



**ESCUELA SUPERIOR
POLITECNICA DEL LITORAL
FACULTAD DE INGENIERIA MARITIMA
Y CIENCIAS DEL MAR
ACUICULTURA**

**Comparación de los niveles de ácidos grasos esenciales en
las larvas silvestres *Penaeus vannamei* en las Zonas de
Santa Elena (San Pablo) y Esmeraldas (Tonchigue)**

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del título de:

ACUICULTOR

Presentada por:

Raúl A. Guartatanga I.

Guayaquil - Ecuador

1993

AGRADECIMIENTO

Quisiera dejar expreso mi más sincero agradecimiento a las personas que desde el inicio, durante y después de la culminación de mi carrera universitaria, me apoyaron decididamente en la consecución de una de las principales metas de mi vida, ahora reflejada en la sustentación de esta tesis.

Gracias a mis padres por el sacrificio generado en el afán de brindarme la mejor educación e infundirme el ánimo necesario para seguir siempre adelante, a mi esposa e hija por la comprensión y apoyo durante los últimos años de estudio, a mis maestros y amigos por los conocimientos inculcados y la amistad incondicional en los buenos y malos momentos, gracias a mi gran amiga Aurora por su invaluable ayuda en la ejecución de esta tesis.

Mi respeto y agradecimiento a mi Director de tesis, Dr. Jorge Calderón V. por su guía en el desarrollo de la misma, orientada siempre hacia la exposición de los mejores resultados.

De igual manera me gustaría dejar constancia de mi agradecimiento a las siguientes personas que colaboraron con sus revisiones críticas, al desenvolvimiento de esta tesis:

- Ing. Andrés Pedrazolli Reyes

Coordinador del Dep.
de Nutrición del CENAIM.

- Q. F. Nelson Montoya V. Jefe Lab. Cromatografía del CENAIM
- Dra. Elba M. Camba C. Catedrática de la Universidad Estatal de Guayaquil.
- Dr. Marco Araujo Ph. D. en Nutrición de camarones.
- Dr. Pablo Intriago Investigador del Lab. de camarones AQUALAB.
- Dr. Franklin Ormaza Investigador del CENAIM
- Dra. Ana Milstein Fish and Aquaculture Research Station.
- Ing. Hector Ayon J. Director del Departamento de Educación Continua - ESPOL

DEDICATORIA

A LA MEMORIA DE MI MAESTRO **“EDGAR ARELLANO
MONCAYO”**, GESTOR Y FUNDADOR DE CENTRO
NACIONAL DE ACUICULTURA E INVESTIGACIONES
MARINAS (CENAIM).

DECLARACION EXPRESA

"La responsabilidad por los hechos, ideas y doctrinas expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y, el patrimonio intelectual de la misma, a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Exámenes y Títulos profesionales de la ESPOL).



Raúl Guartatanga I.



Ing. Jorge Faytong D.
Presidente del Trubunal



Jorge Calderón V., Ph D
Director de Tesis



M.Sc. Victor Osorio C.
Miembro Principal



Dra. Nelly Camba C.
Miembro Principal

RESUMEN

El presente trabajo fue llevado a cabo con el objeto de determinar y comparar los niveles de ácidos grasos esenciales (HUFAS) en las larvas silvestres del camarón *Penaeus vannamei* en las aguas aledañas a las zonas de San Pablo (Provincia del Guayas) y Tonchigue (Provincia de Esmeraldas).

Las muestras fueron adquiridas mediante la compra a los larveros en las zonas anteriormente mencionadas durante el período comprendido entre Marzo de 1990 y Marzo de 1991, en cuyo lapso se realizaron 45 colectas de las cuales 23 fueron obtenidas en San Pablo y 22 en Tonchigue.

Previo a la realización de los análisis correspondientes, las muestras fueron sometidas a un proceso de limpieza y clasificación a nivel de especie, luego fueron almacenadas en congelación hasta su posterior análisis lipídológico. La técnica de extracción de lípidos empleada en este trabajo fue la de Bligh and Dyer (1959), y los procesos posteriores de saponificación y metilación se realizaron con el objeto de obtener un extracto que a continuación era inyectado en el Cromatografo de gas.

Los resultados de los cromatogramas fueron expresados en porcentaje de área y agrupados por zonas y meses de muestreo.

Además de la comparación de los datos entre las zonas, se realizó una comparación entre las épocas seca y húmeda, estableciéndose la primera de ellas entre los meses de Marzo y Noviembre, y la segunda entre Abril y Diciembre.

Se logró determinar que no existe diferencia significativa de los ácidos grasos poli-insaturados (18:2n-6, 18:3n-3 y 20:5n-3) de las larvas silvestres *P. vannamei* entre las Zonas de San Pablo y Tonchigue, pero si la hay para el ácido graso 22:6n-3 (docosahexaenoico), siendo éste ligeramente mayor en San Pablo que en Tonchigue.

La variación en la concentración de los PUFAS de la larvas silvestres no fue muy marcada entre zonas, pero se encontró una diferencia significativa en los HUFAS (20:5n-3 y 22:6n-3) entre los meses; la concentración del 20:5n-3 en las larvas silvestres durante los meses de Enero, Febrero y Marzo fue menor que durante los restantes meses del año; de igual forma durante los meses de Noviembre y Enero los valores promedios del 22:6n-3 fueron más bajos que en el resto del año.

Se pudo comprobar que los modelos de ácidos grasos esenciales de las larvas silvestres *P. vannamei* encontrados en diferentes épocas del año difieren muy poco unos de otros y únicamente se pudo determinar una diferencia muy significativa para el ácido docosahexaenoico, registrándose una concentración mas elevada durante la época seca que en la húmeda.

INDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN	VI
INDICE GENERAL	VIII
INDICE DE FIGURAS	X
INDICE DE TABLAS	XI
INTRODUCCION	12
I.- LOS LIPIDOS	17
1.1 Características	17
1.2 Clasificación	18
1.2.1 Lípidos simples	18
1.2.2 Lípidos compuestos	18
1.2.3 Otros lípidos compuestos	19
1.2.4 Derivados de los lípidos	20
1.3 Acidos grasos.- Clasificación.	20
1.3.1 Acidos grasos saturados.	21
1.3.2 Acidos grasos insaturados.	22
1.4 Síntesis de ácidos grasos	23
1.5 Requerimientos de ácidos grasos en crustáceos	24
II.- COLECTA, ALMACENAMIENTO Y SELECCION	
DE MUESTRAS	29
2.1 Selección de los sitios de colecta de larvas	29
2.1.1 Zona de San Pablo	32

	Pag.
2.1.2 Zona de Tonchigue	33
2.2 Operaciones de muestreo.....	34
2.2.1 Captura de larvas silvestres	35
2.2.2 Manejo de larvas silvestres	37
2.2.3 Almacenamiento de las larvas y transporte	38
2.2.4 Limpieza y clasificación de larvas	39
2.3 Determinación de lípidos	40
III.- ANALISIS Y EVALUACION DE RESULTADOS	42
3.1 Presentación de datos	42
3.2 Análisis estadístico y discusión de datos	53
CONCLUSIONES	59
RECOMENDACIONES	62
BIBLIOGRAFIA	64

INDICE DE TABLAS

	Pag.
Tabla # I.- Resultados mensuales de los PUFAS de las larvas silvestres de San Pablo	47
Tabla # II.- Resultados mensuales de los PUFAS de las larva silvestres de Tonchigue	47
Tabla # III.- Promedios y desviación estándar anual de los PUFAS obtenidos en las zonas de estudio	48
Tabla # IV.- Características principales de los ácidos grasos en penaeidos	48
Tabla # V.- Resultados del análisis de varianza de los ácidos grasos esenciales entre zonas vs meses y Multicomparación de medias	55
Tabla # VI.- Resultados del análisis de varianza de los ácidos grasos esenciales entre zonas vs épocas y Multicomparación de medias	57

INTRODUCCION

En el Ecuador la actividad del cultivo de camarón ha experimentado un crecimiento que se manifiesta en un incremento de la cantidad de hectáreas dedicadas al cultivo de este crustáceo. Existen aproximadamente 120.000 ha. de piscinas de cultivo de camarón en la costa ecuatoriana, repartidas así: 71.1% en Guayas, 18.1% en El Oro, 7.7% en Manabí, 3.0% en Esmeraldas (Chu y Kungvanki, 1990).

Estas piscinas camaroneras requieren de un permanente abastecimiento de larvas, las mismas que en determinadas épocas del año, debido a condiciones climatológicas, no pueden ser abastecidas por el medio natural. Con el objeto de satisfacer esta demanda se han instalado alrededor de 120 laboratorios de producción de larvas de camarón.

El cultivo de larvas de camarón en laboratorio presenta una serie de inconvenientes relacionados con la supervivencia y calidad de las post-larvas, los cuales están vinculados directamente con aspectos nutricionales y enfermedades, entre otros factores.

Con respecto a los problemas nutricionales, es importante señalar que debido a la falta de información en cuanto a los requerimientos nutricionales de la especie *Penaeus vannamei*, la mayoría de los

alimentos balanceados en el mercado podrían no satisfacer tales necesidades (Navarro, 1991).

Las características de una buena larva de laboratorio deben ser similares con las del medio silvestre. Para tal efecto las larvas *P. vannamei* del medio natural sirven de referencia.

Los lípidos son un grupo de compuestos que son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos como el éter, cloroformo, benceno. Entre sus funciones pueden mencionarse: 1) Son componentes esenciales de las membranas celulares de los crustáceos, 2) Son una fuente de ácidos grasos esenciales, y 3) Poseen propiedades para el mantenimiento de la flotabilidad natural de los organismos marinos. Por otro lado, los lípidos en la cutícula de los organismos acuáticos ayudan a controlar la permeabilidad del agua, así como ayudan a proteger a la región quitinosa de los ataques bacterianos, (Conklin, 1980).

Los lípidos contenidos en los alimentos proveen la mayor cantidad de energía metabólica en el proceso de la nutrición, siendo su aporte de 9.5 Kcal/g (Kanazawa *et. al.*, 1978), muy superior al de las proteínas y carbohidratos, además están representados en su mayor parte de ácidos grasos.

Los ácidos grasos poliinsaturados, en especial el ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) y el docosahexaenoico (22:6n-3) no pueden ser biosintetizados por las larvas, debiendo por lo tanto ser suministrados a través de la dieta (Kanazawa, 1988).

La fórmula general de los ácidos grasos es $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ en donde n representa el número de radicales metilo y tiene un sólo grupo carboxilo (COOH). Cuando en la cadena no existe un doble enlace se denominan ácidos grasos saturados; cuando la cadena posee un doble enlace son denominados monoinsaturados y con más de dos dobles enlaces son llamados ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS). Se denominan también como HUFAS, los ácidos grasos altamente poliinsaturados o de cadenas de carbonos superiores.

El análisis de ácidos grasos se lo realiza mediante cromatografía de gases, siendo actualmente una herramienta de gran utilidad en el manejo de la nutrición del camarón.

Los requerimientos de los ácidos grasos esenciales tales como el $18:3n-3$, $20:5n-3$ y $22:6n-3$ varían mucho entre diferentes especies de crustáceos y peces. Kanazawa y su grupo, han investigado la capacidad de ciertas especies de animales acuáticos para convertir ácidos grasos del grupo $18:3n-3$ a $20:5n-3$ y $22:6n-3$. Ellos han demostrado que los peces marinos y los camarones tienen una reducida habilidad para tal bioconversión, comparada con la de los organismos de agua dulce.

Los crustáceos marinos tienden a presentar niveles más altos de ácidos grasos de la serie linolénica ($n-3$) y grandes cantidades de PUFAS de los carbonos 20 y 22, que en crustáceos de agua dulce. En cambio, las especies de agua dulce contienen niveles más altos de ácidos grasos del tipo linoleico ($n-6$). Por lo tanto, se puede asegurar

que los ácidos grasos de la serie linolénica presentan un mayor grado de ácidos grasos esenciales (EFAS) en los crustáceos marinos, mientras que las especies de agua dulce requieren más ácidos grasos de la serie linoleica o una mezcla de ambos, (Castell, 1981).

En los organismos acuáticos se han detectado una serie de deficiencias o anomalías causadas por el exceso o carencia de lípidos. Casos como el incremento de la mortalidad, la degeneración del hígado, reducción de la capacidad de reproducción y crecimiento son ejemplos de dichas deficiencias. Por otro lado también existe un decrecimiento de la actividad enzimática, (Taylor, *et. al.*, 1979).

El ácido linoleico (18:2n-6) es un importante ácido graso esencial para los mamíferos, el mismo que es convertido a ácido araquidónico (20:4n-6) ejerciendo la más alta actividad como EFAS. Sin embargo, recientes investigaciones sobre estudios nutricionales de lípidos han mostrado que los ácidos grasos de la familia linolénica (n-3) son más importantes para los peces y crustáceos que aquellos de la familia linoleica (n-6), y que los HUFAS como el ácido eicosapentanoico (20:5n-3) y el docosahexaenoico (22:6n-3) poseen alta actividad como EFAS en el camarón *P. japonicus*, mejor que el 18:2n-6 y 18:3n-3, ya que este organismo convierte el 18:3n-3 a 20:5n-3 y 22:6n-3, (Kanazawa, 1978).

Los productores de camarón sostienen que existe una supervivencia mayor en los camarones provenientes de "semillas" o larvas del medio natural. Los datos señalan que en los años 1984-1985, por la gran escasez de larvas silvestres, el sector camaronero comenzó a

desarrollar lo que se ha denominado el "boom" de los laboratorios, para producir larvas en cautiverio. (Arellano,1986).

Por otro lado la larva es de menor calidad tanto en el laboratorio durante el manipuleo, así como en la misma camaronera por efecto del "stress" que no permite un crecimiento adecuado en tiempo y tamaño de las larvas de laboratorio en las piscinas camaroneras.

Uno de los parámetros que daría la pauta para establecer la calidad de las larvas es la de determinar el perfil de lípidos y su variación estacional tanto de larvas silvestres como de laboratorio, debido a que las condiciones ambientales cambian estacionalmente por lo que es necesario conocer también sus efectos sobre el perfil lipídico.

El objetivo principal de este trabajo es estudiar la composición y concentración de los ácidos grasos esenciales EFAS en las larvas silvestres del camarón *Penaeus vannamei* en las aguas aledañas a San Pablo (Provincia del Guayas) y Tonchigue (Provincia de Esmeraldas), y establecer si existen una diferencia en los niveles de ácidos grasos esenciales entre ambas zonas, que pueda ser definida como la causa de la diferencia de la calidad de la larva silvestre entre estas zonas de mayor captura de este crustáceo.

CAPITULO I

LOS LIPIDOS

1.1 CARACTERISTICAS

Los lípidos químicamente son definidos como compuestos orgánicos que son ésteres de los ácidos grasos, caracterizados por la presencia constante en su estructura molecular de compuestos parafínicos, insolubles en agua como son principalmente los ácidos grasos o cadenas similares derivadas.

Los lípidos se caracterizan por ser: a) Realmente insolubles en agua, b) Solubles en solventes no polares como el éter, el cloroformo y el benceno. Así pues incluyen grasas, aceites, ceras y compuestos relacionados.

Biológicamente, los lípidos son compuestos esenciales primarios, de las membranas celulares y subcelulares de los organismos, en donde cumplen funciones importantes.

Los lípidos sirven como vehículo biológico en la absorción de vitaminas liposolubles A, D, E, y K. Son además fuentes de ácidos grasos esenciales, los mismos que son indispensables para el mantenimiento e integridad de las membranas celulares; son fuente de esteroides esenciales, los mismos que desempeñan una amplia gama de funciones biológicas importantes. También

sirven como aislante térmico en el tejido subcutáneo y alrededor de ciertos órganos.

1.2 CLASIFICACION

Debido a la gran diversidad de estructuras y funciones, cualquier clasificación es considerada incompleta. La que todavía se utiliza divide a los lípidos en simples y complejos.

1.2.1 Lípidos simples

Están constituidos por Carbono, Hidrógeno y Oxígeno, y son los ésteres de ácidos grasos con diversos alcoholes.

a) Grasas: Esteres de ácidos grasos con el glicerol. Una grasa en estado líquido se conoce como aceite.

b) Ceras: Esteres de ácidos grasos con alcoholes monohídricos de peso molecular más elevado.

1.2.2 Lípidos compuestos

Están constituidos por Nitrógeno, Fósforo o Azufre y son los ésteres de ácidos grasos que contienen otros grupos químicos además de un alcohol y del ácido graso.

a) Fosfolípidos: Grasas substituidas que contienen, además de ácidos grasos y un alcohol, un residuo de ácido fosfórico.

Los fosfolípidos representan dentro del organismo, el segundo componente lipídico más abundante después de los triglicéridos (grasas y aceites). Todos los fosfolípidos son sólidos grasos de color amarillo, y solubles en solventes orgánicos, con excepción de la acetona (esta propiedad permite distinguirlos de los ácidos grasos).

Dependiendo de la base nitrogenada, los fosfolípidos pueden dividirse en dos grupos: lecitinas (la base nitrogenada es la colina) y cefalinas (la base nitrogenada es la estanolamina).

Kanazawa (1985) reportó que: 1) Los fosfolípidos que contienen colina o inositol, ejercen un efecto positivo sobre el crecimiento y supervivencia de los crustáceos 2) Aquellos fosfolípidos que contengan ácidos grasos 18:2n-6, 18:3n-3, 20:5n-3 y 22:6n-3 en las moléculas, son más efectivos para promover el crecimiento y supervivencia, y 3) La efectividad de los fosfolípidos parece depender de la naturaleza de los ácidos grasos localizados en las posiciones a y b de la molécula del fosfolípido.

b) Glicolípidos: Compuestos de ácidos grasos con carbohidratos, que contienen Nitrógeno, pero no ácido fosfórico.

1.2.3 Otros lípidos compuestos

Incluyen a los sulfolípidos y a los aminolípidos. Dentro de esta categoría también se incluyen a las lipoproteínas.

1.2.4 Derivados de los lípidos

Substancias obtenidas por la hidrólisis de los compuestos de los grupos mencionados anteriormente. En estas substancias se encuentran los ácidos grasos (tanto saturados como no saturados), el glicerol, los esteroides, alcoholes, además de los esteroides, aldehídos grasos y cuerpos cetónicos.

Debido a que no poseen carga eléctrica, los glicéridos (acilglicerol), el colesterol y los ésteres de colesterol son llamados **lípidos neutros**.

1.3 ACIDOS GRASOS.- CLASIFICACION.

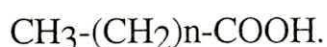
Los ácidos grasos se obtienen por la hidrólisis de las grasas y son los constituyentes cuantitativamente importantes de los lípidos, y se encuentran en su casi totalidad en forma combinada con alcoholes o grupos aminos, integrando ésteres o amidas.

Los ácidos grasos que existen en las grasas naturales generalmente contienen un número par de átomos de carbono (porque son sintetizados a partir de unidades de 2 carbonos) y son de cadena lineal. La cadena puede ser saturada (es decir, sin

dobles ligaduras) o no saturada (con una o más dobles ligaduras).

1.3.1 Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados son aquellos que no poseen dobles ligaduras en su cadena y teóricamente se pueden considerar como provenientes del ácido acético que sería el primer miembro de la serie (C_2), el cual, en forma de acetil-coenzima A, da origen a todos los ácidos grasos y es a su vez el producto final de degradación de todos ellos. Los ácidos grasos saturados tienen la fórmula general:



También se han aislado, tanto de plantas como de animales, algunos ácidos grasos de cadena ramificada.

Sus propiedades físicas varían según el número de átomos de carbono, como en toda la serie homóloga. Los ácidos con menos de 10 átomos de carbono reciben convencionalmente el nombre de "ácidos grasos volátiles" ya que pueden ser destilados con vapor y con relativa facilidad, tales como el ácido propiónico (C_3) y el butírico (C_4). Los miembros con más de 10 átomos de carbono son sólidos a temperatura ambiente tal es el caso del cáprico (C_{10}), el láurico (C_{12}), el mirístico (C_{14}), el palmítico (C_{16}), el esteárico (C_{18}), el araquídico (C_{20}),

el behénico (C_{22}) y el lignocérico (C_{24}). La solubilidad en agua disminuye al aumentar la longitud de la cadena, y los ácidos con más de 10 átomos de carbono son prácticamente insolubles en agua.

1.3.2 Ácidos grasos insaturados.

Se caracterizan porque en la cadena hidrocarbonada aparece una doble unión $C = C$, lo cual, fuera de introducir una rigidez en la molécula, automáticamente complica la química de los ácidos grasos al aparecer dos tipos de isomerismo: de posición y geométrico cis-trans que confieren a su vez propiedades diferentes a los ácidos grasos. La presencia del doble enlace y su configuración en el espacio tienen un efecto notable en el punto de fusión de los ácidos grasos.

Los ácidos insaturados pueden ser monoinsaturados, es decir, poseen una sola doble ligadura en la molécula, o poli-insaturados con dos o más dobles enlaces. Los monoinsaturados se encuentran entre 10 y 22 átomos de carbono y los poli-insaturados entre 16 y 22 átomos de carbono.

La presencia del doble enlace origina además familias de ácidos grasos que tienen una misma estructura terminal y que les confieren propiedades y roles biológicos diferentes. Si se designa por la letra griega omega (ω) el

grupo metilo terminal de la cadena del ácido graso y desde allí se cuentan los carbonos hasta llegar al primer doble enlace, se obtienen las siguientes familias: ácido oleico (18:1w9), ácido linoleico (18:2w6), ácido linolénico (18:3w3), ácido cetoleico (22:1w11).

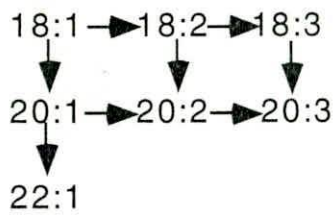
Otro tipo de nomenclatura que también se usa para designar a estas mismas familias es la notación n-m, en donde m es la posición del primer doble enlace a contar del grupo metilo terminal, en este caso la familia del ácido oleico se designa por 18:1n-9; la del linoleico por 18:2n-3 y la del linolénico 18:3n-3.

1.4 SINTESIS DE LOS ACIDOS GRASOS

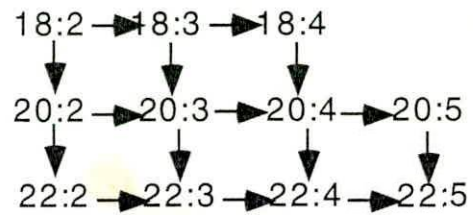
Es bien conocido que los lípidos representan la mayor fuente de energía entre todos los nutrientes, proporcionando aproximadamente 9.5 Kcal/g comparado con las 4 y 5 Kcal/g de carbohidratos y proteínas respectivamente. Los principales componentes de la mayoría de los lípidos son los ácidos grasos.

A diferencia del caracol terrestre (*Capaea nemoralis*), los animales son incapaces de sintetizar de novo ácidos grasos con dobles ligaduras en las posiciones n-6 (serie linoleica) y en la n-3 (serie linolénica); **únicamente los vegetales tienen esta capacidad de síntesis**. Sin embargo, la mayoría de los animales son capaces de sintetizar cadenas de ácidos grasos saturados a partir del acetato, o de adicionar 2 unidades de

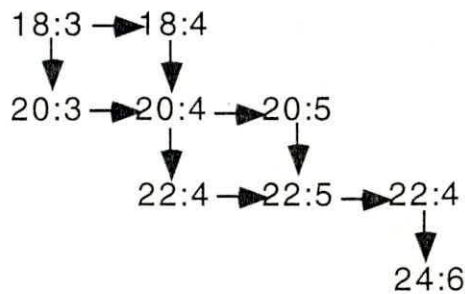
carbono al grupo carboxilo de un ácido graso y adicionar más dobles ligaduras en el mismo lado del grupo carboxilo, de las ya existentes, pero no del lado del grupo metilo (Castell *et al.*, 1982). Las rutas bioquímicas para la biosíntesis de ácidos grasos poli-insaturados, en peces y crustáceos se pueden resumir como sigue:



Acido oleico, n-9



Acido linoleico, n-6



Acido linolénico, n-3

Las flechas verticales muestran reacciones de elongación de cadena. Las flechas horizontales ilustran reacciones de desaturación

1.5 REQUERIMIENTOS DE ACIDOS GRASOS EN CRUSTACEOS

Se ha demostrado que los ácidos grasos juegan un papel importante no solamente como fuente de energía sino también

como nutrientes esenciales en peces y crustáceos. También se ha demostrado que los crustáceos tienen un requerimiento para los esteroides y fosfolípidos en contraste con otros animales acuáticos y mamíferos.

Debido a que los animales no tienen la capacidad metabólica para sintetizar de novo, ácidos grasos de las series n-6 y n-3, dichos ácidos grasos deberán ser incorporados en forma ya elaborada en la dieta; en el caso de los animales terrestres, se ha encontrado que las series linoleica (n-6) muestran la mayor actividad de ácidos grasos esenciales (EFAS), mientras que las series linolénica (n-3) tienen una actividad parcial de EFAS (Castell *et al.*, 1982). Consecuentemente los ácidos poliinsaturados (PUFAS) que predominan en los tejidos de los animales terrestres pertenecen a las series linoleica, a saber 18:2n-6 (ácido linoleico) y 20:4n-6 (ácido araquidónico).

Por el contrario los PUFAS más abundantes en los tejidos de peces y crustáceos, tanto para especies dulce-acuícolas como marinas, pertenecen a las series linolénica (n-3), mientras que los PUFAS de las series n-6 se presentan en una concentración más baja; sin embargo en especies dulceacuícolas se han reportado niveles mayores de la serie n-6; por lo que la salinidad parece ejercer una influencia importante sobre estos modelos de ácidos grasos (Castell *et al.*, 1982). Quizás esto no sea sorprendente si se considera que la dieta de peces de agua dulce contiene elementos derivados a partir de fuentes

terrestres, que consecuentemente son ricas en ácidos grasos de las series n-6. De manera general se considera que los ácidos grasos de la serie n-3, permiten un grado mayor de insaturación (requisito indispensable para una mayor fluidez de membranas, flexibilidad y permeabilidad a temperaturas bajas).

Los crustáceos son capaces de alargar y posteriormente desaturar ácidos 18:2n-6 o 18:3n-3 (dependiendo de la especie) al ácido graso altamente insaturado (HUFA) correspondiente: 20:4n-6 en el caso de las series n-6 y 22:5n-3 o 22:6n-3, en el caso de las series n-3. Se piensa que estos PUFAS son responsables de las funciones metabólicas atribuidas a los ácidos grasos esenciales. De hecho, para la mayoría de los crustáceos los HUFAS tienen una mayor actividad de EFAS que sus unidades básicas (18:2n-6 y 18:3n-3).

Kanazawa et al. (1979b) ha investigado la capacidad para la conversión de 18:3n-3 a 20:5n-3 y 22:6n-3 en varias especies de animales acuáticos y ha demostrado que los camarones y peces marinos tienen una baja habilidad para tal bioconversión que los peces de agua dulce. Estos resultados podrían explicar que los ácidos grasos de 20:5n-3 y 22:6n-3 son más efectivos como EFAS en camarones y peces marinos. Es probable que las diferencias en los requerimientos de ácidos grasos esenciales entre animales acuáticos sea debido primeramente, a la capacidad para la bioconversión de exógenos 18:3n-3 a ácidos

grasos altamente insaturados (HUFA) así como 20:5n-3 y 22:6n-3.

Jones *et al* (1979b), Teshima y Kanazawa (1984) puntualizaron la necesidad de n-3 HUFA para el crecimiento y supervivencia de los estados larvales del *P. japonicus*.

Middleditch *et. al.*, (1980) encontró que el camarón *Penaeus setiferus* no podía producir huevos al menos que la dieta contenga 20:5n-3 y 22:6n-3. Sin embargo, Morris *et. al.*, (1973), reportó que las larvas y juveniles de crustáceos marinos generalmente requieren otros niveles de ácidos grasos esenciales en sus lípidos que adultos de la misma especie.

Se pudo comprobar, en una serie de experimentos (Kanazawa *et al.*, 1977a; 1977b; 1979d; 1979e; Kayama *et. al.*, 1980), que tanto el 18:2n-6 como el 18:3n-3 mejoraron el crecimiento del *Penaeus japonicus* en comparación con dietas ausentes de grasas o sólo con ácidos oleicos. El valor nutritivo del ácido linolénico fue más alto que el del ácido linoleico. Aunque el camarón es capaz de alargar y saturar estos ácidos grasos, al parecer no es capaz de producir suficientes cadenas largas de ácidos grasos n-3, ya que el 20:5n-3 y el 22:6n-3 demostraron ser superiores al 18:3n-3 como suplemento dietético.

Read (1981) demostró para el *Penaeus indicus* que ninguna mezcla analizada de 18:2n-6 con 18:3n-3 era mejor que el 18:3n-3 sólo, pero que la suplementación de 18:3n-3 y 18:2n-6

con 20:5n-3 y 22:6n-3 dietéticos produjo crecimientos y supervivencia superiores a la suplementación con dietas bajas en grasas y con sólo estas cadenas largas de ácidos grasos n-3.

Los modelos de ácidos grasos en crustáceos varían del agua salada hasta el agua dulce, de temperaturas bajas a temperaturas altas, de un tejido a otro, etc. Es muy probable que estas diferencias reflejen la variaciones reales en los requerimientos de ácidos grasos esenciales.

Es claro que el requerimiento de ácidos grasos esenciales de cualquier organismo debería ser la suma de los requerimientos EFAS para la síntesis de cada clase de lípido importante de cada tejido y órgano. Esto se ve afectado por cambios en el organismo tales como crecimiento, maduración, reproducción y muda, y por parámetros ambientales tales como salinidad y temperatura.

CAPITULO II

COLECTA, ALMACENAMIENTO Y SELECCION DE MUESTRAS

2.1 SELECCION DE LOS SITIOS DE COLECTA DE LARVAS

La captura de larvas de camarón se realiza a lo largo de la costa ecuatoriana particularmente en las Provincias de Guayas, Esmeraldas y Manabí. En el Oro, la escala de captura es menor que en las Provincias anteriormente citadas, (McPadden, 1985).

El Ecuador disfruta de un clima tropical con agua cálida que provee condiciones ideales para el cultivo de camarón. La temperatura óptima para las especies tropicales del camarón prevalece durante todo el año en la mayoría de las áreas, con excepción de la parte sur del país, la cual está influenciada por la corriente fría del Humbolt.

Por lo general, la calidad del agua en el Ecuador es excelente; las pocas excepciones son las áreas adyacentes a las ciudades muy pobladas, a lo largo de la costa (Chua *et. al.*, 1990). Tiene un gran número de sistemas estuarinos con intercambio regular con el agua oceánica durante las mareas. La velocidad de la corriente de marea es de alrededor de 3 metros/segundo, lo que

asegura un rápido intercambio de agua y por lo tanto mantiene la buena calidad.

La mayor parte del suelo costero está constituido por arena fangosa, la cual es apropiada para la construcción de piscinas. El pH del suelo es ideal (neutro) y no está afectado por el contenido de sulfatos ácidos que prevalece en el sudeste asiático.

Para efectos de este estudio se escogieron dos sitios estratégicos en los cuales se realizaron los muestreos (fig. 1), que son San Pablo y Tonchigue, cada uno con características hidrográficas diferentes. San Pablo representa la Zona 1 de mayor captura de larvas en la Provincia del Guayas, (McPadden, 1985); además aquí se encuentran ubicados la mayor cantidad de laboratorios de camarones (55%) del litoral ecuatoriano.

La Zona 2 se encuentra representada por Tonchigue ubicada 40 Km al Sur de la capital de Esmeraldas. Es importante señalar que a lo largo de toda la costa de esta provincia se realiza una explotación de las larvas de camarones *Penaeidos*, pero Tonchigue es el lugar de mayor captura y concentración de pescadores.

Los cultivadores de camarón generalmente prefieren la postlarva silvestre, aunque no sea tan limpia como la de laboratorio y sea más difícil estimar su densidad de almacenamiento, porque

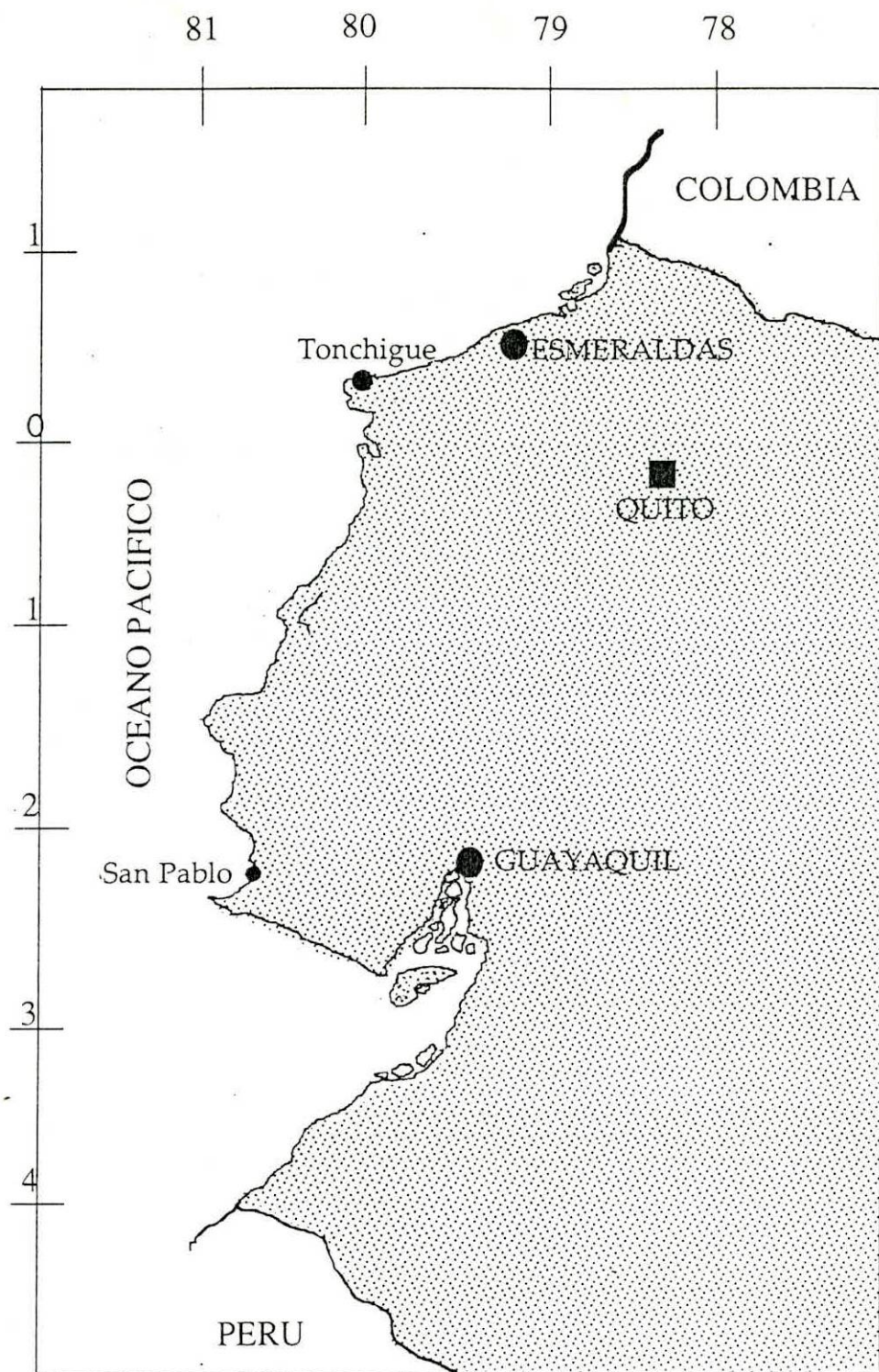


Fig. 1. Zonas de muestreo en el perfil costero ecuatoriano

consideran que es más saludable. Señalan además que las larvas de laboratorio son débiles y que tienen una alta mortalidad en las piscinas; sin embargo la escasez en la producción natural es cubierta por los laboratorios.

2.1.1 Zona de San Pablo

Esta zona se caracteriza porque durante el máximo de la estación de captura de larvas que va desde Diciembre a Marzo, la recolección de Penaeidos atrae a muchos pescadores eventuales, los cuales viven en campamentos improvisados a lo largo de toda la playa. El perfil costero de esta zona es arenoso, sin vegetación marina, pero con regulares cantidades de desechos orgánicos, y a lo largo del mismo se sitúan la mayor cantidad (70%) de laboratorios de larvas que existen en la Provincia del Guayas (fig. 2).



Fig. 2 Características de la zona de San Pablo

Es evidente que la colección de larvas está ocurriendo a través de todo el año, pero esta actividad tiende a decrecer desde Abril en adelante, considerando además que los larveros se retiran de esta zona en las épocas de veda de camarón.

2.1.2 Zona de Tonchigue

Tonchigue se caracteriza por tener un estero (Estero Tonchigue) en cuya área externa de los bordes se encuentra la playa (fig. 3), además hay una gran cantidad de manglares a lo largo del perfil costero de este sitio lo cual indica, según estudios realizados por (Cun *et. al.*, 1982), que estos sitios son áreas de acumulación de camarones.

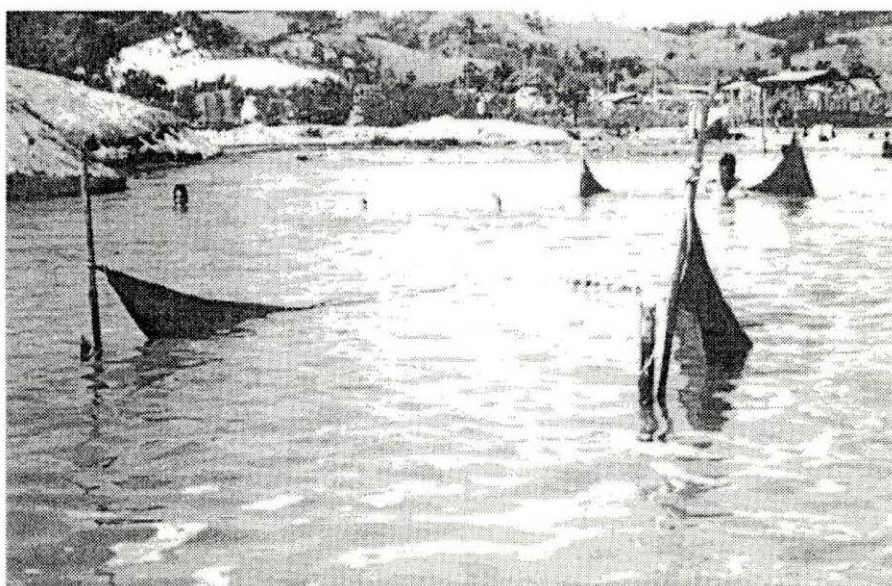


Fig. 3 Características de la zona de Tonchigue

La captura de larvas silvestres no es muy significativa en esta provincia, debido a que el área de cultivo es muy limitada y no existe presión en la demanda. Otra razón es la gran distancia que separa Esmeraldas de las áreas de mayores demandas (Guayas, El Oro) y la relativa abundancia de larvas que se ha apreciado en los últimos años en todo el frente costero.

Esmeraldas es, sin embargo, un área muy especial para la captura de reproductores, los laboratorios de esta zona trabajan en base a hembras ovadas y generalmente entregan nauplios a otros laboratorios del Guayas para su desarrollo hasta postlarvas.

En esta zona no se han registrado períodos de escasez en la captura de larvas ni de reproductores. La menor variación en la temperatura del agua de mar en relación a la que ocurre en las costas frente al Golfo de Guayaquil y hasta el cabo San Lorenzo (al sur de Manta) podría ser una condición favorable para la presencia de penaeidos.

2.2 OPERACIONES DE MUESTREO

Las muestras se obtuvieron por la compra a los larveros en los lugares ya establecidos, entre Marzo de 1990 y Marzo de 1991, en cuyo lapso se realizaron 45 colectas, de las cuales 23 fueron obtenidas en San Pablo y 22 en Tonchigue.

La colectas fueron previamente programadas, de acuerdo al estado de marea (en lo posible pleamar), tomando como guía la Tabla de Mareas emitido en el Instituto Oceanográfico de la Armada; se efectuaron durante los días de "aguaje" (sicigia y cuadratura), es decir dos muestras por mes en cada zona.

Las tasas de recolección son mayores durante las mareas altas bimensuales, cuando los camarones se concentran en las partes más bajas de los ríos y a lo largo de la playa. A medida que uno se mueve de norte a sur a lo largo de la costa ocurren variaciones en la abundancia natural; estas variaciones se presentan en cada estación (la temporada alta de pesca de postlarvas es de Diciembre a Marzo y la baja de Mayo a Octubre) y también de año a año. La abundancia de postlarva natural se incrementa notablemente cuando la corriente de El Niño se mueve hacia el sur (Chua *et. al.*, 1990).

2.2.1 Captura de la larva silvestre

En las orillas de los sitios mencionados se encuentran los pescadores de larvas (larveros o semilladores), los mismos que realizan la captura con redes de malla fina de varios diseños, dependiendo de la zona.

Los principales aparejos de recolección son las "redes de empuje" denominados piernon o tijera y vaca o trasmallo, estos artes de pesca son utilizados a lo largo de la orilla del mar durante las mareas altas en áreas donde

revientan las olas y son operados por una sola persona en el primer caso y por dos en el segundo.

En Tonchigue, además de realizar la captura de larvas de camarón con los métodos anteriormente mencionados, se efectúa con redes en forma de "bolsos" los mismos que son fijados a lo largo de la entrada del estero antes de que suba la marea. Este arte de pesca se lo realiza exclusivamente en esta zona.

Luego de la captura, las postlarvas se almacenan en contenedores plásticos y se las limpia antes de ser vendidas a los comerciantes intermediarios, quienes las transportan en camiones hasta las granjas de camarón.

Es conocido que la disponibilidad de postlarvas silvestres varía temporalmente de acuerdo a la estación y de año a año. Las condiciones climáticas durante los años de El Niño, que se presenta cada tres a siete años, favorecen al camarón de tal modo que la disponibilidad de postlarva natural se incrementa significativamente.

Las fluctuaciones en el suministro de postlarva silvestre causan también amplias fluctuaciones en los precios. Durante los períodos de abundancia, los precios bajan y muchos laboratorios cierran porque son incapaces de competir con la producción natural barata. El valor a pagar por las larvas depende de la cantidad y calidad de

las mismas; generalmente durante los muestreos se obtenían aproximadamente 5.000 larvas por cada muestra.

2.2.2 Manejo de la larva silvestre

El principal problema que afronta el manejo postlarval es que los aparejos que se usan son destructivos para todas las larvas de peces que se recogen, además de la alta mortalidad de las de camarón. A pesar de que el aparejo (red de empuje) es un instrumento de pesca pasivo, una gran cantidad de la recolección consiste en larvas de cangrejo (fase megalopa), camarón y muchas variedades de peces y moluscos. Las postlarvas de camarón son recogidas y el resto son arrojadas a la playa. Debido a que existen casi 17.000 pescadores de larvas que operan en la costa, la destrucción de los recursos naturales es alta. Algunos pescadores usan un bote con una red de bolsa a cada lado, y ayudados con un motor, realizan arrastres en aguas más profundas. Sin duda alguna, la capacidad destructora de tal arte de pesca en los recursos de semilla es muy grande.

Existen miles de millones de larvas de camarón disponibles en las aguas costeras cada año y pueden ser manejadas efectivamente si se mejora las técnicas existentes de recolección, manipuleo y transportación.

Las muestras obtenidas no quedaron libres de impurezas en su totalidad, permaneciendo aún residuos de materia orgánica y de otros organismos que fueron separados en el laboratorio, mediante un sistema de limpieza y clasificación que se detallará más adelante.

2.2.3 Almacenamiento de la Larva y Transporte.

Para tal efecto se utilizaron frascos plásticos de 25 cc con tapa enroscable, una hielera pequeña con capacidad para transportar 50 frascos, una piceta con agua destilada, pinza, espátula y un cedazo de plástico (cernidera).

A cada uno de los frascos se le adicionó previamente agua destilada hasta la mitad, seguidamente se procedió a sacar las larvas del balde con un cedazo y con ayuda de la pinza y espátula, se las repartió en forma aproximada en los recipientes. Una vez terminado el trabajo, se cerraron herméticamente los frascos, y se colocaron en la hielera. Inmediatamente se adicionó a ésta una mezcla de hielo y sal en grano la misma que produce un estado termodinámico que permite el congelamiento de las muestras a aproximadamente -5°C , después de un tiempo aproximado de 15 minutos, consiguiendo de esa manera que lleguen al laboratorio de análisis en las condiciones más adecuadas. Este procedimiento se repitió en cada muestreo.

En el caso de las muestras transportadas desde Tonchigue, cada 3 horas de viaje se hizo recambio del hielo y sal hasta llegar al lugar de destino. Las muestras fueron ingresadas en el Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Química de la ESPOL, siguiendo un formulario de asentamiento de datos, con los siguientes códigos:

- LSSPa = Larvas silvestres de San Pablo.
- LSTon = Larvas silvestres de Tonchigue.

2.2.4 Limpieza y Clasificación de Larvas

Debido a que las muestras colectadas estaban constituídas por una mezcla de *Penaeus vannamei*, *P. stylirostris*, *P. occidentalis*, *P. californiensis*, y algunas especies de carideos se realizó una clasificación a nivel de especies (*P. vannamei*) utilizando una técnica basada en la forma y cantidad de espinas superiores e inferiores del rostro del camarón (García, 1986). Además, para la identificación de las especies se observó la cantidad y coloración de los cromatóforos del sexto segmento abdominal que en cada especie son diferentes, para lo cual se hizo uso de un estereoscopio, caja petri y una aguja enmangada. Dentro de este proceso se realizó una limpieza más completa de las muestras, que luego fueron

almacenadas en congelación hasta su posterior determinación de lípidos.

2.3 DETERMINACION DE LIPIDOS

Para la determinación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) se realizó el siguiente procedimiento:

Extracción.- Uno de los más versátiles y efectivos procedimientos de extracción lipídica es el de Bligh-Dyer (1959) que es una versión simplificada del clásico procedimiento Folch (1957).

Este procedimiento utiliza un aparato biohomogenizador, el cual rompe los tejidos de la muestra permitiendo así la liberación de los lípidos, mismos que son disueltos en un sistema de solventes a saber, Cloroformo-Metanol-Agua.

Algunas de las sustancias contaminantes solubles en agua (proteínas, carbohidratos, vitaminas, etc.) son diluidas en la fase metanol - agua, dejando a los lípidos libres de contaminantes en la fase de Cloroformo.

Los lípidos así disueltos, son separados de la fase acuosa por medio de un sistema de filtración y finalmente son recogidos en una pera de vidrio para la posterior obtención de resultados.

Saponificación.- Mediante el proceso de saponificación, se logra aislar los ácidos grasos del resto de compuestos lipídicos que no son objeto de estudio, tales como fosfolípidos, ceras,

carotenoides, etc., para lo cual es necesario el uso de una sustancia ácida o alcalina para provocar la hidrólisis correspondiente.

Metilación.- El proceso de metilación se realiza únicamente con el propósito de bajar el punto de volatilización de los ácidos grasos, los cuales son extremadamente altos, y debido a que la temperatura de detección del cromatógrafo de gases alcanza sólo hasta 250 °C, es necesario disminuir tales puntos de volatilización que sobrepasan los 300 °C.

Para tal efecto los ácidos grasos libres son convertidos en FAMES mismos que pueden ser leídos en el cromatógrafo de gases.

Análisis cromatográfico.- El análisis de ácidos grasos mediante cromatografía de gases es actualmente una herramienta de gran utilidad en el manejo de la nutrición del camarón. La cromatografía de gas es una técnica que consiste en la separación e identificación de las sustancias de una mezcla y se basa en la fuerza intermolecular específica que se establece entre cada componente de la mezcla y el material de relleno de la columna cromatográfica.

La muestra es inyectada al cromatógrafo en forma de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAMES), y posteriormente la unidad de registro acoplada al mismo, arroja los cromatogramas de las muestras inyectadas.

CAPITULO III

ANALISIS Y EVALUACION DE RESULTADOS

3.1 PRESENTACION DE DATOS

Una vez recopilados los cromatogramas de los análisis lipiológicos en los cuales se pueden apreciar los perfiles de las larvas silvestres, se procedió a realizar la correspondiente presentación de resultados, agrupándolos en cuadros individuales por zonas y meses de muestreo. En tales resultados se reportan los ácidos grasos poli-insaturados (PUFAS) 18:2n-6, 18:3n-3, 20:5n-3 y 22:6n-3 que son el objetivo de este estudio.

En las tablas 1 y 2 se pueden apreciar los resultados mensuales expresados en porcentaje de área de los ácidos grasos poli-insaturados en las larvas silvestres *P. vannamei* de San Pablo y Tonchigue respectivamente. Los muestreos se efectuaron dos veces por mes desde Marzo de 1990 hasta Febrero de 1991.

Si se observan los niveles de ácidos grasos expresados en las tablas antes mencionadas, pueden corroborarse los bajos valores obtenidos de los ácidos grasos linoleico y linolénico, y la elevada proporción de los HUFAS (20:5n-3 y 22:6n-3), ver figs. 4 y 5.

Para el ácido linoleico (18:2n-6), el mínimo valor registrado en la zona de San Pablo fue de 0.5% durante el primer aguaje del mes de Diciembre y el máximo valor fue de 4.20 % en el segundo aguaje del mes de Enero, mientras que para Tonchigue los valores máximo y mínimo registrados fueron de 0.43 en el primer aguaje de Noviembre y 3.97 en el mes de Marzo respectivamente (ver tablas 1 y 2, fig. 6).

Los valores registrados para el ácido linolénico (18:3n-3) en las larvas silvestres fueron de 0.0 en el segundo aguaje de Octubre y en el primer aguaje de Noviembre en la zona Tonchigue (ver tabla 1, fig. 7), con un valor promedio anual de 1.14% y 0.78% para San Pablo y Tonchigue respectivamente pero con una STD muy similar de 0.73 y 0.74 para el primero y segundo caso (tabla 3).

En lo que se refiere al ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) se encontró un valor promedio anual de 13.48% y una desviación estándar de 1.75 para la zona de San Pablo, mientras que para la zona de Tonchigue se encontró un valor promedio de 13.25% y una desviación estándar de 1.58 (ver tabla 3 y fig. 9).

El ácido docosahexaenoico en las larvas silvestres de San Pablo presentó un mayor rango de variación con respecto a los demás PUFAS (tabla 1, fig.10), siendo el mínimo valor de 9.73% en el primer muestreo de Enero de 1991 y el máximo de 19.88% en Junio de 1990.

Los valores mínimo y máximo del 22:6n-3 para la zona de Tonchigue son aparentemente iguales a los valores obtenidos para la zona de San Pablo. A pesar de que la desviación estándar es muy similar para ambos casos (2.3 y 2.4%), el promedio obtenido fue de 15.4% para San Pablo y 14.01% para Tonchigue, (ver tabla 3).

En la figura 8 se establece una comparación entre los promedios y desviaciones estándares anual de los PUFAS encontrados en las larvas silvestres tanto de San Pablo como de Tonchigue.

La composición de los ácidos grasos reportados anteriormente (tablas 1 y 2), es en general característica de los decápodos. Varios otros trabajos se basan en la investigación de la composición de ácidos grasos de diferentes penaeidos, los mismos que son listados en la tabla 4. Los ácidos grasos más comúnmente encontrados en cantidades mayores fueron el 16:0, 16:1n-7, 18:0, 18:1n-9, 20:5n-3 y 22:6n-3, y en pequeñas cantidades el 18:2n-6, 18:3n-3 y 20:1. El ácido araquidónico 20:4n-3 varía desde 2.7% a 9.3% del total de ácidos grasos; el 20:5n-3 desde 11.17% a 15.7% y el 22:6n-3 desde 7.61% a 11.7%.

Por otra parte los ácidos grasos de todo el cuerpo del camarón *P. vannamei* contienen más HUFAS (20:5n-3 y 22:6n-3) que otros penaeidos, excepto el *P. merguensis* que posee valores

más elevados, incluyendo aquí al ácido araquidónico 20:4n-6 el mismo que no está presente en las larvas *P. vannamei*.

Guary *et. al.* (1975) reportó la presencia de concentraciones muy altas de un ácido tentativamente identificado como 24:4 de los lípidos del *P. japonicus*.. Este ácido graso ha sido encontrado en niveles sobre el 17% del total de ácidos grasos en el análisis del *P. japonicus* , aunque en general esta proporción decreció en los camarones alimentados con dietas experimentales, Guary *et.al.* (1975).

Tal inusual ácido graso no ha sido reportado para ciertos penaeidos, y no se encontró en los tejidos del *P. vannamei*, *P. indicus* y *P. merguiensis* , a pesar de que en estos dos últimos, los análisis fueron realizados por Cromatografía de Gas con columna capilar a temperaturas programadas, el cual permite detectar muchos isómeros de ácidos grasos.

Los ácidos grasos poli-insaturados abundantes en los tejidos de peces y crustáceos, tanto para especies dulceacuícolas como marinas, pertenecen a la serie linolénica (n-3); mientras que los ácidos grasos poli-insaturados de la serie (n-6) se presentan en una concentración más baja, esto se puede corroborar gráficamente observando la figura 11, en las que se muestran las sumas de los ácidos grasos saturados y monoenoicos (los que pueden ser sintetizados de novo), de los ácidos n-3 y n-6, y las 3 cadenas más largas, para un número determinado de camarones marinos *Penaeus* de diferentes especies; se puede

observar además que la serie del ácido linolénico n-3 es predominante a la serie del ácido linoleico n-6, además el comportamiento gráfico de las larvas *P. vannamei* en las zonas tiene una similitud a las demás curvas de los diferentes *Penaeus*.

Todas las especies también presentan una tendencia definida a proporciones altas de ácidos grasos de cadenas más largas (20 y 22 Carbonos) disminuyendo esta tendencia para las larvas *P. vannamei* en lo que respecta a 20 carbonos. El modelo de ácidos grasos saturados y de 18 C. parece variar entre las especies.

TABLA # I

Resultados mensuales, en porcentaje de área, de los ácidos grasos poli-insaturados (PUFAS) de las larvas silvestres de San Pablo, en el período de Mar. /90 a Feb. /91

PUFAS	Mar. 31	Abr. 20	Abr. 26	May. 10	May. 29	Jun. 07	Jun. 30	Jul. 08	Jul. 23	Ago. 09	Ago. 25	Sep. 05	Sep. 19	Oct. 05	Oct. 18	Nov. 02	Nov. 16	Dic. 03	Dic. 19	Ene. 09	Ene. 21	Feb. 01	Feb. 15
18:2n-6	3.35	2.63	3.31	2.5	3.88	3.5	2.38	2.34	2.14	1.91	1.87	1.94	2.43	3.51	2.87	2.67	2.29	0.5	2.24	1.73	4.21	0.75	2.29
18:3n-3	1.21	1.3	0.72	0.23	2.03	2.45	0.6	1.17	1.21	1.21	0.17	0.21	0.95	2.43	1.75	1.48	0.36	0.14	0.82	1.71	2.35	0.59	1.11
20:5n-3	11.74	14.24	12.32	14.09	13.01	12.93	15.5	14.4	13.61	16.07	15.9	15.12	13.31	14.15	12.85	13.29	13.59	15.9	13.64	9.94	11.39	13.71	9.28
22:6n-3	15.98	17.67	13.94	14.52	14.14	16.37	19.88	15.65	16.6	18.34	15.2	17.21	15.87	14.62	17.14	14.71	13.99	17.48	15.95	9.73	10.12	15.16	14.01

TABLA # II

Resultados mensuales, en porcentaje de área, de los ácidos grasos poli-insaturados (PUFAS) de las larvas silvestres de Tonchigue, en el período de Mar. /90 a Feb. /91

PUFAS	Mar. 08	Abr. 08	May. 09	May. 15	Jun. 12	Jun. 27	Jul. 10	Jul. 26	Ago. 07	Ago. 22	Sep. 07	Sep. 20	Oct. 12	Oct. 23	Nov. 07	Nov. 19	Dic. 16	Dic. 22	Ene. 03	Ene. 17	Feb. 03	Feb. 19
18:2n-6	3.97	2.39	0.67	2.05	1.93	3.52	2.02	1.82	1.81	2.03	3.21	1.97	1.91	0.61	0.43	3.76	0.87	1.87	1.41	1.67	3.19	2.02
18:3n-3	2.16	0.49	0.31	0.32	0.41	0.38	0.26	2.18	0.43	1.55	1.36	1.04	0.5	0	0	1.78	0.17	0.67	0.11	0.49	2.2	0.31
20:5n-3	11.11	11.32	14.34	13.01	14.93	13.26	14.18	13.05	13.76	14.3	12.91	12.64	13.25	15.67	15.81	12.27	14.96	13.98	11.27	13.72	12.43	9.27
22:6n-3	13.2	13.14	13.07	16.21	16.16	14.56	14.53	12.93	15.3	16.58	15.26	16.78	13.13	10.88	10.47	11.67	9.02	15.23	12.33	14.86	13.49	19.5

TABLA # III

Promedio (X) y Desviación estándar (STD) total del período (Mar./90-Feb./91) de los análisis cuantitativos PUFAS, expresados en % de área del total de ácidos grasos en las zonas de estudio.

PUFAS	SAN PABLO		TONCHIGUE	
	X	STD	X	STD
18:2 n-6	2.49	0.89	2.05	0.98
18:3 n-3	1.14	0.73	0.79	0.74
20:5 n-3	13.48	1.75	13.25	1.58
22:6 n-3	15.40	2.31	14.01	2.39

TABLA # IV

Características principales de la composición de ácidos grasos en *Penaeidos*

Acidos grasos	En este trabajo 1990		Clarke A. 1979	Guary et al. Teshima et al. 1974 19 76 19 76					Colvin (1976)a	GopaKumar et al (1975)b
	<i>Penaeus vannamei</i>		<i>Penaeus merguensis</i>	___ <i>Penaeus Japonicus</i> ___					<i>Penaeus indicus</i>	<i>Penaeus ndicus</i>
	LSSPa	LSTon	L. Silv.	L. Silvestres					L. Silv	L. Silv.
16:0	22.60	22.28	18.42	15.4	16.1	15.6	14.6	19.5	14.14	26.3
18:0	9.53	11.30	9.45	6.5	6.2	9.2	7.6	6.5	7.28	12.1
16:1c	7.71	8.05	5.95	6.9	8.3	3.6	3.1	3.9	7.22	8
18:1c	14.77	16.03	15.91	9	11.3	19.5	8.8	17.6	9.95	11.5
20:1c	0.44	0.38	3.62	7.9	5.4	0.9	1.7d	2.8d	2.52	0.9
22:1c	2.86	3.28	0.45	—	—	—	—	—	2.58	0.1
18:2w6	2.48	2.05	1.67	2	1.5	6.6	1.4	10.6	2.29	1.8
18:3w6	—	—	0.13	—	—	—	1.2	0.3	—	—
18:3w3	1.14	0.78	0.91	0.4	0.5	0.5	—	—	0.99	0.3
20:4w6	—	—	4.67	3.3	3.3	9.3	3.3	2.7	6.5	6.5
20:5w3	13.48	13.25	12.57	13.1	12.7	14.4	15.7	12.3	11.17	14.2
22:6w3	15.40	14.01	14.59	7.6	10.6	11.7	11.1	10.3	9.3	8.2
24:4	—	—	—	4	3.5	0.4	17.2	6.6	—	—

a Extracción con éter de petróleo del material de la dieta (todas las otras extracciones con netanol-cloroformo)

b Solamente músculo

c Todos los isómeros combinados

d Incluido el 18:3w3

**ACIDOS GRASOS ESENCIALES OBTENIDOS EN LAS LARVAS
SILVESTRES DE SAN PABLO**

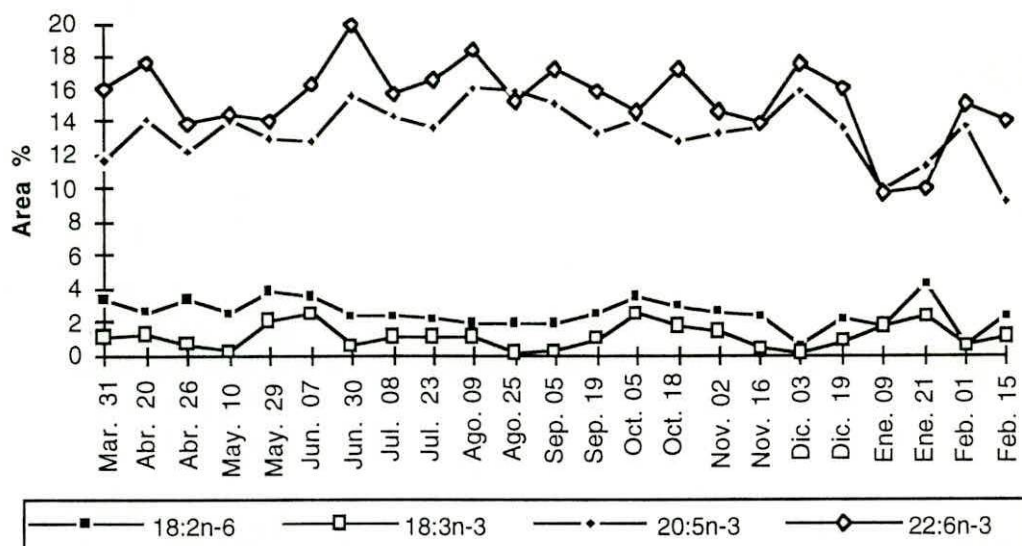


Fig. 4 Período de muestreo entre Mar. /90 a Feb. /91

**ACIDOS GRASOS ESENCIALES OBTENIDOS EN LAS LARVAS
SILVESTRES DE TONCHIGUE**

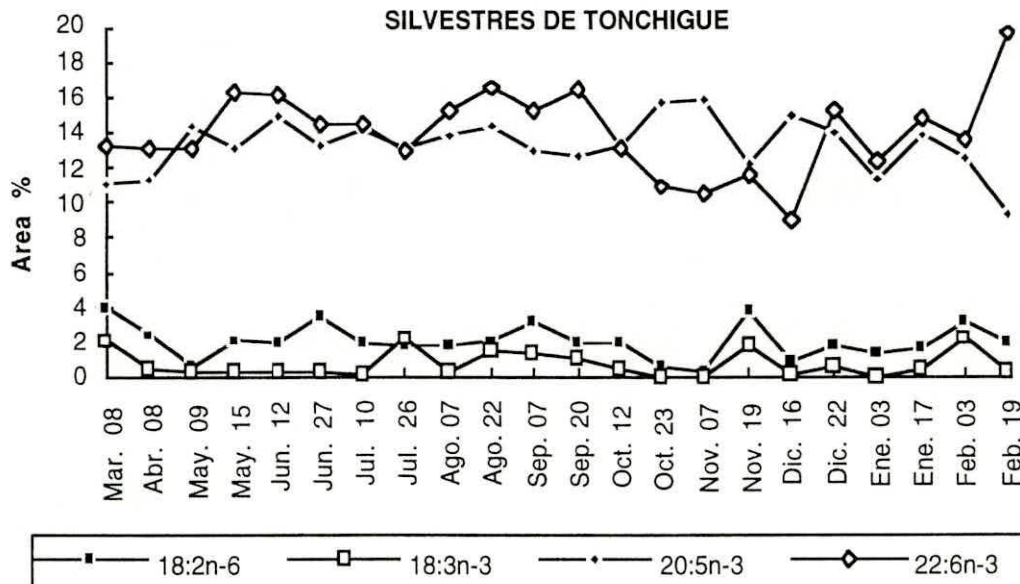


Fig. 5 Período de muestreo entre Mar./90 a Feb./91

**COMPARACION DE RESULTADOS DEL ACIDO LINOLEICO
(18:2n-6) EN LAS ZONAS DE ESTUDIO**

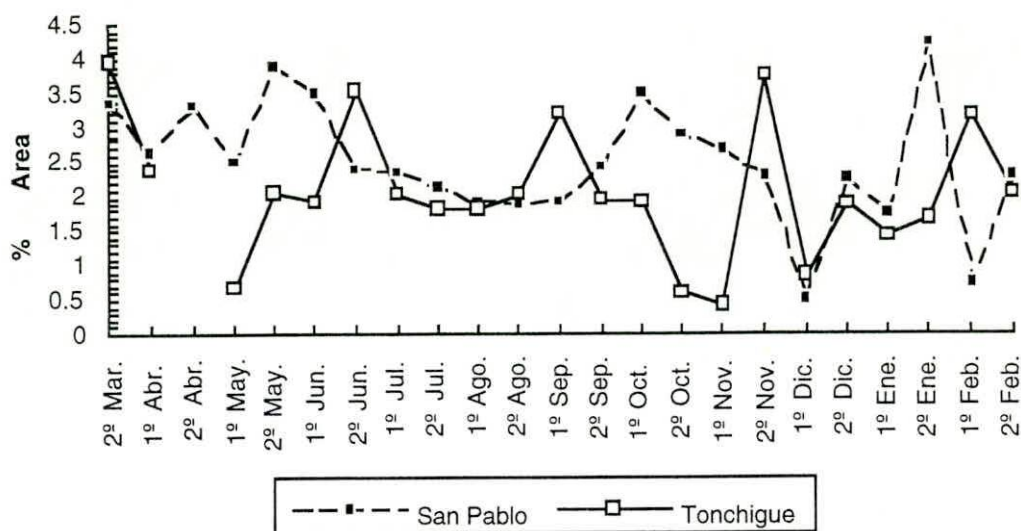


Fig. 6 Período de muestreo entre Mar./90 a Feb./91

**COMPARACION DE RESULTADOS DEL ACIDO LINOLENICO
(18:3n-3) EN LAS ZONAS DE ESTUDIO**

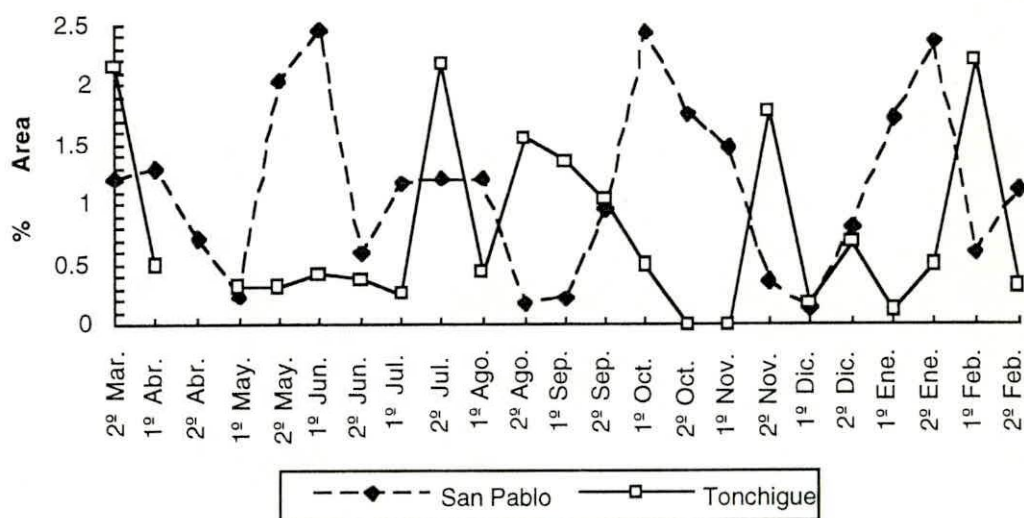


Fig. 7 Período de muestreo entre Mar./90 a Feb./91

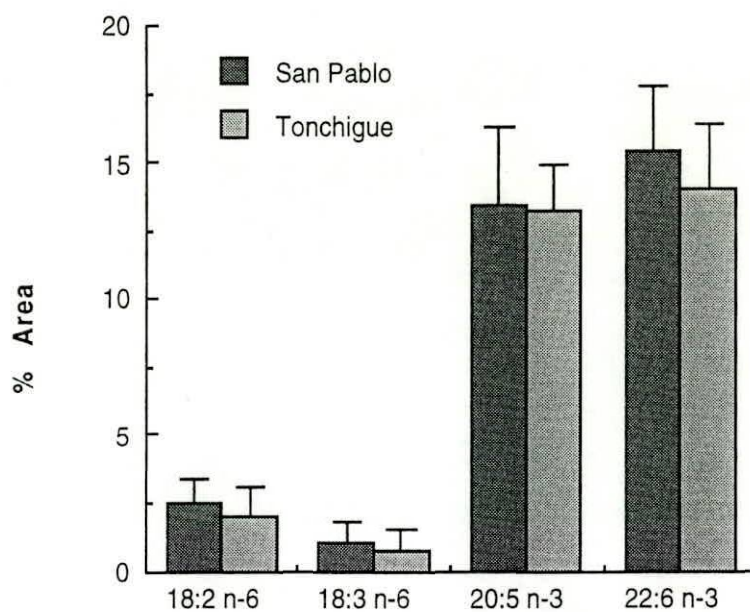


Fig. 8 Comparación de los ácidos grasos esenciales obtenidos en las Zonas de estudio durante el período de muestreo (Mar./90 a Feb./91)

COMPARACION DE RESULTADOS DEL ACIDO EICOSAPENTAENOICO
(20:5n-3) EN LAS ZONAS DE ESTUDIO

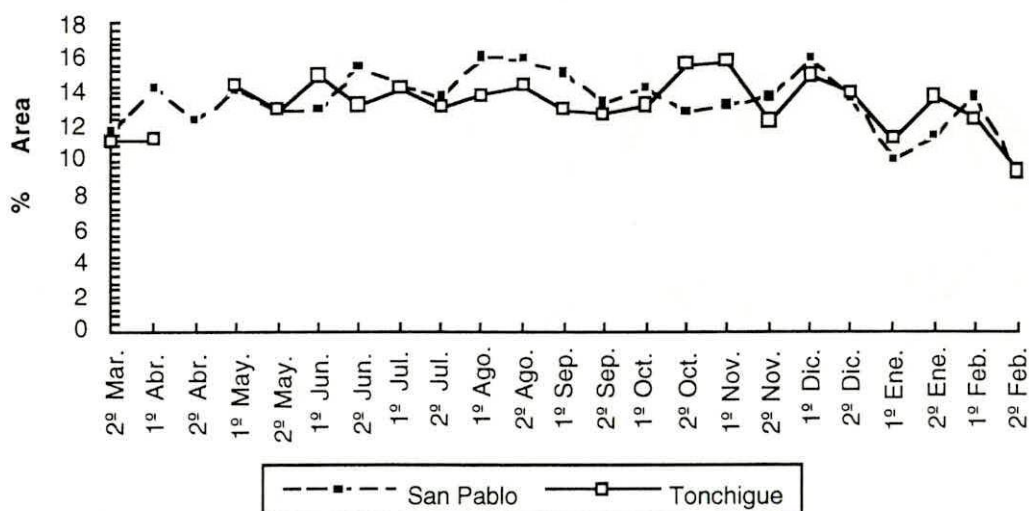


Fig. 9 Período de muestreo entre Mar. /90 a Feb. /91

COMPARACION DE RESULTADOS DEL ACIDO DOCOSAHEXAENOICO
(22:6n-3) EN LAS ZONAS DE ESTUDIO

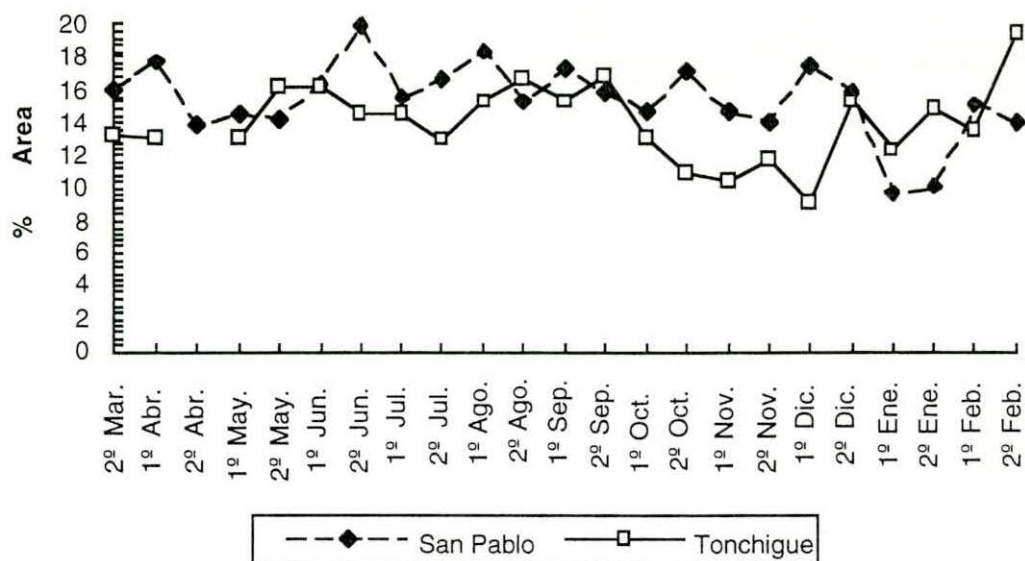


Fig. 10 Período de muestreo entre Mar./90 a Feb./91

COMPARACION DE ACIDOS GRASOS ENTRE DIFERENTES
ESPECIES DE PENAEUS

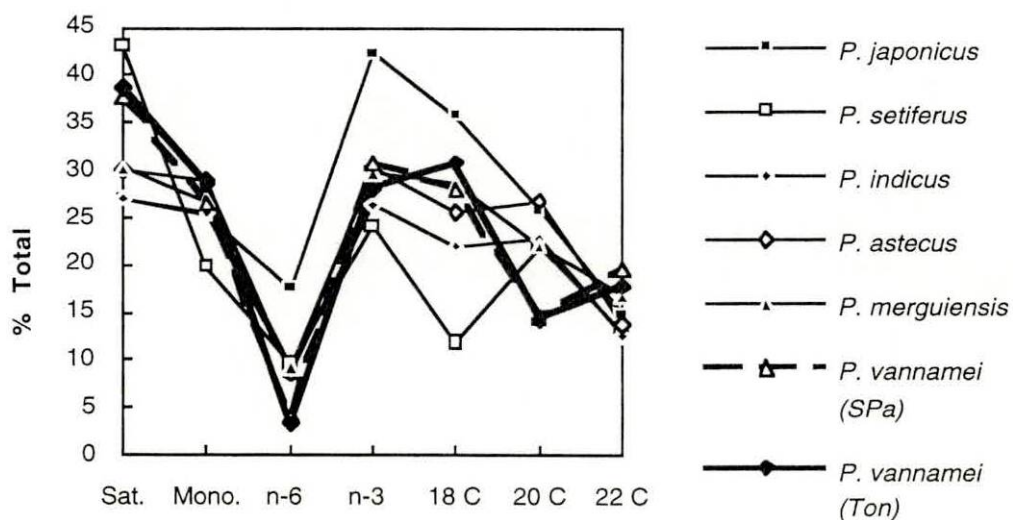


Fig. 11 Esteres metílicos de ácidos grasos

3.2 ANALISIS ESTADISTICO Y DISCUSION

Metodología.

A fin de comprobar que los datos de los ácidos grasos poli-insaturados fueron normalmente distribuidos se utilizó el test de Kolmogorov Smirnov.

Varios modelos fueron probados para identificar el más adecuado para cada ácido graso. Estos modelos fueron:

Efectos principales		Interacción
a)	ZONAS MESES	ZONAS*MESES
b)	ZONAS MESES	
c)	MESES	
d)	ZONAS	
e)	ZONAS EPOCAS	ZONAS*EPOCAS
f)	EPOCAS	
g)	EPOCAS ZONAS MESES	

Los datos fueron analizados mediante un análisis de Varianza (ANOVA) para testar diferencia entre los modelos mencionados anteriormente.

Se tomó un nivel de significancia de 95% ($P < 0.05$), para la aceptación o rechazo de la hipótesis nula, siendo $\mu_1 - \mu_2 = 0$, es decir H_0 en este caso es que los ácidos grasos poli-insaturados de las larvas silvestres *P. vannamei* son diferentes entre las Zonas de San Pablo y Tonchigue.

Cuando se encontró diferencias entre las fuentes se aplicó la Prueba de DUNCAN de rango múltiple para identificar que grupo o nivel de cada fuente fue diferente. Dicha prueba es aplicable sólo para los efectos principales más no para las interacciones.

Para los análisis correspondientes se establecieron comparaciones entre dos zonas (San Pablo y Tonchigue) y dos épocas (seca y húmeda), siendo la seca comprendida entre los meses de Marzo a Noviembre y la época húmeda comprendida entre Abril y Diciembre.

Criterio de Selección y Discusión.

De los modelos probados los que dieron un análisis más completo fueron el "a" y el "b". En la tabla 5 se muestran los resultados del test de ANOVA y las pruebas de multicomparación de medias para los PUFAS de las larvas silvestres *P. vannamei*, según modelo Zonas - Meses y su interacción.

Los resultados nos muestran que no hubo diferencia significativa para los ácidos grasos Linoleico y Linolénico entre las ZONAS y los MESES; pero en el ácido graso Eicosapentaenoico se encontró una diferencia significativa entre los meses ($P < 0.05$), siendo Enero, Febrero y Marzo significativamente menores que el resto. En cambio para el ácido graso Docosaheptaenoico se encontró diferencia

significativa entre las Zonas de San Pablo y Tonchigue, ($P < 0.05$) y además una diferencia entre los Meses ($P < 0.05$).

TABLA # V

Resultados del análisis de varianza para los Acidos Grasos Esenciales entre Zonas vs Meses y su interacción, n = 45

MODELO	18:2n-6	18:3n-3	20:5n-3	22:6n-3
R ²	0.53	0.51	0.65	0.70
ZONAS	0.20	0.18	0.46	0.02*
MESES	0.48	0.88	0.02*	0.05*
ZONAS*MESES	0.52	0.30	0.82	0.17

Multicomparación de medias ($P < 0.05$), mismas letras no indican diferencia entre si.

Marzo	3.66 a	1.69 a	11.43 cd	14.59 abc
Abril	2.78 ab	0.84 a	12.63 abcd	14.92 abc
Mayo	2.28 ab	0.72 a	13.61 abcd	14.50 abc
Junio	2.83 ab	0.96 a	14.16 a	16.74 a
Julio	2.08 ab	1.21 a	13.81 abc	14.93 abc
Agosto	1.91 a	0.84 a	15.01 a	16.36 a
Septiembre	2.39 ab	0.89 a	13.50 abcd	16.28 a
Octubre	2.23 ab	1.17 a	13.98 ab	13.94 abc
Noviembre	2.29 ab	0.91 a	13.74 abc	12.71 bc
Diciembre	1.37 b	0.45 a	14.62 a	14.42 abc
Enero	2.26 ab	1.17 a	11.58 bcd	11.76 c
Febrero	2.06 ab	1.05 a	11.17 d	15.53 ab

Los resultados obtenidos mediante el test de ANOVA para el modelo ZONAS EPOCAS y su interacción (tabla 6) muestran que no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) de los ácidos grasos Linoleico, Linolénico y Docosahexaenoico entre las zonas de San Pablo y Tonchigue ni entre las épocas seca y húmeda. Sin embargo se registró una diferencia muy significativa ($P < 0.001$) del ácido graso Eicosapentaenoico entre la época seca y la húmeda, siendo este ácido (20:5n-3) mayor durante la época seca que durante la húmeda.

Los bajos niveles del 18:3n-3 encontrados en las larvas silvestres *P. vannamei* se deben probablemente al tipo de alimento que existe en el medio acuático; la productividad primaria con la que son alimentadas estas larvas no contiene altos niveles de HUFAS, esto es reflejado al hacer el perfil de lípidos; en cambio se han registrado altos niveles del ácido linolénico en las larvas de laboratorio, debido a los componentes alimenticios introducidos al formular las dietas que contienen aceite de soya, el cual es rico en ácido 18:3n-3.; otro alimento muy utilizado para larvas de laboratorios es la artemia, la cual registra altos niveles de 18:3n-3 cuando se hace un perfil lipídico de la misma.

Generalmente se considera que los ácidos grasos de la serie n-3 permiten un mayor grado de insaturación; los camarones son capaces de alargar y posteriormente desaturar ácidos del 18:3n-3 al ácido graso altamente insaturado correspondiente (20:5n-3 ó 22:6n-3), pudiendo ser esto otra de las causas por la que se encontró valores reducidos de 18:3n-3 con respecto al ácido eicosapentaenoico (20:5n-3) presente en las larvas silvestres.

Una variación de la composición de los ácidos grasos entre las diferentes especies se debe probablemente a la combinación de factores genéticos, dietas, temperatura ambiental y otros factores bióticos y abióticos, inclusive dentro de la misma especie los modelos de ácidos grasos pueden ser alterados significativamente por uno o más de estos factores. Tal es el

caso del ácido eicosapentaenoico cuyos valores en los meses de Enero, Febrero y Marzo (meses en los cuales la temperatura del agua es más elevada) fueron significativamente menores ($P < 0.05$) con respecto a los demás meses del año; además los ácidos grasos varían entre los diferentes tejidos y órganos, y aún entre las diversas clases de lípidos tisulares u orgánicos (Castell, 1980).

TABLA # VI

Resultados del análisis de varianza para los Ácidos Grasos Esenciales entre Zonas vs Epocas y su Interacción, $n = 45$

MODELO	18:2n-6	18:3n-3	20:5n-3	22:6n-3
R ²	0.07	0.06	0.23	0.14
ZONAS	0.20	0.14	0.58	0.09
EPOCAS	0.92	0.97	0.001***	0.21
ZONAS*EPOCAS	0.41	0.72	0.90	0.37

Multicomparación de medias ($P < 0.05$), mismas letras indican que no hay diferencias entre si.

ZONAS				
San Pablo	2.50 a	1.14 a	13.48 a	15.40 a
Tonchigue	2.05 a	0.78 a	13.25 a	14.01 a
EPOCAS				
Seca	2.29 a	0.96 a	13.97 a	15.06 a
Húmeda	2.26 a	0.97 a	12.37 b	14.16 a

Se conoce que los modelos de ácidos grasos difieren entre los diferentes tejidos y órganos de cada especie de crustáceos y cada tipo de lípido de cada tejido tiene su propia composición de ácidos grasos.

Bottino *et al.* 1980, encontró que los modelos de ácidos grasos de tres especies de camarón (*P. setiferus*, *P. aztecus* y *P. monodon*), colectados la misma época del año difieren muy

poco uno del otro, pero se observó una variación estacional independiente de la especie. En lo que se refiere a las larvas silvestres *P. vannamei* analizadas en este trabajo, se pudo comprobar una variación estacional de uno de los modelos de ácidos grasos (20:5n-3).

Los modelos de ácidos grasos saturados del *Penaenus vannamei* se incrementaron durante la estación caliente y disminuyeron durante los meses fríos, mientras tanto ocurrió lo contrario con los ácidos grasos monoenoicos y polienoicos. Guary *et.al* (1975), mostró una variación estacional similar en el modelo de ácidos grasos del *P. japonicus*.

Las variaciones en la composición de ácidos grasos de los diferentes tipos de lípidos no se dan sólo en una especie determinada, sino que ocurren aún entre los diferentes tejidos u organos, esto no se puede comprobar en las larvas de *P. vannamei* ya que los análisis realizados en este caso son de todo el cuerpo del animal, mientras que para el *P. indicus* los análisis se realizaron solamente del músculo del camarón (Gopakumar *et al.* 1975).

CONCLUSIONES

Al término del presente trabajo experimental, y bajo las condiciones que fue expuesto se concluye que:

- 1.- Se logró establecer un patrón de perfil de ácidos grasos en larvas silvestres *P. vannamei* para las zonas de San Pablo y Tonchigue que se caracterizan por ser lugares de mayor captura de larvas de camarón a lo largo del perfil costero ecuatoriano.
- 2.- Los ácidos grasos poli-insaturados (18:2n-6 y 18:3n-3) y los altamente insaturados (20:5n-3 y 22:6n-3) están presentes en la composición lipídica de las larvas de camarón en cantidades muy significativas jugando así un rol muy importante en el organismo de esta especie de *Penaeus*.
- 3.- Por otro lado se logró establecer que los ácidos grasos de la serie linolénica (n-3) son predominantes en las larvas silvestres de la especie *P. vannamei*, mientras que los ácidos pertenecientes a la serie linoleica (n-6) se presentan en cantidades más bajas.
- 4.- Estadísticamente se logró determinar que no existe diferencia significativa de los ácidos grasos poli-insaturados (18:2n-6, 18:3n-3 y 20:5n-3) de las larvas silvestres *P. vannamei* entre las Zonas de San Pablo y Tonchigue, pero si se encontró una

diferencia significativa del ácido graso 22:6n-3 (docosahexaenoico) siendo éste ligeramente mayor en San Pablo que en Tonchigue.

- 5.- Por lo expuesto anteriormente se puede deducir que, la variación en la concentración de los PUFAS de la larvas silvestres no es muy marcada entre zonas, pero se encontró una diferencia significativa en los HUFAS (20:5n-3 y 22:6n-3) entre los meses; la concentración del ácido eicosapentaenoico en las larvas silvestres durante los meses de Enero, Febrero y Marzo fue menor que durante los restantes meses del año; de igual forma durante los meses de Noviembre y Enero los valores promedios del ácido docosahexaenoico fueron más bajos que en el resto del año.
- 6.- Se pudo comprobar que los modelos de ácidos grasos esenciales de las larvas silvestres *P. vannamei* encontrados en diferentes épocas del año difieren muy poco unos de otros y únicamente se pudo determinar una diferencia muy significativa para el ácido docosahexaenoico, registrándose una concentración mas elevada durante la época seca que en la húmeda.
- 7.- No se pudo establecer en base a los datos obtenidos, el hecho de que la causa de la diferencia de la calidad de este crustáceo entre las dos zonas (San Pablo y Tonchigue) se deba específicamente a los niveles de ácidos grasos esenciales, ya que ello puede atribuirse quizás a otros compuestos lipídicos que cumplen funciones más específicas tales como los fosfolípidos y

triglicéridos, ya que se ha comprobado que para el crecimiento y supervivencia de otras especies de *Penaeus* se requieren además de ácidos grasos esenciales, algunas fracciones de fosfolípidos.

RECOMENDACIONES

Una vez finalizado el experimento correspondiente a esta tesis y luego de haber logrado establecer algunas conclusiones generadas a partir de los resultados del mismo, se podrían sugerir ciertas recomendaciones, las cuales pueden aportar cierto beneficio al sector productor.

- 1.- Los datos obtenidos en este trabajo no deben ser considerados definitivos al querer establecer los requerimientos de ácidos grasos esenciales en dietas para larvas de *P. vannamei*, es decir que la información generada se debe considerar más bien como un aporte científico a las múltiples investigaciones que aún necesitan ser llevadas a cabo sobre requerimientos nutricionales de esta especie.
- 2.- Es necesario realizar estudios complementarios que ayuden a sustentar los resultados obtenidos en esta investigación, esto es, estudios más específicos tales como análisis del contenido estomacal y factores ambientales que puedan incidir en el desarrollo larvario de esta especie.
- 3.- Si bien los resultados obtenidos han servido y servirán de base para la preparación de dietas que reúnan los requisitos nutricionales de los camarones criados a nivel de laboratorio, aún es necesario continuar con otros estudios que permitan dar

respuesta a otras interrogantes tales como el por qué de un alto valor lipídico en las larvas silvestres en relación a las de laboratorio.

- 4.- Por otra parte sería recomendable realizar un seguimiento de la variación de lípidos en la especie *P. vannamei* desde huevos hasta larvas y juveniles, tanto en larvas silvestres como en las de cautiverio.
- 5.- Un estudio que debería ser desarrollado inmediatamente es el del ecosistema del camarón y los factores más influyentes en su régimen alimentario natural en diferentes zonas de la costa ecuatoriana a fin de poder establecer si dicho régimen es o no similar al suministrado a los animales en cautiverio. De esta manera se podría lograr mejorar el aspecto nutricional de los animales a través de una alimentación más efectiva.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Akiyama M. Dean, Dominy G. Warren and Lawrence L. Addison, 1989. Advances in Tropical Aquaculture. Workshop at Tahití - French Polynesia, Feb. 20 - March 4. AQUACOP-IFREMER. Actes de Colloque 9 pp. 271-285.
- 2.- Amat F., Hontoria F., and Navarro J. C., 1987. International study on Artemia XLIV. Preliminary nutritional evaluation of different Artemia nauplii a food for marine fish and prawn larvae. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal. Castellon, España.
- 3.- Amat F., Hontoria F., Navarro J. C., Gozalbo M^a., 1987. Resultados preliminares sobre el valor nutritivo de nauplios de Artemia para larvas de crustáceos decápodos en cultivo. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal, (C.S.T.C.). Castellon, España. Inv. Pesq. 51 (supl. 1): 533-543.
- 4.- Ando T., Kanazawa A., Teshima S., Patrois J., Ceccaldi J., 1977. Variation in the lipids of tissues during the molting cycle of prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 43 (12): 1445-1449.
- 5.- Araujo M., 1991. Fatty acid analysis of Penaeid shrimp tissue: nutritional and reproductive implications Texas A & M University, Tesis doctoral.

- 6.- Arellano E., Montaña M., 1989-1991. Informe final del proyecto "Investigaciones Bioquímicas y Nutricionales en la Reproducción y Crecimiento de camarones (IBN)". Comunidad Económica Europea (CEE) - Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL).
- 7.- Bilio M., 1986. Realism in Aquaculture: Achievements, constraints, perspectives. European Aquaculture Society, 1986.
- 8.- Bohinski R., 1978. Bioquímica. Fondo Educativo Interamericano, S.A. Estados Unidos, 1978.
- 9.- Bottino N. R. , J. Lilly, M. Simmons, and G. Finne, 1980. Seasonal and nutritional effects on the fatty acids of three species of shrimp, *Penaeus setiferus*, *P. aztecus*, and *P. duorarum*. Aquaculture 19:139-148
- 10.- Castell J.D., 1980. Lipids and essential fatty acids. Canadá.
- 11.- Castell J.D., 1981. Fatty acid metabolism *in* crustaceans. Pages 124-145 in G.D. Pruder, C. Langdon and D.E. Conklin editors. Proceedings of the 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. Mariculture Society Publication # 2 Baton Rouge LA, U.S.A.
- 12.- Castell J. D., C. J. Langdon and D.E. Conklin., 1992. Fatty acid metabolism in crustaceans., pp 124-145, Louisiana State Univ.

- 13.- Celaday J. D. y Muñoz F. 1987. Nutrición y Alimentación de crustáceos. Instituto de Acuicultura de Torres de la Sal C.S.T.C. Madrid, España.
- 14.- Clarke A., and Wickins J. W., 1980. Lipid content and composition of culture *Penaeus Merquiensis* fed with animal food. *Aquaculture*, 20:17-27.
- 15.- Colvin Miles Paul, 1976. The effect of selected seed oils on the fatty acid composition and growth of *Penaeus Indicus* . *Aquaculture*, 8 (1976) 81-89.
- 16.- Conklin, D.E. 1980. Nutrition. Pages 277-300, Vol 1. Academic Press Inc., New York.
- 17.- Cun Medardo y Marin Cecilia, 1982. Estudio de los desembarques del camarón (Gen. *Penaeus*) en el Golfo de Guayaquil (1965-1979). Boletín Científico y Técnico del Instituto Nacional de Pesca, Guayaquil, Ecuador.
- 18.- Cun Medardo, 1982. Especies de camarones marinos (*Penaeus*) que se han adaptado a las condiciones de cultivo en Ecuador. Boletín Científico y Técnico del Instituto Nacional de Pesca, Guayaquil, Ecuador.
- 19.- Chua T., Kungvankij P., 1990. Una evaluación del cultivo de camarón en el Ecuador y estrategia para su desarrollo y diversificación de la maricultura. Programa de Manejo de Recursos Costeros. Ecuador.

- 20.- Espinosa de los Monteros J., y Labarta U., 1987. Nutrición en Acuicultura I. Madrid España.
- 21.- Espinosa de los Monteros J., y Labarta U., 1987. Nutrición en Acuicultura II Madrid España.
- 22.- Fernández R., Fast W. Arlo and Lester James L., 1992. Developments in Aquaculture and Fisheries science Vol. 23 "Marine shrimp culture: principles and practices". Elsevier Science Publishers B. V. pp. 543-547.
- 23.- García A., 1986. Identificación de postlarvas y juveniles de las principales especies de peneidos existentes en aguas ecuatorianas. Revista Latinoamericana de Acuicultura Lima-Perú, 28: 35-42.
- 24.- Gopakumar, K. and Nair, M. R., 1975. Lipid composition of five species of Indian prawn J. Sci. Food Agric., 26: 319-335.
- 25.- Guary, J. C., M. Kayama, and Murakami. 1975. Variations saisonnier de la composition en acides gras chez *Panaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda). Marine Biology 29: 335-341.
- 26.- Harrinson E. Kim, The role of Nutrition in Maturation, Reproduction and Embrionic development of decapod crustaceans: A review. Department of Biology. Dalhouse University Halifaz, Nova, Scotia-Canadá, B3H4J1, pp. 15-20.
- 27.- Hontoria F., Navarro J. C., Varó I., and Amat F., 1989. Utilisation of Artemia Cysts in marine larvae cultures : A model of quality evaluation. Aquacultural Engineering 8: 127-138.

- 28.- Intriago P., and Floodgate D. G., 1991. Fatty acid composition of the estuarine *Flexibacter* sp. strain Inp: effect of salinity, temperature and carbon source for growth . *Journal of General Microbiology*, 137 : 1503-1509. Great Britain.
- 29.- Izquierdo M. S., Arakawa T., Takeuchi T., Haroun R., and Watanabe T., 1992. Effect of n-3 HUFA levels in *Artemia* on growth of larval Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 105: 73-82.
- 30.- Jones, D.A., A. Kanazawa and K. Ono. 1979b. Studies on the nutritional requirements of larval stages of *Penaeus japonicus* using microencapsulated diets. *Mar. Biol.*, 54: 261-267
- 31.- Kanazawa A., Teshima S., and Tokiwa S., 1977a. Nutritional requirements of prawn-VII. Effect of dietary lipids on growth. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 43 (7): 849-856.
- 32.- Kanazawa A., Tokiwa S., Kayama M., and Hirata M., 1977. Essential fatty acids in the diet of prawn-I. Effects of linoleic and linolenic acids on growth. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 43 (9): 1111-1114.
- 33.- Kanazawa, A. ,Teshima S., Endo M., and Kayama M., 1978. Effects of eicosapentaenoic acid on growth and fatty acid composition of the prawn *Penaeus japonicus*. *Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University* 27 (1) : 35-40.

- 34.- Kanazawa A., Teshima S. and Endo M., 1979a. Requirements of prawn *Penaeus japonicus* for essential fatty acids. Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University 28:27-33.
- 35.- Kanazawa A., Teshima S. and Kazuo O., 1979b. Relationship between essential fatty acid requirements of aquatic animals and the capacity for bioconversion of linolenic acid to highly unsaturated fatty acids. Memoirs of the Faculty of Fisheries, Kagoshima University 27(1):10-35.
- 36.- Kanazawa A., Teshima S., Tokiwa S., and Ceccaldi H. J., 1979d. Effects of dietary linoleic and linolenic acids on growth of prawn. Acta Oceanológica 2(1) : 41-47.
- 37.- Kanazawa A., Teshima S., Sakamoto M., 1985. Effects of dietary lipids, fatty acids and phospholipids on growth and survival of prawn (*P. japonicus*) larvae. Aquaculture 50: 39-49.
- 38.- Kanazawa A., Teshima S., Tokiwa S., Kayama M., and Hirata M., 1979e. Essential fatty acids in the diet of prawn-II. Effect of docosahexaenoic acid on growth. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 45(9):1151-1153.
- 39.- Kanazawa, A., 1981. Penaeid Nutrition. Pages 124-145 in G. D. Pruder, C. Langodon, and D. E. Conklin editors. Proceedings 2nd International Conference on Aquaculture Nutrition: Biochemical and Physiological Approaches to Shellfish Nutrition. World Mariculture Society Special Publication # 2 Baton Rouge, LA, U.S.A.

- 40.- Kanazawa A., 1985b. Nutrition of Penaeid prawns and shrimps. Pages 123-131 *in* Proceedings of the First International Conference on the Culture of Penaeid Prawns/Shrimps, Iloilo City, Philippines 1984.
- 41.- Kayama, M., M. Hirata, A. Kanasawa, S. Tokiwa, and M. Soto. 1980. Essential fatty acids in the diet of Prawn. III. Lipid metabolism and fatty acid composition. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 46: 483-488.
- 42.- Lytle S. Julia, Lytle F. Thomas and Ogle T. John, 1990. Polyunsaturated fatty acid profiles as a comparative tool in assessing maturation diets of *P.vannamei* . Aquaculture, 89 (1990) 287-299. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
- 43.- Martin D.W., Mayer P. A., Radwell V. W., 1984. Bioquímica de Harper Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México D.F.
- 44.- Masson S. L., Mella R. M., 1985. Materias grasas de consumo habitual y potencial en Chile. Composición en ácidos grasos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago.
- 45.- McPadden Ch. A., 1985. Breve estudio de la industria camaronera del Ecuador. Boletín Científico y Técnico del Instituto Nacional de Pesca. Guayaquil, Ecuador.

- 46.- Mead J. F., Roslyn B., Alfin-Slater, Howton D. R., and Popják G., 1985. Lipids Chemistry, Biochemistry and Nutrition. Plenum Press, New York and London.
- 47.- Mendenhall, Scheaffer, Mackerly. 1986. Estadística - Matemática con Aplicaciones. Grupo Editorial Iberoamericana. México.
- 48.- Middleditch, B. S., S. R. Missler, H. B. Hines, J. P. Mcvey, A. Brown. 1980. Metabolic profiles of penaeid shrimp: dietary lipids and ovarian maturation. Journal of Chromatography 195: 235-337.
- 49.- Miller I., Freund J. E., 1987. Probabilidad y Estadística para Ingenieros. Prentice Hall. México.
- 50.- Morris, R. J. and J. R. Sargaent. 1973. Studies en the lipid metabolism of some oceanic crustaceans. Marine Biology 22: 77-83.
- 51.- Muñoz F., 1987. Alimentación en el cultivo larvario de crustáceos. Instituto de Acuicultura (C.S.T.C.) Torres de Sal, Castellón, Madrid - España.
- 52.- Navarro J. C., 1990. Caracterización de las cepas españolas de artemia desde el punto de vista de su valor nutritivo. Implicaciones prácticas en Acuicultura. Universidad de Valencia España. Tesis doctoral.
- 53.- Navarro J. C., Hontoria F., Varo I., and Amat F., 1988. Effect of alternate feeding with a poor longchain Polyunsaturated Fatty

- Acid Artemia strain and a rich one for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and prawn (*Penaeus Kerathurus*) larvae. *Aquaculture*, 74: 307-317.
- 54.- National Academy Press, 1983. Nutrient requirements of warmwater fishes and shellfishes. National Academy Press. Washington, Dc.
- 55.- Nomura T., Ogata H., and Ito M., 1973. Occurrence of Prostaglandins in Fish Testis. Department of Fishery Science, Faculty of Agriculture, Tohoku University. Sendai, Japan. *Tohoku Journal of Agricultural Research* Vol.24, No.3.
- 56.- Ochoa E., Macías W., Marcos J., 1987. Ecuador, Perfil de sus Recursos Costeros. Proyecto de Manejo de Recursos Costeros, Estudios realizados por la Fundación Pedro Vicente Maldonado. Ecuador.
- 57.- Ogata H., Nomura T., and Hata M., 1978. Prostaglandin Biosynthesis in the Tissue Homogenates of Marine Animals. Freshwater Fisheries Research Laboratory, Fisheries Agency. Miya, Hino-shi, Tokyo - Japan. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 44 (12): 1367-1370.
- 58.- O'Leary D. Cliona and Mathews D. Anthony, 1990. Lipid class distribution and fatty acid composition of wild and farmed prawn, *P. monodon* (Fabricius). *Aquaculture*, 89 (1990) 65-81

- 59.- Programa de Manejo de Recursos Costeros, 1992. Costas, Boletín Informativo N° 23 - IV Trimestre. Guayaquil, Ecuador.
- 60.- Read, G. H. L. 1981. The response of *Penaeus indicus* (Crustacea: Penocidea) to purified and compounded diets of varying fatty acid composition. *Aquaculture* 24:245-256.
- 61.- Rosero J., 1993. Instituto Nacional de Pesca y Programa de Manejo de Recursos Costeros. Informativo de los larveros de Data de Posorja, Número 1. Guayaquil, Ecuador.
- 62.- Ruiz M., Soler G., Grau, y A. Garrido. 1987. Metabolismo glucídico y lipídico en especies acuáticas. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid - España.
- 63.- Sandifer A. Paul and Joseph D. Jeanne, 1976. Growth responses and fatty acid composition of juvenile prawns (*Macrobrachium Rosenbergii*) fed a prepared ration augmented with shrimp head oil. *Aquaculture* 8 (1976) 129-138.
- 64.- Scheffler W. C., 1981. Bioestadística. Fondo Educativo Interamericano. México.
- 65.- Sheen Shyn-Shin and D'Abramo R. Louis, 1991. Response of juvenile fresh water prawn *Macrobrachium Rosenbergii* to different levels of cod liver oil/corn oil mixture in a semi-purified diet. *Aquaculture* 93 (1991) 121-134. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.

- 66.- Snedecor G. W. and Cochran W. G., 1967. Statistical Methods. Iowa State University Press.
- 67.- Takeuchi T., Joong Kang S., Watanabe T., 1989. Effects of environmental salinity on Lipid classes and Fatty acid composition in gills of Atlantic Salmon . Nippon Suisan Gakkaishi 55 (8): 1395-1405.
- 68.- Takeuchi T., Toyota M., and Watanabe T., 1992. Comparison of Lipid and n-3 Highly Unsaturated Fatty Acid Incorporations between Artemia enriched with various types of oil by direct method. Nippon Suisan Gakkaishi, 58 (2): 277-281.
- 69.- Taylor, C.B., Werthessen, N. T., Tham, P., and Lee, K.T., 1979, spontaneously occurring angiotoxic derivatives of cholesterol. *Am. J. Clin. Nutr.* 32:40
- 70.- Teshima S., Kanazawa A. and Kakuta Y., 1986. Growth, Survival, and Body Lipid Composition of the Prawn Larvae Receiving Several Dietary Phospholipids. *Mem. Fac. Fish., Kagoshima Univ.*, 35 (1): 17-27.
- 71.- Teshima S. and Kanazawa A., 1978. Release and transport of lipids in the prawn. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 44 (11) : 1269-1274.
- 72.- Teshima S. and Kanazawa A., 1979. Lipid Transport mechanism in the prawn. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 45:1341-1346.

- 73.-Teshima S. and Kanazawa A., 1983. Variation in lipid compositions during the ovarian maturation of the prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 49(6):957-962.
- 74.- Teshima, S., Kanazawa A., 1982. Variation in Lipid composition during the larval development of the Prawn (*Penaeus japonicus*). Laboratory of Fisheries Chemistry, Faculty of Fisheries, University of Kagoshima, Japan.31: 205-212.
- 75.- Teshima, S., Kanazawa A., 1984. Nutritional requirement in prawn larvae. Feed Oil Abst., B (19): 1-10 (in Japanese).
- 76.- Teshima S., Kanazawa A., Shimamoto R., 1988. Anatomical distribution of sterols and Fatty acids in the Bivalve *Maetra chinensis* . Nippon Suisan Gakkaishi 54 (2): 293-297.
- 77.- Teshima Shin-ichi and Kanazawa Akio, 1983. Digestibility of dietary of Lipids in the prawn. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 49(6) 963-966
- 78.- Torres H. N., Cardini C. E., Carminotti H., 1983. Bioquímica General. Argentina.
- 79.- Walpole R., Mayer R., 1986. Estadística. Nueva Editorial Interamericana. México.
- 80.- Watanabe T., 1978. Requerimientos de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces. Tokyo University of fisheries, Japan.

- 81.- Watanabe T., Thongrod S., Takeuchi T., Satoh S., Kubota S., Fujimaki Y., and Cho Y. C., 1989. Effect of Dietary n-6 and n-6 Fatty acids on Growth, Fatty acid Composition and Histological changes of White Fish *Coregonus Lavaretus maraena* . Nippon Suisan Gakkaishi 55 (11): 1977-1982.
- 82.- Watanabe T., Oowa F., Kitajima Ch., and Fujita S., 1980. Relationship between Dietary Value of Brine Shrimp *Artemia Salina* and their content of w3 Highly Unsaturated Fatty Acids. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 46 (1): 35-41.
- 83.- Watanabe T., Tamiya T., Oka A., Hirata M., Kitajima Ch., Fujita S., 1983. Improvement of dietary value of live foods for fish larvae by feeding them on w3 highly unsaturated fatty acids and fat soluble vitamins. Bulletin of the Japanese Society of Science Fisheries 49 (3): 471-479.
- 84.- Watanabe T. Fish Nutrition and mariculture JICA-TEXTBOOK. The general aquaculture course. Department of Aquatic Biosciences. Tokyo University of Fisheries, pp. 21.
- 85.- World Aquaculture Magazine, 1990. Shrimp Farming in Ecuador, An Aquaculture Success Story. World Aquaculture 21(1): 7-16.
- 86.- World Aquaculture Magazine, 1990. Shrimp Farming in Ecuador, As you sow, so shall you reap. World Aquaculture 21(3): 48-55.