

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Efecto de la dieta de microalgas sobre el crecimiento, supervivencia y
composición de ácidos grasos de larvas de cangrejo rojo (*Ucides
occidentalis*)

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Biólogo

Presentado por:

María Fernanda Cevallos Ponce

Emily Melissa Ramírez Andrade

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2023

Dedicatoria

A mi madre Ximena, que siempre ha estado conmigo y me ha apoyado durante estos años.

A mi hermana Carolina que siempre me ha motivado a seguir adelante y por nunca dejarme sola.

A toda mi familia, y a mi segunda familia mis amigos que he conocido en la carrera y en el último semestre en residencia. Gracias por estar ahí y dejarme formar parte de sus vidas.

Sin el apoyo de todas las personas que estuvieron conmigo no lo hubiera logrado.

María Fernanda Cevallos

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres Wellington y Marjorie, quienes han sido mi mayor fuente de inspiración y apoyo a lo largo de mi vida. Su amor incondicional y sacrificio han sido fundamentales para que hoy pueda alcanzar este logro académico.

A mi hermana, quien ha sido mi compañera de vida y mi apoyo en cada paso que he dado. Gracias por creer en mí y por motivarme a seguir adelante cuando las cosas se ponían difíciles.

A toda mi familia y amigos, quienes me han brindado su apoyo y aliento siempre.

Melissa Ramírez Andrade

Agradecimientos

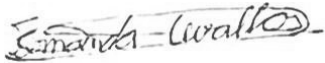
Queremos expresar nuestro más profundo agradecimiento a las personas que nos ayudaron con este proyecto. A nuestra tutora Julie Nieto Wigby, Ph.D, al MSC Daniel Rodríguez y a la Tnlgo. Juletzky Reyes, quienes fueron fundamentales en el proceso de finalización de esta tesis.

Gracias por su orientación, paciencia y dedicación a lo largo de todo el camino. Su experiencia y conocimientos fueron clave para superar los obstáculos y desafíos que surgieron durante la investigación.

Un agradecimiento especial a los trabajadores de CENAIM, que nos apoyaron en cada etapa del proyecto.

Declaración Expresa

“Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; María Fernanda Cevallos y Emily Melissa Ramírez Andrade damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



María Fernanda
Cevallos



Emily Melissa Ramírez

Evaluadores

Diego Gallardo Polit

Profesor de Materia

Julia Nieto Wigby

Tutor de proyecto

Resumen

En Ecuador no existen investigaciones sobre la producción del cangrejo rojo en laboratorio bajo condiciones controladas, ni tampoco protocolos de producción, lo que ha llevado a una alta tasa de mortalidad natural en las etapas del desarrollo del ciclo larval. Por eso es necesario desarrollar proyectos enfocados en la acuicultura de cangrejo rojo para reducir la presión sobre este recurso natural y mantener la salud y el equilibrio del ecosistema de manglar. Este proyecto de acuicultura incluyó la recolección de larvas de cangrejo rojo, la preparación de diferentes dietas de microalgas, la alimentación de las larvas con diferentes dietas, la medición del crecimiento y la supervivencia, el análisis de la composición de ácidos grasos y la tasa de metamorfosis, y el análisis estadístico de los datos.

Se demuestra que la dieta de microalgas influye significativamente en el crecimiento y la composición de ácidos grasos de las larvas de cangrejo rojo. El mix de microalgas (*C. gracilis*, *C. muelleri*, *Pavlova lutheri*) resultó ser la mejor opción para la alimentación de las larvas, ya que promovió un mayor crecimiento y una composición de ácidos grasos más favorable para su desarrollo.

Palabras claves: Cangrejo rojo, Acuicultura, Larvas, Crecimiento, Laboratorio.

Abstract

In Ecuador there is no research on the production of red crab in the laboratory under controlled conditions, nor production protocols, which has led to a high natural mortality rate in the stages of development of the larval cycle. That is why it is necessary to develop projects focused on red crab aquaculture to reduce pressure on this natural resource and maintain the health and balance of the mangrove ecosystem. This aquaculture project included collecting red crab larvae, preparing different microalgae diets, feeding the larvae different diets, measuring growth and survival, analyzing fatty acid composition and the rate of metamorphosis, and statistical analysis of the data.

It is shown that the microalgae diet significantly influences the growth and fatty acid composition of red crab larvae. The microalgae mix (*C. gracilis*, *C. dockeri*, *Pavlova lutheri*) turned out to be the best option for feeding the larvae, since it promoted greater growth and a more favorable fatty acid composition for their development.

Keywords: Red crab, Aquaculture, Larvae, Growth, Laboratory.

Índice general

Resumen	I
Abstract.....	II
Abreviaturas	V
Simbología	VI
Índice de figuras.....	VII
Índice de tablas	VII
1. Capítulo 1.....	1
1.1 Introducción.....	2
1.2 Descripción del problema	3
1.3 Justificación del problema	4
1.4 Objetivos.....	4
1.4.1 <i>Objetivo General</i>	4
1.4.2 <i>Objetivos Específicos</i>	5
1.5 Marco teórico.....	5
1.5.1 <i>Cultivo de cangrejo del género Ucides a nivel mundial</i>	5
1.5.2 <i>Etapas del desarrollo Larvario</i>	7
1.5.3 <i>Importancia de las microalgas para la nutrición del cangrejo</i>	8
2. Capítulo 2.....	10
2.1 Metodología.....	11
2.1.1 <i>Lugar de recolección de reproductores</i>	11
2.1.2 <i>Localización del ensayo</i>	11
2.1.3 <i>Condiciones del experimento</i>	12
2.1.3.1 <i>Desinfección y acondicionamiento del área</i>	12
2.1.4 <i>Siembra</i>	13
2.1.5 <i>Manejo del cultivo</i>	14
2.1.5.1 <i>Alimentación</i>	14

2.1.6	<i>Recambios</i>	15
2.1.7	<i>Conteo poblacional</i>	16
2.1.8	<i>Análisis estadístico</i>	16
3.	Capítulo 3.....	18
3.1	Resultados y análisis	19
3.1.1	<i>Descripción de etapas larvales</i>	19
3.1.2	<i>Perfil nutricional de ácidos grasos de los tratamientos</i>	21
3.1.3	<i>Evaluación de las dietas de microalgas en supervivencia</i>	26
3.1.4	<i>Evaluación de las dietas de microalgas en metamorfosis</i>	28
3.1.5	<i>Perfil nutricional de ácidos grasos en cada estadio larvario</i>	31
4.	Capítulo 4.....	35
4.1	Conclusiones y Recomendaciones	36
4.1.1	<i>Conclusiones</i>	36
4.1.2	<i>Recomendaciones</i>	36
5.	Referencias.....	37

Abreviaturas

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas
MAE	Ministerio del Ambiente de Ecuador
MPCEIP	Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca
INAMHI	Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología

Simbología

ml	Mililitro
μm	Micrómetro
L	Litro
gr	Gramo

Índice de figuras

Figura 1 Localización del ensayo en CENAIM-ESPOL, San Pedro	12
Figura 2 Set experimental	13
Figura 3 Gavetas preparadas	13
Figura 4 Proceso de recambio	15
Figura 5 Ácidos grasos de microalgas	25
Figura 6 Ácidos grasos de zooplancton.....	25
Figura 7 Porcentaje de supervivencia.....	26
Figura 8 Diagrama de cajas.....	27
Figura 9 Resultados prueba Tukey	28
Figura 10 Porcentaje de Metamorfosis día 1 y Figura 11 Porcentaje de Metamorfosis día 3	29
Figura 12 Porcentaje de Metamorfosis día 5 y Figura 13 Porcentaje de Metamorfosis día 7	29
Figura 14 Porcentaje de Metamorfosis día 10 y Figura 15 Porcentaje de Metamorfosis día 13.....	30
Figura 16 Porcentaje de Metamorfosis día 16	30
Figura 17 Ácidos grasos de los estadios larvarios	34

Índice de tablas

Tabla 1 Descripción de algas utilizadas en el ensayo	9
Tabla 2 Desarrollo larvario de <i>U. occidentalis</i>	19
Tabla 3 Perfil de ácidos grasos de microalgas.....	21
Tabla 4 Perfil de ácidos grasos de zooplancton	23
Tabla 5 Perfil de ácidos grasos de cada estadio larvario (larvas de tratamiento mix)...	31

Capítulo 1

1.1 Introducción

Ucides occidentalis conocido como “cangrejo rojo” o “cangrejo del manglar” es un crustáceo decápodo perteneciente a la familia Ocypodidae (Ortmann, 1897), que habita en los manglares de la costa oeste de América desde México hasta Perú. Esta especie es herbívora, las hojas de mangle son su alimento principal. Las hembras se diferencian de los machos porque poseen un pleon o abdomen de mayor tamaño. Su reproducción es de larga duración teniendo desoves entre diciembre y mayo, basada en la estrategia reproductiva iteropariedad estacional (Zambrano et al., 2018).

Esta especie es parte importante de la dinámica del ecosistema de manglar, ya que forma parte de la cadena trófica, contribuye con la reducción de materia orgánica y favorece a la oxigenación del sedimento. A pesar de su importante rol ecológico el cangrejo rojo está amenazado por diversas actividades antropogénicas como: la pesca ilegal y contaminación, así como la sobreexplotación lo que puede provocar la extinción prematura de la especie (Alemán Dyer et al., 2019).

Un gran número de familias dependen de la comercialización de este crustáceo, y por lo tanto es un importante ingreso económico. Sin embargo, no es una fuente continua de ingreso ya que su pesca y comercialización solo ocurre en meses específicos, los demás meses son considerados periodos de veda por procesos como la reproducción y muda (Mendoza et al., 2019).

De acuerdo con el calendario de vedas 2023-2024 del Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca, el periodo de veda por reproducción comienza desde el 1 de febrero hasta el 2 el marzo, y el periodo de veda por muda corresponde a los días del 15 de agosto hasta el 15 de septiembre. A pesar del establecimiento de los periodos de veda aún existe la pesca ilegal según datos del Ministerio del Ambiente de Ecuador (MAE), entidad encargada de realizar controles. Así mismo, el artículo 71 de la Ley sanciona con

multas o prisión a personas que capturen, transporten o comercialicen cangrejo en tiempo de veda. A parte de las consecuencias legales, se indica que el consumo de cangrejo en ese periodo de tiempo produce intoxicación ya que contienen altas concentraciones de oxalato de calcio (Ministerio de Gobierno, s.f.).

1.2 Descripción del problema

Las principales zonas o provincias de extracción de cangrejo rojo en Ecuador son El Oro y Guayas. La pesca de *U. occidentalis* se ha convertido en una importante fuente de ingresos y ha contribuido al desarrollo económico de las comunidades (Márquez, 2022). Sin embargo, también enfrenta desafíos como la competencia con la pesca ilegal y la sobreexplotación del recurso natural. Resulta importante que se implementen medidas de conservación y manejo adecuadas para asegurar su protección (Márquez, 2022).

La falta de conocimiento y experiencia en la producción en laboratorio de semillas de *U. occidentalis* en Ecuador, limita la probabilidad de su cultivo y desarrollo, considerando que el cangrejo de manglar está en peligro. Como se menciona en la introducción uno de los problemas más comunes es la sobreexplotación, lo que genera impactos negativos como la disminución poblacional, reducción de la biodiversidad y alteración del ecosistema del manglar (Cuadrado et al., 2022). A pesar de que los periodos de veda ya están establecidos existe una gran demanda de pesca de cangrejo rojo durante todo el año, provocando que la demanda sea mayor que la oferta es por esto que es necesario desarrollar su cultivo (El Universo, 2022). Adicionalmente, existe oportunidad y demanda para exportar.

1.3 Justificación del problema

Hoy en día en Ecuador no existen investigaciones sobre la producción del cangrejo rojo en laboratorio bajo condiciones controladas, ni tampoco protocolos de producción, en particular sobre el manejo y alimentación en la fase inicial de su ciclo de vida. Las larvas de cangrejo de manglar son muy delicadas o frágiles y dependen de las condiciones ambientales para poder sobrevivir. El oxígeno disuelto, la temperatura y la salinidad del agua son factores clave que afectan a su supervivencia (Poma y Bocanegra, 1997).

Su preservación y sostenibilidad son esenciales para mantener la salud y el equilibrio del ecosistema de manglar, siendo necesario desarrollar proyectos enfocados en la acuicultura de cangrejo rojo para reducir la presión sobre este recurso natural. En estudios realizados con otras especies de cangrejo como el cangrejo azul (*Cardisoma crassum*), se ha evidenciado una alta tasa de mortalidad natural en las etapas del desarrollo del ciclo larval (Colavite, 2021).

El propósito de esta investigación es determinar el efecto de la alimentación con diferentes microalgas sobre la metamorfosis, supervivencia y perfil lipídico de larvas de *U. occidentalis*. El objetivo es lograr un mejor manejo en la producción de semilla de cangrejo rojo, y así obtener la dieta con mejores resultados que en un futuro servirá como base para ejecutar proyectos de repoblamiento de la especie, que apoye a la recuperación del recurso y reduzca el riesgo de sobreexplotación.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Determinar el efecto de la alimentación con diferentes microalgas sobre la metamorfosis, supervivencia y perfil lipídico de larvas de *U. occidentalis*, por medio

de la experimentación bajo condiciones controladas y análisis bioquímicos, para la optimización de la dieta durante el cultivo larvario.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Establecer la diferencia en la metamorfosis de *U. occidentalis* alimentadas con diferentes microalgas, por medio de la descripción morfológica de las larvas.
- Determinar el aporte nutricional de las dietas de microalgas, por medio del análisis del perfil de ácidos grasos de las larvas en cada etapa de crecimiento.
- Comparar el efecto de las dietas sobre la supervivencia de las larvas, para la elección de la que aporte mayor valor nutricional.

1.5 Marco teórico

1.5.1 Cultivo de cangrejo del género *Ucides* a nivel mundial

El género *Ucides*, está distribuido en las costas de 2 océanos: Atlántico y Pacífico. Existen dos especies en este género (*U. occidentalis* y *U. cordatus*); sin embargo, Ewald (2006) señala que Türkay en 1970 estableció que el género *Ucides* solo tiene una especie con 2 sub especies ubicadas en diferentes zonas, la subespecie *Ucides cordatus occidentalis* porque proviene del Pacífico, y *Ucides cordatus* del Atlántico (García y Risco, 2014). No obstante, por la existencia de las barreras geográficas ocurre la especiación alopática lo cual las divide como dos especies diferentes ya que no existe flujo genético. Indistintamente comparten similitudes morfológicas, por ende, es probable que el cultivo de estas especies puede ser parecido.

El cultivo de *U. occidentalis* no es una práctica común en el Ecuador. Su cultivo se ha enfocado al engorde en estanques, que pretenden imitar el hábitat natural de los cangrejos.

Debido a las escasas investigaciones realizadas en el país, su cultivo presenta varias dificultades, limitaciones y desafíos por la falta de conocimiento y tecnología adecuada para llevar a cabo su eficiente producción (Cumbicos et al., 2022).

En Brasil, el cultivo de cangrejo rojo del manglar del Atlántico o cangrejo moro (otra especie del género *Ucides*) ha tenido mayor desarrollo respecto a otros países. Se estima que se producen alrededor de 300 toneladas de cangrejo moro al año en pisciculturas. El cultivo de las larvas de *Ucides cordatus*, aunque no tan común como el cultivo de camarones, ha sido objeto de investigación en Brasil. Las larvas de *Ucides cordatus* se pueden obtener recolectando los huevos incubados de hembras adultas en su hábitat natural o mediante la cría en cautiverio de los cangrejos adultos. Los huevos deben ser incubados en condiciones controladas similares a las que se encuentran en su hábitat natural. Esto implica mantener la temperatura, la salinidad y la calidad del agua adecuadas. El período de incubación puede variar dependiendo de la temperatura y otros factores ambientales. Durante las primeras etapas de desarrollo, se alimentan principalmente de plancton y materia orgánica suspendida en el agua. Se pueden proporcionar microalgas y rotíferos como alimento inicial, y luego se pueden introducir otros alimentos en etapas posteriores a medida que las larvas crecen. Las larvas pasan por diferentes estadios de desarrollo a medida que crecen. Cada etapa puede requerir condiciones ambientales específicas y una alimentación adecuada. Es necesario monitorear y realizar transferencias a medida que las larvas avanzan en su desarrollo (Cottens et al., 2014).

La técnica de cultivo utilizada en Brasil para la etapa de engorde se basa en la construcción de estanques en los manglares y la alimentación de los cangrejos con una mezcla de algas, arroz, maíz y otros ingredientes naturales. Durante el cultivo de *Ucides cordatus*, es importante mantener la salud de los cangrejos y prevenir la propagación de enfermedades.

Para lo cual se deben implementar medidas de bioseguridad y monitorear regularmente la presencia de posibles patógenos (Ramos, 2014).

En otros países, como Colombia y Panamá, se ha desarrollado investigaciones y proyectos piloto para desarrollar técnicas de cultivo del cangrejo moro y promover su producción comercial. En Colombia, se ha implementado el cultivo de cangrejo moro en estanques con agua salada y con la alimentación de los cangrejos con una dieta a base de algas. En Panamá, se han realizado estudios para identificar los sitios más adecuados para el cultivo de cangrejo moro y se ha desarrollado un proyecto piloto para producir cangrejos en cautiverio (Vega et al., 2018).

A pesar de estos avances, el cultivo de este género sigue siendo una actividad incipiente en la mayoría de los países donde se encuentra las especies. Todavía se enfrentan a diferentes desafíos como la contaminación y la degradación de los manglares que no permiten exitosamente el cultivo de cangrejos rojos.

1.5.2 Etapas del desarrollo Larvario

El desarrollo larvario del cangrejo de manglar comienza con la eclosión de los huevos. Las larvas emergen de los huevos como una forma de vida libre llamada zoea. Las zoeas son pequeñas y planctónicas, las cuales emergen en la parte superficial del cuerpo de agua y son transportadas por las corrientes. La actividad fototrópica resulta en el movimiento larval, fomentando que las larvas se dirijan hacia la luz (Cumbicos et al, 2022).

Durante la primera etapa de la zoea, estas se alimentan de yemas vitelinas contenidas en su cuerpo. Después de algunos días, las zoeas comienzan a alimentarse de plancton. En la segunda etapa de la zoea, desarrollan un exoesqueleto y comienzan a nadar en posición vertical. A medida que avanzan, desarrollan características más distintivas y comienzan a formar apéndices más especializados. Su última fase del desarrollo larvario es la Megalopa; la

larva se vuelve más grande y adquiere características más similares a las de un cangrejo adulto. Se desarrollan estructuras como las pinzas y las patas locomotoras (Cottens K et al., 2014).

1.5.3 Importancia de las microalgas para la nutrición del cangrejo

Las microalgas son organismos eucariotas fotosintéticos, con gran capacidad de adaptarse, por lo que existe una gran variedad de especies, con alta tasa de producción (Abalde, 2000).

Las microalgas son el principal alimento en los primeros estadios de vida de la mayoría de las especies marinas debido a su alto aporte nutricional. De acuerdo a varios estudios larvarios en bivalvos y crustáceos, se ha comprobado que uno de los mejores alimentos es la especie del género *Chaetoceros* (Lemus, 2006). En un estudio sobre la dieta de *U. occidentalis* se indica que las algas son ricas en nutrientes y son fundamentales como alimento en los cangrejos, así también como los detritos y los moluscos (Flores-Coto, 2006). Por ello en este proyecto se usó 3 especies de microalgas (ver Tabla 1)

Algunos de los ácidos grasos presentes en las microalgas son: el ácido láurico (C12:0), ácido mirístico (C14:0), ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), entre otros (Montero, 2012). Estos ácidos grasos aportan en la supervivencia, crecimiento y etapas de desarrollo de los crustáceos, en especial los ácidos grasos poliinsaturados, involucrados en la generación de las membranas celulares y la producción de hormonas. Un estudio realizado con juveniles de camarones *Litopenaeus vannamei* en el 2002, demostró que camarones alimentados con una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados crecieron más rápido, obteniendo mejores resultados de supervivencia en comparación con camarones alimentados con una dieta donde los ácidos grasos no eran los esenciales. Los ácidos grasos monoinsaturados encontrados son: ácido palmitoleico (16:1), ácido oleico (18:1), ácido eicosenoico (20:1) y ácido erúcico (22:1) (González, 2002).

Tabla 1

Descripción de algas utilizadas en el ensayo

Microalga	Grupo	Características
<i>Pavlova lutheri</i>	Haptophyta	Es una microalga flagelada que posee dos flagelos de distinto tamaño, mide entre 3 a 9 μm , es de color marrón-dorada y carece de pared celular. ^a
<i>Chaetoceros muelleri</i>	Ochrophyta	Es una diatomea rectangular de color café, que mide entre 4 a 9 μm , y posee 4 setas en sus extremos. ^b
<i>Chaetoceres gracilis.</i>	Ochrophyta	Es una diatomea céntrica solitaria de forma rectangular, es de color café dorado, y mide entre 8- 12 x 7-10 μm . ^c

Nota. ^aVolkman et al., (1989). ^bAllen et al.,(2005). ^cCambefort et al.,(2009).

Debido a su alto valor nutricional, las microalgas fitoflageladas *Isochrysis spp.* y *Tetraselmis spp.*, y las diatomeas *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira spp.* y *Chaetoceros spp.*; son la principal fuente de alimento en laboratorios de larvas alrededor del mundo. Experiencias previas recalcan que su combinación mejora el balance nutricional. Por otro lado, es posible complementar la alimentación con la incorporación de los nauplios de artemia considerados una fuente importante de alimento (García, 2002).

Capítulo 2

2.1 Metodología

2.1.1 Lugar de recolección de reproductores

Los 21 cangrejos *U. occidentalis* fueron colectados en los manglares del sector 6 de Julio, Naranjal, Guayas, Ecuador, (coordenadas Latitud: -2.67683, Longitud: -79.63004). las hembras grávidas (con huevos en fase 8) fueron colocadas en una heladera al resguardo de la luz, y transportadas al lugar del ensayo. luego de culminado el proceso de desove, las hembras fueron regresadas a su hábitat natural reduciendo la afectación de las poblaciones naturales de cangrejos.

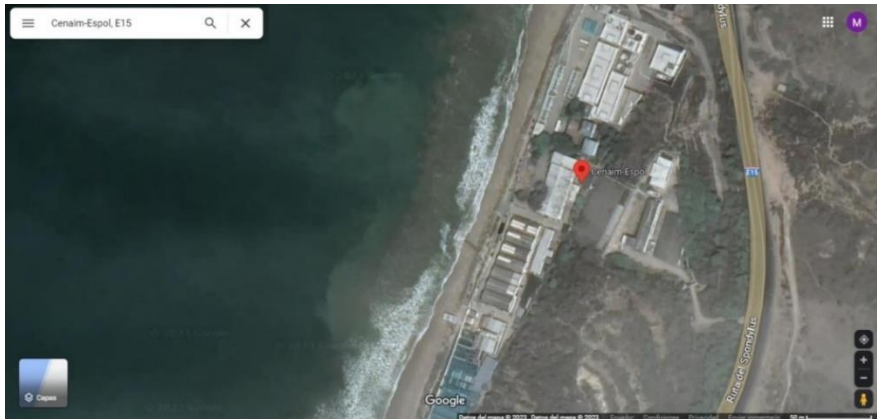
En el laboratorio se tomó los datos biométricos de las hembras, utilizando un calibrador vernier para registrar el ancho y largo del cefalotórax, ancho y largo de quelas, y su peso con una balanza digital. Todo espécimen una vez desovado fue regresado a su sitio de colecta.

2.1.2 Localización del ensayo

El desove y experimentación con la larvicultura se realizó en el Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas (CENAIM-ESPOL), (coordenadas: Latitud - 1.9548437919225272, Longitud -80.72888816707687). Entre los meses febrero y abril la temperatura del ambiente de la zona oscilaban entre 23° a 29° donde el punto más caliente fueron las tardes, y en las noches con una temperatura más baja (INAMHI, 2023).

Figura 1

Localización del ensayo en CENAIM-ESPOL, San Pedro



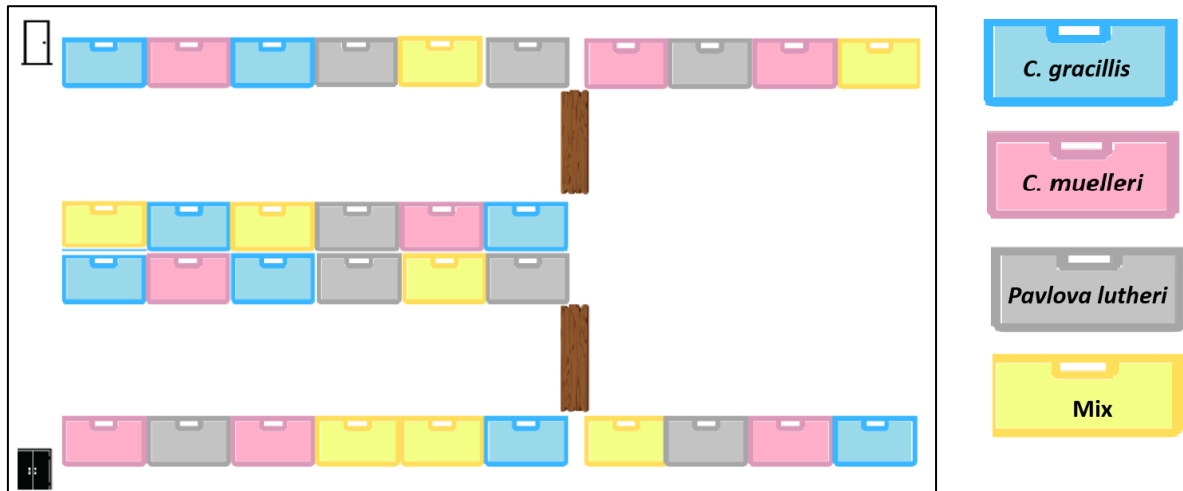
Nota. Imagen obtenida de Google Earth.

2.1.3 Condiciones del experimento

2.1.3.1 **Desinfección y acondicionamiento del área.** Previo a la recepción de los animales, se desinfectó las superficies del set experimental con una solución de hipoclorito de sodio al 5 % (aforado en 100 ml en una capacidad de 20L de agua dulce). Con esta se procedió a lavar con una esponja tanto las superficies internas como externas de 32 gavetas de 30L, para posteriormente enjuagarlas con agua dulce para eliminar los residuos de cloro. se ubicó las gavetas en filas una frente a otra para facilitar el recambio (ver Figura 2 – set experimental). Se etiquetó las gavetas en base a la distribución aleatoria de los cuatro tratamientos (incluido el mix) con sus triplicados. Los tratamientos se muestran en la Tabla 1. Cada gaveta se llenó con agua de mar filtrada e irradiada por UV hasta un volumen de 25 L y fue cubierta con un trozo de plástico desinfectado.

Figura 2

Set experimental



Nota. La figura muestra la distribución de las gavetas.

2.1.4 Siembra

Se inició el experimento recolectando las larvas (después de 16 días del desove de un tanque de 1000 L con un tamiz de malla de 220 μ m, las cuales fueron transferidas a gavetas para iniciar con el cultivo larvario, a una densidad de 0.05 larvas/mL. Se controló la aireación con piedras difusoras (1 por gaveta) y mantuvo estable la temperatura a 28 grados con la ayuda de varillas de calentamiento (ver Figura 3 – Gavetas preparadas).

Figura 3

Gavetas preparadas



2.1.5 Manejo del cultivo

2.1.5.1 Alimentación

2.1.5.1.1 Conteo de microalgas. Para determinar la concentración de las algas, se realizó el conteo al microscopio con la ayuda de un hemocitómetro o cámara de Neubauer. Se utilizó una pipeta de vidrio, una cubierta de vidrio, un microscopio óptico, una solución fijadora (lugol), y la muestra de agua que contenían las microalgas.

Se inició tomando una pequeña muestra de agua del cultivo masivo, la cual fue colocada en un tubo de ensayo y se mezcló con una pequeña cantidad de Lugol. Se esperó unos minutos para que las células de las microalgas se fijen y se colocó una gota de muestra en la cámara y se cubrió con un cubreobjeto. Con la cámara cargada se observó en el microscopio al objetivo 40x y se contó el número de células presentes en las cuadrículas de la cámara. Para este método se contó los cuadros pequeños centrales que tiene la cámara de Neubauer, sumando un total de 25; de los cuales se tomaron en cuenta los cuadrantes extremos y central. Al final se calculó el número total de células sumando el número de células encontradas en los cuadrantes multiplicado por 50000, y así encontrando la concentración final.

2.1.5.1.2 Metodología para alimentar con microalgas. Con los conteos realizados en el hematocitómetro, se logró saber qué cantidad de microalgas serán colocadas en los tanques para alimentar a las larvas. Para conocer este volumen se aplicó la fórmula (2.1) en cada tipo de dieta

$$V1C1 = V2C2$$

(2.1)

$$V1 = \frac{V2C2}{V1}$$

Luego que establecimos la cantidad adecuada, la aplicamos en cada gaveta. La alimentación se realizó a diario una vez entre el horario de 10-12 am. Este procedimiento se repitió en todo el desarrollo del experimento, en los últimos 7 días se agregó 176 ml de rotíferos y artemia junto con 2 gramos de profilactico (oxitetraciclina) a las gavetas con la alimentación mix, hasta la última etapa larval (megalopa).

2.1.6 Recambios

Durante la primera semana los recambios se realizaron saltando un día, en la última semana (segunda semana) se hizo recambios saltando 3 días para mantener la calidad del agua y evitar estresar a las larvas. El recambio se realizó bajando el nivel para posteriormente recuperarlo. Se utilizo una jarra y 2 tamices de malla de 300 y 250 um, el agua de cada gaveta fue vertida delicadamente sobre los 2 tamices, para luego ser transferidas a gavetas con agua limpia. (ver figura 4 - Proceso de recambio)

Figura 4

Proceso de recambio



2.1.7 *Conteo poblacional*

Durante cada recambio, las larvas concentradas en los 2 tamices, fueron colocadas en un vaso de precipitación a un volumen de 800ml que fue homogenizado para tomar 3 alícuotas con una pipeta de 1 o 2 ml dependiendo de la cantidad de larvas observadas. En cada alícuota se revisó y conto el número de larvas para proceder a calcular la población con la formula (2.2).

$$P: \frac{\frac{\text{N}^\circ \text{ de larvas de las muestras tomadas}}{\text{N}^\circ \text{ de muestras tomadas}} \times \text{contenido volumétrico de agua}}{\text{Volumen de pipeta}} \quad (2.2)$$

La alícuota que contenía mayor número de larvas fue llevada al área de microscopía, en donde se capturó imágenes con una cámara LANOPTIK modelo MDX503 conectada a un microscopio trinocular Olympus modelo CX31RTSF con el programa iWorks 2,0. Mediante estas imágenes se identificó el estadio en el que se encontraba cada larva, contándolas para obtener la tasa de metamorfosis dependiendo de la réplica y el tratamiento.

Culminado este proceso las alícuotas se devolvían a su gaveta respectiva, que fue preparada con agua filtrada y con la alimentación adecuada del día.

2.1.8 *Análisis estadístico*

Los datos de población fueron agrupados para calcular el área bajo la curva (ABC) con el fin de asegurar la normalidad de estos.

$$ABC = U + T_i + E_{ij} \quad (2.3)$$

En donde T son los tratamientos y E el error.

Con estos datos se realizó los análisis estadísticos ANOVA de una vía y prueba de Tukey a un nivel de confianza del 95%, bajo principios de normalidad y homogeneidad de varianza, usando el programa R commander versión 2.3-0, para comprobar si existen diferencias significativas entre los tipos de alimentación (significativo $P < 0.05$)

Capítulo 3



3.1 Resultados y análisis

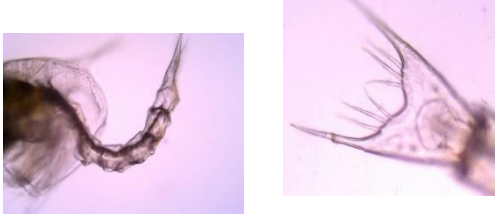


3.1.1 Descripción de etapas larvales



Durante el desarrollo larvario de esta especie se observó y determinó que el cambio de etapa duró entre 2-3 días; pasando por las siguientes etapas: zoea 1, zoea 2, zoea 3, zoea 4, zoea 5 y megalopa, cuyas características se describen a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Desarrollo larvario de U. occidentalis

Etapa larvaria	Características	Imagen
Zoea 1	Se diferencia la espina dorsal de la rostral, la cabeza (rostrum) del tórax (abdomen con 5 segmentos), y un par de apéndices (maxilípedos) conformados por un exópodo de 2 segmentos, el último segmento (segmento distal) posee 4 setas terminales largas.	
Zoea 2	El último segmento del exópodo tiene 6 setas terminales largas, el abdomen posee 6 segmentos, y el margen	

	<p>interno del telson con 3 pares de setas.</p>	
Zoea 3	<p>El último segmento del exópodo posee 8 setas, su cuerpo ya posee una forma más alargada y estilizada</p>	
Zoea 4	<p>El último segmento del exopodo posee 10 setas, y presenta urópodos.</p>	

Zoea 5	El ultimo segmento del exopodo posee 11 setas, los uropodos son de mayor tamaño y tiene 7 segmentos abdominales.	
Megalopa	Posee el abdomen y cefalotórax aplanado, se pueden diferenciar las antenas de las anténulas.	

3.1.2 Perfil nutricional de ácidos grasos de los tratamientos

Tabla 3

Perfil de ácidos grasos de microalgas

Saturados	<i>Chaetoceros gracilis</i>	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Pavlova lutheri</i>	Nombre común
12:0	N.D.	N.D.	N.D.	Ácido Láurico
14:0	20,26	10,36	15,12	Ácido mirístico
14:01	7,38	N.D.	0,64	Ácido miristoleico

15:0	N.D.	N.D.	N.D.	Ácido pentadecílico
16:0	21,73	43,29	23,35	Ácido palmítico
17:0	N.D.	N.D.	N.D.	Ácido margárico
18:0	4,35	1,68	4,73	Ácido esteárico
20:0	N.D.	N.D.	1,69	Ácido araquídico
Monoinsaturado				
Cis-16:1(n-9)	22,36	31,19	3,71	Ácido palmitoleico
Cis-18:1(n-9)	4,86	1,04	19,46	Ácido oleico
20:1(n-9)	N.D.	N.D.	N.D.	
Poliinsaturado				
16:2(n-4)	6,54	2,21	0,35	
cis, cis 18:2(n-6)	6,16	1,57	8,887	Ácido linoleico (cis, cis)
18:3(n-3)	8,44	0,82	9,06	Ácido linoleico
18:4(n-3)	N.D.	N.D.	4,41	
21:5(n-3)	N.D.	N.D.	N.D.	
20:5(n-3) EPA	5,30	3,89	0,84	Ácido eicosapentaenoico
22:4(n-6)	N.D.	N.D.	1,21	
22:4(n-3)	N.D.	N.D.	N.D.	
22:5(n-3)	N.D.	N.D.	N.D.	
22:6(n-3) DHA	N.D.	N.D.	5,01	Ácido docosahexaenoico

20:4(n-6)	N.D.	1,10	N.D.	Ácido araquidónico
-----------	------	------	------	-----------------------

Nota. Se diferencia por colores mayor cantidad de ácidos grasos (azul) y menor cantidad (verde).

En la tabla 3 y 4 se presentan datos del perfil de ácidos grasos de la alimentación con microalgas, clasificados según el tipo de ácido graso: saturado, monoinsaturado y poliinsaturado. Los datos fueron marcados con azul y verde, para diferenciar el tipo de alimentación que tiene mayor (azul) y menor (verde) cantidad de un ácido graso. De acuerdo con esto la microalga *Pavlova lutheri* es la que presento mayor diversidad de ácidos grasos (8 en total), pero en una cantidad mínima comparada con la cantidad de ácidos grasos presentes en las microalgas del género *Chaetoceros*. Por otro lado, la artemia y el rotífero que fue agregado al mix presento igual número de ácidos grasos complementándose entre sí.

Tabla 4

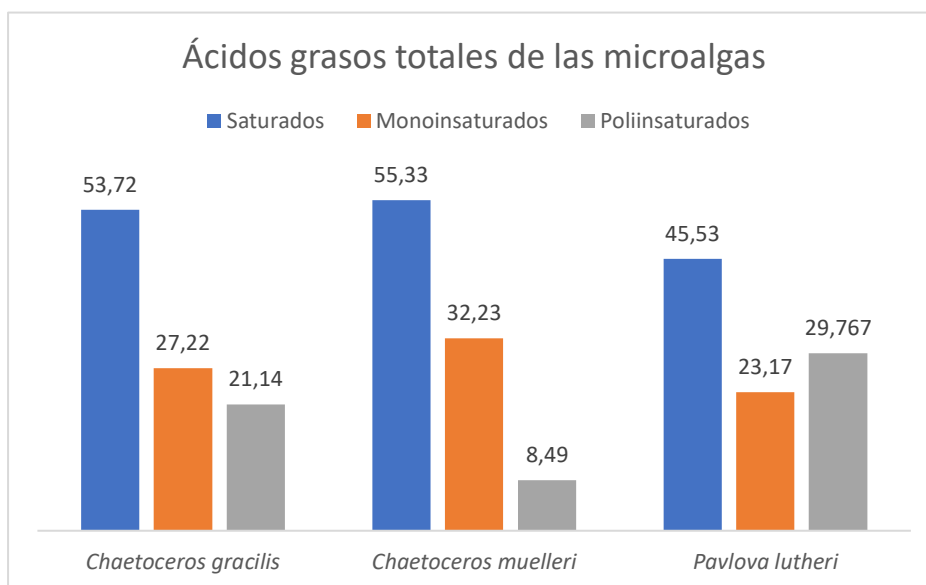
Perfil de ácidos grasos de zooplancton

Saturados	Artemia	Rotifero	Nombre común
12:O	7,10	N.D.	Ácido Láurico
14:O	2,11	1,77	Ácido mirístico
14:01	0,81	0,92	Ácido miristoleico
15:O	N.D.	0,37	Ácido pentadecílico
16:O	19,33	15,75	Ácido palmítico
17:O	1,72	1,31	Ácido margárico
18:O	8,73	3,96	Ácido esteárico
20:O	N.D.	N.D.	Ácido araquídico
Monoinsaturados			

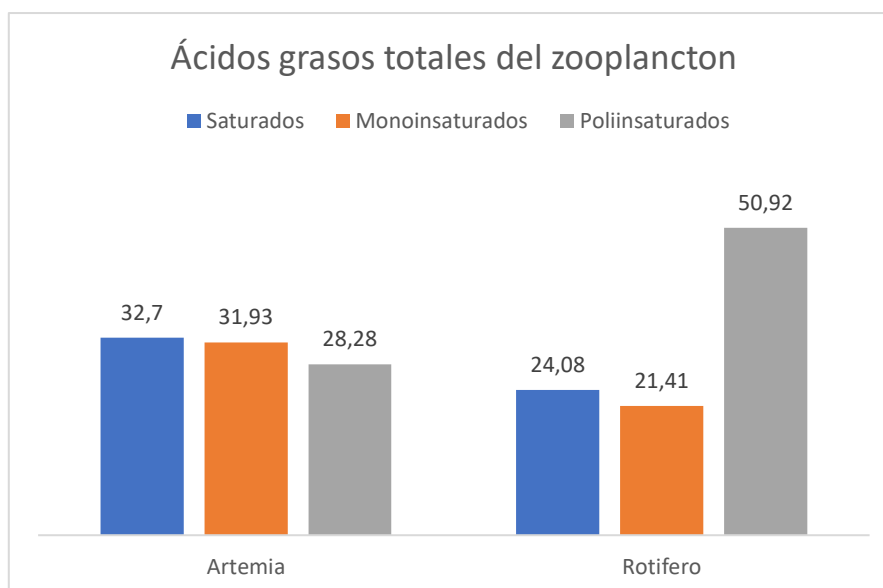
Cis-16:1(n-9)	7,11	3,60	Ácido palmitoleico
Cis-18:1(n-9)	22,01	18,02	Ácido oleico
20:1(n-9)	2,81	3,39	
Poliinsaturado			
16:2(n-4)	1,02	2,93	
cis, cis 18:2(n-6)	5,97	15,16	Ácido linoleico (cis, cis)
18:3(n-3)	9,47	17,27	Ácido linoleico
18:4(n-3)	0,72	4,17	
21:5(n-3)	N.D.	3,65	
20:5(n-3) EPA	7,04	3,28	Ácido eicosapentaenoico
22:4(n-6)	0,00	0,00	
22:4(n-3)	1,19	1,97	
22:5(n-3)	0,00	1,26	
22:6(n-3) DHA	2,02	1,23	Ácido docosahexaenoico
20:4(n-6)+	0,85	N.D.	Ácido araquidónico

Nota. Se diferencia por colores mayor cantidad de ácidos grasos (azul) y menor cantidad (verde).

Se realizó la sumatoria de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados para obtener las siguientes figuras. La Figura 5 nos mostró que las microalgas del género *Chaetoceros* y *Pavlova lutheri* contenían mayor cantidad de ácidos grasos saturados y menor cantidad de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, siendo las microalgas del género *Chaetoceros* las que tenían mayores concentraciones de ácidos grasos saturados. Por otro lado, la Figura 6 evidenció que la *Artemia* también poseía mayores concentraciones de ácidos grasos saturados pero el Rotífero tenía mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados.

Figura 5*Ácidos grasos de microalgas*

Nota. Representados como ácidos grasos saturados (azul), monoinsaturados (naranja) y poliinsaturados (plomo).

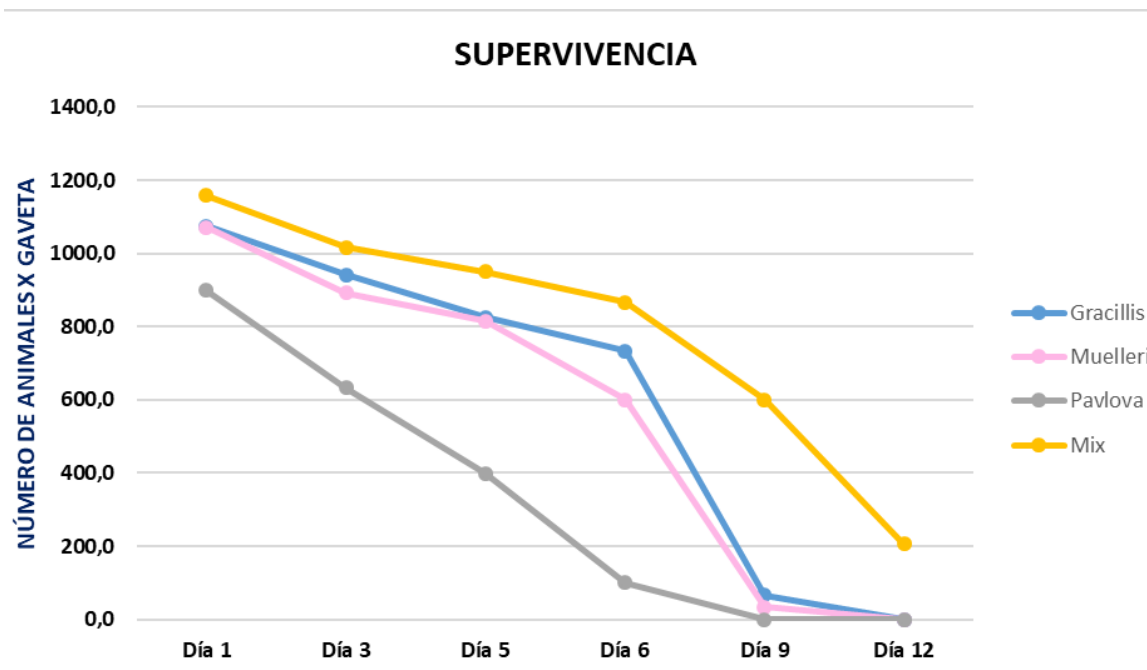
Figura 6*Ácidos grasos de zooplancton*

Nota. Representados como ácidos grasos saturados (azul), monoinsaturados (naranja) y poliinsaturados (plomo).

3.1.3 Evaluación de las dietas de microalgas en supervivencia

Figura 7

Porcentaje de supervivencia



Nota. Tratamientos representados por colores amarillo (Mix), rosado (*C.muelleri*), azul (*C. gracillis*), y plomo (*P. lutheri*).

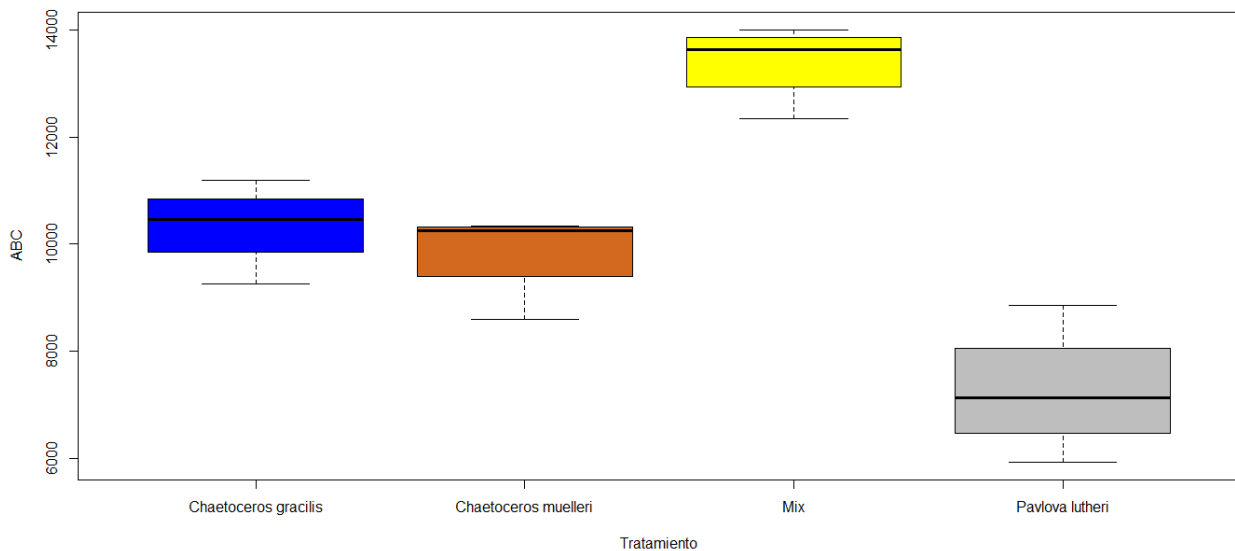
La Figura 7 muestra los datos recolectados del porcentaje de supervivencia para cada tratamiento. Para determinar el porcentaje se basó en el cálculo de la población tomada pasando un día desde el inicio del experimento. Podemos observar que con los tratamientos de *Chaetoceros* y el mix de microalgas, la supervivencia de las larvas era similar, en contraste con *Pavlova lutheri*, la cual presentó mortalidades desde el día 1, en comparación con las otras algas. La mortalidad se mantuvo de forma continua decreciente, pero para el día 10 solo el tratamiento mix sobrevivió. Podemos inferir para el tratamiento de *Chaetoceros*, que, a pesar de mostrar una concentración adecuada de ácidos grasos, no fue suficiente para proveer los nutrientes para sobrevivir. Por otra parte, el tratamiento de *Pavlova lutheri* la cantidad de ácidos

grasos mostrado en la tabla 3.2, es más bajo en comparación con los otros tratamientos, evidenciándose en el resultado obtenido. En el último día de revisión, el tratamiento mix fue el único que logró llegar a esa fase; la alimentación fue complementada con zooplancton, agregándose *Artemia* y rotíferos en las últimas etapas del desarrollo larvario. El zooplancton es alto en ácidos grasos, por lo que se consideró mejorar los resultados de ese tratamiento.

El análisis de varianza ANOVA de una vía del parámetro de población confirmó que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$), con un valor P de 0.0000072. El diagrama de cajas mostró que las medias son diferentes, siendo la mayor la media del mix, las microalgas del género *Chaetoceros* presentaron medias similares, y la menor media fue de la microalga *Pavlova Lutheri*. (ver Figura 8 – Diagrama de cajas)

Figura 8

Diagrama de cajas



Nota. Resultado de R commader.

Con la prueba de Tukey se demostró que existen diferencias del parámetro población con los tratamientos: Mix y *Pavlova lutheri* catalogados como b y c. (ver Figura 9 -

Resultados de prueba Tukey)

Figura 9

Resultados prueba Tukey

```

chaetoceres gracilis chaetoceros muelleri          Mix
      "a"                "a"                        "b"
pavlova lutheri
      "c"

```

Nota. Resultado de R commader.

3.1.4 Evaluación de las dietas de microalgas en metamorfosis

Los datos de metamorfosis se tomaron pasando un día. Se observó desde el día 3, que el tratamiento “mix de algas” tenía una metamorfosis más rápida ya que el 60% de su población ya había cambiado al estadio Zoea 2 (ver Figura 11 - Porcentaje de Metamorfosis día 3), mientras que los tratamientos de *Chaetoceres gracillis* y *Chaetoceres muelleri* solo el 50% de su población, y con *Pavlova lutheri* no había cambiado de estadio, mostrando un retraso en su desarrollo. Al quinto día el tratamiento “mix de algas” mantiene la delantera con la población presentando 3 etapas de metamorfosis (15% zoea 1, 75% en zoea 2, 10% en zoea 3). Los tratamientos con *Chaetoceres* presentaron desarrollos similares manteniéndose con un 70%-80% de Zoea 2, mientras que *Pavlova lutheri* presentaba aún un retraso en el desarrollo. (ver Figura 12 - Porcentaje de Metamorfosis día 5). Al séptimo día, el tratamiento de *Pavlova lutheri* no mostraba avance, quedándose estancada en Zoea 1. En contraste el tratamiento de *Chaetoceres gracillis* cambió más rápido en comparación de los otros tratamientos (ver Figura 12 - Porcentaje de Metamorfosis día 5). Para los siguientes días se descartó la población del tratamiento de *Pavlova lutheri* ya que presentó elevada mortalidad. Para ese tiempo, el tratamiento del “mix de algas” había avanzado a un siguiente (Zoea 4), mientras que los

tratamientos de *Chaetoceros gracillis* y *Chaetoceros muelleri* presentaron un retraso en el cambio de fase. tratamientos (ver Figura 14 - Porcentaje de Metamorfosis día 10). Para el último día del experimento, solo se contó con población de un solo tratamiento (mix de algas), y lográndose llegar con un 30% de la población a la etapa de Megalopa y con un 70% de Zoea 5 (ver Figura 16 - Porcentaje de Metamorfosis día 16).

Figura 10

Porcentaje de Metamorfosis día 1

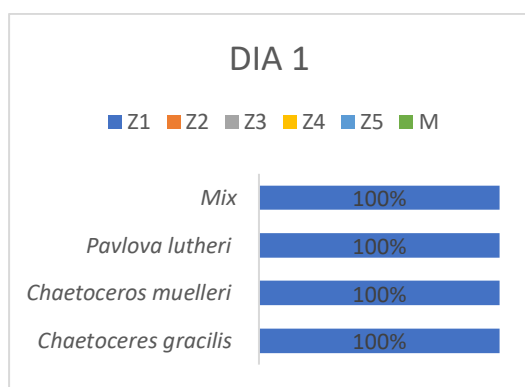
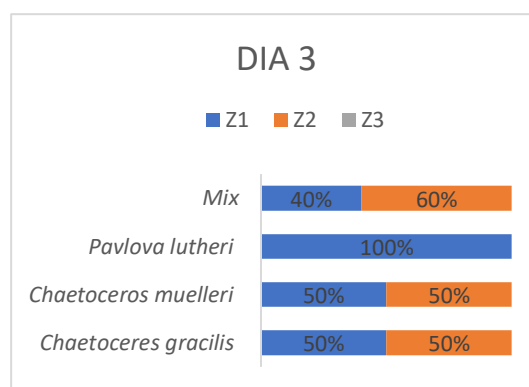


Figura 11

Porcentaje de Metamorfosis día 3



Nota. Con color azul porcentaje de larvas que llegaron a zoea 1 y naranja zoea 2.

Figura 12

Porcentaje de Metamorfosis día 5

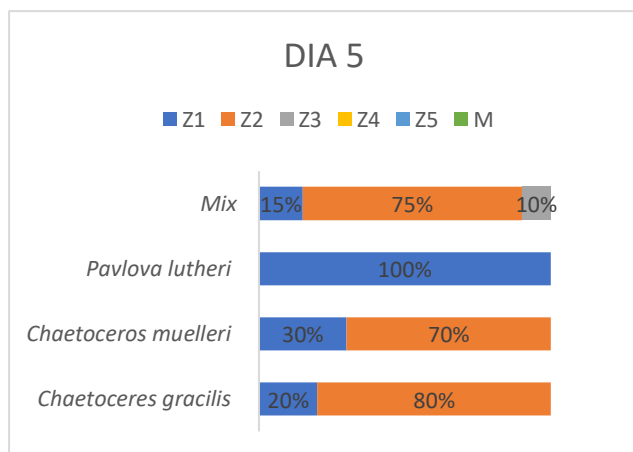
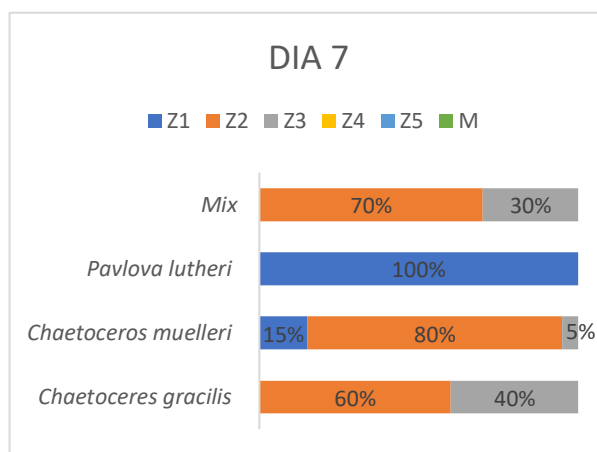
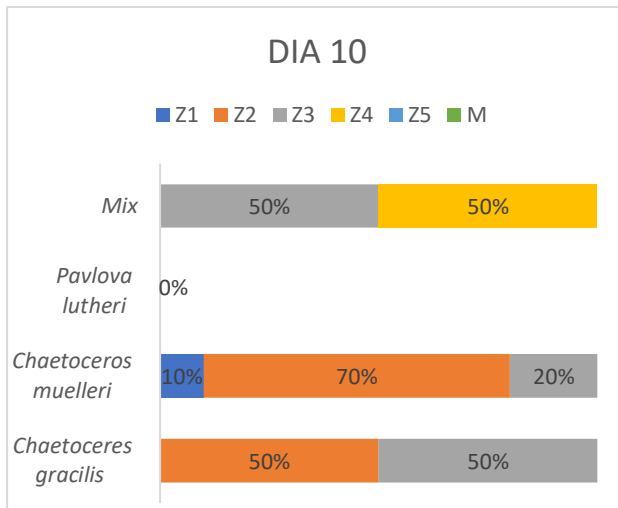
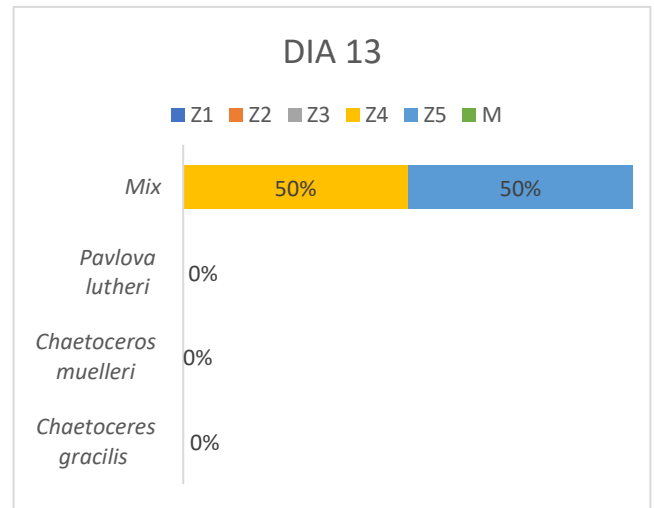


Figura 13

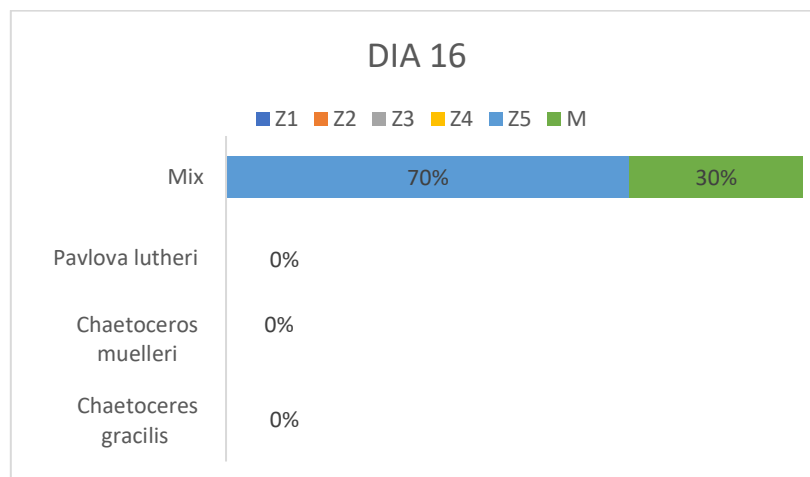
Porcentaje de Metamorfosis día 7



Nota. Con color azul porcentaje de larvas que llegaron a zoea 1, naranja zoea 2, y plomo zoea 3

Figura 14*Porcentaje de Metamorfosis día 10***Figura 15***Porcentaje de Metamorfosis día 13*

Nota. Con color azul porcentaje de larvas que llegaron a zoea 1, naranja zoea 2, plomo zoea 3, amarillo zoea 4, y celeste zoea 5.

Figura 16*Porcentaje de Metamorfosis día 16*

Nota. Con color azul porcentaje de larvas que llegaron a zoea 1, naranja zoea 2, plomo zoea 3, amarillo zoea 4, celeste zoea 5 y verde megalopa.

3.1.5 Perfil nutricional de ácidos grasos en cada estadio larvario

La Tabla 5 presenta datos sobre el perfil de ácidos grasos de cada estadio larvario, clasificados y marcados de la misma manera que los datos de las Tablas 3 y 4. Los datos mostraron que los ácidos mirístico, palmítico, margárico, esteárico, palmitoleico, oleico, 16:2(n-4), linoleico (cis, cis) y linoleico, estaban presentes a lo largo de todo el desarrollo larvario de *U. occidentalis* por lo cual se deduce que son necesarios para cumplir con toda la etapa de crecimiento. Estos ácidos grasos fueron aportados en mayor parte por las 3 microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Chaetoceros muelleri*, y *Pavlova lutheri*, y por el zooplancton artemia y rotífero. El ácido araquídico aportado por *Pavlova lutheri* y el ácido 21:5(n-3) aportado por el rotífero, no fueron detectados (N.D.) en ningún estadio.

Tabla 5

Perfil de ácidos grasos de cada estadio larvario (larvas de tratamiento mix)

Saturados	Huevo	Zoea 1	Zoea 2	Zoea 3	Zoea 4	Zoea 5	Megalopa	Nombre común
12:0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	19,84	16,54	N.D.	Ácido Láurico
14:0	1,68	2,29	4,11	5,74	2,11	1,62	1,65	Ácido mirístico
14:01	0,41	0,49	N.D.	N.D.	0,39	N.D.	N.D.	Ácido miristoleico
15:0	0,88	0,94	N.D.	0,85	N.D.	N.D.	N.D.	Ácido pentadecílico
16:0	25,29	25,76	27,72	28,52	15,62	15,69	18,33	Ácido palmítico
17:0	2,57	2,89	2,43	5,78	2,26	2,93	3,41	Ácido margárico
18:0	7,04	7,46	9,96	10,71	8,34	7,73	8,9	Ácido esteárico

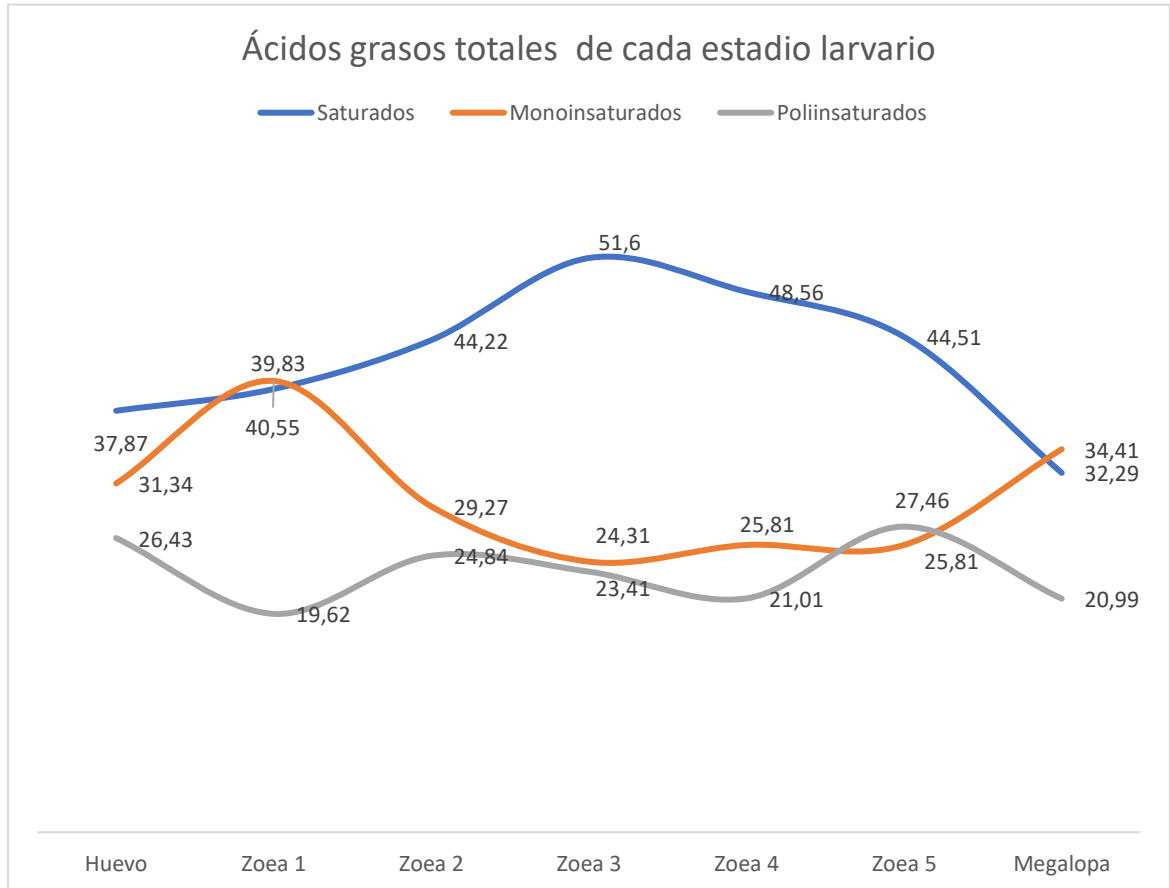
20:0	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	Ácido araquídico
Monoinsaturados								
Cis-16:1(n-9)	11,17	10,71	5,8	7,09	6,73	6,81	7,24	Ácido palmitoleico
Cis-18:1(n-9)	20,17	23,37	19,18	14,78	19,08	15,86	23,69	Ácido oleico
20:1(n-9)	N.D.	6,47	4,29	2,44	N.D.	3,14	3,48	
Poliinsaturados								
16:2(n-4)	1,70	2,13	0,35	0,94	1,21	1,44	1,75	
cis, cis 18:2(n-6)	12,64	9,36	3,98	3,47	4,52	8,08	4,84	Ácido linoleico (cis, cis)
18:3(n-3)	13,79	7,37	1,42	0,88	4,35	5,87	11,70	Ácido linoleico
18:4(n-3)	0,70	0,76	0,70	0,42	N.D.	N.D.	0,96	
21:5(n-3)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
20:5(n-3) EPA	0,00	0,00	5,23	8,56	10,14	8,37	7,53	Ácido eicosapentaenoico
22:4(n-6)	0,00	0,00	0,95	2,2	0,00	N.D.	0,00	
22:4(n-3)	0,00	0,00	5,72	0,92	4,51	1,67	0,63	
22:5(n-3)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	N.D.	0,00	
22:6(n-3) DHA	0,00	0,00	3,88	2,03	0,00	2,20	1,7	Ácido docosaheptaenoico
20:4(n-6)+	N.D.	N.D.	4,26	3,99	0,79	2,03	4,21	Ácido araquidónico

Nota. Se diferencia por colores mayor cantidad de ácidos grasos (azul) y menor cantidad (verde).

Se realizó la sumatoria de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados para obtener la Figura 17. En esta figura se evidenció que las etapas de huevo, zoea 2, 3, 4 y 5 contenían

mayores cantidades de ácidos grasos saturados, mientras que zoea 1 y megalopa tenían más ácidos grasos monoinsaturados. Los ácidos grasos poliinsaturados se detectaron en menor cantidad en casi todas las etapas, excepto en zoea 5 en donde parecía tener un poco más de influencia. Con esto se confirmó que para el desarrollo temprano de *U. occidentalis* es necesario una alimentación con alto contenido de ácidos grasos saturados, es por esto que los tratamientos con la microalga *Pavlova lutheri* fueron los primeros en mostrar una alta tasa de mortalidad larval, mientras que el tratamiento “mix de algas”, con alta concentración de los 3 tipos de ácidos grasos, ayudó a las larvas a cumplir con su ciclo.

Los ácidos grasos que se encontraron en mayor concentración fueron ácido palmítico (saturado), oleico (monoinsaturado) y linoleico (poliinsaturado), lo cual coincide con los resultados de un estudio realizado sobre la composición química del camarón *Macrobrachium jelskii* (Ramírez, 2010). En este estudio se recalca que la presencia de ácidos grasos esenciales EPA en larvas de crustáceo puede ayudar a incrementar la supervivencia de las larvas, debido a que está relacionado al fortalecimiento del sistema inmune, lo cual también explica que usar como tratamiento solo a *Pavlova lutheri* no es la mejor opción, ya que aporta mínimas cantidades de este ácido graso (ver - Tabla 3).

Figura 17*Ácidos grasos de los estadios larvarios*

Capítulo 4

4.1 Conclusiones y Recomendaciones

4.1.1 Conclusiones

- El tratamiento de “mix de algas” demostró ser el más eficaz en términos de metamorfosis. Este tratamiento fue el único en completar todo su desarrollo larvario, permitiendo observar todas las etapas de desarrollo. Los otros tratamientos monoalgales fueron insuficientes para permitir completar el ciclo larval.
- El mayor aporte nutricional fue logrado con la combinación de todas las microalgas evaluadas. Cada especie de algas fue seleccionada por su contenido y diversidad de ácidos grasos, lo que se evidenció en el perfil lipídico de la última fase de la larva.
- Para la variable supervivencia, ambos tratamientos con *Chaetoceros* mostraron una supervivencia similar probablemente debido a su alto nivel de ácidos grasos en comparación con *Pavlova lutheri*. Los ácidos grasos juegan un rol importante en la supervivencia debido a su influencia en el sistema inmune. Por lo antes mencionado, el tratamiento “mix de algas” presentó mayor supervivencia.

4.1.1 Recomendaciones

- Incorporar el uso de vitamina C o probióticos como apoyo al sistema inmune.
 - Mantener las condiciones de cultivo con la menor cantidad de detritus para evitar contaminación a las larvas por degradación de materia orgánica (heces).
 - Modificar el método de recambio de agua para reducir el estrés de las larvas.
- Se debe evitar en lo posible sacar las larvas de los contenedores de experimentación.
- Reducir al máximo las variaciones de temperatura.

- Continuar con las investigaciones en la alimentación de larvas considerando otros alimentos a diferentes tiempos de desarrollo para ayudar al perfil lipídico de las larvas de *Ucides occidentalis*.

Referencias

- Abalde J, Cid A, Fidalgo J, 2000, Microalgas: Cultivo y Aplicaciones. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/25013/Abalde_Julio_1995_Microalgas_cultivo_aplicaciones.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Alemán Dyer, Carlos & Peña, Maria & Icaza, Xavier & Gaibor, Nikita. (2019). Aspectos biológicos y pesqueros del cangrejo rojo (*Ucides occidentalis*) en el Golfo de Guayaquil.
- Allen, A. E., Ward, B. B. y Song, B. 2005. Characterization of diatom (Bacillariophyceae) nitrate reductase genes and their detection in marine phytoplankton communities. *Journal of Phycology*. 41: 95-10
- Andrée De Cock, Marie Anne Eurie Forio, Bruno De Meulenaer, Filip Tack, Luis Dominguez-Granda, Peter L.M. Goethals, The nutritional quality of the red mangrove crab (*Ucides occidentalis*), harvested at two reserves in the Guayas estuary, *Food Chemistry*, Volume 401,2023,134105,ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134105>.
- Anger, K., Harms, J., & Bakker, C. (1999). Synopsis of knowledge on growth, morphology, and reproduction of the mangrove crab *Ucides occidentalis* (Decapoda: Brachyura: Ocypodidae) in Northeast Brazil. *Invertebrate Reproduction & Development*, 36(1-3), 211-222. doi: 10.1080/07924259.1999.9652490
- Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae: their development and commercialisation. *Journal of applied phycology*, 25(3), 743-756.

- Cambeafort, S. (2009). Efecto de las microalgas chaetoceros gracilis, tetraselmis sp.e isochrysis galbana sobre la reproducción y desarrollo naupliar en copepodos calanoideos marinos tropicales, acartia spp. [TESIS]. Escuela Superior Politécnica del Litoral
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, 25(3), 294-306.
- Colavite J, Tavares M, Braga de Mendonça M, Santana. W (2021) The First Zoeal Stage of *Johngarthia lagostoma* (H. Milne Edwards, 1837) (Crustacea: Brachyura: Gecarcinidae), with Comments on the Validity of the Genus. *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* 37:2, pages 767-773.
- Cottens K, Silva U, Ventura R, Ramos F. 2014. Cultivo de larvas de *Ucides cordatus* (LINNAEU, 1763) sobre diferentes intensidades luminosas. <https://doi.org/10.1590/1678-6675>
- Cuadrado, J.; Parrales, L. (2022). Protocolo para desove de hembras ovadas *Ucides occidentalis* en condiciones de laboratorio. [TESIS]. Escuela Superior Politécnica del Litoral
- Cumbicos Ortega, D. O., Quimi Oyola, E. J., & Neira Roman, M. P. (2022). Embryonic analysis and larval culture of *Ucides occidentalis*. *Universidad Ciencia Y Tecnología*, 26(114), 118-124. <https://doi.org/10.47460/uct.v26i114.596>
- De Almeida Oliveira, R. B., Bezerra, L. E. A., & Costa, R. M. (2021). Development of the mangrove crab *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Decapoda: Brachyura: Ucididae) Zoea I under laboratory conditions. *Revista Brasileira de Zoociências*, 22(e20212041). doi: 10.3897/rbz.22.e20212041
- Flores-Coto, C., & Beltrán-Torres, A. U. (2016). Dieta de los cangrejos *Ucides occidentalis* (Crustacea: Ucididae) en un manglar de la costa del Pacífico mexicano. *Hidrobiológica*, 26(3), 447-454. doi: 10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2016v26n3/Flores
- García. R, Risco. M. (2014). Diversidad genética y estructura genética poblacional del cangrejo del manglar (*Ucides occidentalis*) utilizando la región de control mitocondrial y el gen citocromo

oxidasa 1. Tumbes, Universidad Nacional de Tumbes.
<http://repositorio.untumbes.edu.pe/handle/20.500.12874/142>

García-Galano, T. 2000. Nutrición de larvas de camarón. pp 42-52 En: Civera-Cerecedo, R., Pérez-Estrada, C.J., RicqueMarie, D. y Cruz-Suárez, L.E. (Eds.) Avances en Nutrición Acuícola IV. Memorias del IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Noviembre 15-18, 1998. La Paz, B.C.S., México.

González-Félix, Mayra & Gatlin, Delbert & Lawrence, Addison & Perez Velazquez, Martin. (2002). Effect of dietary on essential fatty acid requirements and tissue lipid composition of *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture*. 207. 151-167. 10.1016/S0044-8486(01)00797-9.

Google (s.f.). [Ubicación del Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas]. Recuperado el 1 de junio de 2023.

Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. (2023, 3 15). RED DE ESTACIONES AUTOMÁTICAS HIDROMETEOROLÓGICAS. <http://186.42.174.236/InamhiEmas/>

Jusoh, M., Kasan, N. A., Hashim, F. S., Haris, N., Zakaria, M. F., Mohamed, N. N., Rasdi, N. W., Abd Wahid, M. E., Katayama, T., & Takahashi, K. (2020). Isolation of freshwater and marine indigenous microalgae species from Terengganu water bodies for potential uses as live feeds in aquaculture industry. *International Aquatic Research*, 12(1), 74-83. doi: 10.22034/iar(20).2020.671730

Lemus, N., Urbano, T., Arredondo-Vega, B., Guevara, M., Vásquez, A., Carreón-Palau, L., & Vallejo, N. (2006). Growth and biochemical profile of *Chaetoceros muelleri* cultured in batch and semicontinuous systems. *Ciencias Marinas*, 32(3), 597–603.
<https://doi.org/10.7773/cm.v32i3.1119>

- Marquez Cevallos, Jordan Joel (2022). Análisis del estadio de madurez sexual del cangrejo rojo de manglar *Ucides occidentalis* en el Golfo de Guayaquil - Ecuador, durante el periodo 2016-2021. La Libertad. UPSE, Matriz. Facultad de Ciencias del Mar. 59p.
- Mendoza Avilés, Henry Emilio, Aranda de la Torre, Karen Geraldine, & Romero Aguirre, Carlos Olmedo. (2019). Análisis de los canales de comercialización que inciden en la captura del cangrejo rojo (*Ucides Occidentalis*) de la “Asociación de cangrejeros 6 de julio” del Golfo de Guayaquil. *Revista Universidad y Sociedad*, 11(1), 93-100. Epub 02 de marzo de 2019. Recuperado en 16 de marzo de 2023, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2218-36202019000100093&lng=es&tlng=es.
- Ministerio de Gobierno. (n.d.). *Policía Ambiental controlará que se respete la veda del cangrejo – Ministerio de Gobierno*. Retrieved June 2, 2023, from <https://www.ministeriodegobierno.gob.ec/policia-ambiental-controlara-que-se-respete-la-veda-del-cangrejo/>
- Ministerio de Producción, Comercio Exterior, Inversiones y Pesca, 2023, Periodo de vedas Ecuador 2023-2024. <https://www.produccion.gob.e>
- Montero-Sánchez, Yatalí & Gallo, Araíz & Gómez Luna, Liliana & Álvarez Hubert, Inaudis & Sabina, Leonor & Tambara Hernandez, Yanet & Alvarez Gonzalez, Alberto & Ramírez, Marlén. (2012). Productividad de Lípidos y composición de ácidos grasos de cinco especies de microalgas. *Investigación y Saberes*. 1. 37.
- Ngan, P. V., & Campos, M. R. (2010). Zoeal morphology of the red mangrove crab *Ucides cordatus* (L.) (Brachyura: Ocypodidae) from the Caeté estuary, Northern Brazil. *Zoologia*, 27(1), 45-52. <https://doi.org/10.1590/s1984-46702010000100007>
- Ortmann, A. E. (1897). Carcinologische Studien. *Zoologische Jahrbücher, Abteilung für Systematik, Geographie und Biologie der Thiere*. 10(3): 258-372, pl. 17

- Poma, C.E.; Bocanegra, C.A. (1997). Observaciones sobre la dinámica poblacional y pesquería del cangrejo de los manglares *Ucides occidentalis* (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae) en Tumbes, Peru = Observations on population dynamics and fishery of mangrove crab *Ucides occidentalis* (Decapoda, Brachyura, Ocypodidae) from Tumbes, Peru. *Gayana Oceanol.* 5(2): 95-105
- Ramírez, Enmary, Silva, Annie, Guevara, Miguel, Núñez, Maximiano, Bauza, Richard, & Arredondo-Vega, Bertha. (2010). Composición bioquímica del camarón dulceacuícola *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) sometido a condiciones de cultivo. *Zootecnia Tropical*, 28(1), 65-72. Recuperado en 11 de agosto de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692010000100009&lng=es&tlng=es.
- Ramos, Fabrício. (2014). Cultivo de larvas de *Ucides cordatus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 66. 1464-1470.
- Solano, F.; Flores, L.; Ruiz, W. 2023. Capturas de cangrejo rojo *Ucides occidentalis* en los puertos de la provincia del Guayas y El Oro, Ecuador, durante 2009. *Boletín Científico y Técnico*, 20 (8), p. 1-15. INP (Ecuador)
- Vega, Angel & Mena, Carolina & Robles, Yolani. (2018). PESCA ARTESANAL DE *Cardisoma crassum* (Cangrejo) y *Ucides occidentalis* (Mangote) EN EL SECTOR NORORIENTAL DEL GOLFO DE MONTIJO, PACIFICO DE PANAMA. 20. 2.
- Volkman, J. K., Jeffrey, S. W., Nichols, P. D., Rogers, G. I., & Garland, C. D. (1989). Fatty acid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol.128, 219-240
- Wang Y, Tibbetts SM, McGinn PJ. Microalgae as Sources of High-Quality Protein for Human Food and Protein Supplements. *Foods*. 2021 Dec 4;10(12):3002. doi: 10.3390/foods10123002. PMID: 34945551; PMCID: PMC8700990.

Zambrano, R., Meiners, C., Lince, R. G., & Juan, A. (2018). Notas sobre taxonomía, biología y pesquería de *Ucides occidentalis* (Brachyura: Ocypodidae) con énfasis en el Golfo de Guayaquil, Ecuador. *Revista Peruana de Biología*, 25(1), 55–66.
<https://doi.org/10.15381/RPB.V25I1.13821>