INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
CICIMAR-IPN

USO DEL NEMATODO *Panagrolaimus* sp. COMO SUSTITUTO A LA *Artemia* EN LA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DEL JUREL (*Seriola rivoliana*, VALENCIENNES, 1833)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA

Itzi Yesenia Guzmán de las Nieves

LA PAZ, B.C.S., NOVIEMBRE DEL 2019

SIP-14 BIS

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 23 del mes de Octubre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"USO DEL NEMATODO *Panagrolaimus* sp. COMO SUSTITUTO DE LA *Artemia* EN LA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE JUREL (*Seriola rivoliana*, VALENCIENNES, 1833)"

Presentada por el alumno:

GUZMÁN	DE LAS NIEVES	ITZI YESENIA
Apellido paterno	materno	nombre(s)

Con registro:

B	1	7	0	7	1	6

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron ***APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS***, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DRA. SILVIE DUMAS
Directora de Tesis

DRA. LAURENCE STEPHANIE MERCIER
2°. Directora de Tesis

DR. RENATO PEÑA MARTÍNEZ

DRA. SYLVIA PATRICIA ADELHEID JIMÉNEZ ROSENBERG

M en C. MAURICIO CONTRERAS OLGUIN

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

PODER EJECUTIVO FEDERAL ESTADOS UNIDOS MEXICANOS MÉXICO, D.F

I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 08 del mes de Noviembre del año 2019

El (la) que suscribe BIÓL. ITZI YESENIA GUZMÁN DE LAS NIEVES Alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B170716 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DRA. SILVIE DUMAS y DRA. LAURENCE STEPHANIE MERCIER

y cede los derechos del trabajo titulado:

"USO DEL NEMATODO *Panagrolaimus* sp. COMO SUSTITUTO DE LA *Artemia* EN LA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE JUREL (*Seriola rivoliana*, VALENCIENNES, 1833)"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: itzi_gN@hotmail.com - sdumas@ipn.mx – lmercier04@cibnor.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BIÓL. ITZI YESENIA GUZMAN DE LAS NIEVES

Nombre y firma del alumno

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada No. 632023 para realizar mis estudios de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos.

Al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) por el estímulo económico otorgado (BEIFI). A la Dra. Silvie Dumas por incluirme en sus proyectos SIP con No. 20181123 y 20190273.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por aceptarme en el Programa de Maestría en Ciencias en Manejo de Recursos Marinos, así mismo, por los conocimientos otorgados y ayudarme en mi formación académica.

A mi directora de tesis y consejera, la Dra. Silvie Dumas por darme la oportunidad y confianza para trabajar en este proyecto, también quiero agradecerle los comentarios e ideas que tuvo para enriquecer este trabajo, así como su apoyo tanto en los aspectos personales y académicos.

A la Dra. Laurence Mercier, quien fungió como directora externa del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por la calidad y rapidez de sus comentarios e ideas para la realización de este trabajo, así como la paciencia, disponibilidad y apoyo incondicional durante estos años. Agradezco la oportunidad que me brindó para formar parte del proyecto y por formarme como investigador.

Al comité tutorial, Dr. Renato Peña por sus asertivos comentarios y sugerencias para la realización de los bioensayos. A la Dra. Paty Rosenberg por sus comentarios en la realización del escrito y en especial al M. en C. Mauricio Contreras por las recomendaciones y consejos técnicos durante estos años y por el apoyo que siempre me brindó.

A la Biol. Laura Flores Montijo de la Unidad de Piloto de Maricultivo (UPIMA) del CICIMAR por el apoyo y colaboración para la realización de los experimentos, también a mis compañeros del Laboratorio Biol. Mar. Jorge Santoyo y M. en C. Ulises Amador por su apoyo técnico.

Al CIBNOR por las facilidades para la realización de análisis y procesamientos de muestras.

A la Dra. Carmen Rodríguez Jaramillo y a la técnica Eulalia Meza Chávez del Laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR por la asesoría brindada para la realización de los análisis histológicos.

A la Dra. Elena Palacios Mechetnov por permitirme llevar a cabo el procesamiento de las muestras para la determinación de ácidos grasos, también por la revisión de los resultados y asesorías brindadas. A la M. en C. Olivia Arjona por su paciencia, sugerencias y asesoría técnica brindada durante mi estancia en el Laboratorio de Metabolismo de lípidos del CIBNOR.

A la empresa E-NEMA por la donación de los nematodos. Al Dr. Laurent Seychelles por estar al pendiente durante la realización de los experimentos y por sus sugerencias para mejorar el trabajo.

A la empresa Kampachi Farms, S.A. de C.V. por la donación de los desoves de jurel. A la Dra. Ana Trasviña Moreno y al Dr. Neil Anthony Sims por los consejos técnicos para la realización de los experimentos

DEDICATORIA

A mi madre y hermanas.

Puedes llorar porque se ha ido, o puedes sonreír porque ha vivido. Puedes cerrar los ojos y rezar para que vuelva o puedes abrirlos y ver todo lo que ha dejado; tu corazón puede estar vacío porque no lo puedes ver, o puede estar lleno del amor que compartiste. Puedes llorar, cerrar tu mente, sentir el vacío y dar la espalda, o puedes hacer lo que a él le gustaría: sonreír, abrir los ojos, amar y seguir.

David Harkins.

En memoria de Luis Manuel de las Nieves Pérez †

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS VI
ÍNDICE DE TABLAS IX
I. INTRODUCCIÓN 1
II. ANTECEDENTES 4
Los copépodos 5
Los rotíferos 5
La *Artemia* 7
Los nematodos 9
Seriola rivoliana 11
III. JUSTIFICACIÓN 14
IV. HIPÓTESIS 15
V. OBJETIVOS 16
Objetivo general 16
Objetivos particulares 16
VI. MATERIALES Y MÉTODOS 17
Obtención de larvas 17
Condiciones de cultivo 18
Alimento vivo suministrado durante las Fases “a” y “b” 20
Microalga 20
Copépodos 20
Rotíferos 21
Panagrolaimus sp. 21
Artemia 22
Calendarios de alimentación 23
Mediciones 26
Incidencia e intensidad alimenticia 26
Índice de selectividad de Ivlev 26
Crecimiento 27
Supervivencia 27
Análisis histológicos 27
Concentración de ácidos grasos totales y lípidos totales en larvas 29

Concentración de ácidos grasos totales y lípidos totales en presas vivas 32
Análisis estadísticos 32
VII. RESULTADOS 33
Variables fisicoquímicas 33
Obtención de organismos 35
Experimento 1 37
Eficiencia alimenticia 37
Incidencia alimenticia - Fase “a” 37
Intensidad alimenticia - Fase “a” 38
Índice de Ivlev 39
Incidencia alimenticia - Fase “b” 39
Intensidad alimenticia - Fase “b” 41
Crecimiento 42
Experimento 2. 43
Eficiencia alimenticia 43
Incidencia alimenticia - Fase “a” 43
Intensidad alimenticia - Fase “a” 44
Índice de Ivlev 45
Incidencia alimenticia - Fase “b” 46
Intensidad alimenticia - Fase “b” 47
Crecimiento 48
Supervivencia 49
Histología del tracto digestivo 50
Concentración de ácidos grasos y lípidos totales en larvas de *S. rivoliana* y presas vivas 54
VIII. DISCUSIÓN 58
IX. CONCLUSIONES 63
X. RECOMENDACIONES 64
XI. LITERATURA CITADA 64
XII. ANEXOS 77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
Figura 1	Organismos utilizados comúnmente en la industria acuícola	4
Figura 2	*S. rivoliana*	11
Figura 3	Distribución de *S. rivoliana*	12
Figura 4	Fase “a”. Tanque de cultivo	18
Figura 5	Fase “b”. Sistema de cultivo experimental	19
Figura 6	Nematodos.	22
Figura 7	Experimento 1. Calendario de alimentación	25
Figura 8	Experimento 2. Calendario de alimentación	25
Figura 9	Metodología para análisis histológico	28
Figura 10	Altura de las vellosidades (Ve) y enterocitos (En) del intestino de las larvas de *S. rivoliana*	29
Figura 11	Extracción de lípidos totales por gravimetría	31
Figura 12	Desarrollo de *S. rivoliana*	36
Figura 13	Experimento 1. Fase “a”. Porcentaje promedio de larvas que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) de larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa: rotíferos, copépodos y mezcla (larvas que se alimentaron tanto de rotíferos como de copépodos)	37
Figura 14	Experimento 1. Fase “a”. Número promedio de presas (rotíferos o nauplios de copépodo) por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana*	38

Figura	Título	Página
Figura 15	Experimento 1. Fase “a”. Índice de selectividad de Ivlev en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con dos tipos de presas: rotíferos y copépodos	39
Figura 16	Experimento 1. Fase “b”. Porcentaje promedio de larvas que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) de larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Nem)	40
Figura 17	Experimento 1. Fase “b”. Número promedio de presas por larva (Intensidad alimenticia) observada en larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: Artemia, rotíferos (Rot/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem)	41
Figura 18	Experimento 1. Fase “a”. Longitud total de larvas de *S. rivoliana*	42
Figura 19	Experimento 2. Fase “a”. Porcentaje promedio de larvas que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) de larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa: rotíferos, copépodos y mezcla (larvas que se alimentaron tanto de rotíferos como de copépodos)	44
Figura 20	Experimento 2. Fase “a”. Número promedio de presas (rotíferos o nauplios de copépodo) por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana*	45
Figura 21	Experimento 2. Fase “a”. Índice de selectividad de Ivlev en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con dos tipos de presas: rotíferos y copépodos	46

Figura	Título	Página
Figura 22	Experimento 2. Fase “b”. Porcentaje promedio de larvas que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) de larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Nem)	47
Figura 23	Fase “b”. Número promedio de presas por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana*. de larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem)	48
Figura 24	Análisis histológico en larvas de S*. rivoliana*	51
Figura 25	Hígado de *S. rivoliana*	52
Figura 26	Altura de las vellosidades y enterocitos del intestino en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o nematodo a los 19 DDE	53
Figura 27	Contenido en lípidos totales en peso seco de las presas suministradas a larvas de *S. rivoliana* (rotíferos, nematodos y nauplios de *Artemia*)	54
Figura 28	Contenido de ácidos grasos altamente insaturados en las tres presas (rotífero, nematodo y nauplios de *Artemia*) suministradas a larvas de *S. rivoliana*	55
Figura 29	Contenido en lípidos totales en peso seco de las larvas de *S. rivoliana* al día 0, 12 y alimentadas con Nematodo o nauplios de *Artemia*).	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Título	Página
Tabla 1	Composición bioquímica de diferentes lotes de nauplios y metanauplios de *Artemia*	8
Tabla 2	Variables fisicoquímicas durante la incubación y Experimentos 1 y 2	34
Tabla 3	Experimento 1. Fase “b”. Longitud total de larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o nematodo	43
Tabla 4	Experimento 2. Fase “a”. Longitud total y altura del músculo en larvas de *S. rivoliana*	49
Tabla 5	Experimento 2. Fase “b”. Longitud total y altura del músculo en larvas de *S. rivoliana*	49
Tabla 6	Contenido de ácidos grasos esenciales en larvas de *S. rivoliana* durante las Fases “a” y “b”	57
Tabla 7	Contenido de ácidos grasos de las presas utilizadas: rotífero, nematodo y nauplio de *Artemia*	77
Tabla 8	Contenido de ácidos grasos en larvas de *S. rivoliana* durante el experimento durante las fases “a” y “b”	79

GLOSARIO Y ACRÓNIMOS

Primera alimentación. Etapa en la cual la larva debe iniciar exitosamente la búsqueda y captura del alimento exógeno (Peña, 2005).

Incidencia alimenticia. Proporción de larvas que presentan alimento en el tubo digestivo (Yin y Blaxter,1987).

Intensidad alimenticia. Cantidad de presas presentes en el tubo digestivo de las larvas (Yin y Blaxter,1987).

Índice de Ivlev. Describe la preferencia de un depredador por la presa. Su escala es de -1 a 1; donde -1 indica la evasión total de una presa; 0 indica que se captura una presa en proporción a su abundancia en el tanque; y 1 indica preferencia total por una presa (Ivlev, 1961).

Índice de esteatosis hepática. Es definido como la acumulación de grasa en las células del hígado (Hibiya, 1982).

Enterocitos. Término que reciben las células epiteliales de la mucosa que reviste a ambos intestinos del tubo digestivo debido a su función de absorción de nutrientes (Stroband y Dabrowski, 1979).

Ácidos grasos esenciales (AGE). Ácidos grasos poliinsaturados de las series n-3 y n-6, que no pueden ser sintetizados o solo en pequeñas cantidades y deben ser obtenidos del alimento porque son necesarios para la vida de los organismos (Gunstone *et al*., 1994).

Ácidos grasos altamente insaturados (HUFA por sus siglas en inglés). Ácidos grasos con 20 o más carbonos y tres dobles enlaces (insaturaciones) (Gunstone *et al*., 1994).

Ácidos grasos monoinsaturados (MUFA por sus siglas en inglés). Ácidos grasos con un doble enlace (Gunstone *et al*., 1994).

Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA por sus siglas en inglés). Ácidos grasos con más de un doble enlace. Los dobles enlaces tienen por lo general configuración *cis* y son metilenos interrumpidos (Gunstone *et al*., 1994).

Ácidos grasos saturados (SFA por sus siglas en inglés). Ácidos grasos sin doble enlace carbono-carbono (Gunstone *et al*., 1994).

DHA. Ácido docosahexaenoico, ácido graso esencial de la serie omega-3, formado por 22 carbonos con 6 dobles enlaces (William y Xianlin, 2002).

EPA. Ácido eicosapentaenoico, ácido graso poliinsaturado, esencial de la serie omega-3 formado por 20 carbonos con cinco dobles enlaces (William y Xianlin, 2002).

ARA. Ácido araquidónico, ácido graso poliinsaturado, esencial de la serie omega-6, formado por una cadena de 20 carbonos con cuatro dobles enlaces (William y Xianlin, 2002).

Distancia reactiva. Se refiere a la distancia máxima desde la cual el depredador puede detectar una presa individual; a menudo se mide usando el patrón de comportamiento comúnmente observado de un pez que muestra una aceleración repentina en la natación al detectar una presa (Werner y Hall, 1974).

RESUMEN

El uso de la *Artemia* como alimento vivo en la acuacultura presenta desventajas en término de su disponibilidad, precio, calidad nutricional y posible acumulación de metales pesados o microorganismos patógenos. Los nematodos de vida libre han sido propuestos como una alternativa a la sustitución de la *Artemia* en la alimentación larvaria de peces y crustáceos. *Panagrolaimus* sp. parece ser una opción para reemplazar a la *Artemia* ya que también sobrevive a la desecación y puede ser almacenado varios meses antes de su rehidratación y uso. Adicionalmente, contiene naturalmente ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido araquidónico (ARA) y puede enriquecerse en ácido docosahexaenoico (DHA) antes de su desecación. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un protocolo de alimentación para el cultivo larvario del jurel *Seriola rivoliana* introduciendo el nematodo *Panagrolaimus* sp. en sustitución de la *Artemia*. Se realizaron dos bioensayos y para cada uno las larvas fueron sembradas en tanques de 3000 L, alimentándolas con rotíferos y nauplios de copépodos. En el primer experimento, esta primera fase duró del día 3 al día 9 después de la eclosión (DDE), mientras que, en el segundo experimento se prolongó hasta el día 11. En ambos experimentos se evaluaron la aceptación y preferencia de las presas mediante los índices de eficiencia alimenticia (incidencia e intensidad) e índice de Ivlev. Durante el primer experimento, al día 3 DDE todas las larvas presentaron alimento en el tracto digestivo (100 %), mientras que, en el Experimento 2, la incidencia alimenticia fue del 90 %, aumentando a 100 % en los siguientes días. El índice de Ivlev mostró un consumo preferencial por nauplios de copépodo (*P. euryhalinus*) respecto al rotífero *B. plicatilis* (Experimento 1). Esta preferencia no fue tan clara cuando se ofreció el copépodo *P. crassirostris* (Experimento 2). La segunda fase inició cuando las larvas fueron transferidas a ocho tanques de 180 L de capacidad y dos dietas fueron probadas (*Artemia* o nematodos). La coalimentación en el primer experimento inició el mismo día de la transferencia (9 DDE), mientras que, para el segundo experimento transcurrieron dos días de "aclimatación" previos a la coalimentación (14 DDE). En ambos casos, la coalimentación fue un proceso gradual de sustitución de rotíferos por nauplios de *Artemia* o rotíferos por *Panagrolaimus* sp. modificando cada día los porcentajes de las presas: 75-25 %, 50-50 %, 25-75 % y 0-100 %), lo cual implicó 4 días. Los experimentos duraron hasta el día 13 (Experimento 1) y 19 (Experimento 2) y en ambos se evaluaron la incidencia alimenticia, intensidad alimenticia y la longitud total. En el primer experimento, todas las larvas tenían alimento en el tracto digestivo (100 % en ambos tratamientos) al día 10. A los días 12 y 13 se observaron larvas que ingirieron solamente *Artemia* o nematodos. En ambos experimentos, no se presentaron diferencias significativas entre el consumo promedio de presas (nematodos y artemias) excepto el día 12 donde el consumo de *Artemia* fue significativamente mayor (Experimento 2). Respecto a la longitud total, no se obtuvieron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los tratamientos. En el segundo experimento, además de lo anterior, se evaluaron la supervivencia, la apariencia del hígado, la altura de las vellosidades y enterocitos en intestinos, el contenido de ácidos grasos y lípidos totales en las presas vivas y en las larvas al final del experimento. No se presentó una diferencia significativa ($p>0.05$) en la altura de las vellosidades en el intestino anterior, por el contrario, sí hubo diferencia en la altura de los enterocitos ($p<0.05$); mientras que en el intestino posterior se encontraron diferencias significativas tanto en vellosidades como en enterocitos ($p<0.05$). El hígado de larvas de *S. rivoliana* alimentadas con nauplios de *Artemia* presentó mayor promedio de área de vacuolas lipídicas respecto a larvas alimentadas con nematodos. A pesar de que las concentraciones de DHA, EPA, y total de HUFA en nauplios de *Artemia* fueron significativamente mayores ($p<0.05$) en comparación con el nematodo, se observó una concentración de DHA mayor en larvas alimentadas con nematodos. Por otro lado, la supervivencia fue significativamente mayor ($p<0.05$) en larvas alimentadas con nauplios de *Artemia.* Es prematuro concluir con certeza sobre el uso de *Panagrolaimus* sp. El nematodo fue capturado y parcialmente asimilado por las larvas de *S. rivoliana* pero la sobrevivencia de estas larvas fue más baja. Sin embargo, es necesario que ciertos aspectos de la metodología se modifiquen para asegurar la disponibilidad del nematodo en la columna de agua.

Palabras clave: Eficiencia alimenticia, cultivo larvario, alimento vivo, ácidos grasos.

.

ABSTRACT

The disadvantage associated with the use of *Artemia* as a live food in aquaculture is mainly due to its availability, price, nutritional quality and possible accumulation of heavy metals or pathogenic microorganisms. Free-living nematodes have been proposed as an alternative to eliminate *Artemia* in larval feeding of fish and crustaceans. *Panagrolaimus* sp. seems to be an option to replace *Artemia* since it also survives after being dried out and it can be stored several months before rehydration and use. Additionally, it contains naturally eicosapentaenoic acid (EPA), arachidonic acid (ARA) and can be enriched in docosahexaenoic acid (DHA) before drying. The objective of the present work was to develop a feeding protocol for the larval rearing of the longfin yellowtail *Seriola rivoliana* comparing *Panagrolaimus* sp. with *Artemia*. Two bioassays were performed. In both, hatched larvae were transferred in one 3000-L tank, feeding them with rotifers and copepod nauplii. In the first experiment, this first phase lasted from day 3 to day 9 after hatching (DDE), while in the second experiment it lasted until day 11. In both experiments, the acceptance and preference of alive preys were evaluated by feeding efficiency indices (incidence and intensity) and Ivlev index. During the first experiment, on day 3 DDE all the larvae presented food in the digestive tract (100 %), while in Experiment 2, the feeding incidence was 90 %, increasing to 100 % in the following days. The Ivlev index showed preferential consumption for copepod nauplii (*Pseudiaptomus euryhalinus*) in comparison to the *Brachionus plicatilis* rotifer (Experiment 1). This preference was not so clear when the copepod *Parvocalanus crassirostris* was offered (Experiment 2). The second phase began when the larvae were transferred to eight tanks of 180-L capacity and two diets were tested (*Artemia* or nematodes). Co-feeding in the first experiment began on the same day than the transfer (9 DDE), while for the second experiment, co-feeding started on 14 DDE, after two days of "acclimatization". In both cases, co-feeding lasted 4 days and was a gradual process replacing rotifers with *Artemia* nauplii or with *Panagrolaimus* sp. modifying the percentages of preys every day: 75-25 %, 50-50 %, 25-75 % and 0-100 %. In both experiments, feeding incidence, feeding intensity and total length were evaluated. In the first experiment, all larvae hads food in the digestive tract (100 % in both treatments) at day 10. On days 12 and 13, larvae that had ingested only *Artemia* or nematodes were observed. In both experiments, there were no significant differences between the average consumption of preys (nematodes and artemias), except on day 12 where the consumption of *Artemia* was significantly higher (Experiment 1). There were no significant differences in total length ($p>0.05$) between treatments. In the second experiment, survival, liver appearance, villi and enterocyte heights in intestines, total lipid and fatty acid contents were analyzed in live preys as well as in larvae at the end of the experiment. There was no significant difference ($p>0.05$) in the height of the villi in the anterior intestine, on the contrary, there was a difference in the height of the enterocytes ($p<0.05$); while significant differences were found in both villi and enterocytes in the posterior intestine ($p<0.05$). The liver of *S. rivoliana* larvae fed *Artemia* nauplii had a higher average area of lipid vacuoles compared to larvae fed nematodes. Although the concentrations of DHA, EPA, and total HUFA in *Artemia* nauplii were significantly higher ($p<0.05$) compared to the nematode, a higher DHA concentration was observed in nematode-fed larvae. On the other hand, survival was significantly higher ($p<0.05$) in larvae fed *Artemia* nauplii (%) than with nematodes (%). These results are the first ones on the use of *Panagrolaimus* sp. with marine fish larvae. It is premature to conclude with certainty about its potential. The nematode was captured and partially assimilated by *S. rivoliana* larvae but the survival was lower than for larvae fed *Artemia*. However, some aspects of the methodology need to be modified to improve the availability of nematodes in the water column.

Keywords: Feeding efficiency, larval rearing, live food, fatty acids.

I. INTRODUCCIÓN

La acuacultura en México se ha desarrollado desde hace varias décadas como una actividad económica con un alto potencial para estimular el desarrollo regional, ampliar la oferta alimentaria y captar divisas (FAO, 2017). No obstante, el cultivo de peces marinos en el país es relativamente nuevo ya que inició a finales de los años 80s en la región noroeste (Baja California Sur), con estudios sobre la biología y reproducción de algunas especies con alto valor comercial, como son el pámpano, lenguado, huachinango, robalo, cabrilla, corvina, totoaba y pargo (Avilés, 2000). Desde entonces, la producción de peces marinos en cautiverio ha crecido lentamente debido a la falta de conocimientos acerca de los requerimientos nutricionales (Lazo, 2000) y ambientales durante el cultivo larvario, para citar algunas de las principales razones.

Las larvas de peces marinos son generalmente pequeñas al momento de la eclosión del huevo y dependen de los nutrientes en su saco vitelino. Después de que se agota el saco vitelino, las larvas necesitan de una fuente exógena de alimentación (primera alimentación), la cual implica la utilización de organismos planctónicos (Rodríguez, 2009), comúnmente designado como alimento vivo.

Hoy en día, el uso de alimento vivo en la larvicultura se limita a un número relativamente pequeño de organismos, de los cuales las artemias (*Artemia* spp.) y los rotíferos (*Brachionus* spp.) son los más empleados ya que son altamente aceptables por diversas especies de larvas marinas (FAO, 2017).

Los quistes de *Artemia* son fáciles de almacenar por un largo periodo y son comercializados ya que su rehidratación y eclosión después de 18-24 horas permite obtener nauplios, un alimento con un alto contenido en proteínas y adecuado tamaño para los cultivos larvarios de la mayoría de las especies de peces marinos y crustáceos (Léger *et al*., 1987; Cano *et al*., 2009). El nauplio (Instar I) tiene un tamaño que oscila entre 428-517 µm (Vanhaecke *et al*., 1983) y se caracteriza por tener un color naranja-parduzco, así como un ojo frontal y tres pares de apéndices. Los nauplios de *Artemia* no se alimentan, sino que consumen sus propias reservas de energía (Benijts *et al*., 1976). Después de aproximadamente 6-8 horas, el nauplio se desarrolla en

metanauplio (Instar II) y aumenta un 50% en tamaño. También tiene un tracto digestivo funcional y se alimenta de partículas pequeñas (1-50 µm) (Støttrup y McEvoy, 2003). Debido a la pobre calidad nutricional que tiene el metanauplio de *Artemia* (Instar II), éste debe enriquecerse con emulsiones lipídicas; por lo que se cosecha después de 24-48 horas de su eclosión, donde alcanza aproximadamente una talla de 660-790 µm (Sorgeloos *et al*., 1993).

Los quistes de *Artemia* tienen un elevado costo, lo que representa una dificultad para la industria acuícola. Si bien al inicio de su comercialización en los años 50s el precio era bajo (menos de $10 dólares US/kg; Bengtson *et al*., 1991), el valor de los quistes de *Artemia* aumentó notoriamente a mediados de la década de los 70s como resultado de la disminución de las cosechas y variabilidad en la disponibilidad (Ricci *et al*., 2003). Hoy en día, el precio fluctúa considerablemente, llegando a un costo aproximado de 100 dólares US$/kg. Existen otros problemas ligados al uso de la *Artemia* como son la elevada fluctuación en la tasa de eclosión de los lotes de quistes (Vanhaecke y Sorgeloos, 1983), así como la alta variación en la calidad nutricional de los nauplios en función de su zona geográfica y época de cosecha (Sorgeloos *et al*., 1998). También, los quistes no son estériles y pueden ser el vector de microorganismos oportunistas y potencialmente patógenos para las larvas en cultivo (Haché y Plante, 2011).

Es por ello que se han buscado nuevas alternativas como alimento para las larvas de peces. Dentro de éstas, los nematodos se han considerado como una presa que pudiera ayudar a resolver las problemáticas antes descritas y ser una fuente de alimento para las larvas de peces. Desde los años 80s, fueron identificados con un gran potencial en la larvicultura ya que pueden ser producidos rápidamente, usando técnicas simples e ingredientes de bajo costo que estén disponibles todo el año. Además, tienen una pequeña talla, son tolerantes a grandes intervalos de temperatura, salinidad y pueden ser usados como vectores de sustancias químicas como son hormonas, antibióticos, etc. (Brüggemann, 2012). Aunque el valor nutritivo de los nematodos varía en función de la especie, y está influenciado por el medio de cultivo, es importante mencionar que el perfil nutricional de algunos es muy similar al de la

Artemia (Rouse *et al*., 1992). Otra característica de los nematodos es que pueden ser enriquecidos con ácidos grasos altamente insaturados sin requerir el uso de aceite de pescado (Schlechtriem *et al*., 2004).

Existe una gran demanda por nuevas presas vivas, libres de patógenos y contaminantes, de fácil manejo y almacenamiento, así como de bajo costo. Es deseable que el abastecimiento de estas presas no dependa del medio natural y que éstas sean producidas en condiciones controladas para satisfacer las necesidades crecientes de la industria acuícola. Por todo lo anterior, la presente investigación tiene como objetivo proponer una alternativa al uso de la *Artemia* como alimento vivo en la larvicultura de peces, enfocando este estudio a la utilización del nematodo *Panagrolaimus* sp. en el cultivo de larvas de jurel *Seriola rivoliana.*

II. ANTECEDENTES

El cultivo larvario es una de las etapas más críticas de la producción de peces marinos ya que se presenta una gran mortalidad debido a diversos factores (García-Ortega *et al*., 2005; Peña, 2005; Prieto y Atencio, 2008). Se considera que el inicio de la alimentación exógena es uno de los más importantes. Una vez que las larvas han absorbido su reserva endógena, la cual está constituida por uno o varios glóbulos de aceite y el saco vitelino, comienza la búsqueda de alimento vivo. Esta etapa es crucial debido a que las larvas dependen en parte de su grado de desarrollo morfológico como es la apertura bucal y ano, así como la adecuada formación y pigmentación de ojos, para mencionar algunas estructuras específicas fundamentales. Por lo que una selección adecuada del alimento en los primeros días tras la eclosión es crucial y de suma importancia. Entre las presas vivas utilizadas en la acuacultura, las más empleadas al principio de la alimentación exógena son los nauplios de copépodos y los rotíferos (Fig. 1). Posteriormente, se incorpora al calendario de alimentación la *Artemia* en diferentes estadios y sujetos a algún proceso de enriquecimiento. Finalmente, se suministra una dieta inerte y la transición entre el alimento vivo y esta dieta es el periodo de coalimentación, durante el cual se consigue el acondicionamiento a la dieta, conocido generalmente como destete.

Figura 1. Organismos utilizados comúnmente como alimento en la industria acuícola. a) copépodo *Parvocalanus crassirostris*; b) rotíferos (*Brachionus rotundiformis* izquierda y *B. plicatilis* derecha); c) nauplios de *Artemia*

Los copépodos

En su ambiente natural, las larvas de peces se alimentan de copépodos en distintos estadios. Estos organismos presentan una gran variedad de tamaños y formas, y se distribuyen en varios hábitats. Los copépodos contienen carotenoides, astaxantinas y antioxidantes naturales (Kraul *et al*., 1992). Además, presentan altos niveles de proteína (44-52 %) (Støttrup, 2000) y lípidos (10.5 %) (Puello *et al*., 2008), de los cuales una proporción son ácidos grasos altamente insaturados (HUFA, por sus siglas en inglés) de la serie omega-3 (Sargent *et al*., 1997). Un contenido de DHA y EPA de 28.8 % y 19.4 % del total de ácidos grasos, respectivamente, fue encontrado en el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* alimentado con la microalga *Chaetoceros calcitrans* (Flores-Santana, 2008). Adicionalmente, Hernández-Alarcón (2016) reportó mayores proporciones de ácidos grasos esenciales (DHA y ARA) en *P. euryhalinus* y *Parvocalanus crassirostris* alimentados con dietas multialgales respecto a dietas monoalgales.

Diversos autores han demostrado que el uso de copépodos como alimento vivo asegura un buen desarrollo y pigmentación, así como incrementa la supervivencia y crecimiento de las larvas de *Lutjanus gutattus (*García-Ortega *et al*., 2005) *Sphoeroides annulatus (*García-Ortega, 2009) e *Hippoglossus hippoglossus (*McEvoy *et al*., 1998), por mencionar algunas. Por lo anterior, el copépodo está considerado como un alimento adecuado para las larvas de peces marinos. No obstante, falta aún un buen trecho de “camino por recorrer” para el uso de estos organismos en la acuacultura, debido a su largo ciclo de vida y a la complejidad para obtener producciones a gran escala (Hernández-Molejón y Álvarez-Lajonchere, 2003).

Los rotíferos

Otros organismos que han sido utilizados por más de cuatro décadas para el cultivo de larvas de peces marinos son los rotíferos. Su pequeño tamaño (50-250 µm) ha permitido que sea empleado exitosamente en la alimentación larvaria de varias

especies (*Seriola quinqueradiata, Pagrus major, Sparus aurata, Dicentrarchus labrax, Lates calcarifer, Scophthalmus maximus, Mugil cephalus* y *Fugo rubripes*) (Fujita, 1979; Dendrinos y Thorpe, 1987; Sorgeloos *et al*., 1993; FAO, 1998). Los rotíferos son organismos zooplanctónicos (microplancton) que tienen la capacidad de absorber partículas suspendidas en el agua como una "biocápsula", lo cual es interesante ya que pueden enriquecerse en nutrientes esenciales antes de ser suministrados a las larvas de peces (Grossi, 2010).

Las principales especies que se utilizan en la industria acuícola son *B. plicatilis* y *B. rotundiformis* (Fig. 1b). Estas especies se diferencian entre ellas por el tamaño, siendo *B. plicatilis* la más grande (Støttrup y McEvoy, 2003). Este atributo es importante a considerar al inicio de la alimentación exógena ya que la talla de la presa que puede ingerir la larva depende del tamaño de su boca (Lubzens *et al*., 1989).

En lo que respecta a la calidad nutricional de los rotíferos, ésta depende en gran medida de las microalgas usadas durante su alimentación (Verpraet *et al*., 1992) y puede ser mejorada utilizando enriquecedores comerciales (la mayoría contienen ácidos grasos esenciales, lípidos, carbohidratos, proteínas y en algunos casos antibióticos). Para *B. plicatilis*, Minkoff (1987) ha reportado un contenido proteico de 50-53 % mientras que Watanabe y colaboradores (1983) encontraron niveles de 65-67 % en la misma especie alimentada con levadura. En cuanto al contenido de lípidos, *B plicatilis* contiene aproximadamente 9-28 %; el 34-43 % de estos lípidos son fosfolípidos y el 20-55 % son triacilgliceroles (Fernández-Reiriz, 1993; Støttrup y McEvoy, 2003). Hernández-Alarcón (2016) encontró que *B. rotundiformis, B. plicatilis* y *Proales similis* enriquecidos con productos comerciales Spresso-Selco® (7 g de la emulsión y cosechados 10 horas después) y ORI-ONE® (0.5 a 0.35 g de la emulsión durante tres días y cosechados al cuarto día) incrementaron sus concentraciones de ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) y ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5n-3) pero fueron deficientes en ácido araquidónico (ARA, 20:4n-6).

La *Artemia*

De todos los alimentos vivos usados en la larvicultura, la *Artemia* es uno de los más empleados. La *Artemia* es un crustáceo branquiópodo que habita en aguas hipersalinas (superior a 90 ups) (Sorgeloos, 1980). Dependiendo de la especie que se trate, tiene la capacidad de alternar su estrategia reproductiva en función de las condiciones ambientales. Puede reproducirse por partenogénesis o sexualmente, de forma ovovivípara y ovípara (Toi, 2014). Cuando las condiciones ambientales no son favorables al desarrollo, la hembra secreta una capa de quitina que recubre los huevos de manera individual y permanecen en un estado latente, lo que se conoce como quistes (Lavens y Sorgeloos, 1987; Toi, 2014).

A principio de la década de los 50s, inició la comercialización de los quistes de *Artemia* provenientes de la Bahía de San Francisco (California) y del Gran Lago Salado (GLS; Utah) en Estados Unidos (EU). El precio de los quistes de *Artemia* era bajo ($10 US/kg); no obstante, aumentó considerablemente a mediados de los 70s debido a la fuerte demanda y a la disminución de la producción (Sorgeloos *et al*., 1993). A partir de 1976, se buscaron fuentes alternas de quistes de *Artemia* y se exploraron nuevas zonas naturales de producción en Europa, Asia, América y Australia. Como dichas zonas no cumplieron las expectativas, desde los 80s la *Artemia* de los GLS ha dominado el mercado, pero la producción de quistes no ha logrado abastecer la demanda principalmente por fenómenos ambientales (Lavens y Sorgeloos, 2000). Hoy en día, no se conoce de manera precisa la producción a nivel mundial; sin embargo, los datos más actualizados mencionan que los principales países de producción de quistes de *Artemia* son: EU, China, Rusia y Kazajstán. Entre 2012 y 2014, la producción de *Artemia* en estos países fue estimada entre 2,950-3,950 toneladas anuales (Litvinenko *et al*., 2015).

La *Artemia* tiene un alto valor nutricional ya que contiene aproximadamente 31-71% de proteínas, 12-30% de lípidos y 4-23% de carbohidratos (Léger *et al*., 1986, 1987; García-Ortega *et al*., 1998). No obstante, existe una gran variación en su composición bioquímica según la localidad de producción y la especie (Tabla 1); puede haber diferencias incluso entre lotes de un mismo origen (Luna-Figueroa *et al*., 2010).

Esta misma variación se ha visto con los perfiles de lípidos y ácidos grasos (Léger, 1987).

Tabla 1. Composición bioquímica de diferentes lotes de nauplios y metanauplios de *Artemia*

Estadio	**Procedencia quiste**	**Proteínas** (% ps)	**Lípidos** (% ps)	**AG** (% ps)	**Fuente**
Nauplio	Portugal	38	68	12 (DHA) 6.7 (EPA)	Evjemo *et al*., 2001
Nauplio	EU	54	16	0.1 (DHA) 4.7 (EPA) 0.8 (ARA)	García-Ortega *et al*., 1998
Nauplio	EU	-	19.3	10.9 (AG)	Benijts *et al*., 1976
Metanauplio	Venezuela	67	8-13	0.9 (EPA)	Guevara y Lodeiros, 2003

*AG: Ácidos grasos; ps: Peso seco

Las especies de *Artemia* disponibles comercialmente son pobres en EPA y DHA, los cuales son importantes para la supervivencia y crecimiento de las larvas de peces marinos (Léger y Sorgeloos, 1992; Luna-Figueroa *et al*., 2010). A pesar de que la *Artemia* puede ser enriquecida con emulsiones ricas en HUFA y aminoácidos, lo que mejora su valor nutricional, el proceso de enriquecimiento dura entre 18-24 horas y no garantiza que cada *Artemia* tenga la misma composición nutricional (Sorgeloos *et al*., 2001). Adicionalmente, un estudio realizado por Evjemo *et al*. (2001) mostró que el nauplio de *Artemia*, enriquecido en DHA, va perdiendo su contenido de ácidos grasos a medida que transcurre el tiempo; por lo que las larvas tendrían que consumirlo poco después de su enriquecimiento para un mejor aprovechamiento. Por último, es interesante mencionar que durante el periodo de enriquecimiento de la *Artemia*, la carga bacteriana asociada se incrementa (Seychelles *et al*., 2011).

Los nematodos

Los nematodos son organismos pluricelulares muy diversos que abarcan aproximadamente 26,000 especies (McGill, 2011), las cuales habitan en ambientes terrestres y acuáticos. Forman el cuarto filo más grande del reino animal y normalmente son microscópicos. Algunas especies de nematodos son parásitos y otras son de vida libre. Esta última categoría se encuentra en los sedimentos marinos y de agua dulce y en los ecosistemas del suelo. Dichos nematodos se alimentan de bacterias, hongos y otros nematodos. Tienen un ciclo de vida corto, alcanzando en algunos casos la madurez sexual entre el tercero y cuarto día de vida (Hickman *et al*., 2009). Su morfología externa se asemeja a un tubo simple. Poseen sistemas digestivo, excretor y reproductivo pero carecen de sistemas circulatorio o respiratorio y en su lugar presentan un pseudoceloma. El cuerpo se encuentra revestido por una cutícula no celular compuesta de colágeno (De Lara *et al*., 2003).

El nematodo *Panagrellus redivivus* se ha destacado por ser la especie más empleada para fines de investigación y mostró ser un buen alimento vivo para cultivos larvarios de peces marinos (Reyes *et al*., 2011). Un estudio realizado en el 2010 por Luna-Figueroa y colaboradores demostró que el uso del nematodo *P. redivivus* superó el efecto del alimento inerte a nivel del crecimiento y supervivencia de larvas y juveniles del pez ángel (*Pterophyllum scalare*). No obstante, uno de los principales cuellos de botella del uso de *P. redivivus* es la incapacidad de almacenarlo deshidratado como la *Artemia*. Recientes investigaciones han demostrado que otra especie de nematodo, como es *Panagrolaimus* sp. sí puede sobrevivir bajo condiciones anhidrobióticas, lo que permite un almacenamiento igual de práctico que el de la *Artemia* (Honnens *et al*., 2013). La talla de este nematodo es ideal para ser consumido por larvas, ya que mide entre 50 y 1,200 µm. Una ventaja adicional de usar *Panagrolaimus* sp. es que puede producirse en grandes cantidades, bajo condiciones monoxénicas, de tal manera que no transmiten ninguna enfermedad, virus o bacterias no deseadas y son libres de contaminantes.

Entre los ácidos grasos esenciales (EFA), las larvas requieren DHA, EPA y ARA ya que estos juegan un papel importante en la estructura y la función de sus

membranas celulares. Adicionalmente, se ha relacionado el EPA con una buena pigmentación y desarrollo del sistema nervioso (Sargent *et al*.,1997) mientras que el DHA ayuda a prevenir malformaciones, además de tener también un efecto sobre la pigmentación y el sistema nervioso (Buchet *et al*., 2000). El requerimiento en DHA es mayor que en EPA; por esta razón, la proporción DHA:EPA utilizada en la formulación de dietas es de 2:1 (Lazo, 2000).

De manera natural, *Panagrolaimus* sp. contiene EPA y ARA (3 y 7 % del total de ácidos grasos, respectivamente) (Honnens *et al*., 2014), por lo que requiere ser enriquecido solamente con DHA; mientras que, para el enriquecimiento de la *Artemia*, el contenido de ácidos grasos esenciales es difícil de controlar ya que puede metabolizar el DHA y convertirlo en EPA (Navarro *et al*., 1999). *Panagrolaimus* sp. puede ser enriquecido en DHA alimentándolo con el dinoflagelado *Crypthecodinium cohnii*, sin requerir el uso de aceite de pescado. Algunos autores han demostrado que *Panagrolaimus* sp. puede permanecer vivo por un periodo de 72 horas en agua marina (Fontaine *et al*., 1982). Para suministrar este nematodo enriquecido a las larvas, sólo se requieren dos horas de rehidratación, mientras que en el caso de los quistes de *Artemia*, se necesitan por lo menos dos días para que ésta sea enriquecida. Por todas las características antes mencionadas, el nematodo *Panagrolaimus* sp. es considerado una alternativa viable para ser utilizado en la alimentación de larvas de peces.

Seriola rivoliana

Seriola rivoliana pertenece a la familia Carangidae y es conocido comúnmente como jurel, medregal limón o aleta amarilla. Es un pez marino, de gran fuerza y nado veloz, que puede alcanzar tallas de 1.6 metros y pesar de 1 a 59 kg (Smith-Vaniz, 1999; Nakada, 2000; IGFA, 2001). Es de coloración verdoso-gris en la parte superior mientras que en su vientre es claro, y tiene una línea diagonal obscura que atraviesa el ojo en peces jóvenes (Fig. 2). Se caracteriza por tener el cuerpo alargado, levemente comprimido y moderadamente alto. Su forma de reproducción es por fertilización externa y los huevos son pelágicos con una gran gota de aceite (Smith-Vaniz, 1999).

Figura 2. *S. rivoliana* (Fishbase, 2017)

Se encuentra en regiones subtropicales de los Océanos Índico, Atlántico y Pacífico oeste, distribuyéndose cerca de la costa de Baja California hasta el Norte de Perú (Fig. 3) (Fischer *et al*., 1981; Eschmeyer *et al*., 1983). Tiende a ser migratorio en la búsqueda de alimento y tiene hábitos carnívoros, alimentándose de crustáceos, moluscos, equinodermos y peces pequeños. Se encuentra en aguas con temperaturas de 18-24 °C y en profundidades de entre 30-50 metros (Fishbase, 2017).

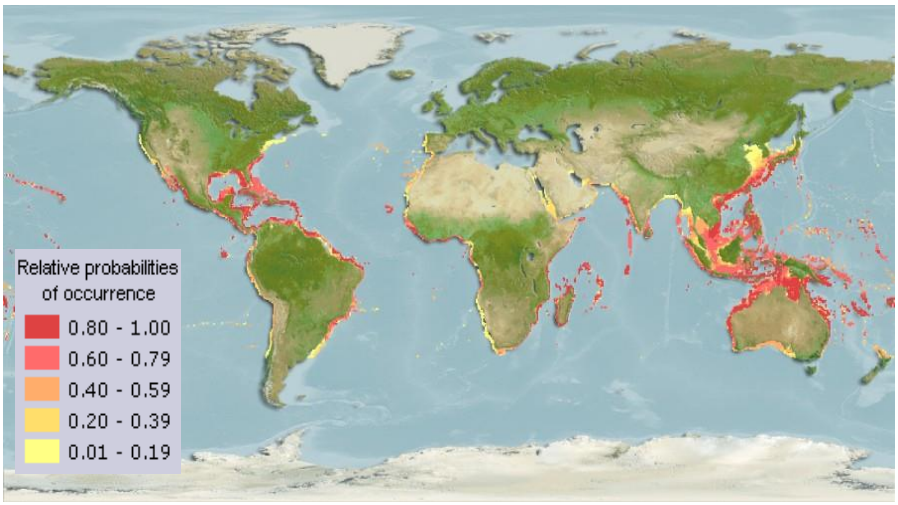

Figura 3. Distribución de *S. rivoliana* (Fuente: Fishbase, 2017)

El jurel de aleta amarilla es una especie con importancia acuícola para países como Japón, Australia, EU, España y México debido a su rápido crecimiento y alto valor comercial. Los peces del género *Seriola* tienen un precio de aproximadamente 7.8-11.6 EUR/kg cuando provienen de la acuacultura (Nash, 1995). En México, el jurel se pesca en varios estados y su captura en el 2013 alcanzó 572 TM. Particularmente, en Baja California Sur se pescaron aproximadamente 16.5 TM de jurel, los cuales generaron un ingreso de $137 millones de pesos (CONAPESCA, 2013). En dicho estado, también varias empresas se dedican al cultivo y engorda del género *Seriola* (Rancheros del Mar, S. A de C. V; Baja Seas Labs; Kampachi Farms, S. A de C. V.).

La producción acuícola de *S. rivoliana* depende de la obtención de larvas de alta calidad, lo cual sigue siendo un cuello de botella ya que la tasa de supervivencia durante el cultivo larvario es baja. Las primeras investigaciones del larvicultivo de *S. rivoliana* son recientes. Roo *et al*. (2014) obtuvieron supervivencias de 0.5 y 2.5 % en condiciones intensivas y semiintensivas, respectivamente, alimentando a las larvas con rotíferos (*Brachionus plicatilis;* 4-5 rot/mL [semiintensivo], 7.5-10 rot/mL [intensivo]) del día 2 al día 25 y suministrando nauplios de *Artemia* del día 15 en adelante. Del día 20 al día 30, ofrecieron una dieta inerte. Por otro lado, Burgoin (2015) demostró que la incorporación de la levadura viva (*Debaryomyces hansenii*) a través del rotífero (*B.*

rotundiformis) en los primeros días de desarrollo de *S. rivoliana* incrementa el crecimiento (9 %) y supervivencia (75 %) de las larvas. Recientemente, Teles (2019) utilizó la misma levadura para alimentar metanauplios de *Artemia*, incrementando también la supervivencia y el crecimiento larval. Las larvas tratadas con *D. hansenii* mostraron además una mayor cantidad de mucinas intestinales, así como una mayor actividad de fosfatasa alcalina, pepsina y amilasa. De igual forma, el grado de mineralización ósea en el cráneo y en el complejo caudal fue mayor en estas larvas.

III. JUSTIFICACIÓN

Seriola rivoliana es una especie de gran interés para la industria acuícola de nuestro país. El éxito de su producción recae en gran parte en la etapa larvaria, la cual es crítica ya que se presenta una gran mortalidad de los organismos. El inicio de la alimentación exógena representa uno de los principales problemas de la etapa larvaria y requiere generar nuevos conocimientos para mejorar la tasa de supervivencia. Como ya se mencionó anteriormente, el uso de la *Artemia* como presa viva en el cultivo larvario del jurel presenta desventajas. La disponibilidad, el precio y la calidad nutricional de la *Artemia* fluctúan de manera importante y podrían comprometer la producción larvaria. La *Artemia* puede ser también el vector de microorganismos patógenos y es deficiente en HUFA. Considerando este contexto, la importancia del presente estudio radica en buscar un nuevo alimento vivo con la calidad nutricional que requieren las larvas del jurel. El nematodo *Panagrolaimus* sp. puede ser considerado como un buen candidato para sustituir a la *Artemia* ya que su intervalo de talla (50-1200 µm) es ideal para ser consumido por las larvas de *S. rivoliana*. También puede ser producido en grandes cantidades, bajo condiciones monoxénicas, de tal manera que no transmite ninguna enfermedad, virus o bacterias. El presente trabajo busca contribuir al desarrollo de la tecnología del cultivo de *S. rivoliana*. Es el primer estudio que incorpora al nematodo *Panagrolaimus* sp. como alimento vivo para el cultivo larvario de un pez marino.

IV. HIPÓTESIS

La introducción del nematodo *Panagrolaimus* sp. en la alimentación larvaria del jurel *Seriola rivoliana* como sustituto de la *Artemia* mejorará o igualará el crecimiento, la supervivencia y el contenido en ácidos grasos de las larvas durante sus primeras semanas de vida.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el nematodo *Panagrolaimus* sp. como sustituto del nauplio de *Artemia* en la alimentación larvaria de *S. rivoliana* durante sus primeras semanas de cultivo.

Objetivos particulares

1. Determinar y comparar la eficiencia alimenticia entre larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o el nematodo *Panagrolaimus* sp.

2. Comparar el crecimiento y la supervivencia entre larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o el nematodo *Panagrolaimus* sp.

3. Realizar un análisis histológico para comparar la altura de las vellosidades y enterocitos del intestino anterior y posterior de larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o el nematodo *Panagrolaimus* sp.

4. Realizar y comparar análisis de lípidos y ácidos grasos totales de las presas utilizadas en el cultivo, así como de las larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o el nematodo *Panagrolaimus* sp.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Dos experimentos se realizaron en la Unidad Piloto de Maricultivo (UPIMA) del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) en La Paz, Baja California Sur. Ambos experimentos constaron de dos fases (Fase “a” y Fase “b”). La primera fase consistió en alimentar larvas de *S. rivoliana* con rotíferos y nauplios de copépodo. Lo anterior con la finalidad de obtener suficientes larvas para una segunda fase, en la cual se probó nauplios de *Artemia* y el nematodo *Panagrolaimus* sp.

Obtención de larvas

Los embriones de jurel (Experimento 1: 270 mL; Experimento 2: 180 mL) fueron colectados en las instalaciones de reproductores de la empresa Kampachi Farms instaladas en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en La Paz y enseguida trasladados al CICIMAR en una bolsa de plástico con agua marina y oxígeno. Se desinfectaron con formalina a 10 ppm durante una hora y se incubaron en una tolva de 130 L con agua de mar (tratada con cloro y neutralizada con tiosulfato para su desinfección) hasta su eclosión. Se colocó un filtro tipo tambor con malla de 500 µm y dos piedras difusoras para mantener un flujo de agua continuo y una adecuada oxigenación de la misma. Las condiciones de incubación que se mantuvieron durante 24 h fueron las siguientes: temperatura de 26 ℃, oxígeno disuelto igual o superior a 6 mg/L, pH de 7 y una salinidad de 37 ups. El recambio de agua fue continuo con un flujo de 2 L/min ≈ 1.08 volúmenes/h. Se determinó el porcentaje de eclosión extrayendo dos muestras de agua de 100 mL, las cuales fueron colocadas, cada una, en una bolsa Ziploc® conteniendo dos litros de agua. Se inyectó aire a las bolsas y se acomodaron en un baño María con las mismas condiciones de temperatura que la tolva de incubación. Pasadas 24 h, se evaluó el porcentaje de eclosión contando el número de larvas en cada bolsa.

Condiciones de cultivo

Cada uno de los dos experimentos se desarrolló en dos fases. La primera fase consistió en sembrar las larvas recién nacidas en un tanque de fibra de vidrio con 2000 L de agua de mar tratada, a razón de 50 organismos/L. La temperatura del agua fue mantenida a 26 °C mediante 3 termostatos (SUNNY®, SGH, 380) y la salinidad fue de 37 ups. El tanque de cultivo era equipado con 4 piedras difusoras para mantener la concentración de oxígeno disuelto por encima de 5.5 mg/L. El fotoperiodo fue de 12 h luz: 12 h obscuridad. El recambio de agua (90 %) se realizó por las noches, usando un flujo de agua de 3 L/min ≈ 0.9 volúmenes/12 h y contando con un filtro tipo tambor con malla de 200 µm. Diariamente, se midieron parámetros fisicoquímicos del agua. La temperatura, el oxígeno disuelto y la salinidad fueron medidos con el multiparámetro (SMARTROLL®, 443667). Para determinar la concentración de amonio, nitrito y nitrato, se usaron los kits colorimétricos comerciales (API™, Saltwater master test kit). Cada mañana, se agregó microalga (*Nannochloropsis oculata*) como “agua verde” a una densidad de 300,000 células/mL en el tanque, determinándola mediante un contador (XpertSea, XpertCount$_2$®). La intensidad de luz durante ambos experimentos fue de 2000-2300 lux, la cual se midió a la superficie del agua con un fotómetro (EXTECH®, 407026).

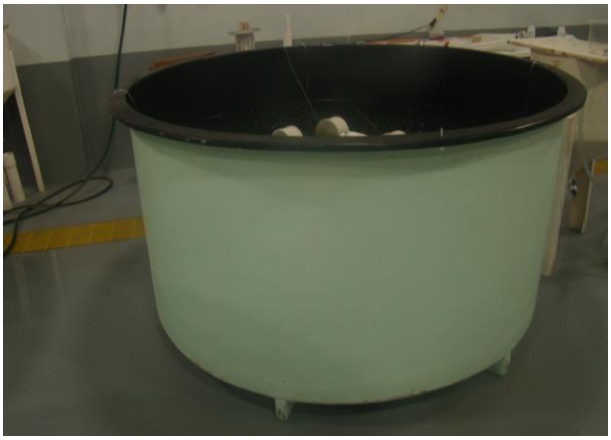

Figura 4. Fase “a”. Tanque de cultivo

El día de la eclosión, se transfirieron las larvas al tanque de cultivo y la fase “a” empezó (Fig. 4). La fase “b” se llevó a cabo en el sistema experimental que contó con

8 tanques cónicos de PVC (67 cm de alto y 60 cm de diámetro) con paredes negras y fondo blanco, de una capacidad de 200 L cada uno. El sistema también constó de un reservorio de agua de 1000 L, una bomba centrífuga de 1/8 Hp, un filtro de arena y un filtro biológico, así como una columna de bioesferas y una lámpara ultravioleta. La transferencia se realizó capturando grupos de larvas del tanque de cultivo con recipientes de 0.5 L y colocándolas en las unidades experimentales a razón de 12 organismos/L. Cabe señalar que las larvas fueron colocadas al azar en las unidades experimentales y posteriormente las 8 unidades fueron divididas de manera aleatoria en dos tratamientos alimenticios: 4 unidades fueron suministradas con *Artemia* (Tratamiento 1, control) y los 4 restantes recibieron el nematodo *Panagrolaimus* sp. (Tratamiento 2) (Fig. 5). En cada unidad, se agregó diariamente *N. oculata* para mantener una densidad de microalga de 600,000 células/mL. Cabe mencionar que las unidades eran llenadas con 180 L de agua de mar tratada, tal como se describió anteriormente. Se utilizó un flujo abierto por las noches de 3 L/min ≈ 1.0 volúmenes/h para asegurar un recambio de agua del 100 %. Las unidades contenían un filtro tipo tambor con malla de 220 µm para recambiar el agua manteniendo las larvas en el tanque y dos piedras difusoras para la aireación de la misma. Las condiciones que se mantuvieron durante esta Fase “b” fueron las siguientes: temperatura de 26 ℃, oxígeno disuelto igual o superior a 5.5 mg/L, pH de 7 y salinidad de 37 ups. El fotoperiodo fue de 12 h luz: 12 h obscuridad y la intensidad de luz se mantuvo en los experimentos 1 y 2 en 200 y 54 lux, respectivamente.

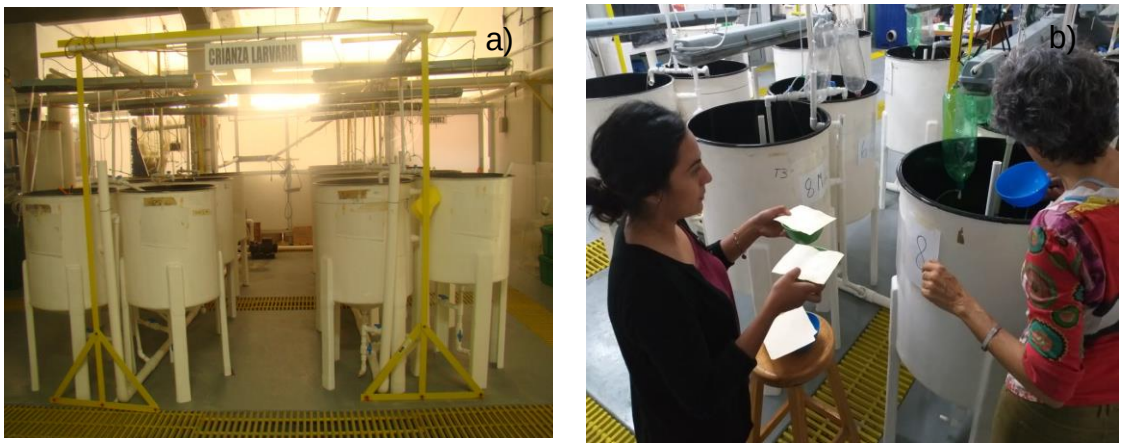

Figura 5. Fase “b”. Sistema de cultivo experimental. a) Sistema experimental; b) Transferencia de larvas de *S. rivoliana* al sistema experimental

Alimento vivo suministrado durante las Fases “a” y “b”

Se realizaron cultivos de microalgas, copépodos y rotíferos para proporcionarlos como alimento vivo a las larvas durante las Fases “a” y “b”. También se colocaron quistes de *Artemia* a eclosionar y se enriquecieron los metanauplios con una emulsión lipídica. Adicionalmente, se rehidrataron los nematodos que ya estaban previamente enriquecidos con el dinoflagelado *C. cohnii,* por parte de la empresa E-NEMA.

Microalga

Las microalgas utilizadas durante los experimentos fueron: *N. oculata, Isochrysis galbana, Tetraselmis suecica* y *Cheatoceros calcitrans.* Fueron sembradas en bolsas de plástico de 45 L con agua de mar tratada y utilizando f/2 como medio de cultivo (Guillard y Ryther, 1962). El cultivo se realizó bajo un fotoperiodo de 18 h luz: 6 h obscuridad usando lámparas fluorescentes, aireación moderada y una temperatura controlada de 24 ℃. Posteriormente, los cultivos de microalgas fueron colocados en columnas de 350 L con las mismas condiciones descritas y cosechados a partir del quinto o vigésimo quinto día, dependiendo de la especie de microalga y tiempo necesario para la maduración de su cultivo. La concentración de cada una de las microalgas cosechadas fue determinada mediante el contador XpertCount$_2$®.

Copépodos

P. euryhalinus y *P. crassirostris* fueron cultivados en tolvas de 130 L y contenedores de 1000 L, respectivamente. El copépodo *P euryhalinus* fue alimentado con las microalgas *C. calcitrans* y *T. suecica,* mientras que se suministró una mezcla de *I. galbana, C. calcitrans* y *T. suecica* a *P. crassirostris.* Las cosechas de los organismos se realizaron usando tamices con luces de malla de 180, 100 y 40 µm para separar los nauplios de los adultos; estos últimos fueron resembrados para continuar

con su reproducción. Los cultivos de copépodos se realizaron bajo una temperatura de 26 ℃, con fotoperiodo 14 h luz: 10 h obscuridad.

Rotíferos

B. plicatilis fue inicialmente cultivado en una tolva de 120 L, a una temperatura de 27 ℃ con aireación ligera y constante. El medio de cultivo fue la microalga *N. oculata*. Cada 48 h se realizó un filtrado, lavado y recambio total del medio de cultivo. Días antes de iniciar el experimento, los rotíferos fueron sembrados a una densidad de 500 rotíferos/mL en varias tolvas conteniendo agua de mar tratada. La aireación era fuerte y se inyectaba oxígeno por medio de difusores de burbuja fina. Los rotíferos fueron alimentados diariamente con un producto comercial (1.6 mL de RotiGrow®, plus / por 1 millón de rotíferos) diluido en agua de mar y esta mezcla fue distribuida en 5 raciones durante el día. Al cuarto día de siembra, una tolva fue cosechada para alimentar las larvas, desfasando las tolvas restantes para su lavado, cosecha y resiembra. Los rotíferos cosechados fueron lavados con agua de mar tratada y se determinó la concentración tomando una muestra de 1 mL y contando el número de organismos bajo un estereoscopio (ZEISS, STEMI SV11).

Panagrolaimus sp.

Los nematodos *Panagrolaimus* sp. (cepa NF 24-5) fueron producidos en un bioreactor y enriquecidos en DHA con el dinoflagelado *C. cohnii* por la empresa E-NEMA ubicada en Schwentinental (Alemania). Posteriormente, los nematodos fueron deshidratados y prensados en forma de “galleta” (Fig. 6a) con diámetro aproximado de 14 cm, y enviados al CIBNOR donde se guardaron a 4 °C hasta ser usados para los bioensayos. Durante los experimentos, se cortó diariamente una porción de la “galleta” y se colocó en 1-2 L de agua potable para hidratar a los nematodos (Fig. 6b). Enseguida, se determinó la concentración de *Panagrolaimus* sp. tomando 3 muestras a partir de una dilución 1:20 y realizando 3 conteos bajo un microscopio óptico

(LABOMED, Lx 500). A partir del promedio de los 3 conteos, se calculó la concentración de nematodos por mL y la cantidad a suministrar en los tanques. Los nematodos se mantuvieron en aireación constante a una temperatura de 25 °C, una vez hidratados. Se suministraron a las larvas con una pipeta de transferencia 5 veces al día durante el Experimento 1 y 8 veces al día en el Experimento 2.

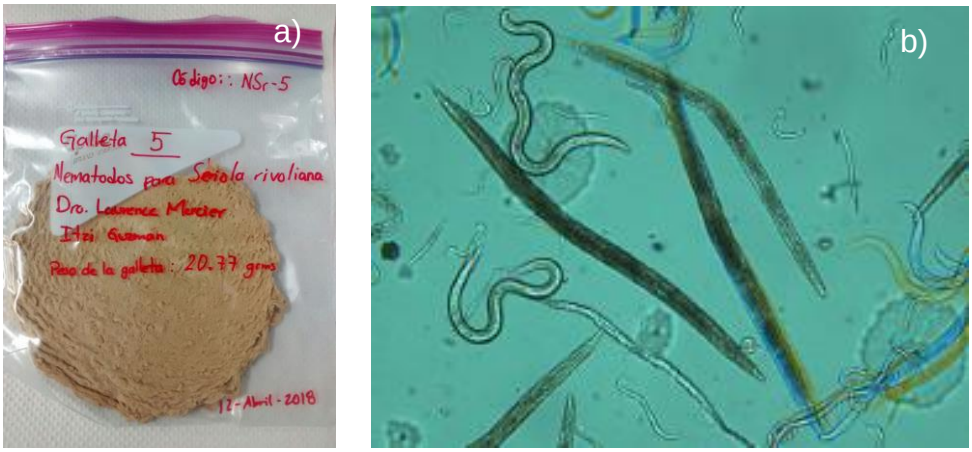

Figura 6. Nematodos. a) deshidratados en “galleta”; b) después de dos horas de hidratación

Artemia

Los quistes de *Artemia* (Biogrow®, 85-90 % de eclosión) fueron puestos a eclosionar 36 horas antes de que los metanauplios (Instar II) sean suministrados a las larvas. Se incubaron en una cubeta de plástico de 20 L con 10 L de agua de mar y 10 L de agua dulce para obtener una salinidad de 15 ups. Se usó una temperatura de 25 °C, una aireación vigorosa y una luz intensa para la eclosión. Después de eclosionar, los nauplios (Instar I) fueron filtrados con un tamiz de 100 µm, desinfectados con yodo (Argentyne®, Argent Aquaculture, LLC; 2 mL/L) durante 5 minutos y posteriormente enjuagados con agua dulce durante otros 5 minutos. Los nauplios de *Artemia* (Instar I) fueron colocados en una tolva de 120 L con agua de mar tratada a una temperatura de 27 ℃ y usando una aireación vigorosa. Se enriquecieron con una emulsión comercial (INVE, S.presso®) durante 12-18 h antes de ser suministrados a las larvas. La emulsión se preparó diluyendo 5 g de S.presso® en agua de mar y agitando durante

3 minutos. La emulsión se dividió en dos raciones (4-5 h entre cada ración). Los metanauplios (instar II) enriquecidos se cosecharon una hora antes de ser suministrados a las larvas y se colocaron en un recipiente de plástico de 5 L. Una muestra de 1 mL fue tomada para realizar tres conteos bajo un estereoscopio (ZEISS, STEMI SV11) y así determinar la cantidad a agregar en las unidades experimentales del tratamiento *Artemia*. Es importante señalar que para fines de mejor entendimiento, los metanauplios (Instar II) serán considerados como nauplios en las siguientes secciones.

Calendarios de alimentación

Durante la Fase “a”, la alimentación exógena comenzó a partir de los tres días después de la eclosión (DDE), ofreciendo rotíferos (*B. plicatilis*) y nauplios de copépodo (*P. euryhalinus*) (Fig. 7 y Fig. 8). La concentración que se mantuvo en el tanque de cultivo fue de 10-30 rot/mL y 2-4 cop/mL en el Experimento 1 y 20 rot/mL y 7-10 cop/mL (mezcla de *P. euryhalinus* y *P. crassirostris*) en el Experimento 2. También es importante mencionar que la Fase “a” duró del día 3 al 9 en el Experimento 1 y del día 3 al 11 en el Experimento 2.

Para la Fase “b”, el calendario de alimentación fue ligeramente diferente entre los dos experimentos. En el Experimento 1, se realizó una co-alimentación los días 9, 10 y 11, donde se disminuyó paulatinamente el suministro de rotíferos y se incrementó la densidad de la nueva presa (*Artemia* o nematodo) usando respectivamente las siguientes proporciones: 75-25 %, 50-50 % y 25-75 %. Los días 12 y 13, se suministró un 100 % de *Artemia* o nematodo a los tratamientos correspondientes. Cabe mencionar que el 100 % de *Artemia* representaba 2 art/mL, lo que correspondió en peso seco a 340 nem/mL. Para el Experimento 2, se siguió ofreciendo 20 rot/mL a todas las unidades los días 12 y 13 para no generar una condición de estrés adicional al que probablemente pudieran presentar las larvas por la transferencia y la siembra en el nuevo sistema de cultivo. Los días 14, 15 y 16 se realizó la co-alimentación en las mismas proporciones descritas anteriormente. Finalmente, los días 17, 18 y 19 se

suministraron 100 % de *Artemia* o 100 % de nematodo a las larvas, a razón de 1 art/mL lo que correspondió en peso seco a 170 nem/mL.

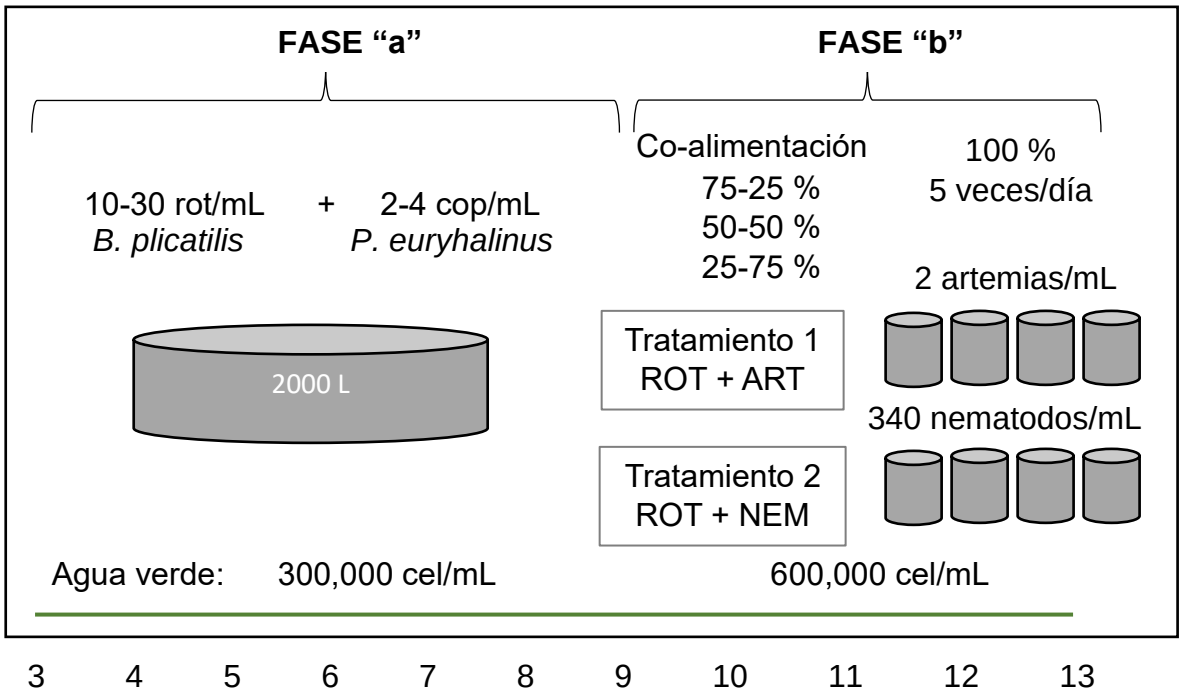

Figura 7. Experimento 1. Calendario de la alimentación

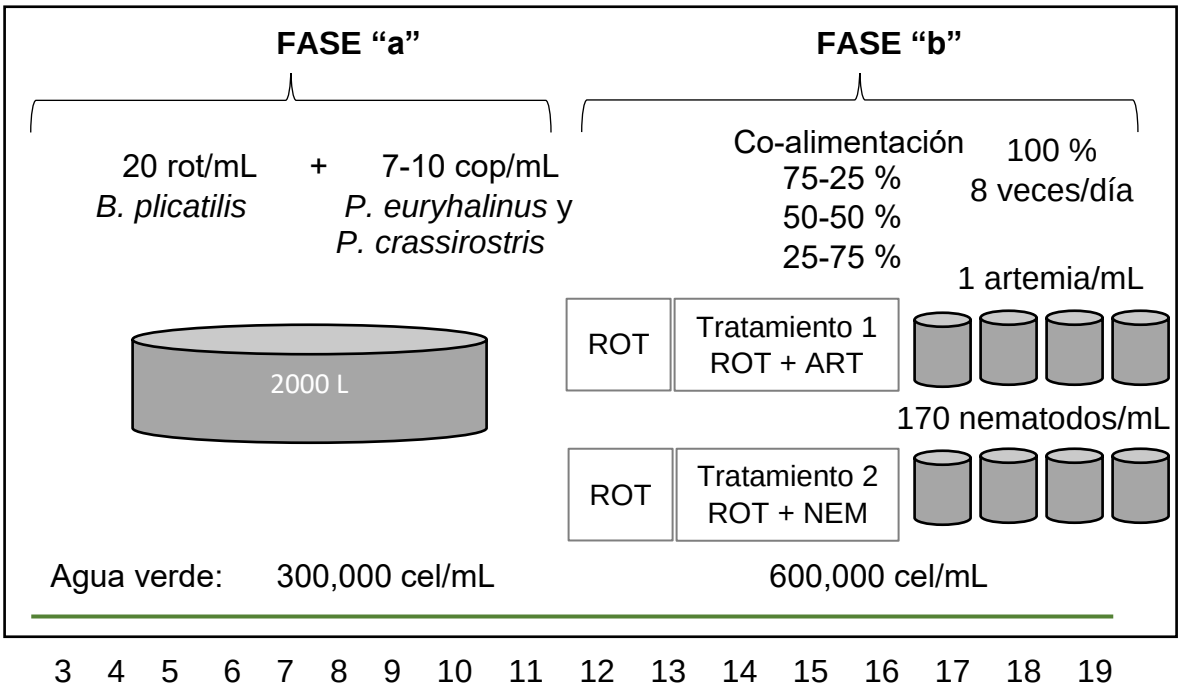

Figura 8. Experimento 2. Calendario de la alimentación

Mediciones

Incidencia e intensidad alimenticia

La incidencia alimenticia representa el número de larvas con presas vivas en su tubo digestivo mientras que la intensidad alimenticia es el número de presas dentro del tubo digestivo de cada larva muestreada. Dichas evaluaciones se realizaron extrayendo aleatoriamente 10-20 larvas de las unidades por día de muestreo. Para el Experimento 1, se estimaron la incidencia e intensidad los días 3, 4, 5, 6 y 9 (Fase “a”) y con las larvas de las unidades experimentales los días 10, 11, 12 y 13 (Fase “b”). En el Experimento 2, dichas evaluaciones se hicieron los días 3, 4, 5, 7 y 8 durante la Fase “a” y los días 14 y 19 en la Fase “b”. Las larvas se colocaron en una caja Petri y fueron anestesiadas con 2-fenoxietanol (4 ppm). Enseguida, fueron observadas con un estereoscopio (ZEISS, STEMI SV11) usando una aguja para disectar el intestino de la larva y contabilizar el número de presas presentes.

$$Incidencia\ alimenticia = \frac{Número\ de\ larvas\ con\ alimento}{Número\ total\ de\ larvas\ observadas}\ x\ 100$$

$$Intensidad\ alimenticia = \frac{Suma\ de\ las\ presas\ en\ el\ tracto\ digestivo}{Número\ de\ las\ larvas\ con\ alimento}$$

Índice de selectividad de Ivlev

Este índice describe la preferencia de un depredador por la presa. Su escala es de -1 a 1; donde -1 indica la evasión total de una presa; 0 indica que se captura una presa en proporción a su abundancia en el tanque y 1 indica una preferencia total por una presa. Para calcular dicho índice, se usaron los resultados de la intensidad alimenticia y la ecuación siguiente:

$$E = \frac{ri - pi}{ri + pi}$$

ri: Porcentaje de la presa en la larva; *pi*: Porcentaje de la presa en el tanque.

Crecimiento

El crecimiento larvario fue evaluado en los dos experimentos. En el Experimento 1, se muestrearon diariamente 5 larvas en el tanque de cultivo del día 1 al día 9 (Fase "a") y se extrajeron 5 larvas en cada unidad experimental los días 10, 11 y 13 (Fase "b"). En cuanto al Experimento 2, se muestrearon 10 larvas los días 3, 6 y 9 (Fase "a") y se capturaron 30 larvas al día 10, 10 larvas al día 12 y 30 larvas al día 19. Una vez muestreadas, las larvas fueron anestesiadas con 2-fenoxietanol y fotografiadas con una cámara digital (LUMENERA®, Infinity 1) integrada a un estereoscopio graduado (OLYMPUS®, SZ40). La longitud total (LT) y la altura del músculo de cada larva fue medida con el software ImagePro® Plus (ver. 4.5).

Supervivencia

La supervivencia solamente se midió en el Experimento 2, contando al final del bioensayo el número de larvas que quedaron vivas en cada unidad experimental. La supervivencia fue determinada por la siguiente fórmula:

$$\frac{\Sigma\ N\acute{u}mero\ de\ larvas\ vivas\ por\ r\acute{e}plica/4}{1200\ larvas}\ x\ 100$$

Análisis histológicos

Los análisis histológicos solamente se realizaron en las larvas cultivadas durante el Experimento 2. Para ello, se muestrearon 10 larvas a los días 3 (inicio de la alimentación) y 19 (al finalizar el experimento). Las muestras fueron fijadas en una solución Davidson durante 24 h y posteriormente fueron preservadas en alcohol al 70 %. Enseguida, las muestras fueron transferidas al Laboratorio de Histología del CIBNOR donde las larvas fueron deshidratadas gradualmente con alcohol etílico a

diferentes concentraciones (70, 80, 90, 96 y 100 %) y aclaradas con xilol. Las muestras fueron embebidas en parafina (Fig. 9a) y se realizaron cortes histológicos usando un micrótomo de rotación de 5 µm (Leica, RM2155) (Fig. 9b). Finalmente, los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina (de Harris), la cual permite observar las características histológicas generales de los tejidos. Las muestras fueron observadas con un microscopio óptico (OLYMPUS®, BX41, objetivos 4x, 20x y 100x) combinado a una cámara fotográfica (Nikon, DS-Ri1) (Fig. 9c). A partir de las fotografías tomadas, se realizaron mediciones de la altura de las vellosidades y enterocitos del intestino para diferenciar la parte anterior de la posterior. El programa ImagePro® Plus (ver. 9) fue usado para las mediciones. Para la altura de las vellosidades, se midió desde la base hasta la parte apical del pliegue mientras que, la altura de los enterocitos fue determinada desde la parte basal de la célula hasta la parte apical, incluyendo las microvellosidades (Fig. 10),

Figura 9. Metodología para análisis histológicos. a) Inclusión de muestras en bloques de parafina; b) Microtomo para realizar cortes de tejidos; c) Microscopio adaptado a una cámara para observar laminillas de los tejidos

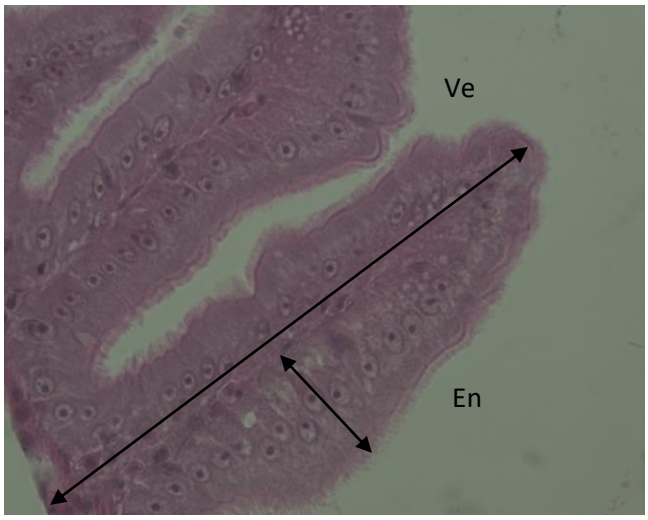

Figura 10. Altura de las vellosidades (Ve) y enterocitos (En) del intestino de las larvas de *S. rivoliana* (Tinción hematoxilina-eosina)

Adicionalmente, se cuantificó la cantidad de lípidos presentes en el hígado mediante el mismo software Image Pro® Plus. Un total de 75 imágenes fueron analizadas (40 del tratamiento de larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* y 35 de larvas alimentadas con nematodos) con el objetivo 100x y se midieron tanto el área de cobertura de las vacuolas lipídicas del hígado de las larvas como el área total de la imagen. El índice de vacuolas lipídicas en el hígado se calculó de la siguiente manera:

$$\frac{Área\ de\ cobertura\ de\ gotas\ lipídicas}{Área\ total\ de\ imagen\ de\ 100x}\ x\ 100$$

Donde el área total de imagen con aumento de 100x fue de 21,878.4 µm².

Concentración de ácidos grasos totales y lípidos totales en larvas

La concentración de ácidos grasos y lípidos totales de las larvas fue determinada solamente en el Experimento 2. Para ello, se muestrearon aproximadamente 100 mg de larvas en cada unidad los días 3, 12 y 19. Las larvas fueron colocadas primeramente en un tamiz para enjuagarlas con agua destilada y luego se transfirieron en un vial de vidrio con 6 mL de solución Folch (Cloroformo: Metanol, 2:1). Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Metabolismo de Lípidos del CIBNOR donde se agregaron 10 µL de BHT, 10 µL de α-Colestano y 10 µL del ácido graso 23:0 antes de almacenarlas a -20 ℃ hasta su posterior análisis.

Para determinar la concentración de ácidos grasos y lípidos totales, se siguió la metodología descrita por Folch *et al.* (1957) con las modificaciones aportadas por Palacios y colaboradores (2004). Las muestras fueron colocadas a temperatura ambiente y disgregadas usando primeramente un homogeneizador de vidrio y enseguida un sonicador (Branson, 2510) por 15 minutos. El extracto lipídico se dividió en tres partes: 1 mL para determinar la concentración de ácidos grasos metil esterificados totales (FAME), 1 mL para analizar lípidos totales y los 4 mL restantes se guardaron como respaldo ("back up"). Las muestras para FAME fueron evaporadas a sequedad por medio de un evaporador centrífugo al vacío (Jouan, RC 10.09) y derivatizadas con 1 mL de trifloruro de boro metanol (BF_3, por sus siglas en inglés) al 10 % por 15 minutos a 90 °C. Los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se agregó 1 mL de hexano. Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos a 5 ℃. La fase inferior se descartó y se realizaron de 5-7 lavados con agua desionizada. Los tubos fueron almacenados a -20 ℃ hasta que la fase de agua se congelara. Se recuperaron los FAME y se transfirieron a un vial ámbar de 2 mL. Los metil-esteres fueron analizados en un cromatógrafo de gases (Hewllet-Packard®, 6890N) equipado con una columna capilar de sílice fundida (DB23; 30 m de largo x 0.25 mm de diámetro interno x 0.25 µm de espesor de película) y un detector de ionización de flama a una temperatura de 280 °C. La rampa de temperatura del horno para la separación de los ácidos grasos fue de 110-220 °C a una tasa de incremento de 3 °C/min. Se utilizó el helio como gas acarreador. La identificación de los metil-esteres de los ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención de una mezcla de ácidos grasos como estándar (Supelco®, 47885U) y la cuantificación se realizó integrando las áreas de cada uno con el programa GC ChemStation A.10.02 de Agilent Technologies.

Para la determinación de lípidos totales se tomó 1 mL de extracto lipídico de cada muestra y fueron colocados en microcolumnas preparadas con pipetas Pasteur rellenas de fibra de vidrio y sílice hidratado con agua al 6 %. Los lípidos fueron separados, eluyendo las muestras en microcolumnas (Fig. 11) con 10 mL de Cloroformo: Metanol (98:2). Se evaporaron durante dos horas para eliminar los solventes. Los lípidos obtenidos fueron transferidos a tubos a peso constante, se

dejaron en la estufa a 30 ℃ durante 24 h. Por último, el total de lípidos fue obtenido por gravimetría.

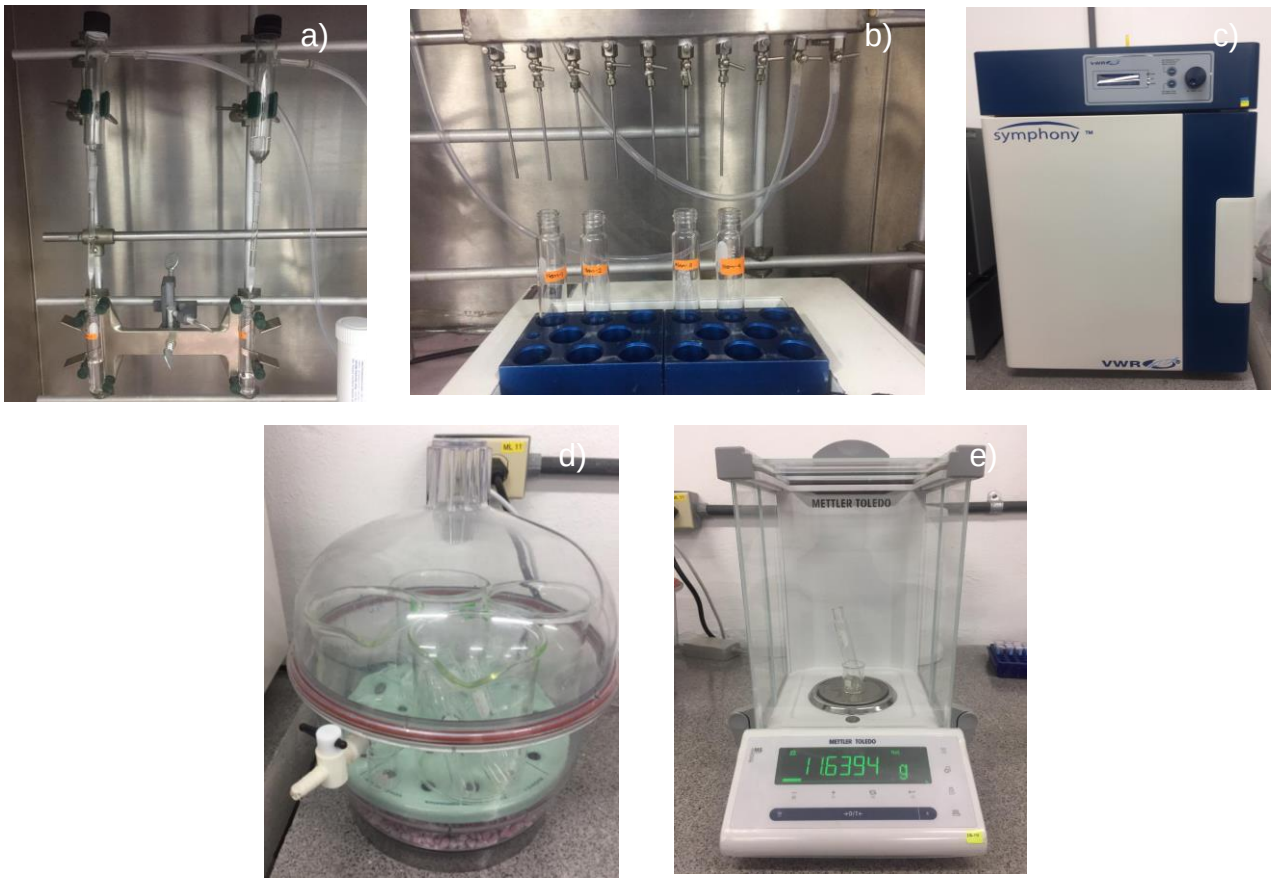

Figura. 11. Extracción de lípidos totales por gravimetría. a) Elución de las muestras en microcolumnas de sílice; b) Muestras evaporadas con N_2 para eliminar los solventes; c) Muestras colocadas en estufa a 30 ℃; d) Tubos transferidos al desecador; e) Peso del lípido en balanza analítica

Concentración de ácidos grasos totales y lípidos totales en presas vivas

Estos análisis se realizaron solamente en el Experimento 2. Se analizó la concentración de ácidos grasos y lípidos totales de las presas vivas suministradas a las larvas. Para cada alimento vivo (rotíferos, nematodos y *Artemia*), se pesaron 100 mg de muestra, los cuales fueron enjuagados con agua destilada antes de ser transferidos en un vial de vidrio con 6 mL de solución Folch (Cloroformo: Metanol, 2:1). En el caso de los nematodos se añadieron 10 µL de agua destilada además de la solución Folch ya que estos organismos se encontraban en forma deshidratada. A todas las muestras se les agregaron10 µL de BHT, 10 µL de α-Colestano y 10 µL del ácido graso 23:0 y fueron almacenadas a -20 ℃ para su posterior análisis. La concentración de ácidos grasos y lípidos totales fue determinada siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente para larvas.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el software STATISTICA (Stat Soft, Ver. 10.0). Se verificaron la normalidad y homocedasticidad de todos los datos usando la prueba de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía cuando los datos cumplieron con ambos supuestos y de no ser así, se usó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. En caso de encontrar diferencias significativas, se llevó a cabo una prueba a *posteriori* de Tukey para los ANOVAS o una prueba de comparación múltiple de rangos para Kruskal-Wallis. Para todas las pruebas, el nivel de significancia fue establecido en $\alpha=0.05$. Cabe señalar que los datos de supervivencia e incidencia alimenticia (porcentajes) fueron transformados a arcoseno de raíz cuadrada antes de realizar los análisis estadísticos correspondientes.

VII. RESULTADOS

Variables fisicoquímicas

En la tabla 2, se muestra el promedio y la desviación estándar (DE) de los parámetros fisicoquímicos del agua medidos durante la incubación de los huevos de jurel y los dos experimentos (Fases “a” y “b”). Todas las variables se mantuvieron estables y dentro de las condiciones óptimas para el cultivo larvario de *S. rivoliana*.

Tabla 2. Variables fisicoquímicas durante la incubación y Experimentos 1 y 2 (Promedio ± DE).

Parámetros	Incubación	Experimento 1			Experimento 2		
		Fase "a"	Fase "b"		Fase "a"	Fase "b"	
			Artemia	Nematodo		*Artemia*	Nematodo
Temperatura (°C)	25.7 ± 0.1	25.9 ± 0.2	25.3 ± 0.2	24.8 ± 0.1	25.7 ± 0.5	24.0 ± 0.1	24.0 ± 0.2
Oxígeno (mg/L)	5.5 ± 0.2	5.7 ± 0.2	6.0 ± 0.2	5.7 ± 0.4	6.1 ± 0.7	5.4 ± 0.4	5.3 ± 0.7
Salinidad (ups)	36.9 ± 0.1	36.4 ± 0.0	36.2 ± 0.3	36.4 ± 0.2	36.7 ± 0.5	35.5 ± 0.1	35.5 ± 0.2
pH	7.5 ± 0.1	7.8 ± 0.2	7.9 ± 0.2	7.9 ± 0.1	7.7 ± 0.1	7.9 ± 0.2	8.1 ± 0.0
Nitrito (mg/L)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.2 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Nitrato (mg/L)	0 ± 0	1.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.5 ± 0.2	0 ± 0	0.5 ± 0.2	0 ± 0
Amonio (mg/L)	0 ± 0	0.2 ± 0.0	0.25 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0 ± 0	0.3 ± 0.1	0.25 ± 0.1

Obtención de organismos

En la figura 12, se muestra el desarrollo larvario de *S. rivoliana* observado durante la incubación de los huevos y los experimentos. El porcentaje de eclosión fue en promedio del 60.5 %. El huevo de jurel está constituido por una sola gota de aceite, el cual tuvo un diámetro promedio de 0.24 ± 0.01 mm y el diámetro total del huevo fue en promedio 1.08 ± 0.03 mm. Al comienzo de la alimentación exógena, las larvas fueron observadas con remanente de gota lipídica, ojo pigmentado y boca abierta. Al día 5, algunas larvas comenzaron a inflar la vejiga natatoria (10 %); se pudo ver mayor pigmentación en el cuerpo, presencia de neuromastos lo que en un futuro se convertirá en la notocorda. Al inicio de la eclosión y en días posteriores, aun se observó el pliegue membranoso alrededor del cuerpo dentro del cual se desarrollan las aletas dorsal, caudal y anal, mismo que persiste hasta la osificación de los rayos de las aletas. Al día 8, las larvas continuaron en preflexión. Al día 11, la coloración del cuerpo en las larvas fue más intensa y aun siguieron en preflexión. Al día 12, algunas larvas comenzaron con la flexión de la notocorda. En días posteriores (13 y 14) no hubo muchos cambios en el desarrollo. Al día 15, 25 % de las larvas estaban en la etapa de preflexión, 16 % en postflexión y el resto de las larvas (58 %) ya habían comenzado con la postflexión. El día 16, se observó una pigmentación negra en el cuerpo. En días posteriores y hasta el final del experimento, todas las larvas ya estaban en etapa postflexión con una osificación de rayos en aletas caudal y dorsal.

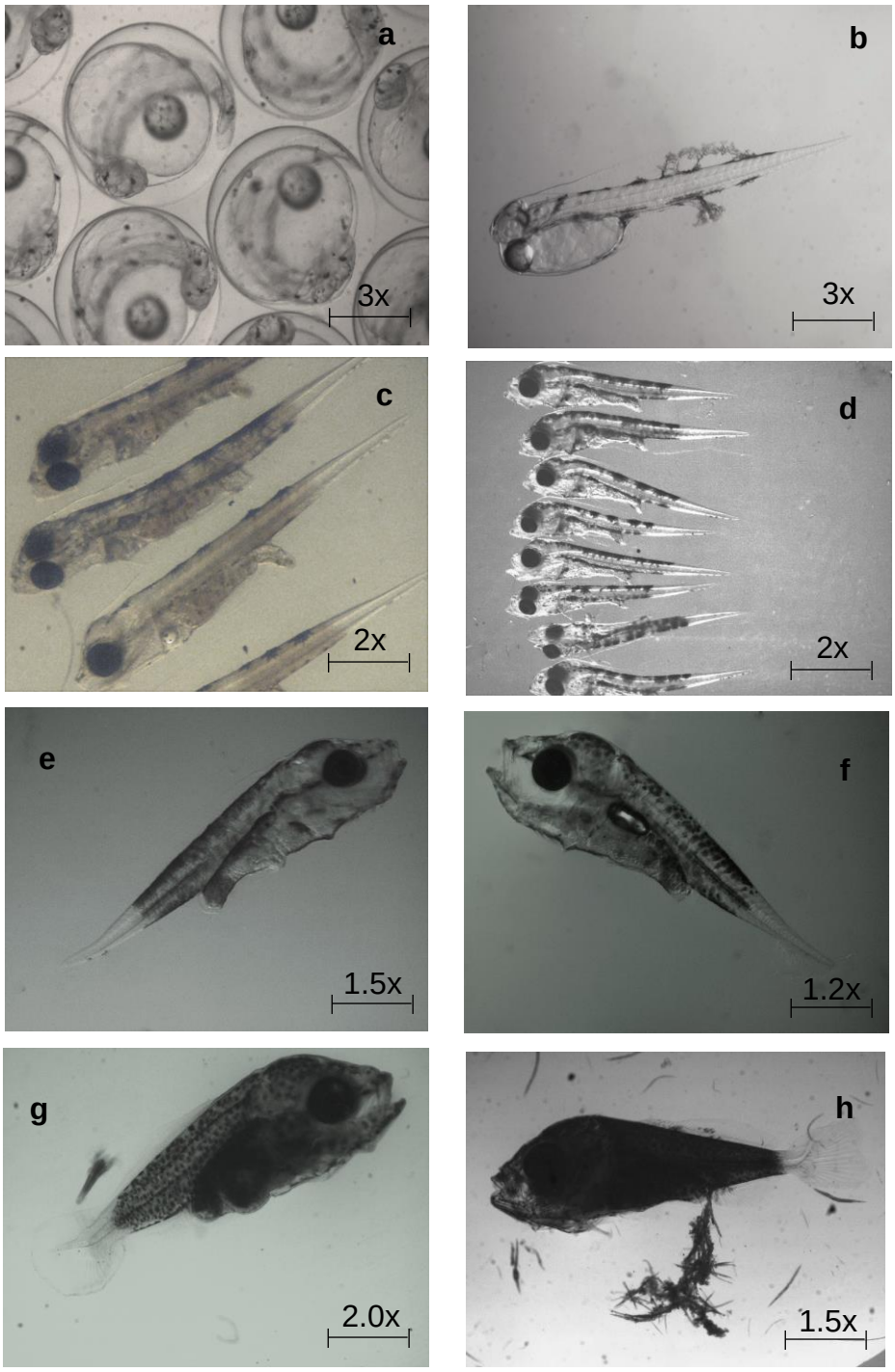

Figura 12. Desarrollo de *S. rivoliana.* a) Huevos a 19 horas de incubación; b) Larva recién eclosionada (día 0) con gota de aceite; c) Larvas a los 3 DDE; d) Larvas a los 5 días con pigmentación mayor; e) Larva a los 8 DDE en preflexión; f) Larva a los 10 DDE con vejiga inflada; g) Larva a los 14 DDE en flexión; h) Larva a los 19 DDE en postflexión

Experimento 1

Eficiencia alimenticia

Incidencia alimenticia - Fase “a”

La incidencia alimenticia se determinó contabilizando las larvas que tenían alimento en el tracto digestivo, diferenciando el tipo de presa, ya sea larvas que consumieron solo rotíferos, larvas que consumieron solo copépodos y larvas que consumieron una mezcla de ambos. El primer día de alimentación (3 DDE) todas las larvas tenían alimento en el tracto digestivo (Incidencia alimenticia del 100 %), la cual se mantuvo en los siguientes días del experimento (Fig. 13). El porcentaje de larvas que se alimentaron de ambas presas fue aumentando con los días. El número de larvas que se alimentaron solo de nauplios de copépodo fue disminuyendo mientras que al día 6, el 10 % de las larvas consumieron solamente rotíferos.

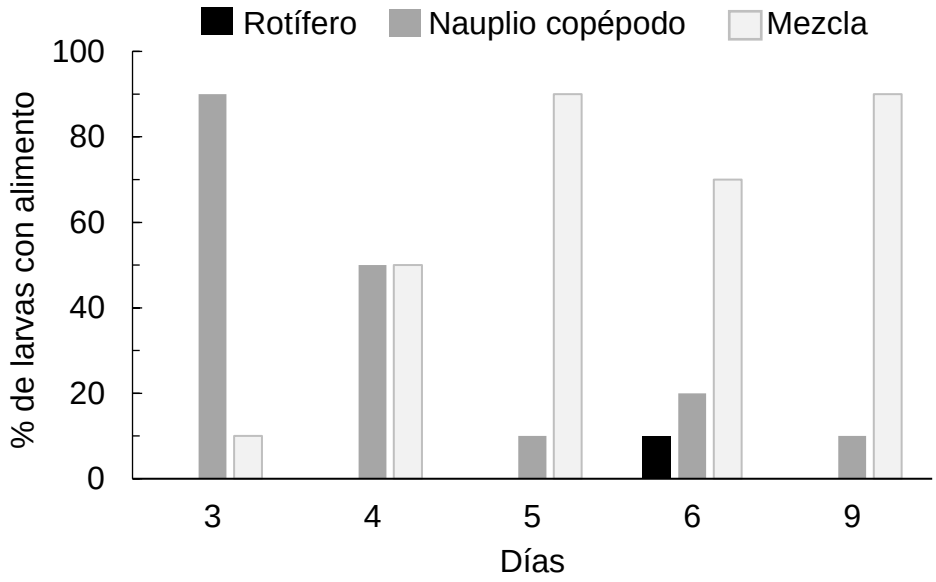

Figura 13. Experimento 1. Fase “a”. Porcentaje promedio de larvas de *S. rivoliana* que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) diferenciando entre el tipo de presa: rotíferos, copépodos y mezcla (larvas que se alimentaron tanto de rotíferos como de copépodos) (n = 10 larvas en cada día)

Intensidad alimenticia - Fase “a”

La intensidad alimenticia se determinó contabilizando el número y tipo de presas presentes en el tubo digestivo. Al día 3, el promedio de consumo fue de 1 rotífero/larva; el cual fue aumentando hasta llegar a 5.1 rot/larva al día 9, mientras que el consumo de nauplios de copépodo al inicio fue de 11.9, para en los siguientes días fluctuar y disminuir a 0.8 nauplios de cop/ larva al día 9 (Fig.14).

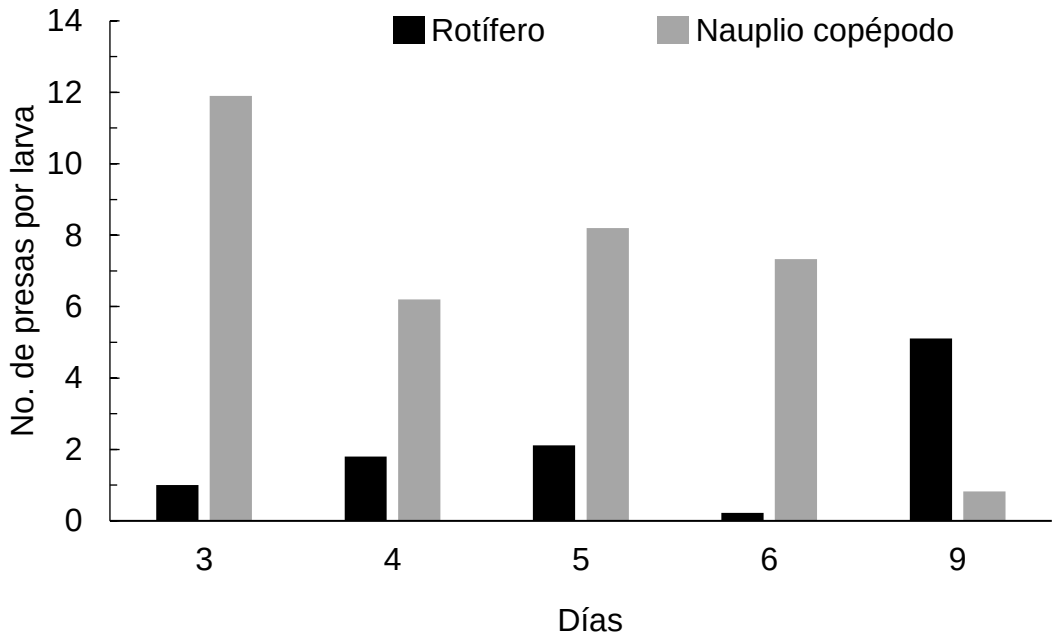

Figura 14. Experimento 1. Fase “a”. Número promedio de presas (rotíferos o nauplios de copépodo) por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana*. (n = 10 larvas en cada día)

Índice de Ivlev

El índice de Ivlev mostró selectividad, siendo la presa mayormente seleccionada por las larvas de *S. rivoliana* los nauplios de copépodo (valores positivos; Fig. 15). Al inicio de la alimentación exógena se observó un índice de 0.6, el cual fue aumentando con el paso de los días hasta el final de la Fase “a”, mientras que estos valores fueron negativos en todos los días de muestreos para el rotífero.

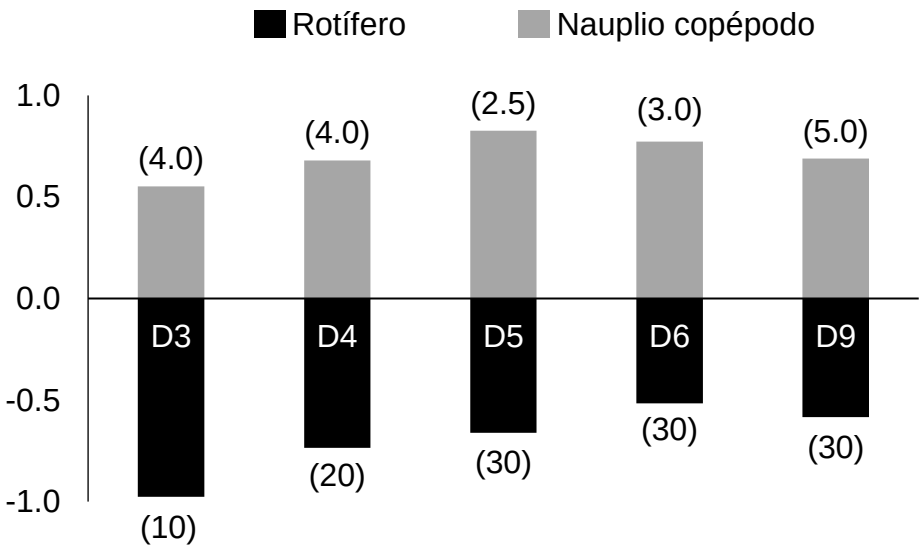

Figura 15. Experimento 1. Fase “a”. Índice de selectividad de Ivlev en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con dos tipos de presas: rotíferos y nauplios de copépodos. Los números entre paréntesis representan la densidad de presas (organismos/mL) suministrada en el tanque de cultivo (n = 10 larvas en cada día). D: Día

Incidencia alimenticia - Fase “b”

Al día 10, todas las larvas en ambos tratamientos tenían alimento en el tracto digestivo (Fig. 16). No se observaron larvas que consumieron sólo *Artemia* o sólo nematodo en los días 10 y 11; y no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre la cantidad de larvas que consumió sólo *Artemia* o sólo nematodos en los días posteriores. Sin embargo, en ambos tratamientos en los días 11 y 12 las larvas consumieron una mezcla de las dos presas presentes (Mezcla/Art o Mezcla/Nem). En

el último día, las larvas del tratamiento Nematodo seguían consumiendo la mezcla (Mezcla/Nem), mientras que en el tratamiento *Artemia* consumieron sólo *Artemia* o sólo rotíferos. En todos los días muestreados no hubo diferencias significativas ($p>0.05$) entre el porcentaje de larvas que comieron sólo rotíferos en el tratamiento *Artemia* (Rot/Art) y sólo rotíferos en el tratamiento nematodo (Rot/Nem). Es interesante mencionar que en los días 12 y 13 se presentaron larvas que consumieron solamente nematodos.

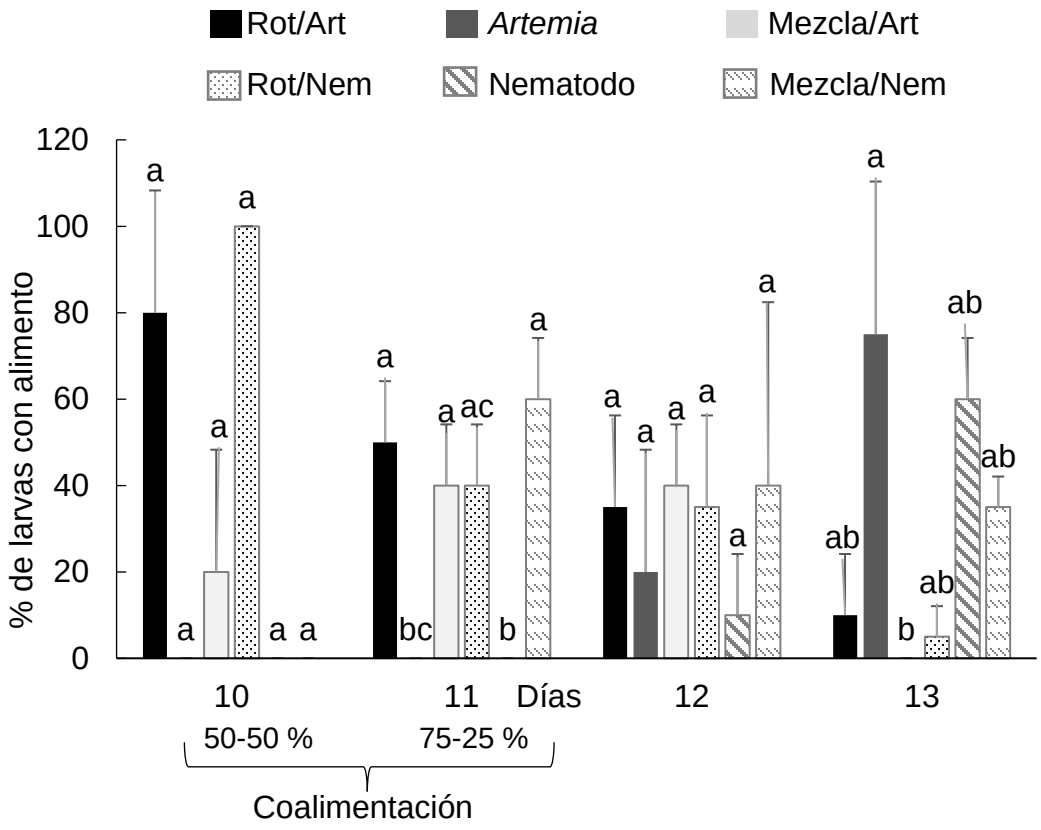

Figura 16. Experimento 1. Fase “b”. Porcentaje promedio de larvas de *S. rivoliana* que presentan alimento en el tracto digestivo (Incidencia alimenticia) diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Nem). Los resultados se presentan como promedio ± DE. Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$). (n = 10 larvas en cada tratamiento por día muestreado)

Intensidad alimenticia – Fase “b”

No hubo diferencias significativas en la cantidad de *Artemia* y nematodo consumidos, excepto al día 12 donde el consumo de *Artemia* fue significativamente mayor ($p<0.05$; Fig. 17). Durante los tres primeros días no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el consumo de rotíferos (Rot/Art) y *Artemia*; sin embargo, hubo diferencias significativas ($p<0.05$) entre el consumo de rotíferos (Rot/Nem) y el consumo de nematodos. Al día 13, las larvas consumieron significativamente más *Artemia* que rotíferos ($p<0.05$); no obstante, no se presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre el consumo de rotífero (Rot/Nem) y nematodos.

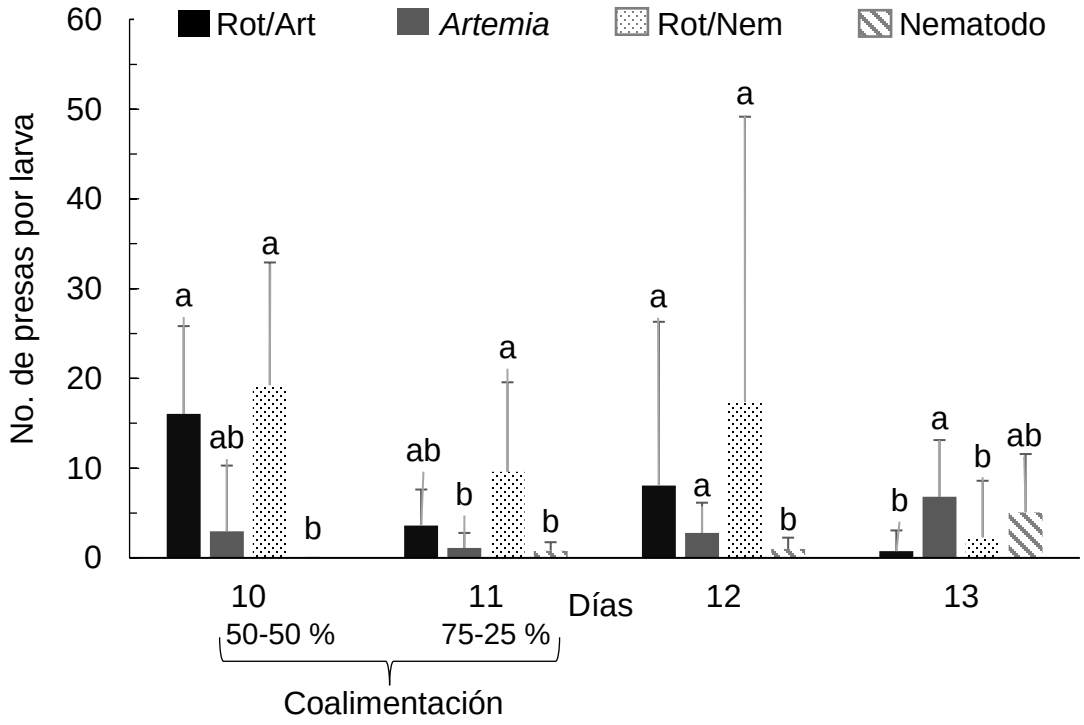

Figura 17. Experimento 1. Fase “b”. Número promedio de presas por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem). Los resultados se presentan como promedio ± DE. Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$) (n = 10 larvas en cada tratamiento por día muestreado)

Crecimiento

Las larvas de *S. rivoliana* al momento de la primera alimentación tuvieron una longitud total de 3.2 ± 0.2 mm, misma que fue aumentando paulatinamente hasta llegar al día 9 con una longitud total de 4.2 ± 0.1 mm (Fig. 18).

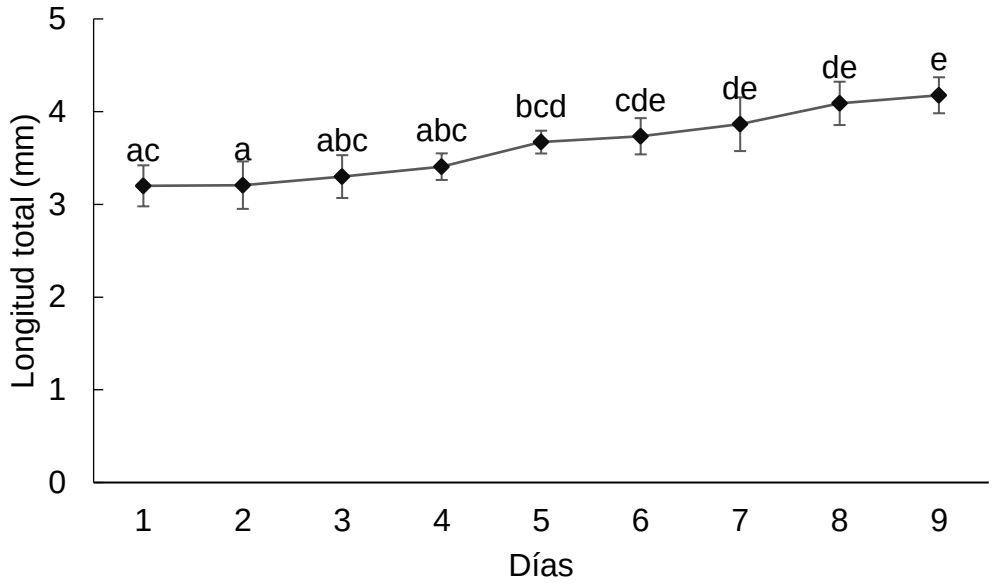

Figura 18. Experimento 1. Fase “a”. Longitud total (mm; promedio ± DE) de las larvas de *S. rivoliana*. Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$). (n = 5 larvas en cada día)

Durante la Fase “b”, la longitud total en los días muestreados no mostró diferencias significativas entre las larvas alimentadas con artemias y nematodos ($p>0.05$; Tabla 3)

Tabla 3. Experimento 1. Fase “b”. Longitud total (mm; promedio ± DE) de las larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o nematodo

DDE	Tratamientos	
	Artemia	Nematodo
10	4.67±0.5[a]	4.55±0.4[a]
11	5.29±0.6[a]	5.22±03[a]
13	5.31±0.6[a]	5.26±0.3[a]

En cada línea, las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$). (n = 10 larvas en cada tratamiento por día muestreado).

Experimento 2.

Eficiencia alimenticia

Incidencia alimenticia - Fase “a”

El primer día de alimentación (día 3), el 90 % de las larvas tenían alimento en su tracto digestivo; este porcentaje aumentó a 100 % en los días posteriores (Fig. 19). En todos los días de muestreo se presentaron larvas que comieron solo rotíferos y la mezcla de ambas presas (rotíferos y nauplios de copépodo), mientras que se observaron larvas que comieron solo copépodos en los días 3 y 5.

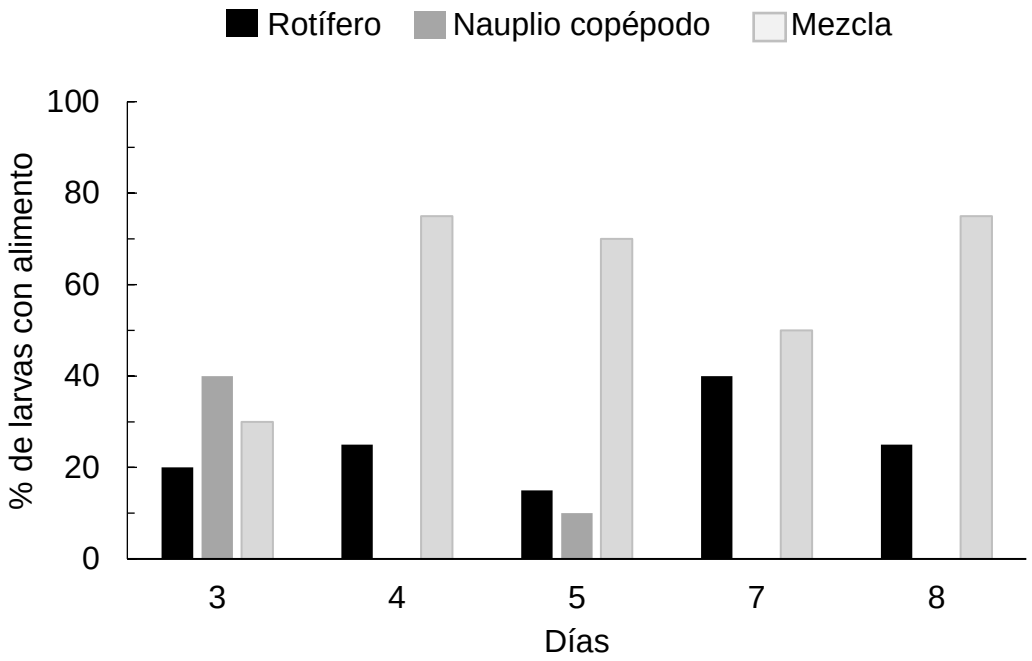

Figura 19. Experimento 2. Fase “a”. Porcentaje promedio de larvas de *S. rivoliana* que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) diferenciando entre el tipo de presa: rotíferos, copépodos y mezcla (larvas que se alimentaron tanto de rotíferos como de copépodos) (día 3, n = 10; día 4, n = 12; día 5, n = 20; día 7, n = 10; día 8, n = 16)

Intensidad alimenticia - Fase “a”

En los primeros días de cultivo, el promedio de rotíferos ingeridos se mantuvo entre 2.4 y 3.5 y se incrementó en el día 7, mientras que para el nauplio de copépodo se mantuvo entre 1.4 y 2.7 para aumentar a 6.0 al día 8 (Fig. 20).

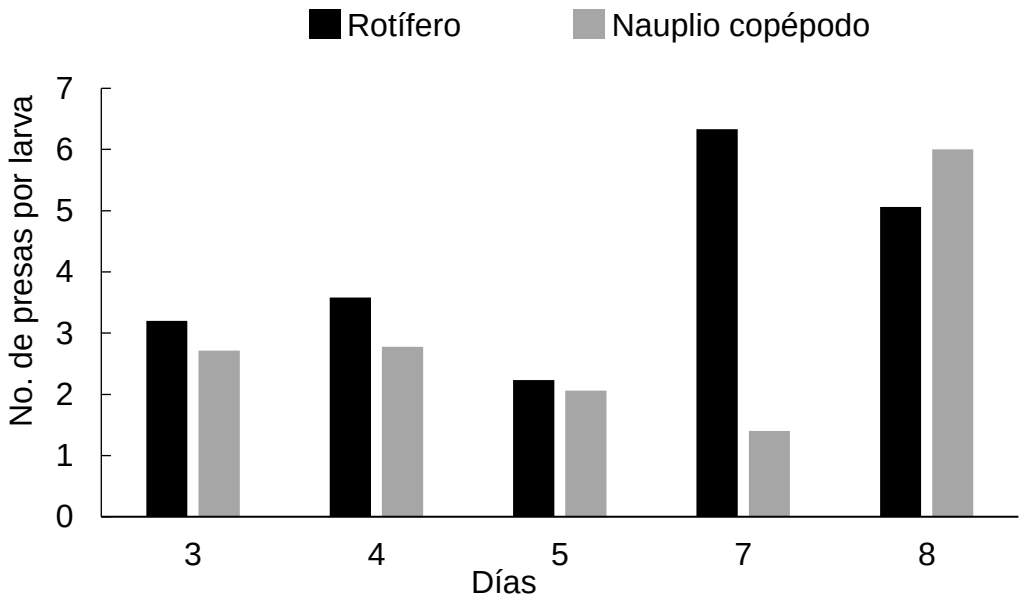

Figura 20. Experimento 2. Fase “a”. Número promedio de presas (rotíferos o nauplios de copépodo) por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana*. (día 3, n = 10; día 4, n = 12; día 5, n = 20; día 7, n = 10; día 8, n = 16)

Índice de Ivlev

Se observaron valores positivos en el índice de selectividad de Ivlev para nauplios de copépodo, a excepción del día 7 donde se obtuvo un valor negativo indicando una selección menor. En ese mismo día, se obtuvo un valor positivo para rotíferos a diferencia de los demás días donde se obtuvieron valores negativos o igual a 0 (Fig. 21).

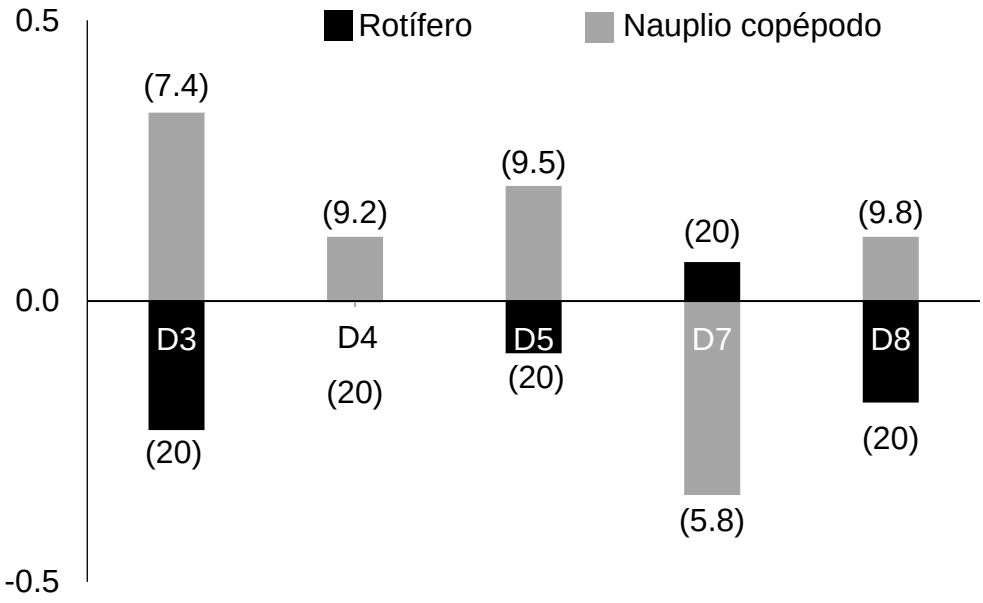

Figura 21. Experimento 2. Fase “a”. Índice de selectividad de Ivlev en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con rotíferos y copépodos. (día 3, n = 10; día 4, n = 12; día 5, n = 20; día 7, n = 10; día 8, n = 16). Los números entre paréntesis representan la densidad de presas (organismos/mL) suministrada en el tanque de cultivo. D: Día

Incidencia alimenticia – Fase “b”

La incidencia alimenticia fue determinada solamente al día 14 (primer día de co-alimentación) y 19 (cuando las presas tenían dos días con un 100% de *Artemia* o nematodo). Tanto al día 14 como al día 19 no se presentaron diferencias significativas entre el porcentaje de larvas que consumieron rotíferos en ambos tratamientos (Rot/Art y Rot/Nem), Nematodo o *Artemia* y la mezcla de presas (Mezcla/Art y Mezcla/Nem) (Fig. 22). Al día 14, en ambos tratamientos no hubo larvas que consumieron la mezcla de presas, mientras que al día 19 las larvas sí la consumieron. En el tratamiento *Artemia* hubo una clara disminución de rotíferos consumidos por las larvas del día 14 al día 19.

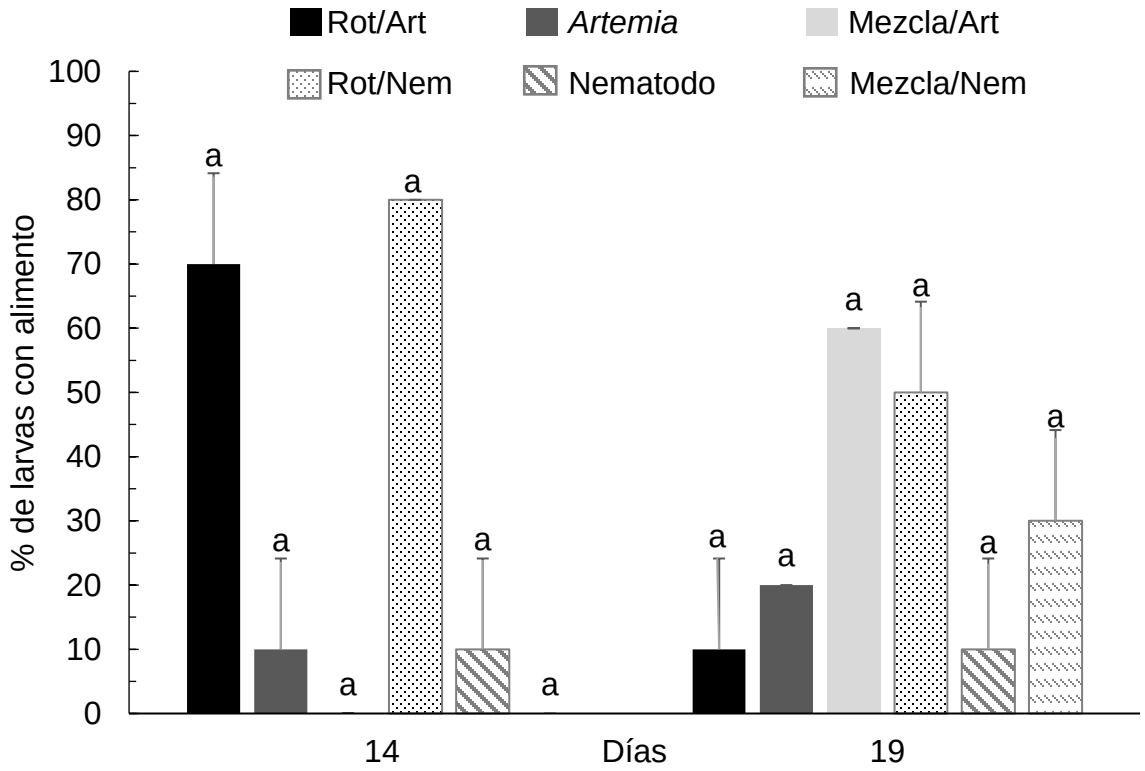

Figura 22. Experimento 2. Fase “b”. Porcentaje promedio de larvas de *S. rivoliana* que presentan alimento en su tracto digestivo (Incidencia alimenticia) diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem) y la mezcla de ambas presas (Mezcla/Nem). Los resultados se presentan como promedio ± DE. Las letras diferentes denotan diferencias significativas en cada día ($p<0.05$) (n = 10 larvas en cada tratamiento por día muestreado)

Intensidad alimenticia – Fase “b”

En el tratamiento Nematodo, tanto al día 14 como al día 19 el consumo de rotíferos fue significativamente mayor ($p<0.05$) al consumo de nematodos; esa diferencia entre rotíferos y nauplios de *Artemia* no se presentó en el tratamiento *Artemia* (Fig. 23).

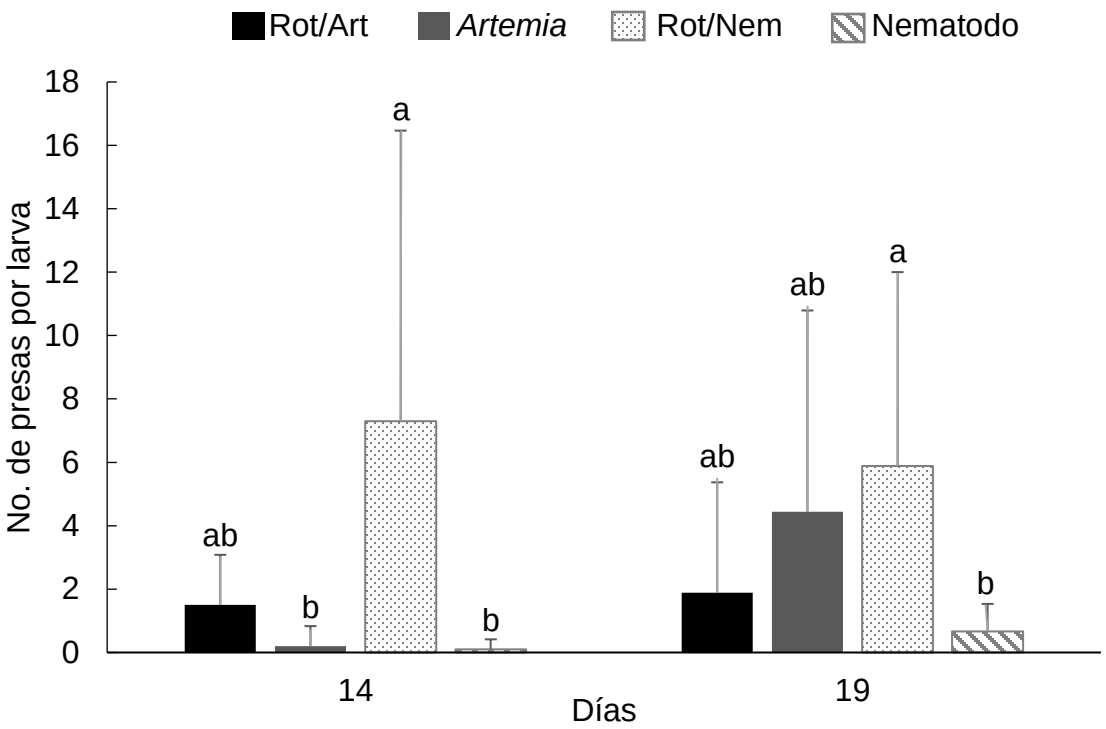

Figura 23. Experimento 2. Fase “b”. Número promedio de presas por larva (Intensidad alimenticia) observadas en larvas de *S. rivoliana* diferenciando entre el tipo de presa en el tratamiento 1: *Artemia*, rotíferos (Rot/Art) y tratamiento 2: nematodo, rotíferos (Rot/Nem) Los resultados se presentan como promedio ± DE. Las letras diferentes denotan diferencias significativas en cada día ($p<0.05$) (n = 10 larvas en cada tratamiento por día muestreado)

Crecimiento

Al momento de la primera alimentación (3 DDE) las larvas de *S. rivoliana* presentaron una longitud total promedio de 3.56 ± 0.1 mm, la cual se mantuvo constante hasta el día 6 (Tabla 4). El dia 12, la longitud total y la altura del músculo fueron significativamente mayores ($p<0.05$) a las determinadas en los días anteriores. Para los días 16 y 19, no se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) para estas dos variables entre las larvas del tratamiento *Artemia* y Nematodo (Tabla 5).

Tabla 4. Experimento 2. Fase “a”. Longitud total (LT) y altura del músculo (AM) en larvas de *S. rivoliana* (promedio ± DE)

Días	LT (mm)	n (larvas)	AM (mm)
3	3.56±0.1[a]	10	0.25±0.0[a]
6	3.56±0.2[a]	10	0.29±0.1[a]
9	3.84±0.2[a]	10	0.26±0.0 [a]
12	4.93±0.3[b]	30	0.60±0.1 [b]

En cada línea, las letras diferentes denotan diferencias significativas para longitud total y altura del músculo ($p<0.05$).

Tabla 5. Experimento 2. Fase “b”. Longitud total (LT) y altura del músculo (AM) en larvas de *S. rivoliana* (promedio ± DE)

Días	*Artemia*			Nematodo		
	LT (mm)	n (larvas)	AM (mm)	LT (mm)	AM (mm)	n (larvas)
16	5.23±0.5[a]	10	0.59±0.1[a]	5.17±0.3[a]	0.60±0.0[a]	10
19	7.69±1.7[a]	30	1.15±0.4[a]	8.21±0.9[a]	1.16±0.2[a]	30

En cada línea, las letras diferentes denotan diferencias significativas para longitud total y altura del músculo ($p<0.05$).

Supervivencia

La supervivencia se determinó al día 19, una vez que el experimento concluyó, para lo cual se realizó un conteo de las larvas que quedaron en los dos tratamientos. Los resultados obtenidos indican una diferencia significativa en la supervivencia entre los tratamientos, siendo el de las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* significativamente mayor ($p<0.05$) con un promedio entre las cuatro réplicas de 8.0 ±

1.5 %, mientras que el promedio del tratamiento de las larvas alimentadas con nematodo fue de 1.9 ± 1.0 %.

Histología del tracto digestivo

Histológicamente, el tubo digestivo de los teleósteos es simple, conformado por cuatro capas (del lumen hacia afuera): mucosa, submucosa, muscular y serosa. Al inicio de la alimentación exógena se apreció un tubo carente de diferenciación morfológica; sin presencia de estómago, aunque puede observarse el lugar donde finalmente va a desarrollarse. El intestino anterior y el posterior aún no se han diferenciado, pero se observó un ligero estrechamiento donde se llegará a formar la válvula intestinal.

Al día 19 se observó una presencia de pliegues longitudinales, los cuales están revestidos por la capa mucosa y submucosa en donde se observaron células mucosas, aquellas encargadas de secretar mucus. El estómago ya estaba presente, así como las glándulas gástricas (Fig. 24).

Con relación al promedio de vacuolas lipídicas presentes en el hígado de las larvas de *S. rivoliana,* aquellas alimentadas con nauplios de *Artemia* tuvieron un promedio significativamente mayor (17.2 ± 7.4 %; $p<0.05$) al de larvas alimentadas con nematodos (9.7 ± 7.4 %; Fig. 25).

No se presentaron diferencias significativas en la altura de las vellosidades ($p>0.05$) en el intestino anterior entre las larvas de los dos tratamientos; por el contrario, sí se encontró una diferencia en la altura de los enterocitos ($p<0.05$). En el intestino posterior, se encontraron diferencias significativas tanto en vellosidades como en enterocitos ($p<0.05$; Fig. 26).

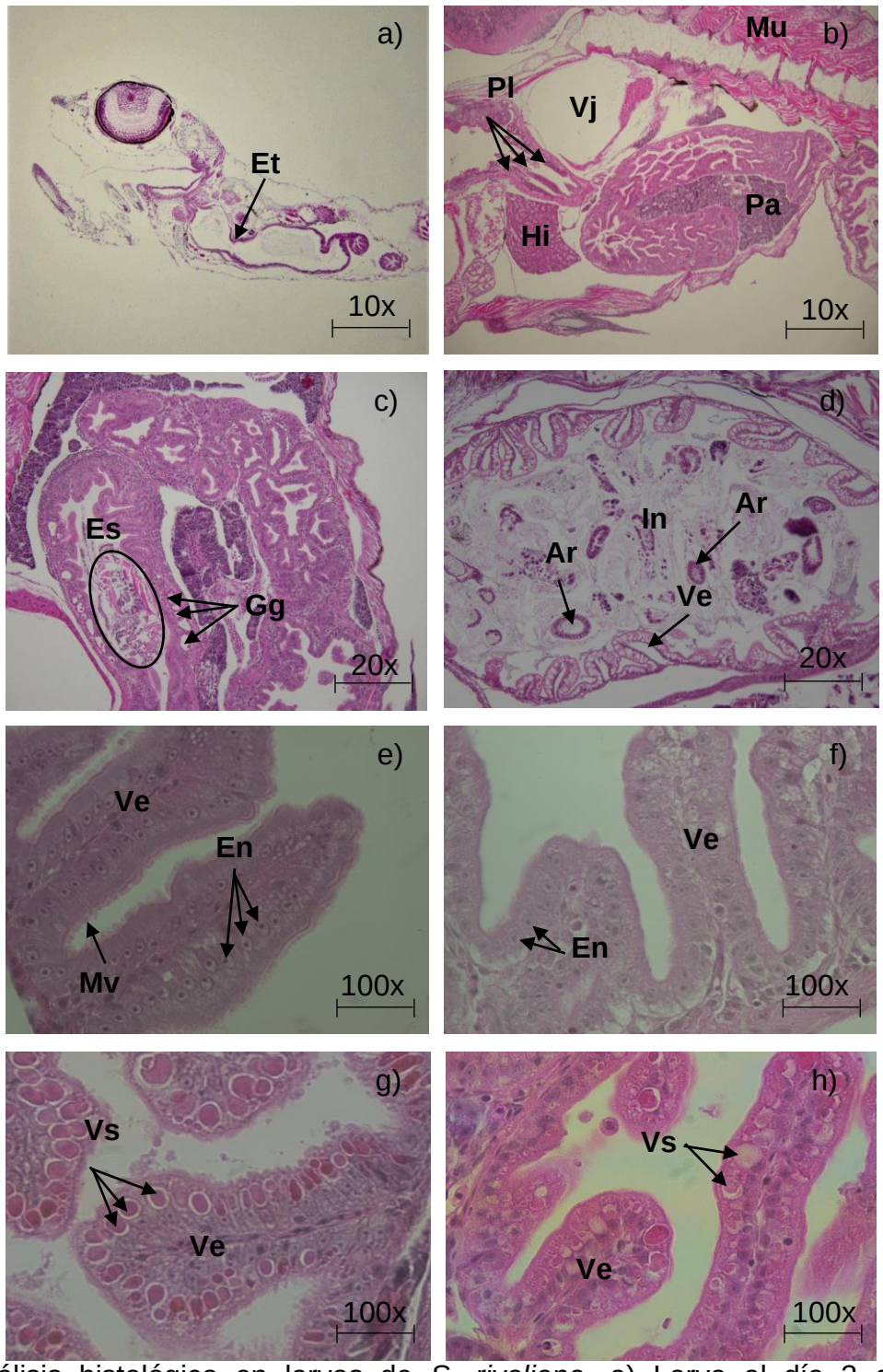

Figura 24. Análisis histológico en larvas de *S. rivoliana*. a) Larva al día 3 con estrechamiento de intestino; b) Pliegues longitudinales en el esófago a los 19 DDE; c) Estómago de larva alimentada con presencia de nematodos (óvalo) y glándulas gástricas; d) Intestino posterior de larva alimentada con nauplios de *Artemia*; e)

Vellosidades en el intestino anterior de larva alimentada con nematodo; f) Vellosidades en el intestino anterior de larva alimentada con nauplios de *Artemia*; g) Vellosidades en el intestino posterior de larva alimentada con nematodo; h) Vellosidades en el intestino posterior de larva alimentada con nauplios de *Artemia*. Nauplios de *Artemia*: Ar, enterocitos: En, estómago (Es), estrechamiento de intestino (Et), glándulas gástricas (Gg), hígado (Hi), intestino posterior (In), microvellosidades (Mv), músculo (Mu), pancreas (Pa), pliegues longitudinales (Pl), vellosidades (Ve), vejiga natatoria (Ve), vacuolas supranucleares (Vs).

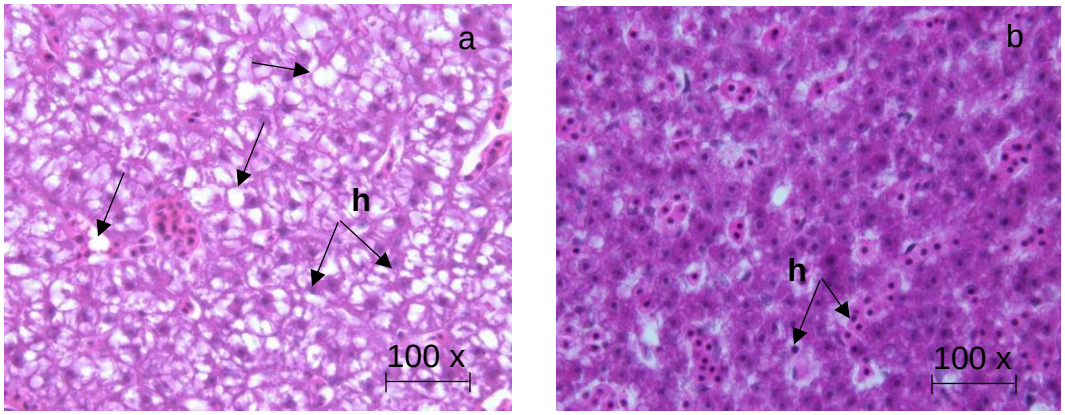

Figura 25. Hígado de *S. rivoliana.* a) Alimentadas con nauplios de *Artemia*; b) Alimentadas con nematodos sin presencia de vacuolas. Las flechas indican las vacuolas lipídicas; h: hepatocitos.

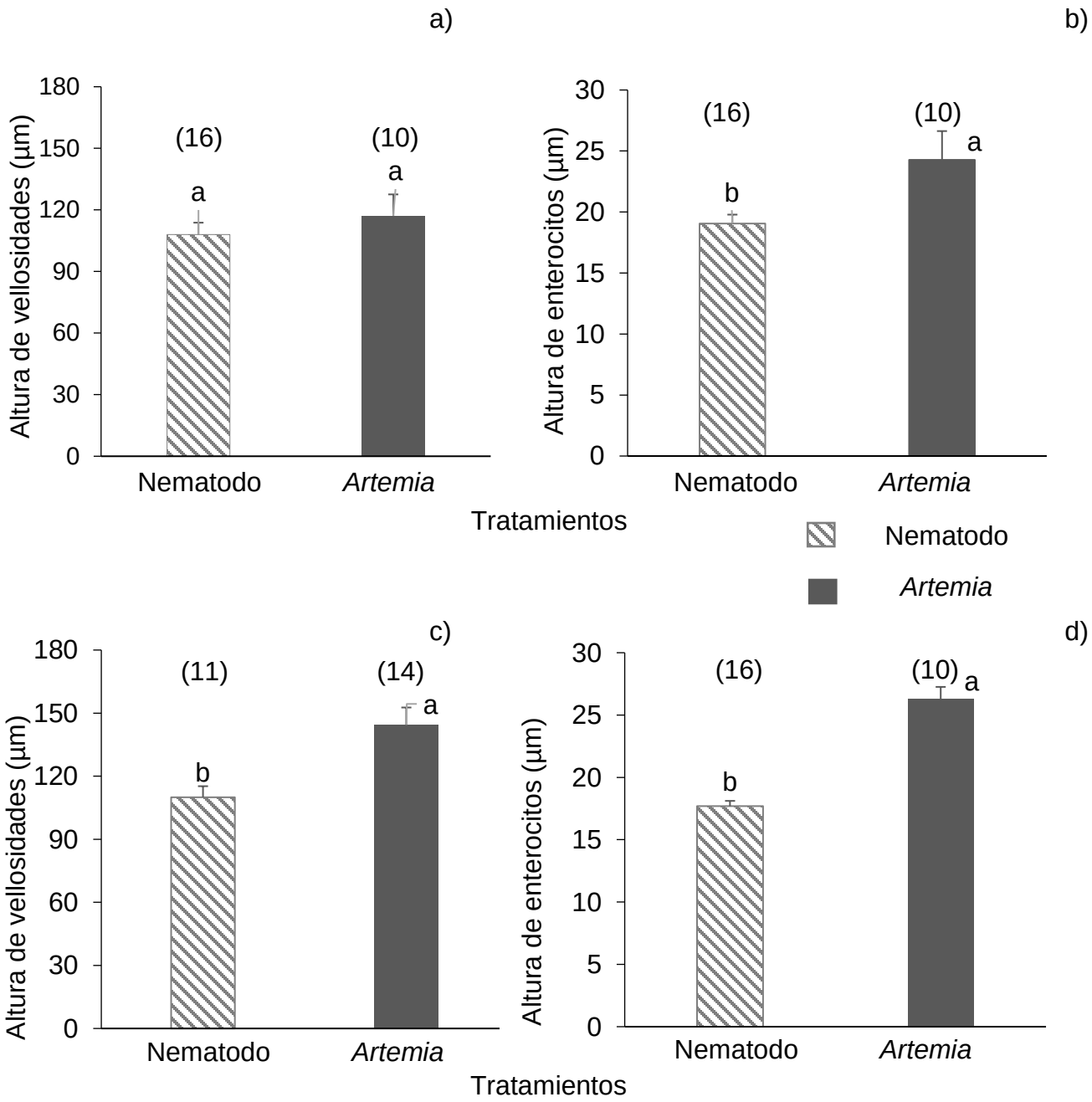

Figura 26. Altura de las vellosidades y enterocitos (promedio ± DE) del intestino en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con *Artemia* o nematodo a los 19 DDE; a) Altura de las vellosidades en el intestino anterior; b) Altura de los enterocitos en el intestino anterior; c) Altura de las vellosidades en el intestino posterior y d) Altura de los enterocitos en el intestino posterior. Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$). Los números entre paréntesis representan el tamaño de la muestra.

Concentración de ácidos grasos y lípidos totales en larvas de *S. rivoliana* y presas vivas

La composición de lípidos totales fue significativamente diferente para las tres presas, siendo el rotífero el que presentó un contenido significativamente mayor ($p<0.05$) a lo que se observó en nematodos y nauplios de *Artemia* (Fig. 27). También se presentó una diferencia significativamente menor ($p<0.05$) en nauplios de *Artemia* en comparación con el nematodo.

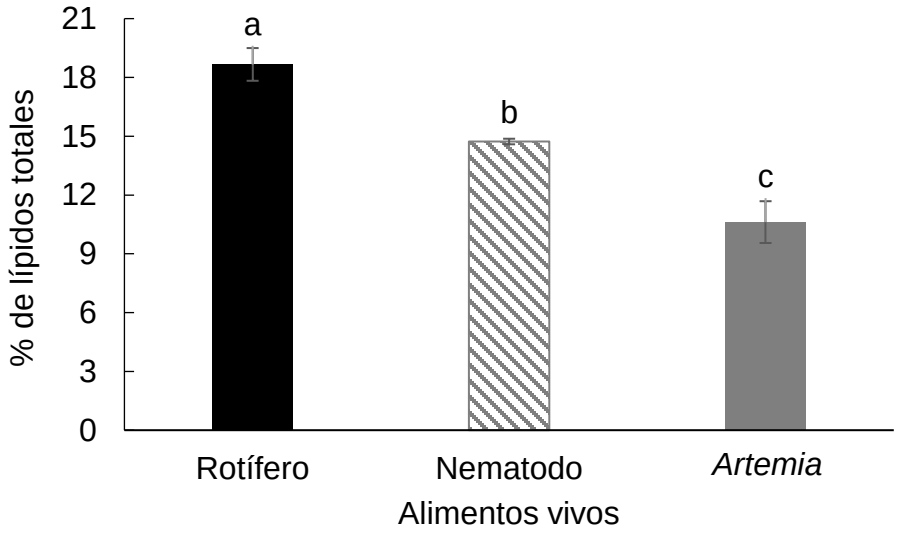

Figura 27. Contenido en lípidos totales (%; promedio ± DE) en peso seco de las presas suministradas a las larvas de *S. rivoliana* (rotíferos, nematodos y nauplios de *Artemia*). Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$) (n = 3 “pool” por presa)

En lo que respecta al contenido de ácidos grasos altamente insaturados (Fig. 28), tanto las concentraciones de DHA, EPA, ARA y total de HUFA fueron significativamente mayores ($p<0.05$) en rotíferos cultivados con RotiGrow® (20.1 ± 3.0 %, 7.4 ± 1.4 %, 3.9 ± 0.3 % y 40.3 ± 5.5 %, respectivamente) en comparación con los nauplios de *Artemia* y los nematodos. Las concentraciones de DHA, EPA y total de HUFA en nauplios de *Artemia* (13.5 ± 0.5 %, 4.0 ± 0.4 % y 25.7 ± 0.6 %, respectivamente) fueron significativamente mayores ($p<0.05$) respecto a las encontradas en los nematodos (1.3 ± 0.2 %, 1.7 ± 0.0 % y 7.7 ± 0.1 %, respectivamente); sin embargo, se observó una concentración de ARA

significativamente mayor ($p<0.05$) en los nematodos (3.1 ± 0.2 %) en comparación con los nauplios de *Artemia* (0.8 ± 0.0 %).

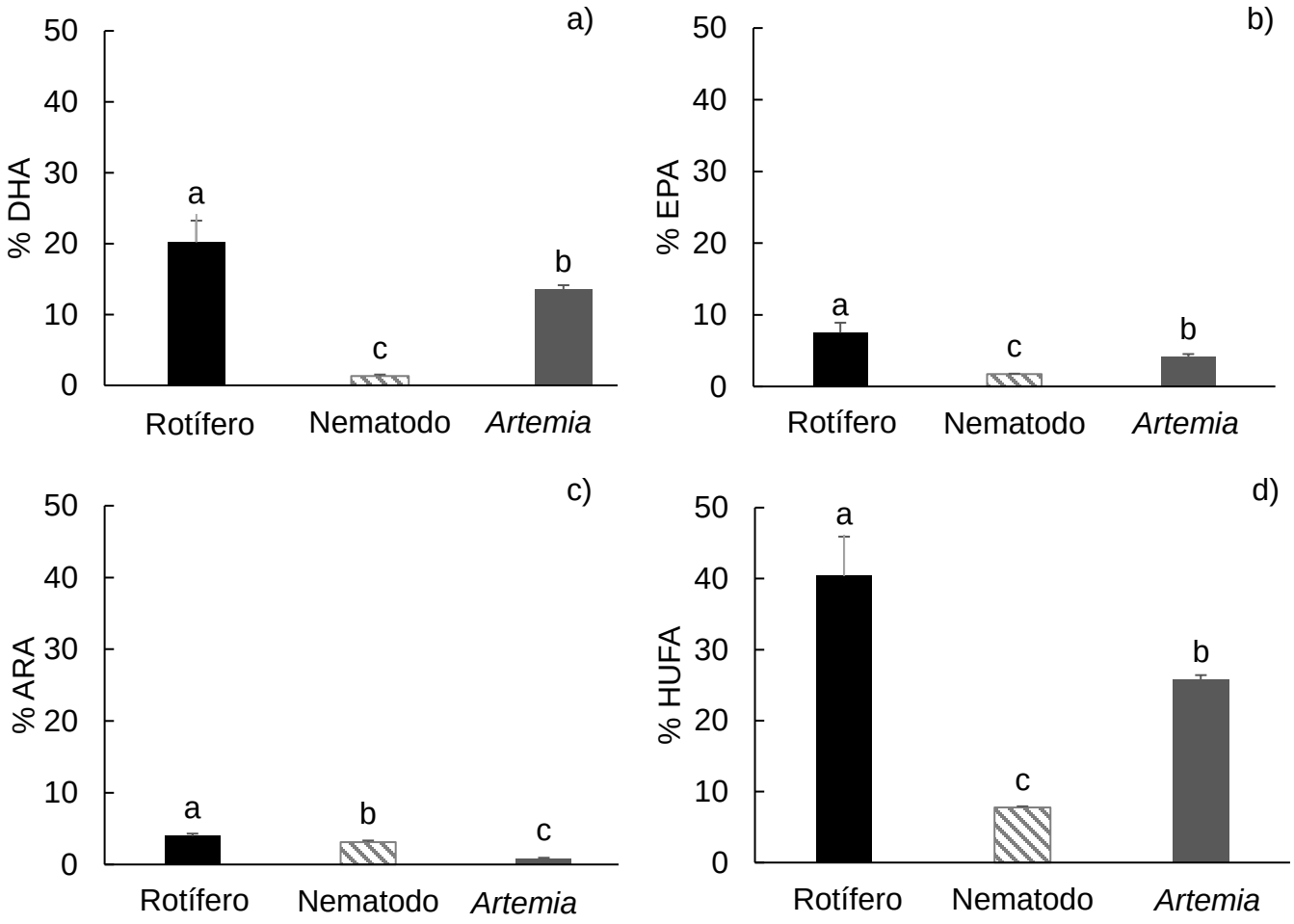

Figura 28. Contenido de ácidos grasos (%; promedio ± DE) altamente insaturados en las tres diferentes presas (rotífero, nematodo y nauplios de *Artemia*) suministradas a las larvas de *S. rivoliana*; a) % DHA, b) % EPA, c) % ARA y d) % HUFA. Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$) (n = 3 “pool” por presa)

El contenido de lípidos totales de las larvas de *S. rivoliana* recién eclosionadas fue de 15.4 ± 0.3 % y no se observaron diferencias significativas con las larvas muestreadas al día 12 ($p>0.05$), justo después de la transferencia a las unidades experimentales (Fig. 29). Respecto a las larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, se detectó una concentración de lípidos totales más alta (16.4 ± 2.7 %) que en las larvas suministradas con nematodos (12.2 ± 1.4 %), sin que hubiera diferencia estadística ($p>0.05$).

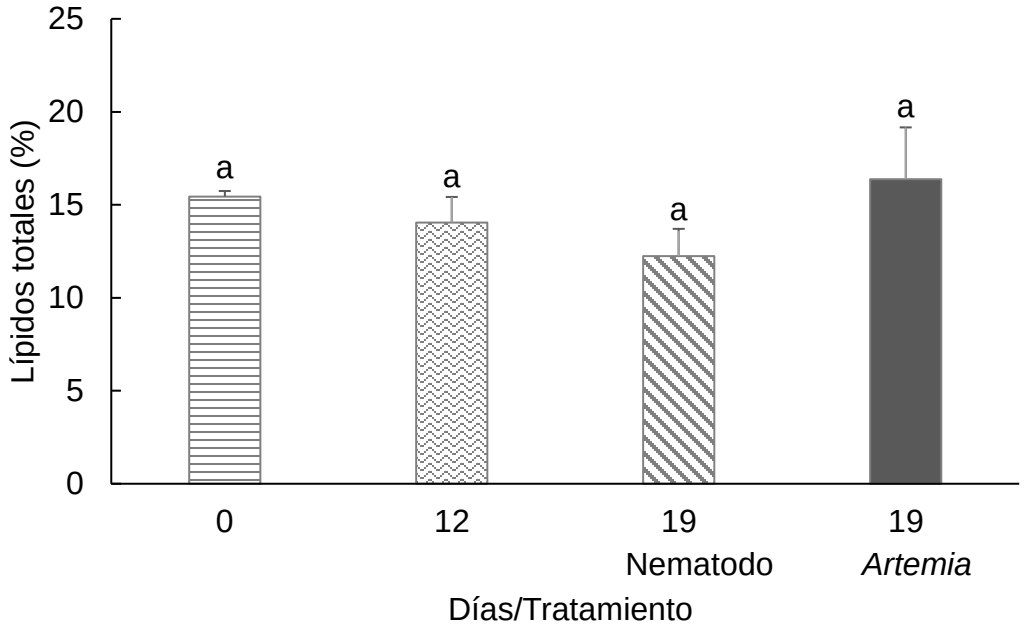

Figura 29. Contenido en lípidos totales (%; promedio ± DE) en peso seco de las larvas de *S. rivoliana* al día 0, 12 y 19 (alimentadas con Nematodo o nauplios de *Artemia*). Las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$) (n = 3 “pool” de larvas de entre 10 y 15 larvas cada uno).

En cuanto a la concentración de ácidos grasos altamente insaturados en larvas de *S. rivoliana* recién nacidas (día 0), el porcentaje de DHA, EPA y total de HUFA fue significativamente mayor ($p<0.05$) en comparación con las larvas al día 12 DDE (Tabla 6). El contenido de ARA fue significativamente mayor ($p<0.05$) en larvas con 12 DDE (2.7 ± 0.2 %) que en larvas recién nacidas (1.7 ± 0.0 %).

En cuanto al contenido de estos mismos ácidos grasos durante la Fase “b”, en lo que respecta al DHA y ARA, fueron significativamente más altos ($p<0.05$) en larvas alimentadas con nematodo (18.0 ± 2.3 % y 7.8 ± 0.9 %, respectivamente) que en larvas mantenidas con nauplios de *Artemia* (8.73 ± 0.5 % y 2.6 ± 0.1 %, respectivamente). Al contrario, para el EPA, se observó un porcentaje significativamente mayor ($p<0.05$) en larvas cultivadas con *Artemia* (6.2 ± 0.2 %) en comparación con aquellas alimentadas con nematodos (2.2 ± 0.2 %). Finalmente, en el contenido total de HUFA hubo diferencias significativas entre tratamientos ($p<0.05$); dicha concentración fue significativamente mayor en larvas alimentadas con nematodos (31.4 ± 2.8 %) respecto a aquellas cultivadas con nauplios de *Artemia* (22.1 ± 0.6 %).

Tabla 6. Contenido de ácidos grasos esenciales (%; promedio ± DE) en larvas de *S. rivoliana* durante las Fases “a” y “b”

	Fase “a”		**Fase “b”**	
			Tratamientos	
	0 DDE	12 DDE	19 DDE *Artemia*	19 DDE Nematodo
DHA	33.5±0.4^{a}	27.98±0.5^{b}	8.73±0.5^{b}	18.0±2.3^{a}
EPA	9.44±0.1^{a}	3.5±0.0^{b}	6.20±0.2^{a}	2.20±0.2^{b}
ARA	1.70±0.0^{b}	2.7±0.2^{a}	2.6±0.1^{b}	7.80±0.9^{a}
HUFA	51.3±0.4^{a}	41.4±0.2^{b}	22.1±0.6^{b}	31.4±2.8^{a}

En cada fase y en cada línea las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$) (n = 3 “pool” de larvas de entre 10 y 15 larvas cada uno).

VIII. DISCUSIÓN

La alta incidencia alimenticia observada en larvas desde los primeros días de alimentación exógena indica que las condiciones del cultivo fueron adecuadas, lo que permitió obtener un número alto de larvas para continuar con la Fase “b”.

El presente trabajo es el primer reporte donde se adicionaron copépodos durante los primeros días de cultivo de larvas de *S. rivoliana*. Se usaron 2 especies: *P. euryhalinus* y *P. crassirostris*. Existen muchos esfuerzos para producir estos organismos para el cultivo larvario de diferentes especies de peces marinos (Schipp, 2006; Zeng *et al*., 2018) ya que por un lado son la presa natural de muchas larvas de peces (Hunter, 1981) y presentan un contenido nutricional adecuado (ricos en lípidos, aminoácidos y ácidos grasos esenciales). Adicionalmente, poseen una talla apropiada para la boca de los peces durante la primera alimentación (50-160 µm) y patrones de movimiento que estimulan el comportamiento predatorio en las larvas (Toledo *et al*., 1999; Prieto *et al*., 2006). Los resultados del índice de Ivlev en ambos experimentos demostraron una preferencia de las larvas por los copépodos con respecto a los rotíferos. Esta preferencia por los copépodos se ha observado en larvas de *Epinephelus coioides* (Toledo et al., 1999), *Lutjanus peru* (Amador, 2019) y *Lutjanus argentimaculatus* (Doi *et al*., 1997). Sin embargo, a pesar de proporcionar una densidad de copépodos más alta en el Experimento 2, esta preferencia no fue tan clara. Una variable que difirió entre los dos experimentos fue el suministro de cada especie de copépodos, ya que en el segundo experimento la cantidad de *P. crassirostris* fue superior al de *P. euryhalinus*. La principal diferencia que existe entre estas dos especies es la talla; reportándose un menor tamaño en nauplios de *P. crassirostris (*80 µm-112 µm de largo) a diferencia de *P. euryhalinus (*90 µm-200 µm de largo) (Alajmi *et al*., 2015; Johnson, 1948; Taylor-Cota, 2017). El tamaño de la boca de las larvas de *S. rivoliana* en el segundo día de alimentación (4 DDE) fue de 263 ± 56 µm. Las dos especies de copépodos que se suministran en este estudio se consideran adecuadas ya que su tamaño no sobrepasa el 50 % del ancho de la boca de las larvas, como lo sugiere Hunter (1981). Sin embargo, siendo el nauplio de *P. euryhalinus*, dos veces más grande que *P. crassirostris*, la distancia reactiva (DR) de

la larva es menor, en consecuencia, mayor es la probabilidad de que la presa mas grande sea atacada como ocurrió en el Experimento 2 (Rao, 2003). Según Tucker (1992), otros factores diferentes del tamaño que pueden influir en la selección de la presa son su apariencia, su conducta de nado, la digestibilidad y el posible olor o sabor. Por otro lado, se ha descrito que la energía obtenida de un alimento vivo debe ser mayor a la energía gastada por las larvas al capturar la presa, por lo que, una presa más grande ciertamente presenta un mayor beneficio (Rao, 2003).

Este estudio representa el primer trabajo en el cual se evaluó el suministro del nematodo *Panagrolaimus* sp. como presa viva en el cultivo larvario de peces marinos. En ambos experimentos, el nematodo fue capturado por las larvas. De hecho, no hubo diferencias en el porcentaje de larvas que presentaban presas en su tracto digestivo entre el tratamiento *Artemia* y Nematodo. Se presentaron diferencias en la cantidad de presas por larvas entre ambos tratamientos pero no fueron significativas (a excepción del día 12, Experimento 1) a pesar de que presentaban características muy diferentes como son la pigmentación, tamaño, forma, movilidad y hundimiento de los nematodos, lo que podría comprometer su disponibilidad en la columna de agua, entre otras. La capacidad que tienen las larvas para detectar una presa depende de las características físicas de las mismas (Peña, 2005). En el transcurso de los días, se observó un aumento tanto en el consumo como en la cantidad de larvas que ingirieron ambas presas. Hunter (1981) sugiere que al introducir una nueva presa existe un proceso de aprendizaje por parte de la larva, lo que se refleja en un aumento paulatino de la eficiencia alimenticia.

Las tallas alcanzadas por las larvas no fueron significativamente diferentes entre ambos tratamientos, aunque se presentó una tendencia hacia larvas más grandes en el tratamiento Nematodo en el Experimento 2. Otras especies de nematodos han sido probadas en el cultivo larvario de peces marinos (Schlechtriem *et al*., 2004). En larvas de *Ctenopharyngodon idella, Hypophthalmichtys nobilis* y *Aristichthys nobilis* alimentadas con nematodos (*P. redivivus*) obtuvieron longitudes totales mayores en comparación con las alimentadas con dietas secas, pero menores que los tratamientos que recibieron nauplios de *Artemia* o rotíferos (Kahan *et al*. 1980; Rottmann *et al*.1991; Santiago *et al*., 2003).

La supervivencia fue significativamente mayor en larvas alimentadas con nauplios de *Artemia* a diferencia de larvas alimentadas con nematodo (Experimento 2). Sautter y colaboradores (2007) obtuvieron una supervivencia ligeramente mayor en larvas de *Synodontis petricola* alimentadas con nauplios de *Artemia* (58 %) en comparación con aquellas cultivadas con el nematodo *P. redivivus* (50 %) a los 14 DDE. Resultados similares han sido reportados por Santiago *et al*. (2003) en larvas de *Clarias macrocephalus* alimentadas con *Artemia* y *P. revivivus*. Sin embargo, los resultados no pueden ser directamente comparados ya que en el presente estudio se presentaron fuertes mortalidades en ambos tratamientos en los días posteriores a la transferencia de la Fase “a” a Fase “b”. Cabe mencionar que la mortalidad mencionada fue gradual en el Experimento 2 puesto que se tomaron más precauciones para minimizar el estrés asociado a la transferencia y el proceso de coalimentación se pospuso unos cuantos días.

Por otro lado, si bien las larvas capturaron a *Panagrolaimus* sp., su capacidad para digerirlo y asimilarlo requiere mayor investigación. Diversos estudios han reportado la pobre digestibilidad de *P. redivivus* y *Panagrolaimus* sp. en larvas de peces debido a la resistente cutícula compuesta de proteínas y a la pobre capacidad enzimática de las larvas de peces en las primeras etapas de desarrollo (Hofsten *et al*., 1983; Schlechtriem *et al*., 2005; Arndt *et al*., 2015). Sin embargo, en los análisis histológicos, se apreciaron fragmentos de los nematodos en el estómago e intestino de las larvas, lo cual indica que los estaban parcialmente aprovechando. No obstante, a pesar de su ingesta, el hecho de que las larvas de *S. rivoliana* cultivadas con nematodos presentaran una altura de enterocitos y vellosidades menor que las alimentadas con nauplios de *Artemia* puede deberse a diversos factores. Algunos autores reportan una reducción de estas estructuras en larvas de *Paralichthys californicus* (Gisbert *et al*., 2004) y *Paralabrax maculatofasciatus* (Peña, 2005) a consecuencia de una pobre condición nutricional o subóptima causado por un retraso, privación del alimento o inanición (Lazo *et al*., 2010). Sin embargo, en este estudio no se les privó de alimento a las larvas de *S. rivoliana* pero el reconocimiento de los nematodos por parte de las larvas pudo haber sido más lenta, lo cual se vio reflejado en la eficiencia alimenticia. Por otro lado, el hígado es también un biomarcador de la

condición nutricional de larvas de peces. Un mayor número de vacuolas lipídicas en el hígado presentes en larvas de *S. rivoliana* alimentadas con nauplios de *Artemia* pudiera estar relacionado con la función de este órgano como lugar de almacén. En este sentido, se ha observado una alta cantidad de vacuolas lipídicas en larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, lo cual refleja una adecuada absorción de nutrientes y metabolismo de lípidos y no una patología (Segner *et al*., 1994; Gisbert *et al*., 2004). Por el contrario, Caballero (2002) reportó una disminución de vacuolas lipídicas en peces alimentados con dietas bajas en lípidos para impedir la acumulación de estos metabolitos en el hígado.

Las tres presas vivas usadas en este trabajo mostraron un contenido diferente en lípidos totales y ácidos grasos altamente insaturados, siendo los rotíferos que presentaron las más altas concentraciones. Numerosas investigaciones acerca de los requerimientos de peces marinos han demostrado la importancia de los HUFA, ya que están implicados en el desarrollo del sistema nervioso, cerebro y células visuales (Takeuchi *et al*., 1992; Watanabe, 1993; Furuita *et al*., 1996). Los requerimientos fluctúan cuantitativamente durante la ontogenia y varían según las especies (Hernández, 2016). Las presas utilizadas como alimento vivo para las larvas de peces marinos (rotíferos y artemias) por sí solas son deficientes en HUFA (Sargent, 1997). Es por eso que estas presas tienen que ser enriquecidas con emulsiones comerciales o cultivadas en un medio rico en ácidos grasos como es el caso del rotífero en este trabajo (RotiGrow®). En el caso de *Panagrolaimus* sp., el procedimiento de enriquecimiento se lleva a cabo en la planta de producción de la empresa E-NEMA. Seychelles *et al*. (2018) y Ayala (2019) que usaron la misma fuente de nematodos enriquecidos con la misma metodología que los usados en este estudio reportan porcentajes de DHA, ARA y EPA mayores a los que se encontró en nuestro trabajo. Es difícil explicar la baja concentración observada ya que el proceso de enriquecimiento está estandarizado por la empresa; sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de un problema durante el enriquecimiento.

Un experimento realizado por Furuita *et al*., (1996) en larvas de *Seriola* spp. alimentadas con nauplios de *Artemia* reporta que los requerimientos de HUFA estimados para obtener una vitalidad larval son de aproximadamente 3.9 % (2.5 %

EPA, 1.3 % DHA). Al relacionar estas concentraciones con las obtenidas en este trabajo en larvas alimentadas con nauplios de *Artemia*, se puede concluir que las artemias aportaron los requerimientos necesarios para las larvas de *S. rivoliana*. Por otro lado, a pesar de que los nematodos tuvieron bajas proporciones de DHA, al final del experimento las larvas presentaron un porcentaje de este ácido graso superior a lo que se observó en larvas alimentadas con *Artemia*.

En este sentido, el contenido en ácidos grasos de larvas de peces marinos está influenciado por la composición de las presas que consumen (Rainuzzo *et al*, 1994). Al día 19, las larvas del tratamiento Nematodo presentaron un porcentaje de DHA superior a aquellas larvas alimentadas con *Artemia*. Los resultados de la intensidad alimenticia demostraron que las larvas del tratamiento Nematodo consumían todavía una gran cantidad de rotíferos respecto a las larvas alimentadas con artemias. La desventaja del método de enriquecimiento de la *Artemia* con S.presso® es que contrario al rotífero cultivado en Rotigrow®, las cantidades de HUFA disminuyen con el tiempo (Fernández-Reiriz *et al*., 1993). De hecho, como se mencionó anteriormente, la *Artemia*, a pesar del recambio permanecía en las unidades experimentales lo que probablemente afectó su contenido en HUFA disminuyendo su disponibilidad para las larvas. Si bien la proporción de DHA estaba más baja en nematodos que en *Artemia*, no fue así para el ARA ya que *Panogrolaimus* sp. lo presenta de manera natural (Honnens *et al*., 2014) lo que se vio reflejado en la composición de este ácido graso en las larvas alimentadas con nematodos.

IX. CONCLUSIONES

- En los primeros días de la alimentación exógena el nauplio de copépodo *P. euryhalinus* es consumido de manera preferencial respecto al rotífero *B. plicatilis* (Experimento 1). Esta preferencia no fue tan clara cuando se ofreció en conjunto con el nauplio del copépodo *P. crassirostris* (Experimento 2).

- El nematodo *Panagrolaimus* sp. fue capturado y parcialmente digerido por las larvas de *S. rivoliana* ante la evidencia de haber observado fragmentos de nematodos en el tubo digestivo.

- No se puede concluir con certeza sobre la eficiencia del uso de *Panagrolaimus* sp. por las siguientes razones:

    - Las diferencias encontradas a nivel histológico en el tubo digestivo no muestran evidencias claras de desnutrición de las larvas alimentadas con *Panagrolaimus* sp. sino un cierto retraso en su desarrollo que puede deberse a la menor disponibilidad de la presa en la columna de agua propiciada por el hundimiento la poca cantidad ingerida y las dudas sobre su digestibilidad, aunado a la corta duración de los experimentos.

    - La presencia del rotífero y su consumo durante el experimento, debido al escaso recambio de agua no permitió discernir con claridad el aprovechamiento del nematodo.

    - El porcentaje de HUFA del nematodo usado en este experimento fue menor a lo producido y reportado por E-NEMA anteriormente.

X. RECOMENDACIONES

- Es preferible no desarrollar el experimento en dos fases (Fase “a” y “b”) ya que la transferencia de las larvas en las unidades experimentales al día 9 y 11 provocó una alta mortalidad. Se recomienda sembrar los organismos directamente en los tanques para no ocasionar una condición estresante a las larvas de *S. rivoliana*.

- Utilizar una malla más grande (600 µm) durante los recambios de agua, asegurando que este tamaño de malla no permita el paso de larvas pequeñas, lo cual permitiría eliminar los nauplios de *Artemia* acumulados en los tanques y los rotíferos.

- Obtener el perfil de ácidos grasos de los nematodos realizados por la empresa y repetir ese análisis a su llegada. Esto permitirá asegurarnos de que el enriquecimiento con *C. cohnii* no se vio afectado por el proceso de la deshidratación y traslado.

- En el Experimento 1, se ofreció *Panagrolaimus* sp. al día 9, siendo consumido hasta el día 11. Esto nos permite recomendar el inicio del suministro de este nematodo no antes de ese día. No obstante, se recomienda también alargar los tiempos de coalimentación.

- Se recomienda realizar un lavado de los nematodos antes de suministrarlos a las larvas para evitar la introducción del medio de cultivo en los tanques experimentales.

  Finalmente, es necesario mejorar la disponibilidad de *Panagrolaimus* sp. en la columna de agua, así como el método y frecuencia de su suministro. Se recomienda el uso de un atomizador para sustituir la pipeta de transferencia utilizada durante los bioensayos. El atomizador podría permitir una mejor distribución de los nematodos en los tanques, asegurando probablemente que éstos sean mayormente capturados.

LITERATURA CITADA

Alajmi, F. Zeng, C. Jerry, D. R. 2015. Domestication as a novel approach for improving the cultivation of calanoid copepods: a case study with *Parvocalanus crassirostris*. 10(7).

Amador, M. U. 2019. Efecto de diferentes secuencias alimentarias en la supervivencia y crecimiento de las larvas del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*). Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. 72.

Arndt, C. Sommer, U. Ueberschär, B. 2015. A comparative in-vitro-test on the digestibility of live prey for fish larvae under specific consideration of trypsin. *Aquaculture*. 446. 12-16.

Ashton, N. and Rust, M. B. 2003. Effect of light intensity on feeding incidence and survival of preflexion larval black rockfish (*Sebastes melanops*). 27th Larval Fish Conference, August 20-23, Santa Cruz, California (libro de resúmenes).

Avilés, A. 2000. Cultivo de Peces Marinos. Cap. XV. 263-278. En: Álvarez-Torres, M. Ramírez-Flores, L.M. Torres-Rodríguez y A. Díaz de León-Corral (Ed.). *Estado de Salud de la Acuacultura.* Instituto Nacional de Pesca, México, D.F.

Ayala, A. J. 2019. Suministro del nematodo *Panagrolaimus* sp. en el cultivo larvario del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California Sur (UABS). 86.

Bengtson, D. A. Leger, P. Sorgeloos, P. 1991. Use of *Artemia* as a food source for aquaculture. En: Browne, R. A. Sorgeloos, P. Trotman. (Ed.). *Artemia Biology*. 255-85.

Benijts, F. Vanvoorden, E. Sorgeloos, P. 1976. Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, *Artemia* salina L. En: Proceedings of the 10th European Symposium on Marine Biology. Research in Mariculture at Laboratory and Pilot Scale. 1-9.

Brüggemann, J. 2012. Nematodes as live food in larviculture a review. Institute for Marine Resources. Bremerhaven, Germany. *J. World Aquac. Soc.* 43(6): 739-63.

Buchet, V. Zambonino Infante, J. L. Cahu, C. L. 2000. Effect of lipid level in a compound diet on the development of red drum (*Sciaenops ocellatus*) larvae. Francia. *Aquaculture.*184(3-4): 339-47.

Burgoin, C. M. 2015. Estudio de la incorporación de la levadura viva *Debaryomyces hansenii* a través del rotífero *Brachionus rotundiformis* durante los primeros días de desarrollo del jurel *Seriola rivoliana*. Tesis de maestría. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). La Paz, Baja California Sur, México. 87.

Caballero, C. M. J. 2002. Absorción, transporte y utilización de los lípidos dietéticos en el intestino e hígado de dorada (*Sparus auratus*) y lubina (*Dicentrarchus labrax*). Tesis de doctorado. España. 270.

Cano, I. López-Jimena, B. García-Rosado, E. Ortiz-Delgado, J. B. Alonso, M. C. Borrego, J. J. Sarasquete, C. Castro, D. 2009. Detection and persistence of *Lymphocystis disease* virus (LCDV) in *Artemia* sp. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía, Cádiz, España. Universidad de Málaga, España. *Aquaculture.* 291(3-4): 230-36.

Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). 2013. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca.

De Lara, R. Castro, T. Castro, G. Castro, J. Malpica, A. 2003. La importancia de los nematodos de vida libre. *ContactoS*. 48. 43-46.

Dendrinos, P. and Thorpe, J. P. 1987. Experiments on the artificial regulation of the amino acid and fatty acid contents of food organisms to meet the assessed nutritional requirements of larval, post-larval and juvenile *Dover sole* (*Solea solea L*.). University of Liverpool. Gran Bretaña. *Aquaculture.* 61(2): 121-54.

Doi, M. Ohno, A. Taki, Y. Singhagraiwan, T. Kohno, H. 1997. Nauplii of the calanoid copepod, *Acartia sinjiensis* as an initial food organism for larval red snapper, *Lutjanus argentimaculatus*. *Aquac. Science*. 45(1): 31-40.

Eschmeyer, W. N. Herald, E. S. Hamman, H. 1983. A field guide to Pacific coast fishes of North America from the Gulf of Alaska to Baja California. Peterson Field Guide Ser. 28.

Evjemo, J. O. Danielsen, T. L. Olsen, Y. 2001. Losses of lipid, protein and n− 3 fatty acids in enriched *Artemia franciscana* starved at different temperatures. *Aquaculture.* 193(1-2): 65-80.

Fernández-Reiriz, U. Labarta, U. Ferreiro, M. J. 1993. Effects of commercial enrichment diets on the nutritional value of the rotifer (*Brachionus plicatilis*). Instituto de Investigaciones Marinas. Vigo, España. *Aquaculture*. 112 (2-3): 195-06.

Fischer, W. Bianchi, G. Scott, W. B. 1981. FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Central Atlantic: Fishing Areas. Canada Fundsin-Trust, Ottawa, Canada. 1.

Fishbase.org. 2017. https://www.fishbase.in/summary/seriola-rivoliana

Flores-Santana, R. 2008. Variación en el contenido de ácidos grasos del copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939) alimentado con las microalgas *Chaetoceros calcitrans* e *Isochrysis galbana*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Tesis de Maestría. La Paz, BCS, México. 52.

Folch, J. Lees, N. Sloane-Stanley, G. H. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem*. 226. 487-09.

Fontaine, C. T. Revera, D. B. Morales, H. M. Mock, C. R. 1982. Observations on the mass propagation of the common soil nematode *Panagrellus redivivus* for use as foodstuff in penaeid shrimp hatcheries. NOAA Technical Report, National Marine Fisheries Service, Galveston Laboratory, Galveston, Texas, USA.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2017. http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/AB473S04.htm.

Food y Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 1998. The State of World Fisheries and Aquaculture.

Fujita, S. 1979. Culture of red sea bream, *Pagrus major*, and its food. Cultivation of fish fry and its live food. Spec. Publ*. Europ. Maricult. Soc*. 4. 183-97.

Furuita, H. Takeuchi, T. Watanabe, T. Fujimoto, H. Sekiya, S. Imaizumi, K. 1996. Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Science*. 62(3): 372-79.

García-Ortega, A. 2009. Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoeroides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiol and Biochem*. 35(1): 69-80.

García-Ortega, A. Abdo, I. Duncan, N. Rodríguez, E. Velasco, G. González, B. Puello, A. Martínez, I. 2005. Larval rearing of rose spotted snapper *Lutjanus guttatus* under experimental conditions. En: Hendry, C. Van Stappen, G. Wille, M. Sorgeloos. (Ed.). Larvi'05. Fish and shellfish larvicultura symposium, Ghent, European Oostende, Belgium. Special publication. *Aquaculture Society*. 36. 591.

García-Ortega, A. Verreth, J. A. J. Coutteau, P. Segner, H. Huisman, A. P. Sorgeloos, P. 1998. Biochemical and enzymatic characterization of decapsulated cysts and nauplii of the brine shrimp *Artemia* at different developmental stages. *Aquaculture*. 161(1-4): 501-14.

Gisbert, E. Piedrahita, R. H. Conklin, D. E. 2004. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture*. 232. 455-70.

Grossi, D. E. 2010. Primeras experiencias de cultivo larvario del medregal negro (*Seriola rivoliana*, Valenciennes, 1833) en Canarias. Tesis de maestría. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. 151.

Guevara, M. y Lodeiros, C. 2003. Composición bioquímica de nauplios y metanauplios de *Artemia* sp. (Crustacea, Anostraca) proveniente de la salina artificial de Araya, nororiente de Venezuela. *Ciencias marinas*. 29(4b): 655-63.

Haché, R. and Plante, S. 2011. The relationship between enrichment, fatty acid profiles and bacterial load in cultured rotifers (*Brachionus plicatilis* L-strain) and *Artemia* (*Artemia salina* strain franciscana). Shippagan, Canadá. *Aquacuture*. 311(1-4): 201-08.

Hernández Molejón, O. G. Álvarez-Lajonchère, L., 2003. Culture experiments with *Oithona aculeate* Far ran, 1913 (Copepod: Cyclopedia), and its advantages as food for marine fish larvae. *Aquaculture*. 219. 471-83.

Hernández, A. I. 2016. Efecto de la dieta en la composición de ácidos grasos del alimento vivo utilizado en la crianza larvaria de peces marinos. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICMAR). Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur. 67.

Hickman, P. C. Roberts, L. S. Person, A. 2009. Principios Integrales de Zoología. McGraw-Hill Interamericana. España. 936.

Hofsten, A. V. Kahan, D. Katznelson, R. Bar-El, T. 1983. Digestion of free-living nematodes fed to fish. *J Fish Biol*. 23(4): 419-28.

Honnens, H. Assheuer, T. Ehlers, R. U. 2013. Desiccation y storage of *Panagrolaimus* sp. (strain NFS-24-5). Institute for Phytopathology. Schwentinental, Germany. *Nematology.* 15(5): 557-66.

Honnens, H. Assheuer, T. Ehlers, R. U. 2014. Enrichment of the nematode *Panagrolaimus* sp. a potential live food for marine aquaculture, with essential n-3 fatty acids. University Kiel, Germany; E-nema Schwentinental, Germany. *Aquaculture*. 22(2): 399-09.

Hunter, J. R. 1981. Feeding ecology and predation of marine fish larvae. En: Lasker, R. (Ed.). Marine Fish Larvae. Morphology, ecology and relation to fisheries. University of Washington Press, Seattle. 34-77.

IGFA. 2001. Database IGFA Angling Records Until 2001. IGFA, Fort Lauderdale, USA.

Johnson, M. W. 1948. The postembryonic development of the copepod *Pseudodiaptomus euryhalinus. Transactions of the American Microscopical Society*. 67(4): 319-330.

Kahan, D. Bar-El, T. Brandstein, Y. Rigbi, M. Oland, B. 1980. Free-living nematodes as a dietary supplement in the rearing of fish fry in hatcheries. General Fisheries Council for the Mediterranean. Studies and Reviews 57. 67-78.

Kraul, S. Nelson, A. Brittain, K. Ako, H. Ogasawara, A. 1992. Evaluation of live feeds for larval and postlarval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *J World Aquac Soc.* 23: 299-07.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. 2000. The history, present status and prospects of the availability of *Artemia* cysts for aquaculture. Gent, Bélgica. *Aquaculture*.181(3-4): 397-03.

Lavens, P. y Sorgeloos, P. 1987. The cryptobiotic state of *Artemia* cysts, its diapause deactivation and hatching: a review. En: Sorgeloos, P. Bengtson, D. A. Declair, W. Jaspers, E. (Ed). Universa Press, Wetteren, Belgium. *Artemia* Research in its Applications. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. 27-63.

Lazo, J. P. 2000. Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos. En: Cruz -Suárez, L.E. Ricque-Marie, D. Tapia-Salazar, M. Olvera-Novoa, M.A. Civera-Cerecedo, R., (Ed.). Avances en nutrición acuícola. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Yucatán, México. 300-12.

Lazo, J. P. Darias, M. J. Gisbert, E. 2010. New approaches to assess the nutritional condition of marine fish larvae. In Avances en nutrición acuıcola X-memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola. 8-10.

Léger, P. Bengtson, D. A. Simpsosn, K. L. Sorgeloos, P. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Ann. Rev*. 24. 521-23.

Léger, P. Bengtson. D. A. Sorgeloos, P. Simpson, K. L. Beck, A. D. 1987. The nutritional value of *Artemia*, a review. En: *Artemia* Research and its Applications. (Ed.). Sorgeloos, P. Bengtson, D. A. Decleir, W. Jaspers, W. Wetteren, Belgium. *Ecology*. 3. 357-72.

Léger, P. and Sorgeloos, P. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. In: Marine Shrimp Culture, Principles and practices. (Ed.) Fast A.W. y Lester L. J. Elsevier Publishers. USA. 225-44.

Litvinenko, L. I. Litvinenko, A. I. Boiko, E. G. Kutsanov, K. 2015. *Artemia* cyst production in Russia. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 33(6): 1436-450.

Lubzens, E. Tandler, A. Minkoff, G. 1989. Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiological.* 186(1): 387-00.

Luna-Figueroa, J. Vargas, Z. D. J. Figueroa, T. J. 2010. Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). Universidad Autónoma del estado de Morelos, México. *Avances en investigación agropecuaria.*14(3): 63-72.

McEvoy, L. A. Naess, T. Bell, J. G. Lie, Ø. 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched Artemia: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*. 163(3-4): 237-50.

McGill, L. M. 2011. A molecular and phylogenetic analysis of cryobiosis in nematodes of the genus *Panagrolaimus*, in Departement of Biology. National University of Ireland: Maynoofth, Co. Kildare.

Minkoff, G. 1987. The effect of secondarily enriched rotifers on growth and survival of marine fish larvae. Tesis de Doctorado. Universidad de Stirling, Reino Unido. 166.

Nakada M. 2002. Yellowtail culture development and solutions for the future. *Reviews in Fisheries Science*. 10. 559-75.

Nash, C. E. 1995. Aquaculture sector planning and management. Oxford, Blackwell, Fishing News Books. 310.

Navarro, J. C. McEvoy, L. A. Henderson, R. J. Amat, F. 1999. Lipid conversions during *Artemia* enrichment. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal (CSIC), Castellón, España; Universidad de Stirling, Escocia, Reino Unido. *Aquaculture*. 174(1-2): 155-66.

Palacios, E. Bonilla, A. Pérez, A. Racotta, I. S. Civera, R. 2004. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity. J Exp Mar Biol Ecol. 299. 201-215.

Peña, R. 2005. Estudio de la función digestiva en la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*: Aspectos alimenticios y sus aplicaciones. Tesis de doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur, México. 141.

Prieto, G. M. and Atencio, G. V. 2008. Zooplankton in larviculture of neotropical fishes. *MVZ Córdoba*. 13(2): 1415.

Prieto, M. Castaño, F. Sierra, J. Logato, P. Botero, J. 2006. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: copépodos y mesocosmos. *MVZ Córdoba*. 11(1): 30-36.

Puello, A. González Rodríguez, B. y García-Ortega, A. 2008. Investigación en producción y uso de copépodos en larvicultura. Avances en Nutrición Acuícola IX. IX Simposio International de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 90-107.

Rainuzzo, J.R. Reitan, K. I. Jorgense, L. Olsen, Y. 1994. Lipid composition in turbot larvae fed live feed cultured by emulsions of different lipid classes. *Comp. Biochem. Physiol*. 107. 699-10.

Rao, T. R. 2003. Ecological and ethological perspectives in larval fish feeding. J Appl Aquac. 13(1-2): 145-78.

Reyes, O. Duray, M. N. Santiago, C. B. Ricci, M. 2011. Growth and survival of grouper *Epinephelus coioides* (Hamilton) larvae fed free-living nematode *Panagrellus redivivus* at first feeding. *Aquaculture International*. 19. 155-64.

Ricci, M. Fifi, A. P. Ragni, A. Schlechtriem, C. Focken, U. 2003. Development of a low-cost technology for mass production of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* as an alternative live food for first feeding fish larvae. *Appl Microbiol Biotechnol*. 60(5): 556-59.

Rodríguez, A. A. 2009. Avances y perspectivas en microdietas para larvas de peces. Universidad Católica de Temuco, Chile. *Aquatic*. 30. 1-18.

Roo, J. Fernández-Palacios, H. Hernández-Cruz, C. M. Mesa-Rodríguez, A. Schuchardt, D. Izquierdo, M. 2014. First results of spawning and larval rearing of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* as a fast-growing candidate for European marine finfish aquaculture diversification. *Aquac Res*. 45(4): 689-00.

Rottmann, R. W. Shireman, J. V. Lincoln, E. P. 1991. Comparison of three live foods and two dry diets for intensive culture of grass carp and bighead carp larvae. *Aquaculture*. 96. 269-80.

Rouse, D. B. Webster, C. D. Radwin, I. A. 1992. Enhancement of the fatty acid composition of the nematode *Panagrellus redivivus* using three different medial. *J World Aquac Soc.* 23(1): 89-95.

Santiago, C. B. Gonzal, A. C. Ricci, M. Harpaz, S. 2003. Response of bighead carp *Aristichthys nobilis* and Asian catfish *Clarias macrocephalus* larvae to free-living nematode *Panagrellus redivivus* as alternative feed. *J of Appl Ichthyol*. 19(4): 239-43.

Sargent, J. R. McEvoy, L. A. Bell, J. G. 1997. Requirements, presentation y sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. Universidad de Stirling, Escocia, Reino Unido. *Aquaculture.* 155(1-4): 117-27.

Sautter, J. Kaiser, H. Focken, U. Becker, K. 2007. *Panagrellus redivivus* (Linné) as a live food organism in the early rearing of the catfish *Synodontis petricola* (Matthes). *Aquaculture*. 38(6): 653-59.

Schipp, G. 2006. The use of Calanoid copepods in semiintensive, tropical marine fish larviculture. En: Cruz Suárez, L. E., Marie, D.R., Salazar, M. T., Nieto López, M. G., Villarreal, D. A., Ortega, A. G. Avances en Nutrición Acuicola VIII. VIII Simposium

Internacional de Nutrición Acuícola. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. 84–94.

Schlechtriem, C. Ricci, M. Focken, U. Becker, K. 2004. The suitability of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* as live food for first-feeding fish larvae. *J Appl Ichthyol.* 20(3): 161-68.

Schlechtriem, C. Focken, U. Becker, K. 2005. Digestion and assimilation of the free-living nematode *Panagrellus redivivus* fed to first feeding Coregonid Larvae: Evidence from histological and isotopic studies. *J World Aquac Soc*. 36(1): 24-31.

Segner, H. Storch, V. Reinecke, M. 1994. The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. Marine Biology. 119(3): 471-86.

Seychelles, L. H. Audet, C. Tremblay, R. Lemarchy, K. Pernet, F. 2011. Bacterial colonization of winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* fed live feed enriched with three different commercial diets. *Aquac Nutr*.17(2): 196-06.

Seychelles, L. Happe, S. Palacios, E. Ludwig, M. Hollmer, S. Ehlers, R.-U. Schulz, C. Mercier, L. 2018. Successful rearing of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae fed a desiccation-tolerant nematode to replace *Artemia*. *Aquac Nutr.* 24(2): 903-10.

Smith-Vaniz, W. F. 1999. Carangidae. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific.

Sorgeloos, P. 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. En Persoone, G. Sorgeloos, P. Roles, O. Jaspers, E. (Ed.). The brine shrimp *Artemia*. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren. Belgium. 3. 25-46.

Sorgeloos, P. Coutteau, P. Dhert, P. Merchie, G. Lavens, P. 1998. Use of brine shrimp, *Artemia* spp. in larval crustacean nutrition: a review. *Reviews in fisheries science*. 6(1-2): 55-68.

Sorgeloos, P. Dhert, P. Candreva, P. 2001. Use of the brine shrimp *Artemia* spp. in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 200(1-2): 147-59.

Sorgeloos, P. Lavens, P. Leger, P. Tackaert, W. 1993. The use of *Artemia* in marine fish larviculture. In Finfish Hatchery in Asia. Proc. Finfish Hatchery in Asia'91. TML Conference Proc. Taiwan. 73-86.

Støttrup J. 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquac Res.* 31(8-9): 703-11.

Støttrup, J. G. and McEvoy, L. A. 2003. Production and nutritional value of copepods: Live feeds in marine aquaculture. John Wiley and Sons.

Takeuchi, T. Shiina, Y. Watanabe, T. Sekiya, S. Imaizumi, K. 1992. Suitable protein and lipid levels in diet for fingerlings of Yellowtail. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 58(7): 1333-339.

Taylor-Cota, R. 2017. Efecto del tipo de presa sobre el crecimiento y supervivencia larvaria del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru* (Nichols & Murphy, 1922). Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN). La Paz, Baja California Sur, México. 56.

Teles, A. 2019. Impacto de la administración de levaduras vivas sobre el crecimiento, diferenciación celular y desarrollo del esqueleto en larvas de *Seriola rivoliana.* Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). La Paz, Baja California Sur, México. 118.

Toi, H. T. 2014. The contribution of bacteria to the *Artemia* diet. Tesis doctoral. Ghent University. Belgium. 168.

Toledo, J. D. Golez, M. S. Doi, M. Ohno, A. 1999. Use of copepod nauplii during early feeding stage of grouper *Epinephelus coioides. Fish Sci.* 65(3): 390-97.

Vanhaecke, P. Lavens, P. Sorgeloos, P. 1983. International Study on *Artemia*. XVII. Energy consumption in cysts and early larval stages of various geographical strains of *Artemia*. Belgica. *Annls. Soc. r. zool.* 113(2): 155-64.

Verpraet, R. Chair, M. Leger, P. Nelis, H. Sorgeloos, P. De Leenheer, A. 1992. Live food mediated drug delivery as a tool for disease treatment in larviculture. The

enrichment of therapeutics in rotifers and *Artemia* nauplii. Bélgica. *Aquac Eng*. 11(2): 133-39.

Watanabe, T. 1993. Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aquac Soc*. 24(2): 152-61.

Watanabe, T. C. Kitajima, S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Japón. *Aquaculture.* 34(1-2): 115-43.

Zeng, C., Shao, L., Ricketts, A., Moorhead, J. 2018. The importance of copepods as live feed for larval rearing of the green mandarin fish *Synchiropus splendidus*. *Aquaculture.* 491. 65-71.

XI. ANEXOS

Tabla 7. Composición de ácidos grasos (%; promedio ± DE) de las presas utilizadas: rotíferos, nematodos y nauplios de *Artemia*

Ácido graso	Composición de ácidos grasos de alimentos		
	Rotífero	Nematodo	Nauplio *Artemia*
14:0	1.46±0.1^{a}	0.42±0.0^{b}	0.63±0.2^{b}
15:0	0.31±0.0^{a}	0.01±0.0^{c}	0.09±0.0^{b}
16:0	17.86±0.9^{a}	3.04±0.0^{c}	8.89±1.0^{b}
17:0	0.13±0.0^{c}	0.19±0.0^{b}	0.37±0.0^{a}
18:0	3.91±0.6^{a}	4.04±0.5^{a}	4.42±0.3^{a}
20:0	0.12±0.0^{b}	0.95±0.0^{a}	0.07±0.0^{b}
22:0	0.16±0.0^{b}	0.57±0.0^{a}	0.14±0.0^{b}
24:0	0.38±0.1^{a}	0.17±0.0^{a}	0.13±0.1^{a}
15:1n-8	0.37±0.0^{b}	0.68±0.0^{a}	0.0±0.0^{c}
16:1n-9	0.62±0.0^{b}	1.70±0.1^{a}	0.42±0.0^{c}
16:1n-7	4.39±0.3^{a}	1.82±0.0^{b}	1.52±0.2^{b}
17:1n-8	0.17±0.0^{b}	0.60±0.1^{a}	0.85±0.0^{a}
18:1n-9	6.36±4.2^{c}	37.57±0.6^{a}	15.15±0.5^{b}
18:1n-7	4.71±0.6^{b}	7.99±0.3^{a}	5.18±0.2^{b}
18:1n-5	1.77±0.1^{a}	0.05±0.0^{b}	0.0±0.0^{c}
20:1n-11	1.69±0.9^{a}	0.11±0.0^{b}	0.04±0.0^{b}
20:1n-9	2.92±1.3^{a}	3.68±0.0^{a}	0.52±0.0^{b}
20:1n-7	0.66±0.4^{a}	0.17±0.0^{ab}	0.07±0.0^{b}
22:1n-11	0.45±0.3^{a}	0.03±0.0^{ab}	0.0±0.0^{b}
22:1n-9	1.00±0.4^{a}	0.76±0.0^{a}	0.04±0.0^{b}
24:1n-9	1.00±0.5^{a}	0.15±0.0^{b}	0.34±0.0^{b}
18:2n-6t	0.0±0.0^{c}	0.28±0.0^{b}	0.50±0.0^{a}
18:2n-6 LA	6.75±0.4^{b}	11.78±0.1^{a}	6.33±0.7^{b}
18:3n-6	0.31±0.0^{b}	0.29±0.0^{b}	0.52±0.0^{a}
18:3n-3 ALA	1.06±0.0^{c}	5.24±0.9^{b}	26.12±2.2^{a}
18:4n-3	0.18±0.0^{b}	0.10±0.0^{b}	4.74±0.4^{a}
20:2n-6	0.33±0.0^{b}	3.69±0.1^{a}	0.21±0.0^{b}
20:3n-3	0.32±0.1^{b}	0.39±0.0^{b}	1.19±0.1^{a}
20:4n-6 ARA	3.97±0.3^{a}	3.11±0.2^{b}	0.84±0.0^{c}
20:5n-3 EPA	7.49±1.4^{a}	1.72±0.0^{c}	4.06±0.4^{b}
21:4n-6	0.85±0.0^{b}	1.44±0.1^{a}	0.01±0.0^{c}
22:4n-6	4.58±0.2^{a}	0.0±0.0^{c}	1.77±0.5^{b}
22:5n-3	2.97±0.5^{a}	0.0±0.0^{c}	0.71±0.1^{b}
22:6n-3 DHA	20.19±3.0^{a}	1.31±0.2^{c}	13.54±0.5^{b}
TO.SAT.	24.57±1.5^{a}	9.74±0.7^{c}	14.81±1.8^{b}

TO.MONO	26.23±7.2[b]	55.5±0.3[a]	24.31±0.2[b]
TO.POLY	49.19±5.7[b]	34.68±0.3[c]	60.86±1.2[a]
TO.HUFA	40.38±5.5[a]	7.76±0.1[c]	25.74±0.6[b]
22:6/20:5	2.70±0.1[a]	0.76±0.1[b]	3.36±0.4[a]

En cada línea, las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$).

Tabla 8. Composición de ácidos grasos (%; promedio ± DE) de larvas de *S. rivoliana* durante el experimento durante la fase “a” y “b”

Composición de ácidos grasos de larvas de *S. rivoliana*				
			Nauplio *Artemia*	Nematodos
Ácido graso	0 DDE	12 DDE	19 DDE	
14:0	1.12±0.0^{b}	2.50±0.1a	0.23±0.0^{a}	0.36±0.2^{a}
15:0	0.50±0.0^{a}	0.19±0.0^{b}	0.06±0.0^{c}	0.18±0.0^{b}
16:0	10.83±0.2^{b}	15.58±0.0^{d}	9.50±0.1^{a}	13.35±0.0^{c}
17:0	5.45±0.4^{a}	0.50±0.1^{b}	0.54±0.0^{b}	0.69±0.0^{b}
18:0	3.51±0.1^{d}	6.92±0.4^{c}	8.9±0.2^{b}	10.22±0.0^{a}
20:0	0.22±0.0^{ab}	0.39±0.0^{a}	0.15±0.0^{b}	0.30±0.0^{a}
21:0	0.14±0.0^{b}	0.42±0.0^{a}	0.06±0.0^{c}	0.08±0.0^{ab}
22:0	0.09±0.0^{c}	0.19±0.0^{b}	0.32±0.0^{a}	0.14±0.0^{ab}
24:0	0.16±0.0^{a}	0.16±0.0^{a}	0.05±0.0^{b}	0.05±0.0^{b}
15:1n-8	0.04±0.0^{c}	0.25±0.0^{b}	0.21±0.0^{b}	0.53±0.0^{a}
16:1n-9	0.36±0.0^{b}	0.61±0.0^{a}	0.65±0.0^{a}	1.24±0.0^{c}
16:1n-7	3.22±0.1^{a}	2.50±0.0^{b}	1.17±0.1^{c}	0.82±0.0^{d}
17:1n-8	0.40±0.0^{b}	0.13±0.0^{c}	0.63±0.1^{a}	0.08±0.0^{c}
18:1n-9	12.81±0.1^{b}	8.58±0.4^{c}	17.26±0.5^{a}	16.35±0.0^{a}
18:1n-7	3.17±0.1^{c}	2.48±0.1^{d}	7.61±0.3^{a}	5.00±0.0^{b}
20:1n-11	0.26±0.0^{a}	0.09±0.0^{b}	0.08±0.0^{b}	0.11±0.0^{b}
20:1n-9	1.29±0.0^{b}	0.53±0.0^{a}	0.51±0.0^{a}	1.18±0.0^{b}
20:1n-7	0.15±0.0^{a}	0.10±0.0^{a}	0.19±0.0^{a}	0.21±0.0^{a}
22:1n-11	0.50±0.0^{a}	0.04±0.0^{c}	0.03±0.0^{c}	0.11±0.0^{b}
24:1n-9	0.36±0.0^{ab}	0.99±0.0^{a}	0.28±0.0^{c}	0.56±0.0^{b}
18:2n-6 (LA)	1.96±0.0^{d}	7.59±0.3^{b}	6.19±0.0^{c}	10.60±0.0^{a}
18:3n-6	0.17±0.0^{c}	0.62±0.0^{a}	0.44±0.0^{b}	0.36±0.0^{b}
18:3n-3 (ALA)	1.04±0.0^{d}	4.77±0.0^{b}	20.53±0.8^{a}	3.09±0.0^{c}
18:4n-3	1.36±0.1^{c}	3.88±0.4^{a}	2.60±0.2^{b}	0.11±0.0^{d}
20:2n-6	0.19±0.0^{c}	0.56±0.0^{b}	0.34±0.0^{ab}	1.55±0.0^{a}
20:3n-3	0.28±0.0^{c}	1.31±0.1^{b}	1.65±0.2^{a}	0.96±0.0^{ab}
20:4n-6 (ARA)	1.79±0.0^{c}	2.79±0.2^{b}	2.61±0.1^{b}	7.84±0.0^{a}
20:5n-3 (EPA)	9.45±0.1^{a}	3.52±0.0^{c}	6.17±0.1^{b}	2.16±0.0^{d}
21:4n-6	0.93±0.0^{a}	0.07±0.0^{c}	0.12±0.0^{c}	0.57±0.0^{b}
22:4n-6	0.62±0.0^{c}	1.80±0.1^{b}	0.92±0.1^{c}	2.48±0.0^{a}
22:5n-6	0.28±0.0^{a}	0.33±0.0^{a}	0.11±0.0^{c}	0.17±0.0^{b}
22:5n-3	3.35±0.1^{a}	1.10±0.0^{b}	0.84±0.1^{b}	0.05±0.0^{c}
22:6n-3 (DHA)	33.55±0.4^{a}	27.98±0.5^{b}	8.74±0.4^{d}	17.97±0.0^{c}
SAT.	22.06±0.8^{b}	26.93±0.4^{a}	19.87±0.3^{c}	25.47±0.0^{a}

MONO	22.95±0.3^{b}	16.71±0.5^{c}	28.82±0.5^{a}	26.58±0.0^{a}
POLI	54.99±0.5^{a}	56.36±0.4^{a}	51.30±0.6^{b}	47.94±0.0^{c}
HUFA	51.33±0.4^{a}	41.49±0.2^{b}	22.12±0.6^{d}	31.36±0.0^{c}
22:6/20:5	3.55±0.0^{b}	7.96±0.3^{a}	1.42±0.1^{c}	8.47±0.0^{a}

En cada línea, las letras diferentes denotan diferencias significativas ($p<0.05$).