían de un mismo lote no deberían de ser diferentes en talla. El tamaño de los nauplius de *Artemia franciscana* no fué estadísticamente diferente al inicio de los dos experimentos, como lo demuestra el análisis

de Varianza por Rangos de Kruskal-Wallis aplicado, de donde se deduce que no hay diferencias estadísticas significativas en las tallas (tabla III).

JUVENILES

Las tallas promedio de los juveniles alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos fué de 1.9 mm y para los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. y emulsión fué de 2.01 mm (tabla IV).

El análisis estadístico de las tallas de los individuos juveniles de *Artemia franciscana* alimentados con fosfolípidos y *Chaetoceros* sp., mostró que no había diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (tabla V). Por lo que respecta al experimento de alimentación de *Chaetoceros* sp. y emulsión el análisis indicó que había diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.0001$), por lo que se aplicó un análisis de comparación múltiple (tabla VI). Los resultados de este análisis sugieren que los tratamientos Control-a y 2.5%-a no son diferentes entre ellos, y si los son de 5%-a y 7.5%-a, estos dos últimos no son diferentes.

Una vez hecho lo anterior, se compararon las tallas de los 8 distintos tratamientos (al día 6), encontrándose diferencias estadísticas significativas. ($P = < 0.0001$).

Concluyéndose de manera general, que las tallas de los individuos del tratamiento 7.5%-a, son distintas a las de todos los demás experimentos, con excepción de las del ensayo 5%-a que no es diferente al de 2.5%-a. En los demás tratamientos no se detectaron diferencias en las tallas de los individuos.

ADULTOS

El análisis de las tallas de los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolipidos en polvo demostró que había diferencias estadísticas significativas ($P = < 0.00001$) entre los tratamientos. Con una comparación múltiple se verificó que la talla de los individuos del tratamiento 5%-s es mayor que la de todos y que las tallas de los demás unidades no eran diferentes.

En el ensayo de alimentación con *Chaetoceros* sp. y emulsiones, las tallas se evaluaron de la misma manera que en el experimento anterior (tabla VIII), se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($P = < 0.00001$). La comparación múltiple por el método de Dunn demostró que las tallas de los ensayos 2.5%-a, 5%-a y 7.5%-a, no son diferentes y que son constantemente más grandes que los individuos del tratamiento control-a.

La comparación de la tallas de los 8 tratamientos mediante un análisis de varianza de una vía no paramétrico registró diferencias entre los tratamientos ($P < 0.00001$). Del cual se deduce que los individuos alimentados con *Chaetoceros* sp./emulsión son constantemente mayores que los alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos

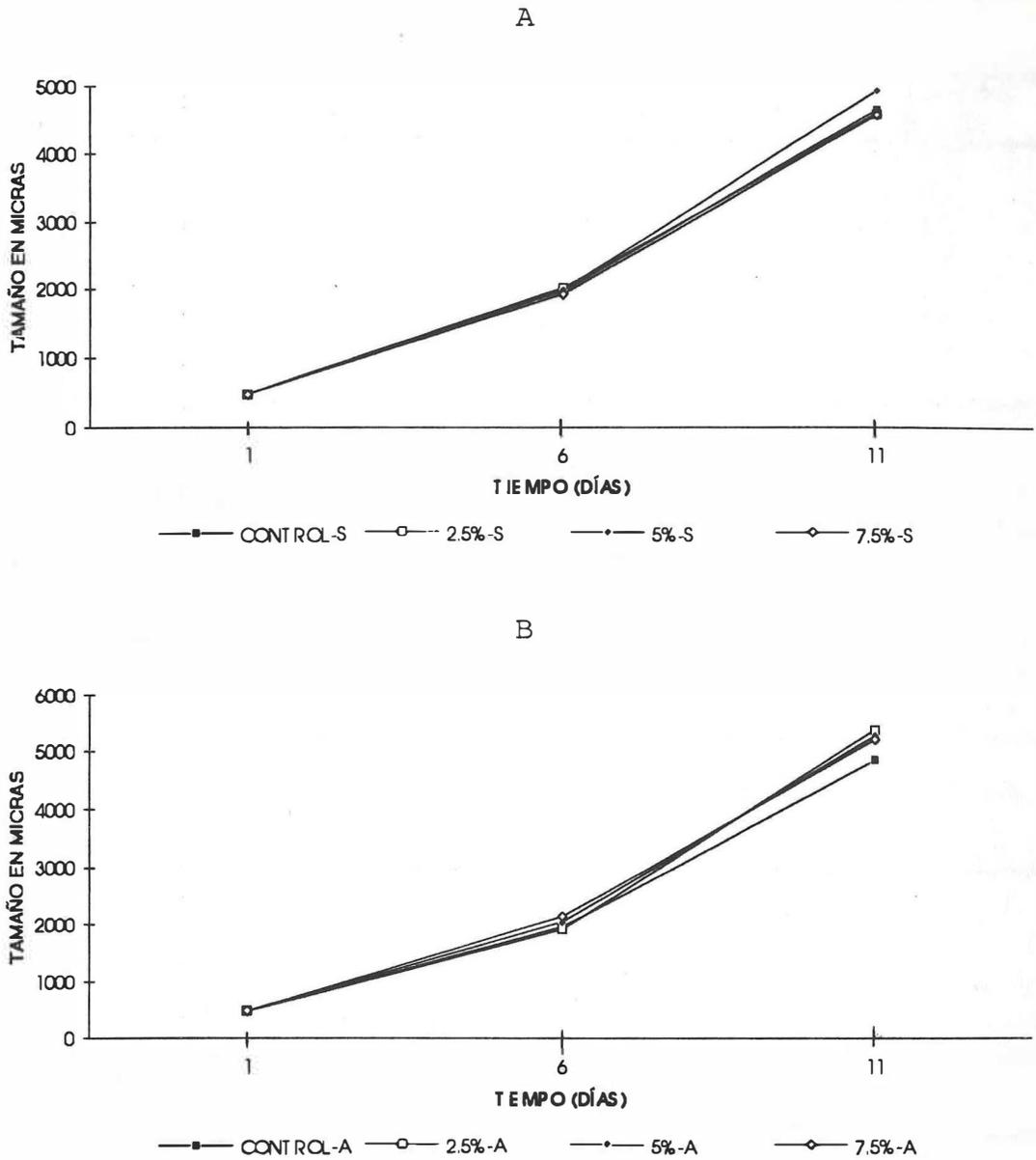


Figura 5. Curva de crecimiento promedio de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolipidos (A) y *Chaetoceros* sp./fosfolipidos en emulsión (B).

Tabla II. Tallas promedio y desviación estándar, de adultos de *Artemia franciscana* alimentadas con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión.

Tratamiento	Talla promedio (en mm)	Desviación estándar
Control-s	4.64	0.70
2.5%-s	4.58	0.65
5%-s	4.92	0.63
7.5%-s	4.56	0.67
Control-a	4.84	0.67
2.5%-a	5.36	1.04
5%-a	5.26	0.84
7.5%-a	5.25	0.78

Tabla III. Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis (K-W), para el tamaño de los nauplius de *Artemia franciscana* al eclosionar. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana en mm	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Nauplius exp. 01	98	0.47	0.332	0.5645
Nauplius exp. 02	100	0.47		

Tabla IV. Tallas promedio y desviación estándar, de juveniles de *Artemia franciscana* alimentadas con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión.

Tratamiento	Talla promedio en mm	Desviación estándar
Control-s	1.97	0.24
2.5%-s	2.00	0.29
5%-s	1.98	0.25
7.5%-s	1.91	0.36
Control-a	1.95	0.24
2.5%-a	1.91	0.19
5%-a	2.04	0.24
7.5%-a	2.14	0.24

Tabla V. Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis (K-W), para la talla de los juveniles de *Artemia franciscana* alimentada con y *Chaetoceros* sp./fosfolipidos, al sexto día de iniciado el experimento. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control seco	122	2.00	5.7	0.1274
2.5% seco	122	2.00		
5% seco	120	1.96		
7.5% seco	93	1.88		

Tabla VI. Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, para el tamaño de los juveniles de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolipidos en emulsión, al sexto día de iniciado el experimento y comparación múltiple por el método de Dunn (Q). Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control aceite	122	1.96	62.1	<0.0001
2.5% aceite	120	1.92		
5% aceite	90	1.97		
7.5% aceite	121	2.15		

Comparación entre Tratamientos Método de Dunn	Diferencia de rangos	P	Q	Grupos homogéneos
7.5%-a vs 2.5%-s	124	4	7.38	Acepta
7.5%-a vs Control-a	97.3	3	5.82	Acepta
7.5%-a vs 5%-a	54.8	2	3.02	Acepta
5%-a vs 2.5%-a	69.3	3	3.81	Acepta
5%-a vs Control-a	42.6	2	2.35	Rechaza
Control-a vs 2.5%-a	26.7	2	1.59	Rechaza

Tabla VII. Análisis de varianza de una vía de Kruskal-Wallis, para el tamaño de los adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y comparación múltiple por el método de Dunn. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana en mm	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control-s	121	4.38	21.5	<0.0001
2.5%-s	123	4.14		
5%-s	129	4.51		
7.5%-s	93	3.99		

Comparación entre Tratamientos. Método de Dunn	Diferencia de rangos	P	Q	Grupos homogéneos
5%-s vs 2.5%-s	74.60	4	4.407	Acepta
5%-s vs Control-s	72.65	3	3.976	Acepta
5%-s vs 5%-s	58.43	2	3.437	Acepta
Control-s vs 2.5%-s	16.17	3	0.940	Rechaza
Control-s vs 7.5% seco	14.22	2	0.768	Rechaza
7.5%-s vs 2.5% seco	1.95	2	0.106	Rechaza

Tabla VIII. Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, para tallas de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión y comparación múltiple por el método de Dunn. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control-a	123	4.83	25.9	<0.0001
2.5%-a	122	5.38		
5%-a	92	5.09		
7.5%-a	125	5.16		

Comparación entre Tratamientos. Método de Dunn	Diferencia de rangos	P	Q	Grupos homogéneos
2.5%-a vs Control-a	80.7	4	4.736	Acepta
2.5%-a vs 5%-a	24.7	3	1.336	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-a	14.2	2	0.837	Rechaza
7.5%-a vs control-a	66.5	3	3.927	Acepta
7.5%-a vs 5%-a	10.4	2	0.568	Rechaza
5%-a vs Control-a	56.1	2	3.050	Acepta

V.3 SOBREVIVENCIA

Como fué explicado en la metodología, los métodos de evaluación de sobrevivencia fueron distintos para los dos experimentos, por lo que se tratan por separado. Debido a que se extraían organismos para la evaluación del crecimiento, los porcentajes de sobrevivencia fueron corregidos para realizar los análisis estadísticos.

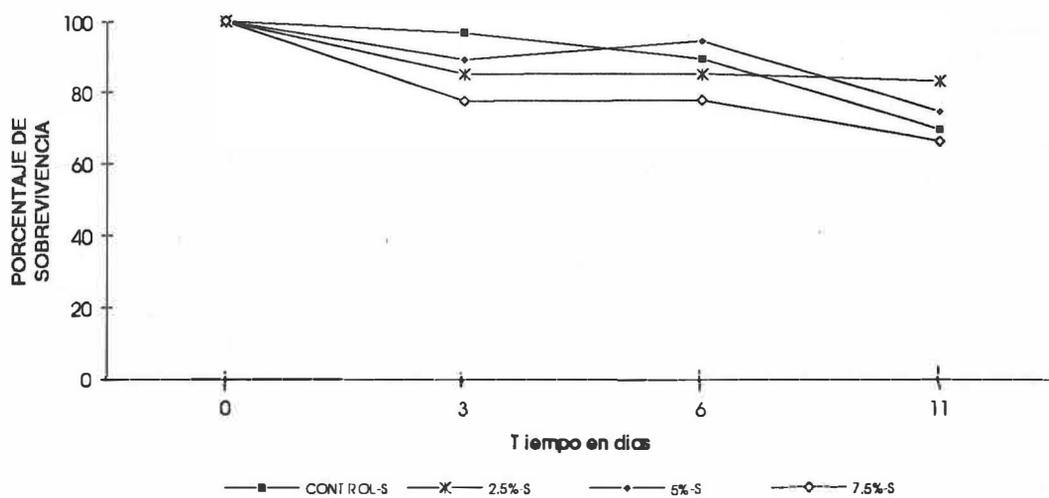
El porcentaje de sobrevivencia (figura 6) para el experimento de alimentación con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos fué de 73.3% y para el experimento de alimentación con *Chaetoceros* sp. y emulsiones fué de 71.82% (tabla IX). En ambos experimentos los mayores porcentajes de sobrevivencia se observaron en los tratamientos 2.5%-s ($83.13\% \pm 5.3\%$) y 2.5%-a ($83.10\% \pm 2.45\%$).

ALIMENTACIÓN DE *Artemia franciscana* CON *Chaetoceros* sp./fosfolípidos.

Al contrastar los porcentajes de la sobrevivencia del experimento de alimentación de *Artemia franciscana* con fosfolípidos, durante los distintos días (3, 6 y 11), se encontró que no había diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos para ningún día de muestreo (tabla X).

La estadística aplicada a los datos de sobrevivencia del experimento de alimentación de *Artemia franciscana* con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión, demostró diferencias estadísticas altamente significativas sólo el día 10 (tabla XI). Para discriminar el, o los grupos diferentes, se efectuó una comparación múltiple por día con el método de Student-Newman-Keuls (SNK) (tabla XII). Con éste análisis no se pudieron corroborar los resultados del análisis de varianza. Sólo hasta el día 10 se observó que la sobrevivencia del tratamiento 2.5%-a era la mejor con 83.1%.

A



B

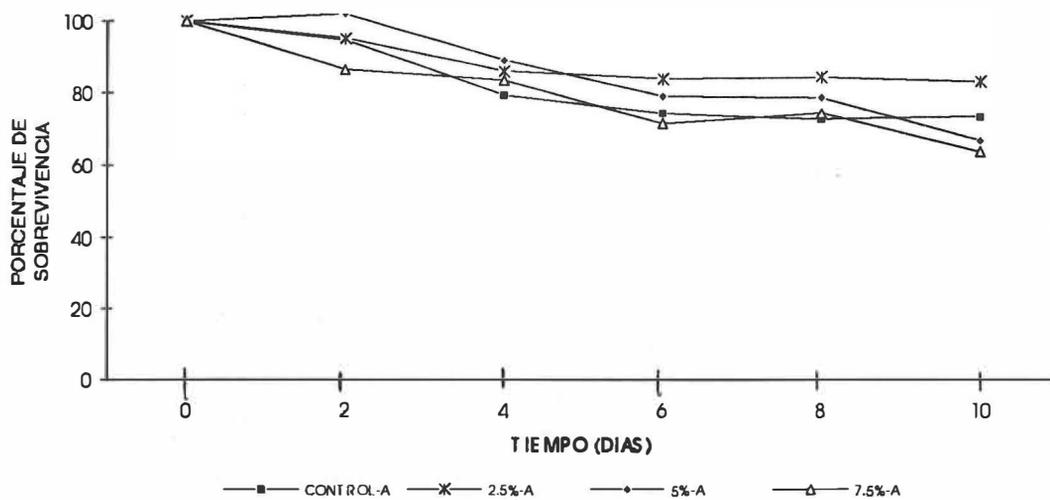


Figura 6. Valores promedio de sobrevivencia de *Artemia franciscana* cultivada con *Chaetoceros* sp y fosfolípidos (A) y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión (B).

Tabla IX. Sobrevivencia promedio y error estándar, de sobrevivencia de adultos de *Artemia franciscana* alimentadas con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión.

Tratamiento	Porcentaje de Sobrevivencia	Error estándar (%)
Control-s	64.90	4.90
2.5%-s	83.13	5.30
5%-s	74.51	5.07
7.5%-s	66.18	4.13
Control-a	73.48	3.37
2.5%-a	83.10	7.45
5%-a	66.90	3.92
7.5%-a	63.83	3.62

Tabla X. Análisis de Varianza no paramétrico de Kuskal-Wallis (K-W), calculado con los valores de la sobrevivencia para los días 3, 6, y 11, en *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Día 03

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control seco	77	6600	8.66	0.0342
2.5% seco	75	4400		
5% seco	77	6600		
7.5% seco	47	4400		

Día 06

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control seco	74	6600	2.93	0.4027
2.5% seco	75	6600		
5% seco	77	6600		
7.5% seco	50	4400		

Día 11

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control seco	70	4400	6.24	0.1007
2.5% seco	62	5500		
5% seco	73	4400		
7.5% seco	66	4400		

Tabla XI. Análisis de Varianza de una vía paramétrico, calculado con los valores sobrevivencia para los días 2, 4, 6, 8 y 10 en *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp. y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Día 02

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de Sig.
Entre tratamientos	3	24173380	8057793.3	4.44	0.0063
Residual	76	138061000	1816592.1		
Total	79	162234380			

Día 04

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de sig.
Entre tratamientos	3	10016380	3338793	2.80	0.0455
Residual	76	90537040	1191776		
Total	79	100553420			

Día 06

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de sig.
Entre tratamientos	3	17217695	5739231.7	3.48	0.0199
Residual	76	125242260	1647924.5		
Total	79	142459955			

Día 08

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de sig.
Entre tratamientos	3	15618680	5206226.7	2.81	0.0453
Residual	76	141042440	1855821.6		
Total	79	156661120			

Día 10

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de sig.
Entre tratamientos	3	43616260	145387533.4	6.32	0.0007
Residual	76	174880777	2301062.9		
Total	79	218497037			

Tabla XII. Valores promedio, diferencia de medias, numero de medias en el rango (p), rango de student (q) y comparaciones a posteriori vía SNK, de los valores de sobrevivencia para las diferentes fechas, para *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolipidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Día 02

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
5%-a vs 7.5%-a	1551	4	5.146	Acepta
5%-a vs Control-a	737	3	2.445	Rechaza
5%-a vs 2.5%-a	682	2	2.263	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-a	869	3	2.883	Rechaza
2.5%-a vs Control-a	55	2	0.182	Rechaza
Control-a vs 7.5%-a	814	2	2.701	Rechaza

Día 04

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
5%-a vs Control-a	968	4	3.966	Acepta
5%-a vs 7.5%-a	550	3	2.254	Rechaza
5%-a vs 5%-a	308	2	1.262	Rechaza
2.5%-a vs Control-a	660	3	2.704	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-a	242	2	0.992	Rechaza
7.5%-a vs Control-a	418	2	1.713	Rechaza

Día 06

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
2.5%-a vs 7.5%-a	1221	4	4.254	Acepta
2.5%-a vs Control-a	935	3	3.257	Rechaza
2.5%-a vs 2.5%-a	473	2	1.648	Rechaza
5%-a vs 7.5%-a	748	3	2.606	Rechaza
5%-a vs Control-a	462	2	1.609	Rechaza
Control-a vs 7.5%-a	286	2	0.996	Rechaza

Día 08

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
2.5%-a vs Control-a	1144	4	3.756	Acepta
2.5%-a vs 7.5%-a	979	3	3.214	Rechaza
2.5%-a vs 5%-a	561	2	1.842	Rechaza
5%-a vs Control-a	583	3	1.914	Rechaza
5%-a vs 7.5%-a	418	2	1.372	Rechaza
7.5%-a vs Control-a	165	2	0.542	Rechaza

Día 10

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
2.5%-a vs 7.5%-a	1927.1	4	5.681	Acepta
2.5%-a vs 5%-a	1620.4	3	4.777	Acepta
2.5%-a vs Control-a	962.7	2	2.838	Acepta
Control-a vs 7.5%-a	964.4	3	2.843	Rechaza
Control-a vs 5%-a	657.7	2	1.939	Rechaza
5%-a vs 7.5%-a	306.7	2	0.904	Rechaza

V.4 ANÁLISIS QUÍMICO DE ADULTOS DE *Artemia franciscana* ALIMENTADOS CON *Chaetoceros* sp./fosfolípidos, Y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos EN EMULSIÓN

PROTEÍNAS

Los porcentajes de proteína equivalente (BSA) de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión variaron de 41.6% \pm 12.56% para el tratamiento 5%-s a 25% \pm 3.05% para el 7.5% (tabla XIII).

Al comparar los porcentajes de proteína de los distintos tratamientos (tabla XIV), se detectaron diferencias estadísticas significativas. Estos resultados se contrastaron mediante la prueba de comparación múltiple de Dunn. ésta no pudo detectar diferencias significativas entre los distintos tratamientos (tabla XV). Los datos de contenido en proteínas fueron muy variables, lo cual nos evita el poder encontrar diferencias.

CARBOHIDRATOS.

Los porcentajes de carbohidratos (en peso seco) de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y fosfolípidos en emulsión variaron de 4.79% \pm 0.24% a 8.75% \pm 1.41% (tabla XVI)

El contraste de los porcentajes de carbohidratos se hizo mediante una prueba de análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis. Este análisis demostró que había diferencias estadísticas entre los tratamientos (tabla XVII), pero estas diferencias no son significativas. Se aplicó una prueba de comparación múltiple por el método de Dunn, el cual no detectó tratamientos significativamente diferentes (tabla XVIII).

LÍPIDOS

Los porcentajes de lípidos (peso seco) en los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos fueron menores (12%) que el de las artemias cultivadas con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión (21% en promedio) (tabla XIX).

Mediante una análisis de varianza paramétrico de una sola vía se demostró que había diferencias altamente significativas entre los tratamientos (tabla XX). Estas se detectaron mediante un análisis de comparación múltiple según el método de Student-Newman-Keuls (SNK). Con este análisis se demostraron diferencias altamente significativas entre los porcentajes de lípidos de los 8 tratamientos. En los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión el contenido lipídico es aproximadamente un 80%

mayores que las concentraciones de los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos (tabla XXI).

PESO SECO ORGÁNICO

Los porcentajes de peso seco orgánico variaron entre, $17.39\% \pm 0.9$ a $33.43.7\% \pm 1.24\%$ en los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y entre $26.56\% \pm 1.55\%$ y $30.04 \pm 0.8\%$ en los artemias alimentadas con *Chaetoceros* sp./emulsiones. En general los valores más altos de cenizas en los individuos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión (tabla XXII).

El contraste de estos resultados mediante un análisis de varianza de una vía (tabla XXIII), demostró diferencia significativas entre los tratamientos ($P < 0.00001$). Para discriminar los grupos diferentes se efectuó un análisis de comparación múltiple según el método de Student-Newman-Keuls (SNK). Este procedimiento demostró que los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión eran significativamente diferentes (tabla XXIV).

MATERIA ORGÁNICA

Los porcentajes de materia orgánica variaron entre 69.17% a 96.51% (tabla XXV) con una media de 80.72% . En

general se observaron los valores mas altos en las artemias alimentadas con *Chaetoceros* sp./fosfolipidos en emulsión, que también tienen mayor cantidad de cenizas.

Tabla XIII. Porcentaje y desviación estándar de proteína equivalente de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión.

Tratamiento	Porcentaje	Desviación estándar
Control-s	33.5	9.7
2.5%-s	31.7	7.7
5%-s	41.6	12.5
7.5%-s	33.3	4.6
Control-a	36.8	0.3
2.5%-a	27.1	2.6
5%-a	29.1	6.5
7.5%-a	25.0	3.0

Tabla XIV. Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis, de los porcentajes de proteína de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control-s	12	33	17.3	.0153
2.5%-s	8	31		
5%-s	9	37		
7.5%-s	9	32		
Control-a	6	36		
2.5%-a	6	25		
5%-a	6	29		
7.5%-a	6	24		

Tabla XV. Comparación múltiple por el método de Dunn, de los porcentajes de proteínas de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamientos.	Dif. de rangos	P	Q	Grupos homogéneos
Control-a vs 7.5%-a	30.8333	8	2.18709	Rechaza
Control-a vs 2.5%-a	25.6667	7	2.03550	Rechaza
Control-a vs 5%-a	20.6667	6	1.63897	Rechaza
Control-a vs 2.5%-s	14.8333	5	1.17636	Rechaza
Control-a vs 7.5%-s	12.0833	4	1.01699	Rechaza
Control-a vs Control-s	12.0833	3	1.02443	Rechaza
Control-a vs 5%-s	0.0556	2	0.00460	Rechaza
5%-s vs 7.5%-a	30.7778	7	2.98940	Rechaza
5%-s vs 2.5%-a	25.6111	6	3.14656	Rechaza
5%-s vs 5%-a	20.6111	5	2.53226	Rechaza
5%-s vs 2.5%-s	14.7778	4	1.81558	Rechaza
5%-s vs 7.5%-s	12.2222	3	1.67885	Rechaza
5%-s vs Control-s	12.0278	2	1.76621	Rechaza
Control-s vs 7.5%-a	18.75	6	1.88089	Rechaza
Control-s vs 2.5%-a	13.5833	5	1.75911	Rechaza
Control-s vs 5%-a	8.5833	4	1.11158	Rechaza
Control-s vs 2.5%-s	2.75	3	0.35614	Rechaza
Control-s vs 7.5%-s	0.1944	2	0.02855	Rechaza
7.5%-s vs 7.5%-a	18.5556	5	1.80227	Rechaza
7.5%-s vs 2.5%-a	13.3889	4	1.64495	Rechaza
7.5%-s vs 5%-a	8.3889	3	1.03064	Rechaza
7.5%-s vs 2.5%-s	2.5556	2	0.31397	Rechaza
2.5%-s vs 7.5%-a	16	4	1.46518	Rechaza
2.5%-s vs 2.5%-a	10.8333	3	1.21501	Rechaza
2.5%-s vs 5%-a	5.8333	2	0.65423	Rechaza
5%-a vs 7.5%-a	10.1667	3	0.93100	Rechaza
5%-a vs 2.5%-a	5	2	0.56077	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-a	5.1667	2	0.47313	Rechaza

Tabla XVI. Porcentaje de carbohidratos y desviación estándar de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Tratamiento	Porcentaje	Desviación estándar
Control-s	5.40	1.084
2.5%-s	5.04	1.270
5%-s	6.51	1.084
7.5%-s	6.48	1.192
Control-a	8.75	1.418
2.5%-a	6.33	0.249
5%-a	6.11	0.767
7.5%-a	4.79	0.248

Tabla XVII. Análisis de varianza de una vía no paramétrico de Kruskal-Wallis, de los porcentajes de carbohidratos de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Tratamiento	Tamaño de muestra	Mediana	Estadígrafo K-W	Nivel de significancia
Control-s	12	5.32	21.3	0.0034
2.5%-s	6	4.59		
5%-s	9	6.13		
7.5%-s	9	6.34		
Control-a	6	7.99		
2.5%-a	6	6.31		
5%-a	6	6.39		
7.5%-a	6	4.72		

Tabla XVIII. Comparación múltiple por el método de Dunn, de los porcentajes de proteína equivalente de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$

Tratamientos.	Diferencia de rangos	P	Q	Grupos homogéneos
Control-a vs 7.5%-a	38.167	8	3.0849	Rechaza
Control-a vs 2.5%-a	36	7	3.36	Rechaza
Control-a vs Control-s	31.250	6	3.195	Rechaza
Control-a vs 5%-s	19.467	5	1.7592	Rechaza
Control-a vs 5%-s	18.111	4	1.7929	Rechaza
Control-a vs 7.5%-s	17.278	3	1.7104	Rechaza
Control-a vs 2.5%-a	16.667	2	1.5061	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-a	21.5	7	1.9429	Rechaza
2.5%-a vs 2.5%-s	19.333	6	2.1071	Rechaza
2.5%-a vs Control-s	14.583	5	1.8081	Rechaza
2.5%-a vs 5%-a	2.8	4	0.2922	Rechaza
2.5%-a vs 5%-s	1.444	3	0.1709	Rechaza
2.5%-a vs 7.5%-s	0.611	2	0.0723	Rechaza
7.5%-s vs 7.5%-a	20.889	6	2.0679	Rechaza
7.5%-s vs 2.5%-s	18.722	5	2.3444	Rechaza
7.5%-s vs Control-s	13.972	4	2.0911	Rechaza
7.5%-s vs 5%-a	2.189	3	0.259	Rechaza
7.5%-s vs 5%-s	0.833	2	0.1167	Rechaza
5%-s vs 7.5%-a	20.056	5	1.9854	Rechaza
5%-s vs 2.5%-s	17.889	4	2.24	Rechaza
5%-s vs Control-s	13.139	3	1.9664	Rechaza
5%-s vs 5%-s	1.556	2	0.1664	Rechaza
5%-a vs 7.5%-a	18.7	4	1.6899	Rechaza
5%-a vs 2.5%-s	16.533	3	1.8019	Rechaza
5%-a vs Control-s	11.783	2	1.4609	Rechaza
Control-s vs 7.5%-a	6.917	3	0.7072	Rechaza
Control-s vs 2.5%-s	4.75	2	0.617	Rechaza
2.5%-s vs 7.5%-a	2.167	2	0.2022	Rechaza

Tabla XIX. Porcentaje y desviación estándar, de lípidos (en peso seco) de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp. fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Tratamiento	Porcentaje	Desviación estándar
Control-s	13.8	0.9004
2.5%-s	11.8	0.3139
5%-s	12.2	0.5527
7.5%-s	12	0.3309
Control-a	21.1	1.1948
2.5%-a	22.2	0.5999
5%-a	21.5	0.9725
7.5%-a	20.7	0.0939

Tabla XX. Análisis de varianza de una vía paramétrico, de los porcentajes de lípidos (en peso seco) de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de Sig.
Entre tratamientos	7	723.5	103.36	32.6	<0.0001
Residual	36	114.3	3.17		
Total	43	837.8			

Tabla XXI. Valores promedio, diferencia de medias, número de medias en el rango (p), rango de student (q) y comparaciones a posteriori vía SNK, de los porcentajes de lípidos para adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Tratamientos	Diferencia. de medias	p	q	Grupos Homogéneos
2.5%-a vs 2.5%-s	10.324	8	13.532	Acepta
2.5%-a vs 7.5%-s	10.142	7	14.432	Acepta
2.5%-a vs 5%-s	9.933	6	13.464	Acepta
2.5%-a vs Control-s	8.36	5	12.114	Acepta
2.5%-a vs 7.5%-a	1.489	4	1.413	Rechaza
2.5%-a vs Control-a	1.096	3	1.192	Rechaza
2.5%-a vs 2.5%-a	0.668	2	0.634	Rechaza
5%-a vs 2.5%-s	9.656	7	9.386	Acepta
5%-a vs 7.5%-s	9.474	6	9.619	Acepta
5%-a vs 5%-s	9.265	5	9.172	Acepta
5%-a vs Control-s	7.692	4	7.882	Acepta
5%-a vs 7.5%-a	0.821	3	0.652	Rechaza
5%-a vs Control-a	0.428	2	0.372	Rechaza
Control-a vs 2.5%-s	9.227	6	10.357	Acepta
Control-a vs 7.5%-s	9.045	5	10.769	Acepta
Control-a vs 5%-s	8.837	4	10.164	Acepta
Control-a vs Control-s	7.264	3	8.758	Acepta
Control-a vs 7.5%-a	0.393	2	0.342	Rechaza
7.5%-a vs 2.5%-s	8.835	5	8.588	Acepta
7.5%-a vs 7.5%-s	8.653	4	8.785	Acepta
7.5%-a vs 5%-s	8.444	3	8.359	Acepta
7.5%-a vs Control-s	6.871	2	7.040	Acepta
Control-s vs 2.5%-s	1.964	4	3.018	Rechaza
Control-s vs 7.5%-s	1.782	3	3.078	Rechaza
Control-s vs 5%-s	1.573	2	2.533	Rechaza
5%-s vs 2.5%-s	0.391	3	0.558	Rechaza
5%-s vs 7.5%-s	0.209	2	0.329	Rechaza
7.5%-s vs 2.5%-s	0.182	2	0.274	Rechaza

Tabla XXII. Porcentaje y desviación estándar de peso orgánico seco, de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

Tratamiento	Porcentaje	Desviación estándar
Control-s	21.4	1.241
2.5%-s	25.0	0.850
5%-s	21.9	1.859
7.5%-s	17.4	0.905
Control-a	29.9	2.069
2.5%-a	30.7	0.808
5%-a	26.1	1.551
7.5%-a	28.2	1.879

Tabla XXIII. Análisis de varianza de una vía paramétrico, de los porcentajes de peso orgánico seco de adultos de *Artemia franciscana*, alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha= 0.05$.

Fuente de Variación	g.l.	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación F	Nivel de Sig.
Entre tratamientos	7	410.9	58.70	27.0	<0.0001
Residual	16	34.8	2.18		
Total	23	445.7			

Tabla XXIV. Valores promedio, diferencia de medias, numero de medias en el rango (p), rango de student (q) y comparaciones a posteriori vía SNK, de los porcentajes de peso seco orgánico para adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Tratamientos	Diferencia de medias	p	q	Grupos Homogéneos
2.5%-a vs 7.5%-s	13.323	8	15.64	Acepta
2.5%-a vs 5%-s	8.8.27	7	10.36	Acepta
2.5%-a vs control	7.275	6	8.54	Acepta
2.5%-a vs 2.5%-s	5.697	5	6.69	Acepta
2.5%-a vs 5%-a	4.587	4	5.39	Acepta
2.5%-a vs 7.5%-a	2.513	3	2.95	Rechaza
2.5%-a vs Control-a	0.852	2	1.00	No aplica
Control-a vs 7.5%-s	12.472	7	14.64	Acepta
Control-a vs 5%-s	7.975	6	9.36	Acepta
Control-a vs Control-s	6.423	5	7.54	Acepta
Control-a vs 2.5%-s	4.845	4	5.69	Acepta
Control-a vs 5%-a	3.735	3	4.39	Acepta
Control-a vs 7.5%-a	1.662	2	1.95	No aplica
7.5%-a vs 7.5%-s	10.810	6	12.69	Acepta
7.5%-a vs 5%-s	6.313	5	7.41	Acepta
7.5%-a vs Control-s	4.762	4	5.59	Acepta
7.5%-a vs 2.5%-s	3.183	3	3.74	Acepta
7.5%-a vs 5%-a	2.073	2	2.43	Rechaza
5%-a vs 7.5%-s	8.737	5	10.26	Acepta
5%-a vs 5%-s	4.24	4	4.98	Acepta
5%-a vs Control-s	2.688	3	3.16	Rechaza
5%-a vs 2.5%-s	1.110	2	1.30	No aplica
2.5%-s vs 7.5%-s	7.627	4	8.96	Acepta
2.5%-s vs 5%-s	3.130	3	3.68	Acepta
2.5%-s vs Control-s	1.578	2	1.85	No aplica
Control-s vs 7.5%-s	6.048	3	7.10	Acepta
Control-s vs 5%-s	1.552	2	1.82	Rechaza
5%-s vs 7.5% seca	4.497	2	5.28	Acepta

Tabla XXV. Porcentaje y desviaciones estándar de proteínas, carbohidratos, lípidos, porcentaje de peso seco orgánico y total de materia orgánica, de adultos de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos y *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión.

Tratamiento	Proteínas	Carbohid.	Lípidos	Cenizas	Total
Control	33.5 (9.71)	5.40 (1.08)	13.8 (0.90)	21.40 (1.24)	74.10
2.5%-s	31.7 (7.17)	5.04 (1.27)	11.8 (0.31)	25.01 (0.85)	73.55
5%-s	41.6 (12.56)	6.51 (1.08)	12.2 (0.55)	21.90 (1.85)	82.21
7.5%-s	33.3 (4.68)	6.48 (1.19)	12.0 (0.33)	17.39 (0.90)	69.17
Control-a	36.8 (0.33)	8.75 (1.41)	21.1 (1.19)	29.86 (2.06)	96.51
2.5%-a	27.1 (2.60)	6.33 (0.24)	22.2 (0.59)	30.07 (0.80)	85.70
5%-a	29.1 (6.56)	6.11 (0.76)	21.5 (0.97)	26.10 (1.55)	83.27
7.5%-a	25.0 (3.05)	4.79 (0.24)	20.7 (0.09)	28.20 (1.87)	78.69

VI DISCUSION

VI.1 ALIMENTACIÓN DE *Artemia franciscana*

Una de las limitantes principales durante el experimento fue suministrar alimento en calidad y cantidad adecuada a las artemias. Correa-Sandoval (1991) utilizaba una dieta semejante a la propuesta por Tackaer et al. (1987) con *Chaetoceros* sp. que utilizó *Dunaliella salina*. En ensayos preliminares realizados se observó que los organismos tardaban más de 21 días en madurar sexualmente. Por lo que se sospechó que la cantidad no era la suficiente y el crecimiento de los organismos se retardaba. Por lo anterior y a sugerencia del Dr. Patrick Sorgeloos, aumentamos las raciones diarias de alimento, este aumento se reflejó en una mejor tasa de crecimiento.

Por la anterior, consideramos que si bien los resultados fueron buenos, hay que elaborar un régimen alimenticio más específico con *Chaetoceros* sp., pues el aumento propuesto sólo fue empírico. También consideramos que la producción de la microalga *Chaetoceros* sp. es factible para el cultivo masivo de *Artemia* pues su cultivo no es difícil y se pueden obtener concentraciones celulares muy buenas.

La eficiencia de los fosfolípidos en el crecimiento y sobrevivencia varía con respecto a la fuente y tipo de fosfolípido usada. En los crustáceos también se ha demostrado que el nivel óptimo de fosfolípidos va acorde a la fuente lipídica utilizada. Teshima et al (1982) demostró que para larvas de *Penaeus japonicus*; los fosfolípidos que contengan colina o inositol ejercen efecto positivo sobre el crecimiento y la sobrevivencia. Los fosfolípidos que contienen ácido linoléico (18:2 ω 6), ácido linolénico (18:3 ω 3), ácido eicosapentaenólico (20:5 ω 3) y ácido docosapentaenólico (22:6 ω 3) son más efectivos para promover el crecimiento y la sobrevivencia. La efectividad de los fosfolípidos parece depender de la naturaleza de los ácidos grasos localizados en las posiciones alfa y beta de la molécula de fosfolípidos. Lo anterior es importante para la biosíntesis de fosfolípidos a partir de ácidos grasos libres y triglicéridos por las larvas de peces y crustáceos.

VI.2 CRECIMIENTO

Los datos disponibles en la literatura acerca de los días necesarios para la formación de parejas son pocos. Correa-Reyes (1993) y Paniagua-Chávez (1993) reportan primeras parejas a los 10 días y Arriaga-Haro (1993) y Sánchez-Saavedra (1994) a los 13 días. En el presente trabajo se obtuvieron parejas, en ambos experimentos a los 11 días. Esto da una primera idea de la eficiencia dietética del alimento proporcionado, ya que la adición de fosfolípidos en base seca y en emulsión no es dañina o negativa para el crecimiento de *Artemia franciscana*.

Mason (1963), reporta a los 11 días organismos de entre 3.7 mm y 5 mm al alimentar *Artemia* con una dosis constante de microalga. El mismo autor cuando aumenta la densidad de microalga constantemente, a los 11 días encuentra organismos de entre 5.75 mm y 6.6 mm. Abreu-Grobois (1991), en un experimento similar al de Mason (1963), obtuvo individuos de un promedio de 10.03 mm (± 0.72 mm) en 14 días de experimentación. Ambos autores utilizaron como alimento la microalga *Dunaliella tertiolecta*.

Los métodos usados para medir *Artemia*, son diferentes. Mason (1963) aplicó la técnica de fotografías amplificadas sobre papel milimétrico. Abreu-Grobois (1991) no indica como midió los organismos. Al medir las artemias se

observó el problema de que los individuos estaban curvados y no era posible medirlos con exactitud con la reglilla del microscopio, por lo que consideramos que hay que tomar con cautelas los datos obtenidos. El Dr. Peter Coutteau indicó que la manera más exacta de medir *Artemia* es mediante un programa estadístico que el mismo diseñó, con una cámara clara o con un curvómetro.

Por lo que respecta a las tallas Correa-Reyes (1993) reporta tallas de 7 mm en promedio, Sánchez-Saavedra (1993) de 4.85 mm y Arriaga-Haro (1993) de 6.00 mm, en condiciones similares de cultivo y alimentación a las de este trabajo y Paniagua-Chávez (1993), quien suministro *Dunaliella*, registró artemias de 6.50 mm

En este trabajo encontramos que en el experimento en el que se alimento con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos en base saca, las tallas son más pequeñas que los alimentados con emulsiones. Las medianas de las tallas van desde los 3.99 mm para 7.5%-seca a 4.51 mm 5%-seca. Los análisis estadísticos revelan que este último grupo es diferente a todos lo demás.

Los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión, son constantemente mayores que los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos. Las medianas de las tallas varían de 4.83 mm (Control-aceite) a 5.38 mm (2.5%-aceite). La estadística indica que los tres

tratamientos en los que se utiliza fosfolípidos son semejantes y que son diferentes del tratamiento en el que no se usa fosfolípidos.

Entonces podemos concluir que las tallas de *Artemia franciscana*, alimentadas con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos y en emulsión están dentro de los estándares del laboratorio de acuicultura del CICESE.

Las diferencias encontradas pueden atribuirse a la microalga utilizada Paniagua-Chávez (1993) utiliza *Dunaliella* sp., Mason (1963) y Abreu-Grobois (1991) alimentan con *Dunaliella tertiolecta* en el presente trabajo se proporcionó *Chaetoceros* sp. La primera es un alga de mayor tamaño, 8-11 x 14-16µm mientras *Chaetoceros* sp. mide 4-6 x 6-8µm. Aunque sus composiciones bioquímicas no difieren en mucho (Borowitzka y Borowitzka, 1988). Mason (1963) y Abreu-Grobois (1991) señalan que los principales factores que se deben de tomar en cuenta para alimentar *Artemia* son la concentración del alimento, su disponibilidad y la accesibilidad al volumen microalgal necesario.

Por lo anterior, se aumentó la dosis de microalga propuesta por Tackaert et al. (1987), debido a que ésta era única y exclusivamente para *Dunaliella* sp. y no para todas las microalgas (*Sorgeloos com. pers.*). El aumento fue positivo, pues en experimentos preliminares se observaron parejas hasta en 21 días y con el nuevo régimen en 11.

El crecimiento, el tiempo para alcanzar la maduración y la longitud promedio de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos o emulsiones resultan de interés. Desde el punto de vista de la producción ya que se pueden obtener organismos de buena talla en menor tiempo, como resultado de la calidad del alimento.

Resultaría difícil atribuir estos resultados a un efecto específico, posiblemente el crecimiento de *Artemia franciscana* se vea favorecido por la adición de un promotor del desarrollo, como los fosfolípidos o la combinación de éstos con el alimento. Por lo que su utilización sería recomendable en el cultivo de estos organismos.

VI.3 SOBREVIVENCIA

A diferencia de los datos de crecimiento los de sobrevivencia son más frecuentes en la literatura, pues es de vital interés conocer la efectividad de las dietas que se utilizan en el cultivo de *Artemia*. Por desgracia, la mayoría de los datos de sobrevivencia se refieren a cultivos con un número bajo de individuos (1 a 50 organismos) y en condiciones ambientales muy controladas. Además de que los artículos no exponen de manera clara los procedimientos de evaluación de la sobrevivencia. Como lo mencionamos en la metodología tuvimos que cambiar la forma de evaluación de la sobrevivencia (alícuotas de 5 ml) por una que proporcionara información más segura (alícuotas de 50 ml) que nos permitiera inferir mejor sobre nuestros datos.

Correa-Reyes (1993), Arriaga-Haro (1993) y Sánchez-Saavedra (1993), que cultivaron *Artemia franciscana* en condiciones similares a las del presente trabajo, reportan sobrevivencias de 30.41%, 55.8% y 76% respectivamente. En el presente trabajo se encontró que en los tratamientos en los que se suministró un 2.5% de fosfolípidos, ya sea en emulsión o secos, la sobrevivencia fue de 83%.

La inclusión de fosfolípidos en las dietas de diversos organismos en cultivo produce mejores sobrevivencias. Conklin et al. (1980) demostraron que la

inclusión de fosfolípidos de soya (3% a 6%), en la dieta de *Homarus americanus*, es esencial para el crecimiento y la sobrevivencia de langostas alimentadas con dietas purificadas con caseína como proteína principal. De igual manera Kanazawa et al. (1985) informan que la adición de fosfatidilcolina (PC) y fosfatidilinositol (PI), en la dieta de *Penaeus japonicus* favorece la sobrevivencia y el crecimiento.

Otros datos no son tan claros como los anteriores. Chen y Jenn (1991) mencionan que el efecto combinado de colesterol y fosfatidilcolina, no aumenta significativamente la conversión alimenticia y sobrevivencia de juveniles de *Penaeus penicillatus*. Por separado concentraciones de 1.25% de fosfatidilcolina favorecen la sobrevivencia en juveniles de *Penaeus monodon* (Chen, 1993). En ambos trabajos se sugiere que el efecto de los fosfolípidos sobre la sobrevivencia y crecimiento está en relación con la calidad y cantidad de ácidos grasos de los fosfolípidos.

Briggs et al. (1988 y 1994) mencionan la misma clase de datos en donde en algunos organismos la adición de fosfolípidos no provoca ningún efecto como en *Macrobrachium rosenbergii* mientras que en *Penaeus monodon* la adición de fosfolípidos en la dieta favoreció el crecimiento, la sobrevivencia y la conversión alimenticia, proponiendo que el efecto está dado por el tipo y la cantidad de ácidos grasos presentes en los fosfolípidos.

Los resultados aquí obtenidos son prometedores, pues las altas sobrevivencias aseguran una alta producción de biomasa en un tiempo corto. Además la biomasa obtenida es de *Artemia* enriquecida, la cual se puede utilizar para alimentar a los organismos en cultivo. El mecanismo de como las lecitinas favorecen a la sobrevivencia no esta claro, se propone de manera general que los ácidos grasos libres y los asociados a los fosfolípidos son los causantes de este efecto. Por lo que es recomendable la utilización de fosfolípidos en base seca y en emulsiones, para el cultivo de artemia.

VI.4 VALOR NUTRICIO DE *Artemia franciscana*

Una de las limitantes principales en la crianza de larvas de peces y crustáceos, es la obtención de alimento vivo. Diversos investigadores (Watanabe et al., 1983; Léger et al., 1986 y Bengston et al., 1991) han resaltado la importancia de una dieta aceptable, digerible y de alta calidad nutricional, para los organismos cultivados.

Dentro de la larga lista de organismos con las características de palatabilidad, digestibilidad y alta calidad nutricia, sólo algunos son candidatos posibles, porque no existen en cantidad suficiente para sostener la continua demanda de alimento (Léger et al, 1986). El hecho de que *Artemia* forme quistes de resistencia, la hace un organismo muy conveniente, pues requiere un mínimo de trabajo y es una alimento siempre disponible (Bengtson et al., 1991). El problema de su variabilidad nutricia, tanto temporal como geográfica aun prevalece. Sin embargo, desde la década de los ochenta se ha tratado de mejorar su calidad nutricia, esto mediante la alimentación o bien por enriquecimiento (Léger et al., 1986).

Según Léger et al. (1986) existen 4 técnicas de enriquecimiento de *Artemia*. El método inglés (alimentación con microalgas ricas en ácidos grasos), japonés (Directo con

emulsiones e indirecto con levaduras- ω , francés (mezclas complejas) y belga (autoemulsificantes).

En este experimento se utilizó una mezcla de la técnica japonesa y la belga. La ventaja de estas dos técnicas es su facilidad de uso y efectividad. Esto se vió reflejado en el experimento donde se alimentó con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión, donde los porcentajes de lípidos aumentaron en un 80% con respecto al control.

Léger *et al.*, (1986), en una revisión exhaustiva sobre el valor nutricional de adultos de *Artemia*, muestra como la variabilidad nutricional es muy grande. En éste estudio los valores de proteína varían entre 50% y 69%, carbohidratos 9% y 17% y los lípidos 2% y 19%. Estos datos se acentúan más cuando se comparan con los resultados de proteínas equivalente de 9.76%, 26.68% y 46.74% obtenidos respectivamente por Arriaga-Haro (1993), Correa-Reyes (1993) y Sánchez-Saavedra (1994) quienes trabajan en condiciones similares. Los valores registrados en el presente trabajo varían de 41.6% a 25%.

Las diferencias observadas en proteínas, tienen probablemente su origen en la metodología de conservación y determinación. Grabner (1981/1982), Sasaki y Capuzzo (1984) y Liu y Simpson (1983), indican que las mejores formas de conservar *Artemia* es en congelación a -70°C , en nitrógeno líquido o liofilizada. En el presente trabajo los organismos

fueron conservados primeramente congelados a -70°C y posteriormente liofilizados para su análisis.

Con respecto a los carbohidratos, los porcentajes son menos variables (8.75% a 4.79%). Gozalbo et al, (1991) menciona valores entre 3% y 18% y Léger et al (1986) de 2% a 17%. Correa-Reyes (1993) y Arriaga-Haro (1993) encontraron valores bajo (3.9% y 2.95%, respectivamente). A diferencia Sánchez-Saavedra (1994) publica valores muy altos de carbohidratos (21%). Estos datos fueron obtenidos con la misma microalga y en condiciones semejantes de cultivo.

Este trabajo enfatiza sobre el contenido lipídico influenciado mediante dietas ricas en fosfolípidos y aceite de macarela. Ozkizilcik y Chu (1994 a y b) alimentaron nauplios de *Artemia* durante 24 y 48 h con fosfolípidos. Los resultados fueron de entre 15% y 25% de lípidos totales, los que coinciden con los registrados para la alimentación de *Artemia franciscana* con *Chaetoceros* sp./fosfolípidos en emulsión. Los datos de alimentación de *Artemia franciscana* con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos no aumentan debido a que tal vez la estabilidad de los liposomas formados no es muy grande y posiblemente no estuvieran disponibles para ser incorporados en el organismo (Bangham, 1977) o bien son degradados y utilizados inmediatamente en el metabolismo.

Los lípidos no sólo son incorporados al tracto digestivo del organismo, sino que también son metabolizados

posiblemente por una fosfolipasa A₂ e hidrolasas ácidas, que existen en *Artemia* (Ozkizilcik, 1994c). Benjits et al (1975) y Navarro (1991) demostraron que durante la embriogénesis, en este invertebrado se utilizan grandes cantidades de lípidos en los estadios nauplios y metanauplios, los cuales pueden disminuir hasta en un 60%. Típicamente el enriquecimiento de nauplios de *Artemia* se lleva a cabo durante 24 hrs., durante este período las nauplios crecen, haciéndolos inapropiados para alimentar larvas de peces y crustáceos. El enriquecer a los nauplios inmediatamente después de su eclosión minimizaría este problema y favorecería el crecimiento.

Por lo anterior se puede afirmar que la alimentación con *Chaetoceros* sp. y fosfolípidos en emulsión es recomendable, pues se observan efectos positivos sobre el valor nutritivo. Lo que aseguraría biomasa de buena calidad para su utilización, ya sea como alimento o como harina de *Artemia*

La idea de que los alimentos con mayor contenido de proteína son los más adecuados para el desarrollo de los organismos marinos esta bien documentada. Pero en fechas más recientes han tomado gran relevancia en la acuicultura el uso de las diferentes clases de lípidos. Esto se demuestra en la cantidad de trabajos publicados en los que se usa *Artemia* como acarreador de lípidos. (Watanabe et al., 1982; Léger et al., 1985; Amat et al., 1987; Gatosoupe, 1991; Abelin, 1992,

Izquierdo *et al.*, 1992; Tuncer y Harrell, 1992; Mourente y Tocher 1993; Mourente *et al.*, 1993; Ako *et al.*, 1994; Craig *et al.*, 1994; Ozkizilcik y Chu 1994d; Rees *et al.*, 1994, Reitan *et al.*, 1994). Todos estos autores obtiene resultados prometedores utilizando artemia como un acareador de sustancias bioactivas, siendo este un campo con futuro para la producción acuícola animal.

VII CONCLUSIONES

- 1) La dieta utilizada es benéfica. La microalga *Chaetoceros* sp. es un buen alimento para *Artemia franciscana*.
- 2) Los días necesarios para la obtención de primeras parejas fué de sólo 11 días, cuando en los experimentos preliminares se obtuvieron en 21.
- 3) La adición de fosfolípidos en emulsión favorece más el crecimiento que los fosfolípidos secos.
- 4) Concentraciones de 2.5% de fosfolípidos secos o en emulsión favorecen la sobrevivencia de *Artemia franciscana* hasta en un 83%.
- 5) La adición de fosfolípidos a la dieta de *Artemia franciscana* no modifica los porcentajes de carbohidratos y proteína.
- 6) La adición de fosfolípidos en emulsión aumenta hasta en 80% los porcentajes de lípidos en adultos de *Artemia franciscana*.
- 7) La utilización de emulsiones y liposomas en la dieta de *Artemia franciscana* es factible a nivel experimental y piloto.

LITERATURA CITADA

- Abelin, P. 1992. Development and evaluation of unconventional forms of *Artemia* sp as a food source for penaeid shrimp. Thesis of Doctor in Agricultural Sciences. Universiteit Gent. Bélgica 189 pp.
- Abreu-Grobois, F.A., R. Briseño-Dueñas, M.A. Herrera, and M.L. Malagón. 1991. A model for growth of *Artemia franciscana* cultures based on food ration-dependent gross growth efficiencies. *Hydrobiologia*, 212: p. 27-37.
- Adamson, A.W. 1982. Physical chemistry of surfaces. Ed, John Wiley & Sons. USA. 664 pp.
- Aguilar-Aguila, A., A. Tejeda-Mancir and A. Ruíz-Manríquez. 1994. Using brine shrimp as a drug carrier for therapeutic applications in aquaculture. *Aquaculture Engineering* 13: p. 301-309.
- Ako, H., C.S. Tamaru, P. Bass and L. Cheng-Sheng. 1994. Enhancing the resistance to physical stress in larvae of *Mugil cephalus* by the feeding of enriched *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 122: p. 81-90.
- Amat, F., F. Hontoria and J.C. Navarro. 1987. International study on *Artemia* XLIV. Preliminary nutritional evaluation of different *Artemia* nauplii as food for marine fish and prawn larvae. In: *Artemia Research and its applications 1987*. Vol. 3. Ecology, Culturing. Use in Aquaculture P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Declair and E. Jaspers (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 556 pp.
- Arriaga Haro, V.M. 1993. Evaluación de dos dietas fresca y una preservada para *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE), México. Tesis Maestría en Ciencias. 51 pp.
- Bangham, A.D. 1977. Properties and uses of lipid vesicles. pag. 2-7. In: Papahadjopoulos D. 1977. Liposomes and their uses in biology and medicine. Ed. Annals of the New York Academy of Sciences, New York, USA. 462 pp.
- Barnes, R. D. 1984. Zoología de los invertebrados. Ed. Interamericana. México. 1157 pp.

- Benjits, F., E. Vanvorden and P. Sorgeloos. 1975. Changes in the biochemical composition in the early stages of the brine shrimp *Artemia salina*. In: G. Persoone and E. Jaspers (Ed.), Proc. 10 th. Eur. Mar. Biol. Symp. Universa Press. Wetteren, Belgium, p. 1-9.
- Bengtson, D.A., P. Léger and P. Sorgeloos. 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. p. 255-285. In: Browne, R.A., P. Sorgeloos and C.N.A. Trotman. 1991. *Artemia* biology. Ed. CRC. Boca Raton FL. USA. 374 pp.
- Bligh, E. G. & W. J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37: p. 911-917.
- Bonacker, U. 1988. The significance of phosphatylcholine for lipid metabolism. Publication No. 6. Lucas Meyer, GmbH & Co. KG. Hamburg. 43 pp.
- Borowitzka M.A. and L.J. Borowitzka. 1988. Micro-algal biotechnology. Cambridge University press. Great Britain. 477 pp.
- Briggs, M.R.P., K. Jauncey and J.H. Brown. 1988. The cholesterol and lecithin requirements of juvenile prawn *Macrobrachium rosenbergii* fed semipurified diets. Aquaculture, 70: p. 121-129.
- Briggs, M.R.P. 1994. The effect of dietary lipid and lecithin levels on the growth, survival, feeding efficiency, production and carcass composition of post-larval *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture and Fisheries Management, 25: p. 279-294.
- Brusca, R.C. and G.J. Brusca. 1990. Invertebrates. Ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. USA . 922 pp.
- Castell, J.D., J.C. Kean, L. D'Abramo and D.E. Conklin. 1989. A standard reference diet for crustacean nutrition research. I. Evaluation of two formulations. Journal of the World Aquaculture Society, 20(3): p. 93-99.
- Craig, S.R., C.R. Arnold and G.J. Holt. 1994. The effects of enriching live foods with highly unsaturated fatty acids on the growth and fatty acids composition of larval reed drum *Sciaenops acellatus*. Journal of the World Aquaculture Society, 25(3): p. 424- 431.

- Camara, M.R., W. Tackaert and P. Sorgeloos. 1993. The effect of different levels and sources of dietary phosphatidylcholine on the growth, survival and stress resistance of postlarval *Penaeus japonicus*. European Maricult. Soc. Special Publication No. 18. World Aquaculture'93 Torremolinos, España. p. 118.
- Castro, T. y C. Gallardo. 1985. *Artemia* sp. Cuadernos 2 CBS, Ed. Universidad Autónoma Metropolitana. México D.F. 43 pp.
- Chen, H.Y. and J.S. Jenn. 1991. Combined effects of dietary phosphatidylcholine and cholesterol on growth, survival and body lipid composition of marine shrimp, *Penaeus penicillatus*. *Aquaculture*, 96: p. 167-178.
- Chen, H.Y. 1993. Requirements of marine shrimp, *Penaeus monodon*, juveniles for phosphatidylcholine and cholesterol. *Aquaculture*, 109: p. 165-176.
- Chiaverini, J. 1972. Techniques d' extraction et d' analyse des lipides. Université de Paris. Estation Biologique Villefranche-Sur-Mer. Notes de travail No. 12. 12 pp.
- Claus, C., F. Benjits and Vandeputte. 1979. The biochemical composition of the larvae of two strains of *Artemia salina* (L.) reared on two different algal foods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 36: p. 171-183.
- Conklin, D.E., L.R. D'Abramo, C.E. Bordner and N.A. Baum. 1980. A successful purified diet for the culture of juvenile lobsters: the effect of lecithin. *Aquaculture*, 21: p. 243-249.
- Cordero-Ezquivel, B. 1994. Evaluación de diferentes métodos de preservación de dietas de microalgas y su efecto sobre el crecimiento de *Mytillus galloprovincialis* Lamarck. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México. Tesis de Doctorado. 93 pp.
- Correa-Reyes, G. 1993. Alimentación de *Artemia franciscana* con microalgas cultivadas bajo diferentes tipos de luz. Universidad Autónoma de Baja California. México. Tesis profesional. 55 pp.
- Correa-Sandoval, F. 1991. Caracterización biológica y bioquímica de algunas poblaciones de *Artemia franciscana* Kellog, 1906. Centro de Investigación Científica y de

- Educación Superior de Ensenada. México. Tesis de Doctorado. 126 pp.
- Correa-Sandoval, F., L.F. Bückle-Ramirez and J. de la Rosa-Vélez. 1993. Hibridación en algunas poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca:Artemidae). *Rev Biol. Trop.*, 41(1): p. 97-101.
- Coutteau, P., P. Leavens and P. Sorgeloos. 1990. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* as a case study. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21(1): p. 1-9.
- Daniel, W.W. 1991. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. Tercera Edición. Ed. Limusa. México. 667 pp.
- Dhert, P., P. Leavens, M. Duray and P. Sorgeloos. 1990. Improved larval survival and metamorphosis of Asian seabass (*Lates calcerifer*) using ω 3-HUFA-enriched live food. *Aquaculture*, 90: p. 63-74.
- Dubois, M. K.A. Gillles, J.K. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* 28: p. 223-239.
- Dobbeleier, J., N. Adam, E. Bossuyt, E. Bruggeman and P. Sorgeloos. 1980. New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp. p. 165-174. *In: The brine shrimp Artemia Vol. 3. Ecology, culturing, use in aquaculture.* G. Persoone et al. (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 428 pp.
- Gabaudan, J., G.M. Pigott and J.E. Helve. 1980. The effect of processing on protein ingredients for larval diets: biological evaluation. *Proc. World. Maricult. Soc.* 11: p. 424-432.
- Gardiner, M.S. 1978. *Biología de los invertebrados.* Ed. Ediciones Omega. Barcelona, España. 939 pp.
- Gatesoupe, F.J. 1991. Managing the dietary value of *Artemia* for larval turbot *Scophthalmus maximus*; the effect of enrichment and distribution techniques. *Aquacultural Engineering*, 10: p. 111-119.
- Gozalbo, A., F. Amat, F. Hontoria, J.C. Navarro y I. Varo. 1991. Composición bioquímica de *Artemia* alimentada con

- diferentes dietas. p. 215-221. En: Larvicultura de camarones peneidos. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento. Vol. 1. 281 Pp. Publicaciones de el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo V Centenario. Subprograma II-Acuicultura (CYTED-D).
- Gozalbo, A. y F. Amat. 1991. Composición bioquímica de biomásas silvestres de *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca). p. 222-229. En: Larvicultura de camarones peneidos. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento. Vol. 1. 281 pp. Publicaciones de el Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo V centenario. Subprograma II-Acuicultura (CYTED-D).
- Grabner, M., W. Weiser and R. Lackner. 1981/1982. The suitability of frozen and freeze-dried zooplankton as food for fish larvae: A biochemical test program. *Aquaculture*, 26: p. 85-94.
- Guillard, R.L.L. y J.H. Ryther. 1963. Studies on marine planktonic diatoms I. *Chlorella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: p. 229-239.
- Hemmerik, G. 1973. Mass culture. p. 255-273. In: Handbook of phycolgical methods. J.R. Stein (ed.). Ed Cambridge Univ. Press, New York. 448 pp.
- Hertrampf, J.W. 1991. Feeding aquatic animals with phospholipids I. Crustaceans. Publication No. 8. Lucas Meyer, GmbH & Co. KG. Hamburg. 31 pp.
- Honotora, F., J.H. Crowe, L.M. Crowe and F. Amat. 1994. Potential use of liposomes in larviculture as a delivery system through *Artemia nauplii*. *Aquaculture*, 127: p. 255-264.
- Izquierdo, M.S., T. Arakawa, T. Takeuchi, R. Haroun and T. Watanabe. 1992 Effects of n-3 HUFA on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 105: p. 73-82.
- Kanazawa A., S. Teshima and M. Sakamoto. 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn *Penaeus japonicus* larvae. *Aquaculture*, 50: p. 39-49.

- Kean, J.C., J.D. Castell, A.G. Bogen, L.R. D'Abramo and D.E. Conklin. 1985. A re-evaluation of lecithin and cholesterol, requirements of juvenil lobster *Homarus americanus* using crab protein-based diets. *Aquaculture*, 47: p. 143-149.
- Kemp, P.F., B.F. Sherr; E.B. Sherr and J.J. Cole. 1993. Statistical analysis of direct counts of microbial abundance. p. 117-120. *In: Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewin Publishers, Boca Raton , FL. USA. 777 pp.
- Lasic, D. 1992. Liposomes. *American Scientist*, 80: p. 20-31.
- Landau, M., G. Miyamoto and C. Bolis. 1985. Growth and aminoacid composition of *Artemia salina* (L. 1758) fed algae grown in different media. *Crustaceana* 49(3), p. 318-321.
- Léger, P., G.F. Bieber and P. Sorgeloos. 1985. International study on *Artemia* XXXIII. Promising results in larval rearing of *Penaeus stylirostris* using a prepared diet as algal substitute and for *Artemia* enrichment. *Journal of the World Aquaculture Society*, 16: p. 354-367.
- Léger, P., P. Sorgeloos, O.M. Millamena and K.L. Simpson. 1985. International study on *Artemia*. XXV. Factors determining the nutritional effectiveness of *Artemia*: The relative impact of chlorinated hydrocarbons and essential fatty acids in San Francisco Bay and San Pablo Bay *Artemia*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* Vol. 93, p. 71-82.
- Léger, P., D.A. Bengtson, K.L. Simpson and P. Sorgeloos. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 24: p. 521-623.
- Léger, P., E. Naessens-Foucquaert, and P. Sorgeloos. 1987. International study on *Artemia* XXXV. Techniques to manipulate fatty acid profile in *Artemia* nauplii, and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* (M). *In: Artemia Research and its applications 1987*. Vol. 3 Ecology, Culturing. use in Aquaculture. P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Declair and E. Jaspers (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 556 pp.
- Liu, S.R and K.L. Simpson. Lipid stability in the drying of *Artemia* by several methods. *Aquacultral Engineering*, 8: p. 293-305.

- López-Eliás, J.A. y D.Voltolina 1993. Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. *Ciencias Marinas*. 19(2): p. 169-180.
- Lowry, O. A., Rosenberg y R. Randall. 1951. Protein measurement with the folinphenol reagent. *J. Biol. Chem.* (163): p. 265-275.
- Malara, G. et L. Charra. 1972b. Dosage de glucides particuliers de phytoplancton selon le méthode de Dubois. Université de Paris. Station Zoologique. Villefrenche-Sur-Mer. Notes de travail. No 6. 12 pp.
- Martin-Robichaud, D.J., R.H. Peterson, T.J. Benfey and L.W. Crim. 1994. Direct feminization of lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.) using 17β -oestradiol-enriched *Artemia* as food. *Aquaculture*, 123: p. 137-151.
- Mason, D.T. 1963. The growth response of *Artemia salina* (L.) to various feeding regimes. *Crustaceana*, 5: p. 138-150.
- Mendelhall, W. 1987. Introducción a la probabilidad y estadística. Ed. Iberoamericana. México. 626 pp.
- Mourente, G., A. Rodriguez, D.R. Tocher and J.R. Sargent. 1993a. Effects of dietary docosahexaenoic acids (DHA; 22:6n-3) on lipid and fatty acid compositions and growth in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) larvae during first feeding. *Aquaculture*, 112: p. 79-98.
- Mourente, G. and D.R. Tocher. 1993b. The effects of weaning on to dry pellet diet on brain lipid and fatty acid composition in post-larval gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 104A(3): p. 605-611.
- Navarro, J.C., F. Amat and J.R. Sargent. 1991. A study of the variations in lipids levels, lipid class composition and fatty acid composition in the first stages of *Artemia* sp. *Marine Biology*, 111: p. 461-465.
- Navarro, J.C. F. Amat and J.R. Sargent. 1992. Fatty acid composition of coastal and inland *Artemia* sp. populations from Spain. *Aquaculture*, 102, p. 219-230.
- Navarro, J.C., F. Amat and J.R. Sargent. 1993. The lipids of the cysts of freshwater-and marine- type *Artemia*. *Aquaculture*, 109: p. 327-336.

- Nelis, R., F. Léger, P. Sorgeloos and A.P. Leenheer. 1991. Liquid chromatographic determination of efficacy of incorporation of trimethoprim and sulfamethoxazole in brine shrimp (*Artemia* spp.) used for prophylactic chemotherapy of fish. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 35: p. 2486-2489.
- Ostro, M.J. 1987. Liposomes. *Scientific American*. 256: p. 103-111.
- Ozkizilcik, S. and F.L.E. Chu. 1994a. Use of liposomes to enrich *Artemia* with phospholipids. Book of Abstracts, World Aquaculture Society '94. New Orleans, LA, USA. 14-18 January 1994, p. 204.
- Ozkizilcik, S. and F.L.E. Chu. 1994b. Uptake and metabolism of liposomes by *Artemia* nauplii. *Aquaculture*, 128: p. 131-141.
- Ozkizilcik, S. and F.L.E. Chu. 1994c. Ontogenic changes of lipolytic enzymes in developing striped Bass *Morone saxatilis* larvae. Book of Abstracts, World Aquaculture Society '94. New Orleans, LA, USA. 14-18 January 1994, p. 205.
- Ozkizilcik, S. and F.L.E. Chu. 1994d. Evaluation of omega-3 fatty acids enrichment of *Artemia* nauplii as food for striped bass *Morone saxatilis* Walbaum larvae. *Journal of the World Aquaculture Society*, 25(1): p. 147-154.
- Pande, S.V., R.P. Khan and T.A. Venkatasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analyt. Biochem.* 6: p. 415-423.
- Paniagua-Chávez, C. G. 1993. Viabilidad, composición proximal y valor alimenticio de **Dunaliella** sp preservada por congelamiento. Centro de Educación Científica y Educación Superior de Ensenada. México. Tesis de Maestría en Ciencias. 74 pp.
- Persoone, G. & P. Sorgeloos. 1980. General aspects of the ecology and biogeography of *Artemia*. p. 3-34. In: *The brine shrimp Artemia* Vol. 3. Ecology, Culturing, use in Aquaculture. G. Persoone et al. (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 428 pp.
- Peterson, G. L. 1977. A simplification of the protein assay of Lowry et al. which is more generally applicable. *Analytical Biochemistry* 83: p. 346-356.

- Rees, J.F., K. Curé, S. Piyatiratitivorakul, P. Sorgeloos and P. Menasveta. 1994. Highly unsaturated fatty acid requirements of *Peneus monodon* postlarvae: an experimental approach based on *Artemia* enrichment. *Aquaculture*, 122: p. 193-207.
- Reitan, K.I., J.R. Rainuzzo and Y. Olsen. 1994. Influence of lipid composition of live feed on growth, survival and pigmentation of turbot larvae. *Aquaculture International*, 2: p. 33-48.
- Sakamoto, M., D.L. Holland and D.A. Jones. 1982. Modification of the nutritional composition by incorporation of polyunsaturated fatty acids using-microencapsulated diets. *Aquaculture*, 28: p. 311-320.
- Sanchez-Saavedra, P. 1994. Efecto de la luz sobre el crecimiento, la composición bioquímica y el valor alimenticio de *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México. Tesis de Doctorado. 90 pp.
- Sasaki, G.C. and J.M. Capuzzo. 1984. Degradation of *Artemia* lipids under storage. *Comp. Biochem. Physiol.* 3: p. 525-531.
- Sigma Diagnostics, Protein Assay Kit. St Louis, Mo. USA. 4 pp.
- Sorgeloos, Patrick. Professor and Director of the Laboratory of aquaculture & *Artemia* Reference Center University of Gent. Rozier 44 B-9000, Gent, Belgium. e-mail (internet) Patrick.Sorgeloos@RUG.AC.BE
- Sorgeloos, P., E. Bossuyt, E. Laviña, M. Baeza-Meza and G. Persoone. 1977. Decapsulation of *Artemia* cyst: A simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in Aquaculture. *Aquaculture*, 12: p. 311-315.
- Sorgeloos, P. 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in Aquaculture, p. 25-46. In: *The brine shrimp Artemia Vol 3 Ecology, Culturing, use in Aquaculture*. Persoone G., P. Sorgeloos and E. Jaspers (eds.). Universa Press. Wetteren, Belgium. 456 pp.
- Sorgeloos, P., E. Bossuyt, P. Lavens, P. Léger, P. Vanhaecke and D. Varsichelle. 1983. The use of brine shrimp *Artemia* in crustacean hatcheries and nurseries. p. 71-96. In:

- McVey, J.P. (Eds.). Handbook of mariculture. Volume I Crustacean Aquaculture. Ed. CRC Press. Boca Raton, U.S.A. 443 pp.
- Sorokin, C. 1973. Dry weight, packed cell volume and optical density. p. 321-343. In: Stein, J.R. (ed.) Handbook of Physiological Methods. Culture methods and growth measurements, Cambridge University Press, New York. 394 pp.
- Tackaert, W. , P. Vanhaecke & P. Sorgeloos. 1987. Preliminary data on the heritability of some quantitative characteristics in *Artemia*. p. 241-248. In: *Artemia* Research and its applications. Vol. 1. P. Sorgeloos et al., (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 380 pp.
- Tacon, G.J. 1990. Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación. Documento de Campo No.4. 1989. Programa Cooperativo Gubernamental FAO-Italia. Proyecto AQUILA II GCP/RLA/102/ITA. Organización de la Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Brasilia, Brasil. 572 pp.
- Trujillo-Valle, M.L. 1993. La colección de microalgas del CICESE. Informe Técnico. Comunicaciones Académicas, Serie de Acuicultura, CICESE. CIACT9301. 103 pp.
- Tuncer, H. and R.M. Harrell. 1992. Essential fatty acid nutrition of larval striped bass (*Morone saxatilis*) and palmetto bass (*Morone saxatilis* X *M. chrysops*). Aquaculture, 101: p. 105-121.
- Verpraet, R., M. Chair, P. Léger, H. Nelis, P. Sorgeloos and A. DeLeenheer. 1992. Live food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture. The enrichment of therapeutic in rotifers and *Artemia* nauplii. Aquaculture Engineering. 11: p. 133-139.
- Watanabe, T., F. Oowa, C. Kitajima and S. Fujita. 1978. Nutritional quality of brine shrimp *Artemia salina*, as a living feed from the view point of essential fatty acids for fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 44(10), p. 1115-1121.
- Watanabe, T., F. Oowa and C. Katajima. 1980. Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of ω 3 highly unsaturated fatty acids. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 46(1), p. 35-41.

- Watanabe, T., Ohta, M., Katajima Ch. and Fujita, S. 1982. Improvement of dietary value of brine shrimp *Artemia salina* for fish larvae by feeding them on ω 3 highly unsaturated fatty acids. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 48(12): p. 1775-1782.
- Watanabe, T., C. Katajima and S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms in Japan for mass propagation of fish: A review. Aquaculture, 34: p. 115-143.
- Webster, C.D. and R.T. Lovell. 1990. Quality evaluation of four sources of brine shrimp *Artemia* spp. Journal of the World Aquaculture Society, 21(3): p. 180-185.
- Yashiro, R. 1987. The effects of *Artemia* fed with different diets and the growth and survival of *Penaeus monodon* Fabricius larvae. In: *Artemia* Research and its applications 1987. Vol. 3 Ecology, culturing, use in Aquaculture. P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Declair and E. Jaspers (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. 556 pp.
- Zar, J.H., 1984. Biostatistical Analysis. Ed. Prince Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. USA. 718 pp.