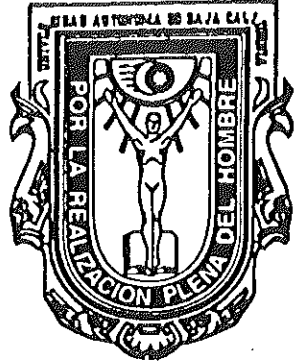


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



**PERFILES DE ACIDOS GRASOS DE NAUPLIOS DE 4
POBLACIONES MEXICANAS DE *Artemia franciscana*, Y
ADULTOS CULTIVADOS EN DIFERENTES CONDICIONES
EXPERIMENTALES.**

**Tesis que para obtener el título de
OCEANÓLOGA**

**Presenta:
NORMA ALICIA DE JESÚS RAMOS DELGADO.**

Ensenada BC

Marzo de 1999.

GRACIAS A:

Al Dr. Francisco Correa Sandoval, por su dirección y apoyo incondicional, su paciencia y sobretodo, por el entusiasmo que muestra en todo momento.

Al Dr. Victor F. Camacho Ibar, por su valiosa contribución en la realización del presente trabajo, por su paciencia durante mi estancia en el laboratorio y algo importante: su tiempo.

Al Prof. Jesús Serrano Esquer, por sus comentarios y sugerencias para mejorar este estudio.

A quienes de alguna manera me apoyaron y contribuyeron en la realización del presente trabajo: Margarita Cervantes y Jorge Pacheco.

Al Ing. Alfredo Vera Morán, por su amabilidad al permitirme usar su computadora durante mis vacaciones.

Al CONACyT por otorgarme una beca para la elaboración de esta tesis, através del proyecto CONACyT 1942P-N9507 y al apoyo financiero del proyecto UABC 4054.

A todos los profesores de la Facultad de Ciencias Marinas que dejaron una pequeña semilla de conocimiento en mí, con la esperanza de hacerla germinar. En especial a quienes fueron mas allá de su deber, y de quién me llevo buenos recuerdos: las maestras Graciela Guerra Rivas y Dora Ofelia Waumman Rojas

Al Dr. Saúl Alvarez Borrego, por permitirme aprender algo de Estadística básica siendo su ayudante, y a Laura Vélez por sus sonrisas en ese tiempo.

A mis amigos y amigochos: Nancy y Juan, Gio, Yunuén, Edgar, Luis, Julio, Claudia, Lety, Jorge Simental y a cada uno de los Crudaceos, porque desde aquí, todo lo vivido parecen buenos momentos.

A Surgencia, por permitirme conocer y desarrollar una faceta nueva de mi persona y por ser un espacio donde se puede vertir toda nuestra inquietud y creatividad, igualmente a Filigrana: a las maestras Yolanda y Graciela por todo el tiempo invertido.

A la Familia "Casablanca": el Doc, Sr. Olachea, Don Ramón, Sra. Irma, Verónica, Nachito, Armando, y en especial a Elizabeth y Alicia, por sus consejos y sus porras.

*Con todo el cariño del mundo, a las personas que estuvieron en todo momento a mi lado, me ayudaron y me apoyaron de mil maneras:
mis tios Sergio y Betty ♥. GRACIAS!!!*

INDICE

	Página
Lista de Figuras	vii
Lista de Tablas	viii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	8
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Nauplios de poblaciones naturales	9
Cultivos experimentales	10
Determinación de ácidos grasos	10
Análisis cromatográfico	12
Obtención de resultados	14
RESULTADOS	16
Nauplios de poblaciones naturales	19
Cultivos experimentales	23
DISCUSION	27
Nauplios de poblaciones naturales	27
Cultivos experimentales	34
CONCLUSIONES	38
LITERATURA CITADA	39
ANEXOS	44

LISTA DE FIGURAS.

	Página
Figura 1. Crecimiento y desarrollo de hembras de <i>Artemia</i> sp., desde una forma metanaupliar avanzada hasta el estadio juvenil	2
Figura 2. Crecimiento y desarrollo de machos de <i>Artemia</i> sp., desde una forma metanaupliar avanzada hasta el estadio juvenil	2
Figura 3. Concentraciones porcentuales de los ácidos grasos individuales de las muestras de nauplios recién eclosionados de <i>Artemia franciscana</i> del Gran Lago Salado, Cuatro Ciénegas y San Luis Potosí, con base en el total de ácidos grasos identificados.	21
Figura 4. Concentraciones porcentuales de los ácidos grasos individuales de las muestras de nauplios recién eclosionados de <i>Artemia franciscana</i> de Texcoco y Oaxaca, con base en el total de ácidos grasos identificados	22
Figura 5. Concentraciones porcentuales de los ácidos grasos de adultos de <i>Artemia franciscana</i> cultivada bajo diferentes condiciones de salinidad y temperatura. Valores expresados en porcentajes individuales con base en el total de ácidos grasos identificados.	26

LISTA DE TABLAS.

	Página
Tabla I: Comparación de las pruebas de extracción de ácidos grasos en adultos de <i>Artemia franciscana</i> realizadas antes del experimento. Valores expresados en porcentajes de ácidos grasos individuales con base en el total de ácidos grasos identificados.	17
Tabla II: Tiempos de retención relativos de los analitos identificados en las muestras de <i>Artemia franciscana</i> , comparados con los obtenidos en los estándares PUFA-1 y PUFA-3, tomando como referencia el 16:0.	18
Tabla III: Contenido de ácidos grasos en nauplios recién eclosionados de <i>Artemia franciscana</i> de las diferentes poblaciones naturales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.	20
Tabla IV: Contenido de ácidos grasos en adultos de <i>Artemia franciscana</i> cultivada bajo diferentes condiciones experimentales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.	24
Tabla V: Comparación del contenido de ácidos grasos en nauplios de <i>Artemia franciscana</i> de diferentes poblaciones continentales y de las muestras de nauplios recién eclosionados. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.	29
Tabla VI: Comparación del contenido de ácidos grasos en nauplios de <i>Artemia</i> de diferentes zonas costeras de España y de la muestra de Oaxaca. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.	30
Tabla VII: Comparación del contenido de ácidos grasos en adultos de <i>Artemia</i> de diferentes poblaciones y de las muestras de los cultivos experimentales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.	35

INTRODUCCIÓN

ARTEMIA

Debido a su gran valor nutricional, los nauplios de *Artemia* (Fig. 1) han sido usados desde la década de los 30's como alimento vivo larvario en cultivos de organismos de gran importancia comercial y científica (Navarro, 1996) entre los que se encuentran el camarón, el langostino, peces de ornato y la totoaba, la cual se encuentra en fase experimental (True, 1997; com. pers.). Mas del 85% de las especies marinas cultivadas a la fecha han sido alimentadas con *Artemia* en alguna fase de su desarrollo, utilizándose como complemento alimenticio o como alimento único (Kinne, 1976; Sorgeloos *et al.*, 1987; Correa *et al.*, 1994). En la actualidad se consumen anualmente mas de 700 ton. de quistes de *Artemia* a nivel mundial (CYTED, 1996).

El gran auge que ha cobrado la acuicultura, ha hecho necesario el buscar la manera de obtener productos de alta calidad que puedan competir en el mercado internacional, y cuyos costos de producción no sean elevados. Como se sabe, el buen desarrollo de los organismos carnívoros en cultivo depende, en gran medida del abastecimiento de alimento vivo, y son los nauplios de *Artemia* el alimento más utilizado.

Entre las características que hacen de *Artemia* el alimento ideal para especies en cultivos se encuentra el ser atractivo para el organismo, ya que tienen un color llamativo y movimiento continuo, además de buena digestibilidad y palatibilidad. Sin embargo, la ventaja principal de su uso radica en la facilidad de obtener alimento vivo en corto tiempo a partir de quistes, producto inerte y fácilmente almacenable (Navarro, 1996).

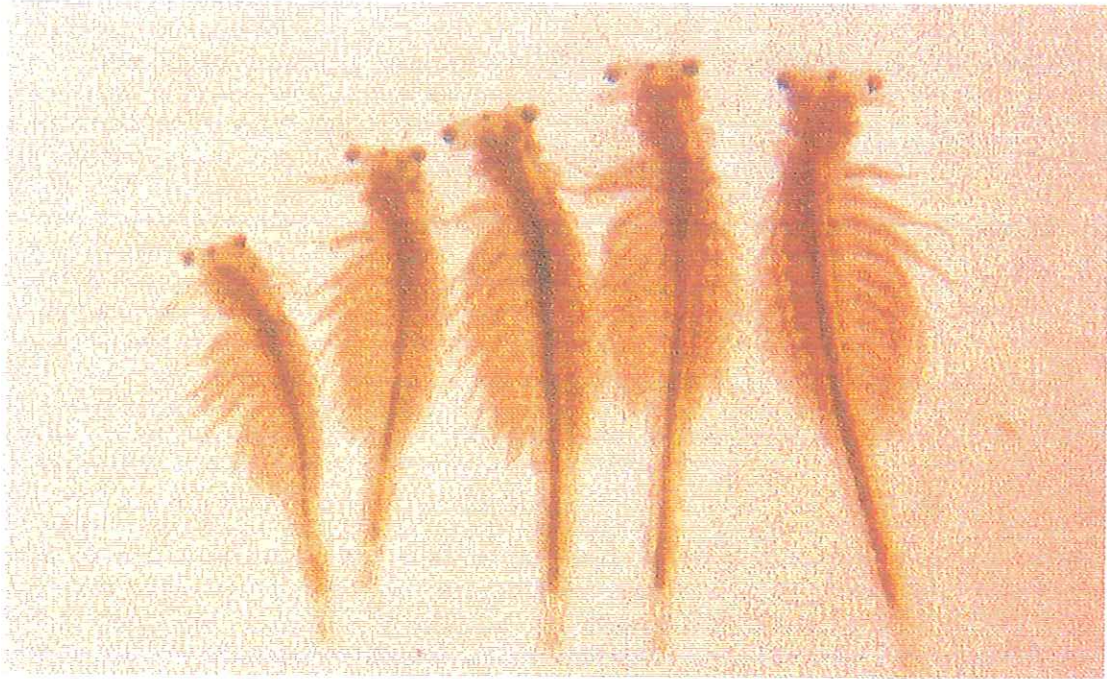


Figura 1. Crecimiento y desarrollo en hembras de *Artemia* sp., desde una forma metanaupliar avanzada hasta el estadio juvenil. (Tomada de Amat *et al.* 1991)

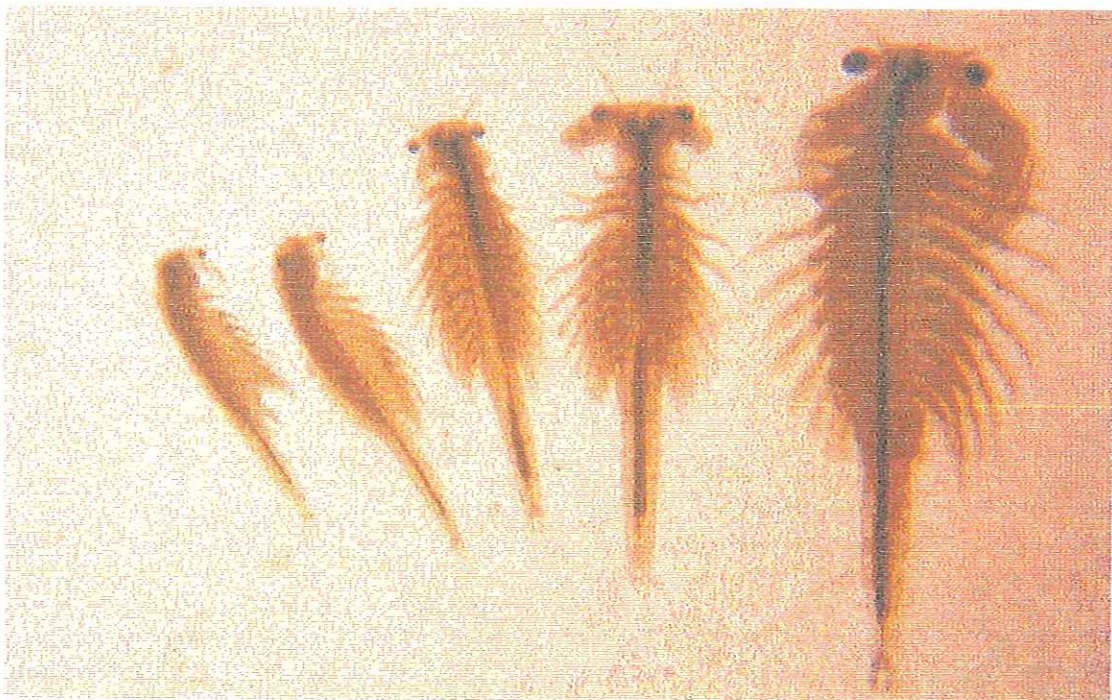


Figura 1. Crecimiento y desarrollo en machos de *Artemia* sp., desde una forma metanaupliar avanzada hasta el estadio juvenil. (Tomada de Amat *et al.* 1991)

Artemia ha cobrado una importancia tal, que el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) ha establecido el Subprograma II de Acuicultura denominado "Localización, caracterización y evaluación del potencial extractivo de *Artemia* en Iberoamérica, con destino a la acuicultura", con el fin de hacer un estudio integral e interinstitucional para crear una base de información acerca de las poblaciones de *Artemia* en Iberoamérica y de esta manera aprovechar al máximo este recurso.

La gran demanda, y subsecuente explotación de *Artemia* en fuentes naturales, ha creado en la actualidad una escasez del recurso, siendo el Gran Lago Salado uno de los proveedores más recurrido en los últimos años. Sin embargo, el valor nutritivo del producto obtenido de estos quistes, es insuficiente, especialmente para las especies de tipo marino, por lo cual ha sido necesario el empleo de enriquecedores antes de ser proporcionado como alimento para otros organismos (CYTED, 1996).

ÁCIDOS GRASOS

La importancia de *Artemia* en la acuicultura ha motivado a muchos investigadores a estudiar la calidad de diferentes especies y poblaciones, a partir de las características de sus nauplios, con base en su biometría, porcentajes y eficiencias de eclosión, composición bioquímica y diferenciación genética, entre otras. Una vez caracterizados de manera convencional los nauplios de *Artemia*, la cuantificación y cualificación del valor nutritivo del mismo, es el criterio de mayor importancia (CYTED, 1996).

Se han realizado varios estudios para determinar el valor nutritivo de los quistes y nauplios de *Artemia* con base en su contenido de ácidos grasos (Watanabe *et al.*, 1980; Léger *et al.*, 1985; Navarro y Amat, 1992; Navarro *et al.*, 1993). Watanabe *et al.* (1978) dieron a conocer la gran importancia de los ácidos grasos de la serie 3, al clasificar a *Artemia* en dos tipos: el dulceacuícola, por su alto contenido de ácido linolénico (18:3 ω 3) el cual es esencial para el desarrollo de peces de agua dulce, y el marino, con alto contenido de ácido eicosapentaenoico (20:5 ω 3), esencial para organismos marinos.

En general, tanto en peces como en crustáceos los requerimientos de ácidos grasos esenciales son principalmente cuatro: el linoleico (18:2 ω 6), el linolénico (18:3 ω 3), el eicosapentaenoico (20:5 ω 3) y el docosahexaenoico (22:6 ω 3). A pesar de que el 22:6 ω 3 no se encuentra presente en *Artemia* (y si se encuentra es sólo en cantidades traza), se cree que algunos crustáceos pueden convertir el 18:3 ω 3 en 20:5 ω 3 y en 22:6 ω 3, vía desaturación y elongación. Aunque la bioconversión no tiene el rendimiento suficiente para satisfacer las necesidades de los dos últimos, la vía metabólica parece ser mucho más eficiente en el caso de los peces (Navarro, 1996).

Como resultado de muchos estudios sobre el perfil de ácidos grasos, se encontró que los más abundantes que *Artemia* presenta son el 16:0, 16:1, 18:1, 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 y 20:5 ω 3, presentándose una distribución bimodal entre los ácido linolénico (18:3 ω 3) y eicosapentaenoico (20:5 ω 3), y en general, las muestras con alto contenido de ácido linolénico, presentaban bajas cantidades de ácido eicosapentaenoico, y viceversa. Coincidiendo así con lo observado por Watanabe *et al.* (1978), cuando clasificaron a *Artemia* en tipo dulceacuícola y marino con base en su perfil de ácidos grasos.

El uso de nauplios de *Artemia* enriquecidos con ácidos grasos poliinsaturados esenciales de cadena larga (n-3), ha sido el precursor de muchos éxitos en la larvicultura de peces y crustáceos marinos (CYTED, 1996). Uno de los mayores logros de manipular el perfil de ácidos grasos de *Artemia*, ha sido el cese de mortalidades masivas en las primeras etapas de desarrollo de los organismos alimentados, especialmente cuando se usaban únicamente nauplios obtenidos de *Artemia* de quistes del Gran Lago Salado (Navarro, 1996).

ANTECEDENTES

Navarro *et al.* (1988) realizaron experimentos de alimentación alterna con larvas de lubina (*D. labrax*) y el langostino (*P. kerathurus*), utilizando una cepa de *Artemia* pobre (quistes del GLS) y otra rica en ácidos grasos poliinsaturados (de la laguna La Mata, en España). Estos autores encontraron un efecto negativo sobre las larvas de lubina, cuando fueron parcialmente alimentadas con la cepa proveniente del Gran Lago Salado, y reportan una mortalidad total cuando el alimento otorgado fue éste únicamente. En lo referente al langostino, no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Navarro y Amat (1992), realizaron un estudio comparativo de los efectos producidos en el perfil de ácidos grasos, de organismos alimentados con dos dietas de microalgas (*Tetraselmis suecica* y *Dunalliella tertiolecta*), con diferente contenido de ácidos grasos. El experimento se realizó en quistes, y el alimento se otorgó a una generación parental de *Artemia*, procedente de quistes de tipo dulceacuícola que carecían de ácido eicosapentanoico (20:5 ω 3) y con alto contenido de ácido linolénico (18:3 ω 3). Los resultados del experimento mostraron la presencia de 20: 5 ω 3,

demostrando así, la clara relación entre el alimento otorgado a la generación parental y el perfil de ácidos grasos de la descendencia, sin excluir del todo el componente genotípico, pues los niveles de otros ácidos grasos (18:2w6, 16:0) no mostraron correlación alguna con los niveles del alimento otorgado.

Estudios realizados por Amat *et al.* (1987) y por Navarro *et al.* (1988) revelan que la larva de pez alimentada con nauplios de *Artemia*, que no tiene los ácidos grasos esenciales, presenta síntomas de tipo etológicos y morfológicos como: giros, natación vertical o en zig-zag, caída sobre el fondo del tanque, pigmentación anormal, delgadez, exoftalmia, movimientos espasmódicos del cuerpo, etc. Este proceso es irreversible, y el organismo pierde toda capacidad de capturar a su presa, alcanzando la muerte.

Una revisión de los trabajos del "International Study of *Artemia*" coordinado por el *Artemia* Reference Center en Bélgica, plantea que una buena cepa de *Artemia* debe tener por lo menos un 4% de ácido eicosapentaenoico (20:5w3) del total de ácidos grasos, para asegurar el buen desarrollo de los organismos en cultivo. Contenidos entre 3 y 4% dan resultados variables, dependiendo de otros factores desconocidos, mientras que cepas con menos de 3%, generalmente producen crecimientos y supervivencias deficientes (Leger *et al.*, 1986; Navarro *et al.*, 1988).

Debido a lo expuesto anteriormente, algunos estudios han sido hechos con el fin de manipular el perfil de los ácidos grasos en quistes y en nauplios de *Artemia*, a través de la dieta otorgada a la generación antecesora (Navarro, 1996; Navarro y Amat, 1992), o a través de diferentes tipos de alimentación (Sakamoto *et al.*, 1982 y Millamena, 1988), encontrándose una clara relación entre el alimento presente en el medio y el perfil de ácidos grasos del organismo.

Por otro lado, varios autores (Schauer *et al.*, 1980; Cowgill *et al.*, 1987; Navarro *et al.*, 1989; Mourente y Rodríguez, 1989; Trintaphyllidis *et al.*, 1993; Sánchez y Alvarez, 1996) han trabajado en la caracterización de diferentes poblaciones naturales de *Artemia*, tomando como característica importante su perfil de ácidos grasos. Al respecto, y entre los trabajos que destacan, Navarro *et al.* (1989) estudiaron quistes y nauplios de *Artemia* de diferentes cepas españolas, tomadas del medio natural, señalando su carácter marino ya que los niveles de 20:5w3 no fueron menores al 4%. Del mismo modo, se registró muy poca variación en el porcentaje de los ácidos grasos importantes, lo que se relacionó con la influencia de condiciones bioecológicas poco fluctuantes.

Por otra parte, Sánchez y Alvarez (1996) trabajaron con una cepa silvestre de *Artemia* de Venezuela, y aunque detectaron un porcentaje de 20:5w3 menor al 2% del total de ácidos grasos, se registró una buena supervivencia y desarrollo en sus cultivos experimentales con larvas de *P. vannamei* y *P. stylirostris*, en comparación con nauplios comerciales del Gran Lago Salado; sugiriendo de esta manera, la explotación del recurso nacional como una buena alternativa en Venezuela.

OBJETIVOS

- ⇒ Caracterizar las poblaciones de *Artemia franciscana* de Oaxaca, San Luis Potosí, Texcoco, Cuatro Ciénegas y del Gran Lago Salado, con base en sus perfiles de ácidos grasos, en nauplios recién eclosionados.

- ⇒ Determinar el perfil de ácidos grasos de *Artemia franciscana* del Gran Lago Salado (Utah, EUA) cultivadas hasta el estado adulto en cuatro diferentes condiciones de salinidad y temperatura

MATERIALES Y MÉTODOS.

Los quistes de *Artemia franciscana* analizados en el presente estudio proceden de las poblaciones naturales de México: Oaxaca, San Luis Potosí, Texcoco y Cuatro Ciénagas; también se analizó como referencia una población proveniente del Gran Lago Salado (Utah, EUA). A excepción de la población de Utah, los quistes fueron proporcionados por la Dra. Thalía Castro de la Universidad Autónoma Metropolitana (Xochimilco) del Banco Iberoamericano de Quistes de *Artemia* (México) del Subprograma II-A del CYTED.

NAUPLIOS DE LAS POBLACIONES NATURALES.

Los quistes de las poblaciones naturales fueron descapsulados utilizando el método del hipoclorito de sodio (Correa y Bückle, 1992). Los quistes se colocaron en agua dulce por espacio de una hora para que se hidrataran y después se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio por 5-7 min., agitando constantemente hasta que el color de los quistes cambió gradualmente de color café oscuro a blanco y luego a naranja. Se vaciaron en una criba de 150 μm y se enjuagaron con agua dulce. Posteriormente se colocaron en una solución de ácido clorhídrico al 1% por 1 min agitándose constantemente; se lavaron de nuevo y se vaciaron en un vaso de precipitados con agua de mar (32 ‰) con buena aeración. Antes de cumplir 8 horas de haber eclosionado, los nauplios que emergieron de los quistes fueron extraídos con un sifón y se enjuagaron varias veces con agua destilada, después se cosecharon y liofilizaron para ser congelados a -70°C hasta los análisis bioquímicos.

CULTIVOS EXPERIMENTALES

Los quistes que se utilizaron para los cultivos experimentales de este estudio provienen del Gran Lago Salado (Sanders Brine Shrimp Company, Inc. lot. # SP 1352). Al igual que en los anteriores los quistes fueron descapsulados utilizando el método de hipoclorito de sodio. El diseño experimental consistió en un factorial de 2x2. Las temperaturas fueron de 22 ± 0.5 °C y 26 ± 0.5 °C; las salinidades de 30 ‰ y 60 ‰, como alimento se utilizó la microalga viva *Dunaliella* sp. Los nauplios de *Artemia* se colocaron en acuarios de 10 L cada uno con una densidad de 0.5 org/ml. Las raciones diarias de *Dunaliella* sp. fueron las indicadas por Vanhaecke *et al.*, (1987). Las muestras se etiquetaron como: 1 (22°C, 30‰), 2 (22°C, 60‰), 3 (26°C, 30‰) y 4 (26°C, 60‰).

El experimento finalizó una vez que los organismos alcanzaron la talla adulta y presentaron los caracteres reproductivos desarrollados. Los organismos se colectaron y liofilizaron, para ser almacenados a -70 °C hasta los análisis bioquímicos.

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

Se realizaron dos extracciones de lípidos como prueba al inicio del experimento: la primera, utilizando cloroformo-metanol-agua (2:2:1) de acuerdo a la metodología de Bligh and Dyer (1959), y la segunda, usando diclorometano-metanol (2.3:1), extracción descrita dentro de la metodología utilizada para el análisis de ácidos grasos de Wakeham y Canuel (1989). Se decidió por esta última extracción, por ser la mas exhaustiva.

El perfil de ácidos grasos en *Artemia* fue determinado a partir nauplios recién eclosionados y adultos liofilizados, utilizando el método descrito por Wakeham y Canuel (1989) para sedimentos marinos, el cual consiste en:

- i Extracción de la fracción orgánica.
- ii Hidrólisis alcalina utilizando KOH 0.5N en metanol.
- iii Derivatización utilizando BCl₃ en metanol.
- iv Purificación de los ácidos grasos mediante cromatografía de columna de baja presión.
- v Identificación y cuantificación de los analitos, mediante el análisis de cromatografía de gases.

Los lípidos se obtuvieron mediante extracción soxhlet, utilizando una mezcla de DCM:MeOH 2.3:1 al reflujo por 12-15 hrs. Posteriormente se eliminó el agua y el metanol con una extracción líquido-líquido con NaCl al 5%; se enjuagó la fase acuosa con DCM con el fin de recuperar cualquier residuo orgánico y se concentró en un vial de 4 ml etiquetándose como ELT (extracto lipídico total) y se almacenó a -20°C para su posterior análisis.

Con el fin de disociar los ácidos grasos de las moléculas lipídicas, se realizó una saponificación o hidrólisis alcalina con KOH 0.5N en metanol, a alta temperatura y bajo una atmósfera de N₂ para evitar la oxidación. Posteriormente se separó la fase lipídica neutra y se acidificó el extracto con HCl 6N para obtener ácidos grasos libres, los cuales fueron convertidos a ésteres metilados de ácidos grasos (FAME's por sus siglas en inglés) utilizando BCl₃ como catalizador, reacción conocida como derivatización o transesterificación.

Una vez obtenidos los FAME's se procedió a purificar la muestra de cualquier compuesto que pudiera interferir durante el análisis, por medio de una cromatografía en columna, también llamada de baja presión, utilizando sílica gel (S/P 60A) como fase estacionaria y mezclas de polaridad creciente de hexano, ácido acético y acetato de etilo, para la elución de los compuestos.

Se utilizaron 2 estándares de referencia: -el C:19 para conocer el porcentaje de recuperación de la muestra, el cual se agregó antes de la saponificación, y -el C:20 etil-éster del ácido araquidónico como estándar interno para la cuantificación de los FAME's, el cual fue añadido a la muestra antes del análisis cromatográfico.

Todos los solventes utilizados fueron de alta pureza grado pesticida (B&J), y los compuestos usados (NaCl, Na₂SO₄ y sílica gel), requirieron de una estricta rutina de purificación, la cual consistió principalmente en extracción soxhlet y alta temperatura.

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Las muestras fueron inyectadas en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama GC-FID Hewlett-Packard 5890 Series II, equipado con una columna HP-5 (0.32mm DI x 30m). Se utilizó H₂ como gas transportador, la temperatura del inyector fue 250°C y del detector 310°C. Se utilizó el integrador Pe Nelson 1020 LC Plus para los nauplios recién eclosionados de las diferentes poblaciones, y el HP GC ChemStation para los adultos de los cultivos experimentales.

La identificación de los analitos se basó en la comparación de los tiempos de retención de los picos encontrados en la muestra y los tiempos de retención obtenidos de dos mezcla de estándares puros: PUFA-1 de fuente marina y PUFA-3 aceite de Menhaden de SUPELCO, utilizando también los tiempos de retención de analitos ya conocidos.

La confirmación de los ácidos grasos encontrados se realizó inyectando las muestras en el cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas GC-DSM Hewlett-Packard 5972A Series II, equipado con una columna HP-5 MS (0.25mm DI x 30m), utilizando He como gas transportador y una temperatura de inyección de 250°C y del detector de 290°C. Se compararon los fragmentogramas de los picos de las muestras con los de ácidos grasos almacenados en la biblioteca FATTY del GC-DSM, la cual se generó a partir de estándares puros y con espectros de masas de FAME's presentes en la biblioteca NBS75K.

Se presentaron problemas en la identificación de algunos analitos, derivados del uso de una columna cromatográfica no óptima para el análisis de ácidos grasos poliinsaturados. En general, las columnas utilizadas para este tipo de análisis son polares, como la Omegawax, columna utilizada en el laboratorio de SUPELCO para la identificación de los analitos de los estándares comerciales PUFA-1 y PUFA-3. La columna usada para realizar el análisis cromatográfico en este estudio, fue una HP-5, columna no polar.

La diferencia en el uso de una columna polar y una no polar se observa en el orden de elución de los compuestos; en la columna muy polar, son detectados primero los ácidos grasos saturados y después los mono y poliinsaturados, mientras que en la columna no polar aparecen primero los poliinsaturados, después los monoinsaturados y por último los saturados (Ver

Anexo iii). Por otro lado, la identificación de los analitos de las muestras en el GC-DSM, no fue sencilla ya que algunos de los compuestos se detectaron en pequeñas concentraciones, y por tanto, se encontraban cerca de la línea de base, alterando el espectro del analito y haciendo difícil su identificación.

Para facilitar la identificación de los analitos se utilizó una tabla con tiempos de retención relativos, tomando como base el ácido graso saturado C16.

CONCENTRACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS.

Las concentraciones de los ácidos grasos fueron calculadas a partir del área bajo la curva de cada pico en el cromatograma y con referencia al estándar interno utilizado.

Las concentraciones de los FAME's fueron obtenidas en unidades de μg por gramo de muestra seca, mediante la siguiente relación:

$$C = [(A \times B) / d] \times b / W$$

Donde: C = concentración total en $\mu\text{g/g}$ de muestra seca.

A = área del analito identificado.

B = concentración del estándar interno.

d = área del estándar interno.

b = factor de dilución.

W = peso seco de la muestra.

Se analizaron un total de 9 muestras: 5 para el primer objetivo, que consistió en caracterizar diferentes poblaciones de *Artemia* analizando muestras de nauplios recién eclosionados; y 4 muestras para el segundo, que fue determinar el perfil de ácidos grasos de adultos de *Artemia* comercial del Gran Lago Salado cultivada en diferentes condiciones de salinidad y temperatura.

Al igual que en artículos consultados (Sakamoto *et al.*, 1982; Léger *et al.*, 1985; Cowgill *et al.*, 1987, Sorgeloos *et al.*, 1987; Amat *et al.*, 1987; Navarro y Amat 1992; Navarro *et al.*, 1993), no se aplicó ningún tipo de análisis estadístico, únicamente se compararon entre sí los perfiles de los ácidos grasos de las muestras, así como también con lo existente hasta ahora en la literatura.

RESULTADOS.

En la Tabla I se presenta la comparación de las pruebas de extracción de ácidos grasos en *Artemia* por diferentes métodos. Es evidente que la rutina utilizada para la extracción de ácidos grasos en sedimentos (A) de Wakeham y Canuel (1989), es más eficiente ya que se encontraron 25 analitos y una concentración de ácidos grasos totales (AGT) de 11741 $\mu\text{g/g}$ de peso seco, a diferencia de la *Artemia* extraída por el método Bligh and Dyer (1959) (B) donde se extrajeron 18 y se obtuvo una concentración de AGT de 1449 $\mu\text{g/g}$ de peso seco. Entre los ácidos grasos que mayor diferencia en su concentración presentaron se encuentran el 16:0, el 18:2w6 y el 18:0. Cabe mencionar que en los experimentos se encontraron alrededor de 30 diferentes ácidos grasos.

En la Tabla II se muestran los tiempos de retención relativos (TRR) de los ácidos grasos de todas las muestras analizadas. Para obtener estos TRR, se restó el tiempo de retención del C16:0 a cada uno de los ácidos grasos y se calcularon las medias y desviaciones estándar individuales. Se compararon los TRR anteriores y los tiempos obtenidos de los analitos de las mezclas PUFA-1 y PUFA-3. Las desviaciones estándar de los estándares de referencia C19:0 y C20:0 fueron 0.02 y 0.03 respectivamente, la mayoría de los analitos tuvieron una variación igual o menor, sin embargo, se presentaron variaciones mayores (14:1w9, a15, 17:1 y 20:5w3) debido a que hubo coelución de compuestos en algunos tiempos.

En un inicio, un analito se identificó como 18:2w6 en todas las muestras, tanto en nauplios recién eclosionados como en adultos. Sin embargo, al comparar los TRR en la Tabla II, se observó una diferencia constante de alrededor de 13 segundos para las muestras de los cultivos.

Tabla I: Comparación de las pruebas de extracción de ácidos grasos en adultos de *Artemia franciscana* realizadas antes del experimento. Valores expresados en porcentajes de ácidos grasos individuales con base en el total de ácidos grasos identificados y en $\mu\text{g/g}$ de peso seco de muestra. (A: muestra extraída con diclorometano-metanol; B: muestra extraída con cloroformo-metanol.)

Analito	A		B	
	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$
14:P	2.62	305	1.64	24
14:1	1.97	229		
14:0	2.95	344	2.38	34
i15:0	4.78	556	3.20	46
a15:0	2.30	270	2.23	32
15:0	1.63	290	3.40	49
i16:0	2.32	271		
16:1w9	6.54	761	3.60	52
16:0	21.7	2524	26.7	388
i17:0	2.84	331	2.98	43
a17:0	1.42	166		
17:1	1.37	160		
17:0	3.90	455	5.97	86
18:2w6	9.63	1121	2.56	37
18:1w9	5.73	976	5.43	79
18:1w7	8.38	304	8.33	121
18:0	8.90	1034	22.7	330
18:P	2.60	668	1.46	21
20:5w3	0.96	112		
20:4	1.43	166		
20:1w9	0.77	89	1.64	24
20:P	0.77	89	1.72	25
22:P	2.12	247	2.47	36
22:1	1.25	145	1.50	22
24:1w9	1.10	128		
$\Sigma =$	100	11741	100	1449

Tabla II: Tiempos de retención relativos de los analitos identificados en las muestras de *Artemia franciscana*, comparados con los obtenidos en los estándares PUFA-1 y PUFA-3, tomando como referencia el 16:0. Las muestras de los nauplios recién eclosionados de las poblaciones naturales son 1: Gran Lago Salado, 2: Cuatro Ciénegas, 3: San Luis Potosí, 4: Texcoco y 5: Oaxaca. Las muestras de los adultos de los cultivos experimentales son 6: 22°C y 30‰, 6: 22°C y 60‰, 8: 26°C y 30‰ y 9: 26°C y 60‰.

Analito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Media	Des.est.	Pufa-1	Pufa-3
14:P ₁	-6.67		-6.58	-6.58	-6.57	-6.58	-6.59	-6.60	-6.60	-6.60	0.03		
14:1w9	-6.36	-6.31		-6.29	-6.28	-6.37	-6.40	-6.31	-6.39	-6.34	0.05		
14:0	-5.93	-5.89	-5.85	-5.86	-5.85	-5.84	-5.87	-5.88		-5.87	0.03	-5.83	-5.84
i15:0	-4.05	-4.01	-3.98	-3.98	-3.98	-3.97	-4.00	-4.01		-4.00	0.03		
a15:0			-3.64	-3.64	-3.63	-3.62	-3.64	-3.65	-3.64	-3.64	0.01		
15:0	-2.97	-2.93			-2.89	-2.88	-2.91	-2.92		-2.92	0.03		
16:2				-1.07	-1.07	-1.06	-1.08	-1.09		-1.08	0.01		-1.05
i16:0	-1.14	-1.10								-1.12	0.03		
16:1w9	-0.74		-0.75	-0.77	-0.76	-0.75	-0.78	-0.79	-0.77	-0.76	0.02		
16:1w7		-0.69	-0.66	-0.67	-0.67		-0.69	-0.70		-0.68	0.01	-0.65	-0.65
16:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
i17:0	1.67	1.72	1.75	1.74	1.74	1.81	1.79	1.78	1.80	1.75	0.04		
a17:0	1.98	1.94	1.98	1.97	2.03	2.02	2.00	1.99	2.01	1.99	0.03		
17:1				2.28	2.29		2.26			2.28	0.02		
17:0	2.69	2.73	2.77	2.77	2.76	2.76	2.74	2.73	2.75	2.75	0.03		
18:4		4.18		4.21	4.21	4.21	4.19	4.18	4.20	4.20	0.01	4.21	4.20
18:3						4.58	4.59	4.57	4.58	4.58	0.01		
18:2w6	4.43	4.46	4.44	4.49	4.44					4.45	0.03	4.50	4.49
18:1w9	4.68	4.69	4.69	4.69	4.69	4.68	4.67	4.66	4.67	4.68	0.01	4.74	4.70
18:1w7	4.81	4.84	4.85	4.84	4.84	4.84	4.82	4.81	4.83	4.83	0.01	7.87	4.84
18:0	5.40	5.43	5.44	5.43	5.43	5.43	5.43	5.43	5.45	5.43	0.01	5.44	5.42
18:P		7.01		7.02	7.03	7.04	7.02	7.02		7.02	0.01		
19:0 sorrug.	7.93	7.97	8.00	7.99	7.99	7.99	7.97	7.96	7.99	7.98	0.02		
20:5w3	8.92	8.96		8.98	8.85		8.82			8.90	0.07	8.81	8.80
20:4	9.17	9.21		9.24	9.23	9.24	9.21	9.21		9.22	0.02		9.28
20:P ₂	9.49	9.53	9.55	9.54	9.55	9.53	9.52	9.50	9.53	9.53	0.02		
20:P ₂	9.57	9.61	9.64	9.63	9.63	9.62	9.60	9.59	9.61	9.61	0.02		
20:P ₃	9.70	9.75			9.76			9.74	9.76	9.74	0.02		
20:1w9	9.78	9.83	9.86	9.85	9.85	9.85	9.83	9.82		9.83	0.03	9.79	9.77
20:0 Est. Int.	10.13	10.18	10.21	10.20	10.21	10.21	10.19	10.19	10.2	10.19	0.03		
22:P ₁		14.08	14.11	14.10	14.08	14.08	14.06	14.06		14.08	0.02		
22:1w11	14.41	14.47		14.43	14.42		14.39	14.4		14.42	0.03	14.41	
24:1w9		15.09			15.11	15.12	15.08	15.09		15.10	0.02	15.13	

Nota: Los valores en negritas indican coelución.

De esta manera se separó en otro analito, y se detectó entre el 18:4 y el 18:2w6. Así mismo, se suprimieron analitos que diferían demasiado del promedio y no mostraban coelución. No se encontraron 22:6, 22:5 y 22:1 presentes en las mezclas de SUPELCO; y en 3 ácidos grasos de 20 carbonos presentes en las muestras, no se pudo identificar el número de insaturaciones.

NAUPLIOS DE POBLACIONES NATURALES

En la Tabla III se puede observar que la mayor concentración de ácidos grasos totales (AGT) se encontró en la muestra de Texcoco con 9149 ug/g de peso seco, mientras que la menor se presentó en la muestra de San Luis Potosí con 4669 ug/g. Por otro lado, la mayor abundancia de ácidos grasos se encontró en la muestra de Oaxaca con 29 analitos y la menor en la muestra de San Luis Potosí con 18 analitos.

En el perfil general de ácidos grasos, la muestra del Gran Lago Salado presenta mayores cantidades de 16:1w9, 16:0, 18:1w9, 20:5w3, 20:4 y 20:1w9, presentando cantidades mínimas en 18:4, 18:1w7 y en todos los ácidos grasos de 17 carbonos. La muestra de San Luis Potosí mostró cantidades altas de 14:0 y 18:0, y mínimas en 16:1w7, 18:2w6 y 18:1w9, no presentó 20:5w3; Texcoco presentó altas cantidades de 14:1w9, 16:1w7, 18:4 y 18:1w7; y en Oaxaca se encontró la mas alta cantidad de 18:2w6, y las mínimas cantidades de 16:0, 18:0, 20:5w3 y 24:1w9.

El mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados (AGI) se encontró en la muestra de San Luis Potosí (58.2 %) y el menor en la muestra de 4 Ciénegas (39%), obteniendo ésta muestra, la mayor razón de ácidos grasos saturados /

Tabla III Contenido de ácidos grasos en nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* de las diferentes poblaciones naturales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados. GLS: Gran Lago Salado; 4C: Cuatro Ciéneas; SLP: San Luis Potosí; TEX: Texcoco; OAX: Oaxaca.

Analito	GLS	4C	SLP	TEX	OAX
14:P ₁	0.15		1.33	1.04	2.20
14:1	0.24	0.20		0.56	0.27
14:0	1.03	0.75	1.57	1.51	0.99
i15:0	1.39	1.39	1.64	1.97	1.79
a15:0			4.28	3.88	4.68
15:0	0.47	0.59			0.92
16:2				1.92	1.48
i16:0	1.47	2.04			
16:1w9	0.48	0.28	1.48	0.75	0.85
16:1w7	2.17	4.47	3.00	5.12	3.05
16:0	30	19.8	23.8	20.2	16.2
i17:0	1.18	2.72	3.00	2.38	2.07
a17:0	0.66	3.55	4.90	3.08	3.64
17:1	0.26			0.55	0.53
17:0	2.71	3.86	5.48	2.97	4.49
18:4	0.17	0.64		2.34	0.97
18:2w6	3.04	2.11	1.84	4.55	6.33
18:1w9	24.1	15.6	10.4	12.9	11
18:1w7	8.21	12	8.86	12.1	10.7
18:0	11.3	11	16.4	9.82	7
18:P		0.78		0.55	1.41
20:5w3	1.12	0.87		1.01	0.12
20:4	1.23	0.61		0.88	0.85
20:P ₁	4.87	5.32	3.18	2.80	10.2
20:P ₂	1.51	3.51	2.34	2.51	4.79
20:1w9	0.78	0.55			0.56
20:P ₃		1.07	1.53	1.14	1.28
22:P ₁		4.73	5.07	2.88	0.75
22:1w11	0.56	0.31		0.56	0.62
24:1w9	0.32	0.50			0.25
Conc. de AGT (ug/g)	4960	5714	4670	9150	6413
% Saturados	50.8	61	41.8	45.8	46.5
% Insaturados	49.2	39	58.2	54.2	53.5
% monoinsat	37.1	23.7	27.8	32.6	33.9
% poliinsat	12.1	15.3	30.4	21.6	19.6
Sat / Insat.	1.03	1.56	0.72	0.85	0.87
% C18's	46.8	37.5	37.4	42.3	42.1
% C20's	9.5	7.1	17.8	8.3	11.1

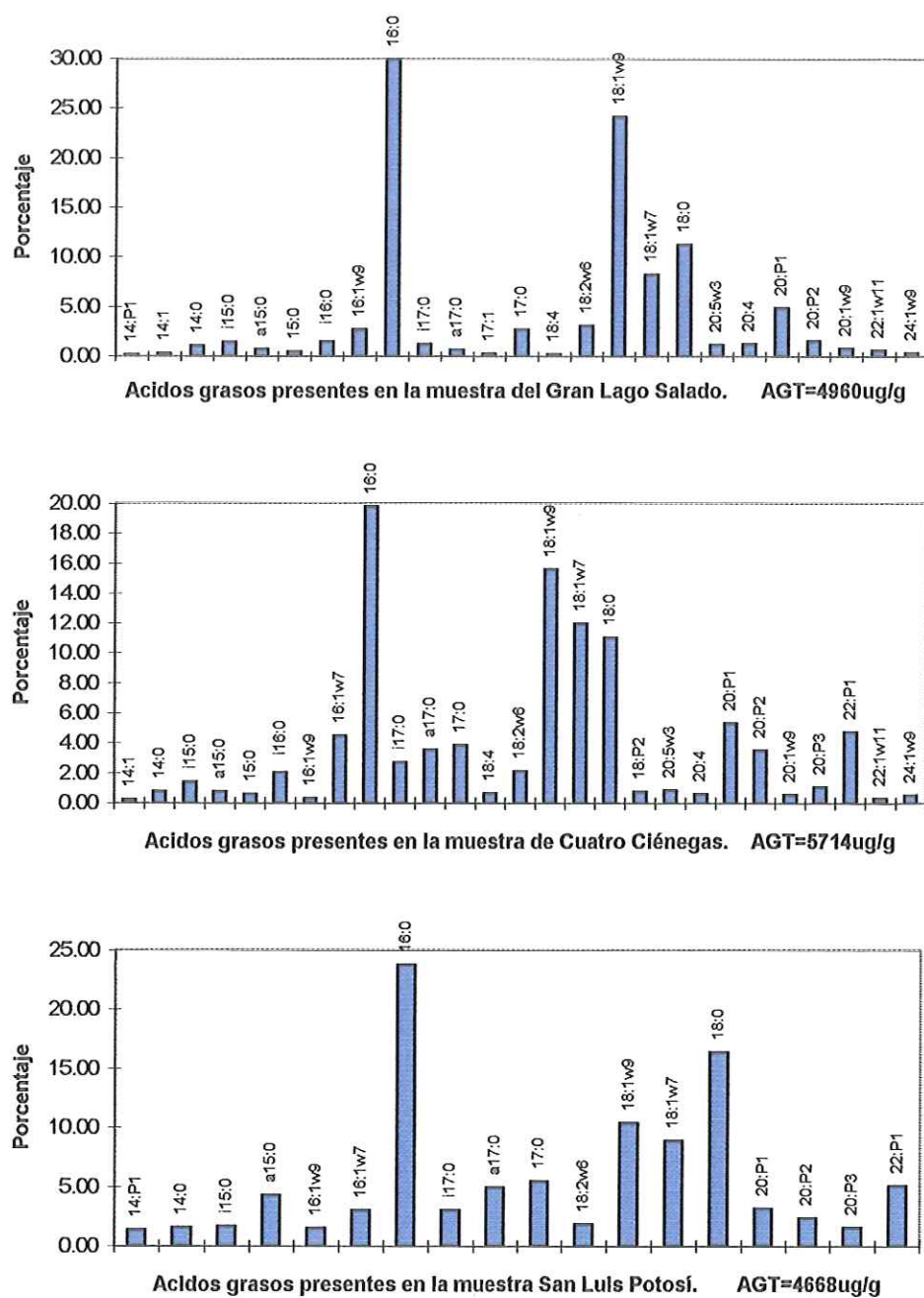


Figura 3. Concentraciones porcentuales de los ácidos grasos individuales de las muestras de nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* del Gran Lago Salado, Cuatro Ciénegas y San Luis Potosí, con base en el total de ácidos grasos identificados.

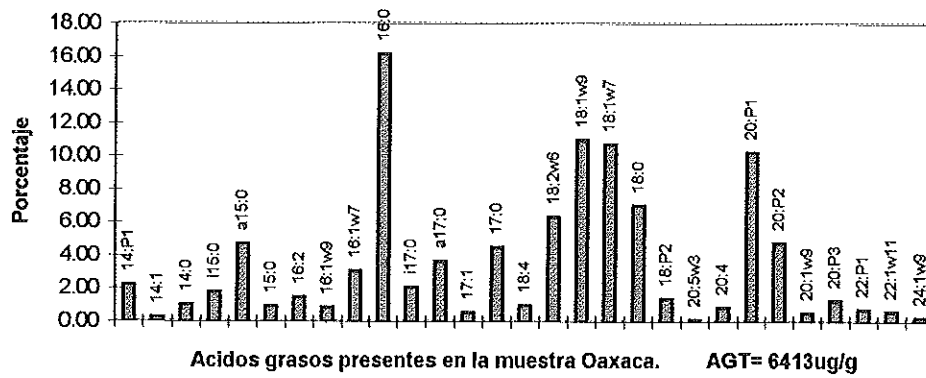
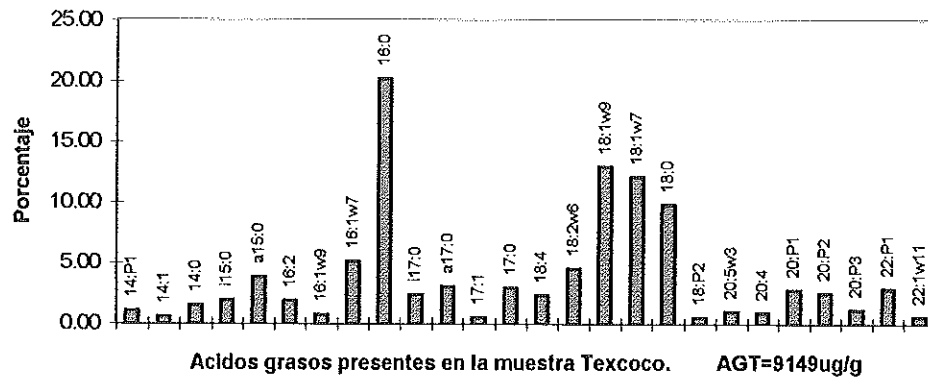


Figura 4. Concentraciones porcentuales de los ácidos grasos individuales de las muestras de nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* de Texcoco y Oaxaca, con base en el total de ácidos grasos identificados.

ácidos grasos insaturados (sat/insat) 1.56.

El mayor porcentaje de ácidos grasos de 18 carbonos (46.8 %), se encontró en la muestra del Gran Lago Salado, encontrándose el menor porcentaje en la muestra de San Luis Potosí (37.4%). El mayor porcentaje de ácidos grasos de 20 carbonos se encontró en la muestra de San Luis Potosí (17.8%) y el menor en la de Cuatro Ciénegas (7%).

Como se puede observar en la Figura 2, los analitos que se presentaron en mayor porcentaje en todas las muestras de las poblaciones naturales fueron: 16:0, 18:1w9, 18:1w7 y 18. En la muestra de Oaxaca se presentaron altos también los ácidos grasos 18:2w6, 20:P₁ y 20:P₂.

CULTIVOS EXPERIMENTALES

En el recuadro inferior se enlistan las condiciones de los cultivos de *Artemia franciscana* para las cuatro muestras analizadas.

MUESTRA	CONDICIONES DE CULTIVO
1	22°C y 30 ppm.
2	22°C y 60 ppm.
3	26°C y 30 ppm.
4	26°C y 60 ppm.

Se encontró una abundancia mínima de 24 analitos (Tabla IV) para la muestra 1 y una máxima de 28 para la muestra 2. La mayor concentración de AGT se encontró en la muestra 2 con 11610 ug/g de peso seco, presentando también el mayor porcentaje de AGI (45.7%). La menor concentración de AGT

TABLA IV: Contenido de ácidos grasos en adultos de *Artemia franciscana* cultivada bajo diferentes condiciones experimentales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.

Analito	22°C		26°C	
	30‰	60‰	30‰	60‰
14:P ₁	2.16	2.90	2.07	2.75
14:1	1.60	1.57	1.36	1.01
14:0	0.24	0.33	0.35	0.29
i15:0	0.78	0.53	0.83	0.17
a15:0	5.81	9.63	5.52	8.73
C15:0	0.24	0.33	0.21	0.20
C16:2	0.35	0.21	0.32	0.18
C16:1w9	1.76	1.61	1.28	2.27
C16:1w7		0.37	0.22	
16:0	21	19.7	29.8	21.4
i17:0	5.47	4.85	4.69	3.25
a17:0	5.02	3.83	2.65	5.48
17:1		0.08		
17:0	2.11	1.49	1.77	1.88
18:4	0.61	0.50	0.58	0.87
18:3	22.4	21.5	15.8	17.8
18:1w9	4.30	4.62	3.77	2.69
18:1w7	3.72	4.56	3.45	3.07
18:0	18.2	13.8	19	23
18:P	0.24	0.35	0.28	0.15
20:5w3		0.14		
20:4	0.24	0.98	0.51	0.28
20:P ₁	1.39	2.24	1.41	0.86
20:P ₂	1.13	2.27	1.39	1.04
20:1w9			0.57	1.04
20:P ₃	0.64	0.98	0.50	
22:P ₁	0.33	0.13	0.65	0.43
22:1w11		0.12	0.51	0.45
24:1w9	0.34	0.41	0.49	0.68
Conc. de AGT (ug/g)	8627	11610	7953	4816
% Saturados	58.8	54.7	64.9	64.5
% Insaturados	41.2	45.7	35.1	35.5
%monoinsat	11.7	13.4	11.7	11.2
%poliinsat	29.5	32.3	23.5	24.3
Sat / Insat.	1.42	1.2	1.85	1.82
% C18's	49.4	45.5	43	47.6
% C20's	3.4	6.5	4.4	3.2

se presentó en la muestra 4 con 4816 ug/g, y el menor porcentaje de AGI se encontró en la muestra 3 con 35.1%, teniendo ésta muestra también la mayor razón de sat/insat (1.85).

El porcentaje de ácidos grasos de 18 carbonos se mantuvo relativamente constante obteniéndose el mayor (49.4 %) en la muestra 1, y el menor (43 %) en la muestra 3. Mientras que el mayor porcentaje de ácidos grasos de 20 carbonos, se encontró en la muestra 2 (6.5 %), y el menor en la muestra 4 (3.2 %).

En el perfil general de ácidos grasos (Tabla IV), se observa que la muestra 1 presentó los mayores porcentajes de 14:1, 16:2, y 18:3, así mismo contiene las menores cantidades de 14:0, 20:4 y 24:1w9. La muestra 2 contiene los más altos porcentajes en 16:1w7, 18:1w7, 18:1w9, 20:5w3 y 20:4, así como los menores porcentajes en 16:0 y 18:0. La muestra 3 contiene las mayores cantidades de 14:0 y 16:0 y las menores en 16:1w9, 16:1w7, 18:P1 y 20:1w9; y la muestra 4, contiene las mayores cantidades de 16:1w9, 18:0, 20:1w9 y 24:1w9, y las menores en 14:1w9, 16:2, 18:1w9 y 18:1w7.

En la Figura 3 se puede observar que los analitos que se presentan en mayor porcentaje en todas las muestras de los cultivos experimentales son el a15:0, 16:0, 18:0 y 18:3.

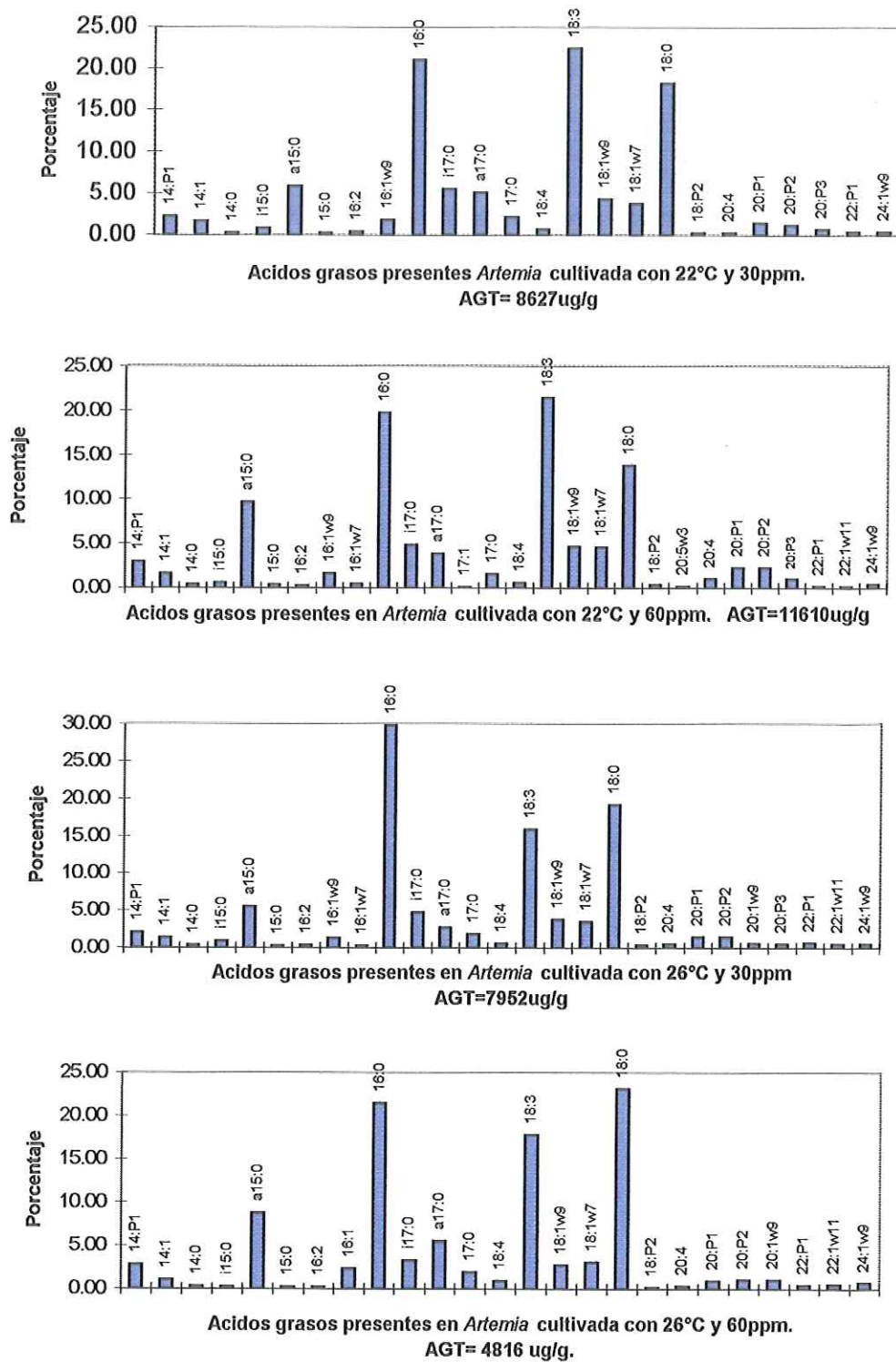


Figura 5. Concentraciones porcentuales de ácidos grasos individuales de adultos de *Artemia franciscana* cultivada bajo diferentes condiciones de salinidad y temperatura. Los valores son expresados en porcentajes individuales con base en el total de ácidos grasos identificados.

DISCUSIÓN

NAUPLIOS DE POBLACIONES NATURALES.

En el presente estudio se registraron en abundancia ácidos grasos iso y anteiso de 15 y 17 carbonos (Tabla III), analitos no reportados por ningún otro autor. En la suma de éstos ácidos grasos se obtuvieron valores que alcanzan hasta un $\approx 14\%$ en la muestra de San Luis Potosí; la muestra del Gran Lago Salado tuvo el mínimo de $\approx 4\%$ en estos cuatro analitos. El motivo de que estos analitos no hayan sido reportados con anterioridad tiene dos explicaciones posibles: 1) La metodología utilizada para el análisis de los ácidos grasos del presente trabajo, fue estandarizada con el fin de estudiar los sedimentos marinos, donde estos analitos (ácidos grasos monoinsaturados y ramificados de 15 y 17 carbonos) son de gran importancia, ya que son las moléculas representantes de los aportes bacterianos (Perry *et al.*, 1979; Kortzinger *et al.*, 1994), y por lo tanto, su identificación es de rutina; ó en su defecto, pudiera haber confusión en la identificación misma, ya que en la mayoría de los trabajos anteriores, no se le da la importancia debida a las bacterias; y 2) Las muestras analizadas en este estudio, tenían cantidades considerables de bacterias, en comparación con otros estudios. Con respecto a esto, Ito y Simpson (1996) realizaron experimentos con el fin de observar la biosíntesis de los ácidos grasos en *Artemia* sp., cultivandola bajo condiciones estériles y no estériles, y observaron decrementos significantes en algunos ácidos grasos monoinsaturados en cultivos estériles, y en particular el 17:1, sugiriendo así, una relación estrecha entre éste analito y la presencia de bacterias en cultivos no estériles; sin embargo, no se mencionan ácidos grasos ramificados.

Es importante mencionar que los analitos 16:0, 18:2w6, 18:1w9, 18:1w7 y 18:0 son los más abundantes, coincidiendo con los resultados de Ito y Simpson (1996) quienes reportan que los ácidos grasos más abundantes en *Artemia* sp. (del *Artemia* Reference Center en Bélgica) fueron 18:1w9, 18:1w7, 18:2w6 y 16:0; sin embargo, otros autores que trabajaron con *Artemia* sp. de diferentes poblaciones reportan el 18:3w3 y/o el 20:5w3 entre los más abundantes (Coutteau y Mourente, 1997; Ishizaki *et.al.*, 1998; Navarro y Amat, 1992; Ozkizilcik y Chu, 1994; Sánchez y Alvarez, 1996)

Con fines comparativos, las Tablas V y VI presentan los resultados de este estudio, y el de diversos autores que trabajaron con *Artemia* sp. de diferentes poblaciones naturales, tomando en cuenta únicamente los analitos que son reportados por la mayoría de ellos.

Como se observa en las Tablas V y VI, el ácido graso saturado 17:0 se presentó en mayor porcentaje en las muestras del presente estudio que otros estudios. Ozkizilcik y Chu (1994) reportan un 19.2% del ácido graso 16:0 y Navarro *et al.* (1992) valores alrededor del 16% para el mismo analito en muestras costeras, en el presente estudio se encontraron valores alrededor del 20%, y hasta 30% en la muestra del Gran Lago Salado. La mayoría de los autores que trabajaron con *Artemia* sp. de distintas poblaciones naturales reportan valores entre el 3 y el 11% para el ácido graso saturado 18:0 (Coutteau y Mourente, 1997; Ito y Simpson, 1996; Navarro y Amat, 1992; Ozkizilcik y Chu, 1994; Sánchez y Alvarez, 1996). En este estudio se encontró fuera de este intervalo el valor de la muestra de San Luis Potosí (16.4%). En contraste, porcentajes en los analitos 14:0, 16:1w7 y 17:1 (y 18:1w9 en el caso de Oaxaca) se presentaron menores a los reportados por los autores antes citados.

Tabla V: Comparación del contenido de ácidos grasos en nauplios de *Artemia franciscana* de diferentes poblaciones continentales y de las muestras de nauplios recién eclosionados. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.

Analito	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
14:0	0.9	1.2		2.2	2.3	0.9	1.03	0.75	1.57	1.51
14:1		1				1.6	0.24	0.2		0.56
15:0		0.6		1		0.9	0.47	0.59		
16:0	12.9	19.2	13.58	11.5	15.4	13.8	29.93	19.8	23.8	20.2
16:1w9							2.65	0.28	1.48	0.75
16:1w7	4.8	6.2	7.78	11.9	14.9	5.4		4.47	3	5.12
16:2		1.1		1.5		1.8				1.92
17:0	0.7	1.9			1.7		2.71	3.86	5.48	2.97
17:1				2.5	7.3		0.26			0.55
18:0	4.8	11.2		3.5	3.1	7	11.3	11	16.4	9.8
18:1w9	19.5	19.6	23.23	23.5	32	28.9	24.1	15.6	10.4	12.9
18:1w7	9.8	11.9		5.6			8.21	11.9	8.9	12.1
18:2w6	5.5	3.6	11.4	8.4	7	6.7	3.04	2.11	1.84	4.55
18:3w3	26.7	11.4	16.42	1.8	5.2	19.8				
18:4w3	3.6	1.4	2.63	1	0.9	5.6				
20:1w9	0.3	0.4		0.5			0.78	0.55		
20:2w6			0.78							
20:4							1.23	0.61		0.88
20:4w6	0.8	0.7	3.11	1.9		1.3				
20:5w3	5.5	1.7	1.84	9.6	10		1.12	0.87		1.01
24:1w9							0.5			
22:1						1.4	0.31		0.56	

- (1) Coutteau y Mourente (1997).
- (2) Ozkizilcilk y Chu (1994).
- (3) Sanchez y Alvarez (1996).
- (4) Navarro, Amat y Sargent (1991).
- (5) Ito y Simpson (1996).
- (6) Navarro y Amat (1992).

Las siguientes son las muestras nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* de poblaciones continentales estudiadas en este trabajo:

- (7) Gran Lago Salado, Utah.
- (8) Cuatro Ciénegas, Coah.
- (9) San Luis Potosí.
- (10) Texcoco.

Tabla VI: Comparación del contenido de ácidos grasos en nauplios de *Artemia* de diferentes zonas costeras de España y de la muestra de Oaxaca. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.

Analito	La Mata 85 (1)	La Mata 87 (2)	La Trinidad (3)	Los Hermanos (4)	Janubio (5)	Oaxaca (6)
14:0	1.85	1.79	2.2	1.88	2.28	0.99
14:1						0.27
14:1w5	1.12	1.27	1.7	3.2	0.11	
15:0	0.77	0.73	1.55	0.7	0.23	0.92
15:1			0.73			
16:0	15.72	15.87	17.7	13.94	16.43	16.2
16:1w9	16.3	1.5	1.11			0.85
16:1w7	12.83	13.28	13.07	16.55	24.8	3.05
16:2	0.24	0.13	0.73	1.45	0.12	1.48
17:0	1.05	1.09	0.29	1.15	0.66	4.49
17:1						0.53
17:1w7	2.15	2.17	1.41	2.31	1.44	
18:0	3.09	3.25	3.31	4.07	3.18	7.01
18:1w9	26.54	27.23	14.41	19.24	20.36	11
18:1w7	9.35	9.92	11.5	11.4	7.73	10.7
18:2w6	4.83	4.86	10.52	3.88	3.27	6.33
18:3w3	2.92	2.85	2.88	2.56	3.64	
18:4w3	1.52	1.44	0.85	0.96	1.51	0.97
20:1w9	0.4	0.21	0.17	0.44	0.4	0.56
20:4w6	1.15	1.24	1.03	1.37	1.06	0.85
20:4w3	0.28	0.15		0.21		
20:5w3	6.58	7.17	5.81	7.69	8.28	0.12
24:1w9					0.25	0.25
22:6w3				0.15	0.26	

(1), (2), (3), (4) y (5) Navarro, Amat y Sargent (1992).

(6) Muestra de Oaxaca, estudiada en este trabajo.

Los valores obtenidos para 18:1w9, 18:1w7 y 18:2w6 en todas las muestras se encuentran dentro del intervalo reportado por Navarro *et al.* (1992) para *Artemia* sp. de poblaciones costeras y por otros autores (Coutteau y Mourente, 1997; Ito y Simpson, 1996; Navarro y Amat, 1992; Ozkizilcik y Chu, 1994; Sánchez y Alvarez, 1996) para poblaciones continentales.

No se encontró 18:3 en ninguna de las muestras de nauplios recién eclosionados del presente estudio, en cambio, se encontró 18:2w6. Con respecto a esto, Ito y Simpson (1996) demostraron la capacidad de *Artemia* sp. para biosintetizar algunos ácidos grasos (en especial 18:3w3 y 20:5w3) a partir del 18:2w6. Sin embargo, la cantidad encontrada de 18:2w6 en los nauplios recién eclosionados del presente estudio es muy baja (alrededor del 3%), en comparación con lo encontrado por otros autores, Coutteau y Mourente (1997) y Sanchez y Alvarez (1996) reportan cerca del 30% de 18:2w6 y 18:3; al igual que Navarro *et al.* (1991) y Navarro y Amat (1992) quienes reportan alrededor del 27% para estos mismos analitos. Por otro lado, Claus *et al.* (1979) señala variaciones importantes en el perfil de ácidos grasos en nauplios de *Artemia* sp. sometidos a ayuno durante las primeras horas de vida, reportando disminuciones de 18:3w3 que superan el 50%, razón probable de no encontrar 18:3 en los nauplios del presente estudio, a diferencia de los cultivo experimentales donde el 18:3 fue uno de los analitos más abundantes alcanzando hasta 22% del total de ácidos grasos identificados (muestra 1).

Léger *et al.*(1986) analizaron datos de diferentes estudios donde se utilizaron nauplios de *Artemia* sp. como alimento larvario, encontrando un requerimiento mínimo de 4% de 20:5w3 del total de ácidos grasos, para asegurar un buen crecimiento y sobrevivencia. Kanazawa *et al.* (1985) por otro lado, indica

que el 18:2w6 y 18:3w3 son también importantes para crustáceos en cultivo. En ninguna de las muestras del presente estudio se encontraron valores cercanos al 4% de ácido eicosapentaenoico, y de acuerdo con este criterio, las muestras se encuentran en el rubro de mínima supervivencia y crecimiento deficiente. Sin embargo, Sánchez y Alvarez (1996) señalan una aceptable sobrevivencia y buen crecimiento en larvas de camarón (*P. vannamei* y *P. stylirostris*) alimentadas con nauplios de *Artemia* conteniendo un 1.84 % de 20:5w3, sugiriendo así que los nauplios de *Artemia* de Las Cumaraguas-Venezuela son una dieta aceptable. Por su parte, Navarro *et al.* (1988) reportan buena sobrevivencia asociada a una dieta donde se administraron nauplios de *Artemia* conteniendo alrededor un 2% de ácido eicosapentaenoico (20:5w3), contrastando con lo encontrado por Léger *et al.* (1986).

Navarro (1996) comenta que, aunque no existe evidencia clara de que una determinada cepa de *Artemia* pueda cambiar drásticamente su perfil de ácidos grasos en condiciones naturales, si parece que una misma población puede dar quistes que contengan o no 20:5w3, en función del tipo de alimento disponible a la generación parental, mencionando también que es evidente que el 22:6w3 es un componente ajeno a *Artemia*.

A pesar de que Watanabe *et al.* (1978) no mencionan proporciones cuando clasifican a *Artemia* en dos tipos: marino por su contenido de 20:5w3 y dulceacuícola por su contenido de 18:3w3, se puede suponer que los nauplios de *Artemia* de las poblaciones del presente estudio tienen rasgos marinos, pues las muestras del Gran Lago Salado, Cuatro Ciénegas y Texcoco presentan alrededor del 1% de 20:5w3 y Oaxaca presenta 0.12%, mientras que ninguna presenta 18:3w3.

El porcentaje de ácidos grasos saturados también se encontró alto en comparación con otros trabajos. En las muestras de nauplios recién eclosionados se encontró entre 41.8% obtenido en la muestra de Texcoco y 61% para Cuatro Ciénegas, mientras otros autores reportan alrededor del 20% (Coutteau y Mourente, 1997; Ito y Simpson, 1996; Navarro *et al.*, 1992; Sánchez y Alvarez, 1996). Sin embargo, como se mencionó con anterioridad, los valores fuera del intervalo reportado fueron para el ácido graso 17:0 en todas las muestras, para el 16:0 en la muestra del Gran Lago Salado, y para el 18:0 en la muestra de San Luis Potosí. Por otro lado, en literatura no se reportan ácidos grasos isómeros de los saturados como lo son los iso y anteiso de 15, 16 y 17 carbonos, teniendo aportaciones de hasta un 14% en el caso de San Luis Potosí.

No se determinó la razón de w3/w6, ya que en algunos analitos no se identificó la posición de la primera insaturación, y en otros como en el caso de 20:P₁ y 20:P₂, no se determinó el número de insaturaciones. La razón w3/w6 es asociada por algunos autores con la eficiencia de biosintetizar C18-C20-C22 (Colvin 1976; Fenucci *et al.*, 1981).

En la comparación entre los perfiles de ácidos grasos de las muestras de adultos de *Artemia franciscana*, es evidente que la muestra de San Luis Potosí es la de menor valor nutritivo; su concentración de AGT es de 4670 ug/g, y a pesar de que el porcentaje de PUFA's es el mayor (30.4%), no presenta varios ácidos grasos entre ellos, el 18:4, 20:5w3, 20:4 y 20:1. La muestra de Texcoco puede considerarse como la de mayor valor nutritivo, ya que presenta la mayor concentración de AGT (9150 ug/g), con un 21.6% de PUFA's, 4.6% de 18:2w6 y 1% de 20:5w3.

CULTIVOS EXPERIMENTALES

No se encontraron muchos estudios de ácidos grasos en adultos de *Artemia* sp. debido a que, por lo general, *Artemia* es utilizada con más frecuencia en su estado larvario como alimento vivo para organismos en cultivo. La mayoría de la literatura consultada versa sobre quistes y nauplios de *Artemia*, mas no en su estado adulto.

El contenido de ácidos grasos presentes en adultos *Artemia franciscana* cultivada bajo diferentes condiciones se muestra en la Tabla VII. Estos resultados se compararon con los obtenidos por Mourente y Rodríguez (1989) para dos cepas de *Artemia* adulta; con los de Navarro y Amat (1992) quienes estudiaron nauplios de *Artemia* alimentada con *Dunaliella tertiolecta* -microalga usada también en este experimento-, y con los resultados obtenidos en este mismo trabajo para nauplios recién eclosionados de *Artemia franciscana* del Gran Lago Salado.

Al igual que en los resultados de las poblaciones naturales, ningún autor consultado reporta ácidos grasos saturados iso y anteiso de 15 y 17 carbonos. Los valores encontrados para la suma de estos 4 analitos fue de 13.7% (26°C y 30‰) a 18.8% (22°C y 60‰), valores que aumentaron mucho del valor inicial de 3.9% para la muestra de nauplios recién eclosionados de *Artemia* del Gran Lago Salado, lo cual apoya la hipótesis de que estos analitos estan relacionados con la presencia de bacterias, ya que es muy común encontrar estos organismos en los cultivos de *Artemia* (Ito y Simpson, 1996).

Tabla VII: Comparación del contenido de ácidos grasos en adultos de *Artemia* de diferentes poblaciones y de las muestras de los cultivos experimentales. Valores expresados en porcentaje con base en el contenido total de ácidos grasos identificados.

Analito	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
14:0	1.4	1.7	1.3	1.03	0.33	0.33	0.35	0.29
14:1			0.7	0.2	1.57	1.57	1.36	1.01
15:0			0.3	0.47	0.24	0.33	0.21	0.20
16:0	12.1	14.1	12.6	30	21	19.7	29.8	21.4
16:1w9	1.7	3.4		2.65	1.76	1.61	1.28	2.27
16:1w7	7.3	2.2	11.6			0.37	0.22	
16:2w6	0.3	0.2	2.9		0.35	0.21	0.32	0.18
16:3w3	1.0	1.3						
17:0				2.71	2.11	1.49	1.77	1.88
17:1w7			0.7	0.26		0.08		
18:0	5.5	5.3	5.0	11.26	18.2	13.8	19	23
18:1w9	11.9	12.5	15.1	24.10	4.30	4.62	3.77	2.69
18:1w7	10.6	7.7		8.21	3.72	4.56	3.45	3.07
18:2w6	4.6	8.3	7.2	3.04				
18:3w3	16.5	19.6	24.9		22.4	21.5	15.8	17.8
18:4w3	3.2	3.1	4.5	0.17	0.61	0.50	0.58	0.87
20:1w9	0.1	0.2		0.78			0.57	1.04
20:4w3	0.3	0.1		0.61	0.24	0.98	0.51	0.28
20:4w6	1.4	1.1	1.6					
20:3w3	1.0	0.2						
20:4w3	0.3	0.1						
20:5w3	5.4	2.6	1.6	1.12		0.14		

(1) *Artemia* bisexual adulta, Mourente y Rodriguez (1989).

(2) *Artemia partenogenetica* adulta, Mourente y Rodriguez (1989).

(3) Nauplios de *Artemia* alimentada con *Dunaliella tertiolecta*, Navarro y Amat (1992).

(4) Nauplios de *Artemia* del GLS, resultados de este trabajo.

Los siguientes son los valores obtenidos en las muestras de adultos de *Artemia franciscana* de este trabajo, cultivadas bajo diferentes condiciones:

(5) 22°C y 30‰.

(6) 22°C y 60‰.

(7) 26°C y 30‰.

(8) 26°C y 60‰.

En la Figura 3 se puede observar que los analitos más abundantes en las muestras de los cultivos experimentales son: 18:3, 16:0, 18:0 y a15:0, alcanzando el 65-70% del total de ácidos grasos identificados. La diferencia con otros autores la marcan principalmente el 18:0 y el a15:0 que no se encuentran entre los más sobresalientes en estudios anteriores, y el 18:1w9 que se reporta como uno de los más abundantes en otros estudios (Mourente y Rodríguez, 1989; Navarro y Amat, 1992).

En la Tabla VII, se observa que los analitos que marcan la mayor diferencia son el 16:0 y el 18:0, pues se encontraron en mayores proporciones a los reportados. Aunque los blancos indican contaminación por manipulación, ésta no fue significativa debido a la alta concentración de estos dos analitos en las muestras. Los analitos que se ven afectados por el porcentaje tan alto de estos dos ácidos grasos son 16:1w7, 18:1w9 y 18:1w7 los cuales se presentan por debajo de lo reportado. En cuanto al resto de analitos no se encuentran diferencias significativas ya que todos están dentro del intervalo reportado.

A diferencia de las muestras de los nauplios recién eclosionados, en las muestras de los cultivos experimentales se presentó el ácido graso 18:3 como uno de los más abundantes, desapareciendo por completo el 18:2w6, del cual se encontró un 3% en la muestra de nauplios del Gran Lago Salado. La presencia de este ácido graso en todas las muestras de adultos de *Artemia franciscana* sugiere fuertemente un carácter dulceacuícola.

Los valores de 18:3 se presentaron en porcentajes que van desde 15.8% (26°C y 30‰) a 22.4% (22°C y 30‰). Lavens *et al.* (1989) encontraron que las cantidades de 18:2w6, 18:3w3 y 20:5w3, son claramente relacionadas con la influencia fenotípica del alimento, mientras que otros analitos (16:0, 16:1w7), no mostraron relación alguna o se presentaron en cantidades traza, reforzando la hipótesis de una influencia genotípica. Por otra parte, Ito y Simpson (1996) realizaron experimentos para determinar la biosíntesis de los ácidos grasos -w3 a partir del 18:2w6, utilizando [1-¹⁴C]18:2w6 en el alimento otorgado. Los resultados demuestran que *Artemia* sintetiza los ácidos 18:3w3 y 20:5w3 a partir de 18:2w6 vía desaturación y elongación así como también por reacciones de oxidación, aclarando además que la síntesis fue más pronunciada para el caso del 18:3w3.

Es evidente que la muestra cultivada a 22°C de temperatura y 60‰ de salinidad es la que presenta las condiciones más favorables para obtener un mayor valor nutritivo, en cuanto a ácidos grasos se refiere, ya que tiene la mayor concentración de AGT (11611 ug/g), el mayor porcentaje de AGI (45.7%), y el mayor porcentaje de PUFA's (32.3%), además de tener más del 20% de 18:3 y ser la única en presentar 20:5w3, aunque en cantidades muy pequeñas (0.14%).

CONCLUSIONES

Tanto en las muestras de las poblaciones naturales, como en las de los cultivos experimentales se presentaron altos porcentajes de ácidos grasos iso y anteiso de 15 y 17 carbonos, demostrando así la presencia de bacterias asociadas con *Artemia franciscana*.

Las muestras de las poblaciones naturales son de tipo marino, ya que presentan alrededor de 1% ácido eicosapentaenoico (20:5w3), a excepción de las muestras de Oaxaca que presentó 0.12% y la San Luis Potosí, donde no se presentó. No se encontró ácido linolénico (18:3w3).

Los nauplios de Texcoco son aparentemente los de mayor valor nutritivo, ya que presentan la mayor abundancia de AGT (9150 ug/u), y porcentajes considerables de PUFA's (21.6%), 18:2w6 (4.55%), 20:5w3 (1%).

Las muestras de los cultivos experimentales son de tipo dulceacuícola, por su alto porcentaje de ácido linolénico (18:3w3) y la ausencia de ácido eicosapentaenoico (20:5w3).

El perfil de ácidos grasos en las muestras de los cultivos experimentales, indican que las condiciones de 22°C de temperatura y 60 ppm de salinidad, son las mas favorables para obtener el mayor valor nutritivo.

LITERATURA CITADA.

- AMAT, F. F. HONTORIA Y J.C. NAVARRO. 1993. Valor nutritivo de nauplios de *Artemia* como alimento de larvas de peces y crustaceos. En: Larvicultura de Camarones Peneidos, Volúmen 1. CYTED-D. 81-88.
- AMAT, F. F. HONTORIA Y J.C. NAVARRO. 1987. Preliminary nutritional evaluation of different *Artemia* nauplii as food for marine fish and shrimp larvae. In: P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Decleir and E. Jaspers (Eds.). *Artemia* Research and its Applications. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, Belgium.
- AMAT, F. F. HONTORIA, J.C. NAVARRO, A. GOZALBO E I. VARO. 1991. Bioecología de *Artemia* (Crustacea, Branchiopoda) en la laguna de La Mata, Torre Vieja-Alicante. Instituto de Cultura "Juan Gil-Albert". Alicante. España. 173 pp.
- BLIGHT E. Y W. DYER. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37:911-917.
- CLAUS, C., F. BENIJTS, G. VANDEPUTTE AND W. GARDNER. 1979. The bioquimical composition of the larvae of two strain of *Artemia salina* (L) reared on two different algal food. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 36:171-183.
- COLVIN, P.M. 1976. The effect of selected seeds oils on the fatty acids composition and growth of *Penaeus indicus*. *Aquaculture* 8:81-89.
- CORREA, S.F. Y R.B. BÜCKLE. 1992. Morfología y Biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Rev. Biol. Trop.* 41:103-110.
- CORREA, S.F., D. VOLTOLINA, L.F. BÜCLE AND B. CORDERO. 1994. The growth rates of four populations of *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemidae) *Rev. Biol. Trop.* 42 (3):605-609.
- COUTTEAU, P. AND G. MOURENTE. 1997. Lipid classes and their content of n-3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Marine Biology* 130:81-91.

- COWGILL, U.M., H.W. EMMEL, G.U. BOGGS, P.G. MURPHY, F.M., GERSICH, I.T. TAKAHASHI AND D.A. BENGTSOS. 1987. Variations in chemical composition of *Artemia* cysts from three geographical locations. *Artemia Research and its Applications*. Vol. 1. Morphology, Genetics, Strain characterization, Toxicology. P. Sorgeloos, D.A. Bengtson, W. Decler and E. Jaspers (Eds.). Universa Press. Wetteren, Belgium.
- CYTED. 1996. Localización, caracterización, y evaluación del potencial extractivo de *Artemia* en Iberoamérica con destino a la acuicultura. Subprograma II. Acuicultura.
- FENUCCI, J.L., L.A. LAWRENCE AND Z.P. ZEIN-ELDIN. 1981. The effects of fatty acid and shrimp meal composition of prepared diet on growth of juvenile shrimp, *Penaeus stylirostris*. *J. World Maricult. Soc.* 12:315-324.
- ISHIZAKI, Y., T. TAKEUCHI, T. WATANABE, M. ARIMOTO AND K. SHIMIZU. 1998. A preliminary experiment on the effect of *Artemia* enriched with arachidonic acid on survival and growth of yellowtail. *Fisheries Science* Vol. 64, (2):295-299.
- ITO, M.K. AND K.L. SIMPSON. 1996. The biosynthesis of w3 fatty acid from 18:2w6 in *Artemia* spp. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 115 (1):69-76.
- KINNE, O. 1976. Cultivation Introduction to volume III. 1-17. In: Marine Ecology. Part. 1. Kinne O. John Wiley & Sons. (Editors). London. 3301 pp.
- KANAZAWA, A., S.I. TESHIMA AND M. SAKAMOTO. 1985. Effects of dietary lipids, fatty acid and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture*. 50:39-49.
- KORTZINGER, A., D.E. SCHULZ-BULL, G. PETRICK AND J.C. DUINKER. 1994. Evidence for dissolution of fatty acids in sediment traps: impact on flux estimates. *J. Geophys. Res.*, 99(C2), 3407-3415.
- LEAVENS, P., P. LÉGER, AND P. SORGELOOS. 1989. Manipulation of the fatty acid profile in *Artemia* offspring produced in intensive culture system. 731-739. In: N. De Paw, E. Jaspers, H. Ackefors and N. Wilkins (Editors). *Aquaculture and Biotechnology in Progress*. European Aquaculture Society. Bredene.

- LÉGER, P., D.A. BENGTSON, K.L. SIMPSON AND P. SORGELOOS. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. A Rev.* 24:521-623.
- LÉGER, P., P. SORGELOOS, O. MILLAMENA AND K.L. SIMPSON. 1985. International study on *Artemia*¹. XXV. Factors determining the nutritional effectiveness of *Artemia*: The relative impact of chlorinated hydrocarbons and essential fatty acids in San Francisco Bay and San Pablo Bay *Artemia*². *J. Exp. Mar. Biol.* 93:71-82.
- MC EVOY L.A., J.C. NAVARRO, F. HONTORIA, F. AMAT. AND J.R. SARGENT. 1996. Two Novel *Artemia* enrichment diets containing polar lipid. *Aquaculture* 144:339-352.
- MILLAMENA, O.M., R.F. BOMBEO, N.A. JUMALON AND K.L. SIMPSON. 1988. Effects of various diets on the nutritional value of *Artemia* sp. as food for the prawn *Penaeus monodon*. *Mar. Biol. Ecol.* 98: 217-221.
- MOURENTE, G. Y A. RODRIGUEZ. 1989. Contenido en ácidos grasos de lípidos totales de dos cepas de *Artemia* (bisexual y partenogénica) autóctonas de las salinas de Cádiz (S.O. de España). *Acuicultura Intermareal*, pp:177-183. Ed. M. Yúfera. Inst. Cienc. Mar. Andalucía, Cádiz.
- NAVARRO, J.C. 1996 (?). *Larvicultura marina, Artemia y ácidos grasos*. Instituto de Acuicultura de Torre de la Sal. Ribera de Cabanes.
- NAVARRO, J.C. AND F. AMAT. 1992. Effect of algal diets on the fatty acid composition of brine shrimp, *Artemia* sp. *Aquaculture*. 101: 223-227.
- NAVARRO, J.C., F. AMAT AND J.R. SARGENT. 1991. A study of the variations in lipids levels, lipids class composition and fatty acid composition in the first stages of *Artemia* sp. *Marine Biology* 111, 461-464.
- NAVARRO, J.C., F. AMAT AND J.R. SARGENT. 1992. Fatty acid composition of coastal and inland *Artemia* sp. populations from Spain. *Aquaculture* 102, 219-230.
- NAVARRO, J.C., F. AMAT AND J.R. SARGENT. 1993. The lipids of the cysts of freshwater- and marine- type *Artemia*. *Aquaculture* 109:327-336.

- NAVARRO, J.C., F. HONTORIA, I. VARO Y F. AMAT. 1988. Efecto de la alimentacion alterna con una cepa de *Artemia* pobre y otra rica en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga para larvas de lubina (*Dicentrarchus labrax*) y el langostino (*Peneaus kerathurus*). *Aquaculture* 74: 307-317.
- NAVARRO, J.C., I. VARO, F. HONTORIA, A. GOZALBO Y F. AMAT. 1989. Valor nutritivo de nauplios de *Artemia* de cepas españolas desde el punto de vista de sus ácidos grasos. *Acuicultura Intermareal*. Ed. Manuel Yúfera. Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía.
- OZKIZILCILK, S. AND F.E. CHU. 1994. Evaluation of omega-3 fatty acids enrichment of *Artemia* nauplii as food for striped bass *Morone saxatilis* walbaum larvae. . *J. World Aquacult. Soc.* Vol 25 (1):147-154.
- PERRY G.J., J.K. VOLKMAN, R.B. JOHNS AND H.J. BAVOR JR. 1979. Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochem. Cosmochem. Acta.* Vol 43: 1715-1725
- SÁNCHEZ, R.. AND Z. ALVAREZ. 1996.Characterization of the strain of *Artemia* Las Cumaraguas-Paraguana, Venezuela. In: Improvement of the Commercial Production of Marine Acuaculture Species. Proceedings of a workshop on Fish and Mollusc Larviculture, 179-186. G. Gajardo & P. Coutteau (Eds.). Impresora Creces, Santiago, Chile.
- SAKAMOTO,M., D.L HOLLAND AND D.A. JONES. 1982. Modification of the natural composition of *Artemia* by incorporation of polyunsaturated fatty acids using micro-encapsulated diets. *Aquaculture* 28:311-320
- SCHAUER, P.S., D.M. JOHNS, C.E. OLNEY AND K.L. SIMPSON. 1980. International Study of *Artemia* IX. Lipid level, energy contents and fatty acid composition of the cysts and newly hatched nauplii from five geographical strians of *Artemia*. *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels (Eds.). Universa Press. Wetteren, Belgium.
- SORGELOOS, P., P. LEAVENS, PH. LÉGER, W. TACKAERT AND D. VERSICHELE. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. *Artemia* Reference Center. University of Ghent. Belgium. 319 pp.

- TRIANANTAPHYLLIDIS, G.V., T.J. ABATZOPOULOS, R.M. SANDALTZOPOULOS, G. STAMOU AND C.D. KASTRITSIS. 1993. Characterization of two new *Artemia* populations from two solar saltworks of Lesbos Island (Greece): biometry, hatching characteristics and fatty acid profile. *Int. J. Salt Lake Res.* Vol. 2 (1): 59-68.
- VANHAECKE, P., S.E. SIDDALL AND P. SORGELOOS. 1984. International Study on *Artemia*. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origin. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 80: 259-275.
- WAKEMAN S.G AND E.A. CANUEL. 1989. Fatty acids and sterol of particulate matter in a brackish and sea sonally anoxic Coastal Salt Pond. *Org. Geochem.* 16:145-170.
- WATANABE, T., F. OOWA, C. KITAJIMA AND S. FUJITA. 1978. Nutritional quality of brine shrimp *Artemia salina*, as a living feed from the viewpoint of essential fatty acids for fish. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 44:1115-1121.
- WATANABE, T., F. OOWA, C. KITAJIMA AND S. FUJITA. 1980. Relationship between dietary value of brine shrimp *Artemia salina* and their content of w3 highly unsaturated fatty acids. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 46 (1):35-40.

ANEXOS

Anexo i**ABREVIATURAS UTILIZADAS**

AGI	Acidos grasos insaturados.
AGT	Acidos grasos totales.
BCl_3	Tricloruro de Boro (fórmula química).
CYTED	Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo.
DCM	Diclorometano.
ELT	Extracto Lipídico Total.
FAME's	Esteres de Acidos Grasos Metilados (siglas en inglés).
GC-DSM	Cromatógrafo de Gases con Detector Selectivo de Masas.
GC-FID	Cromatógrafo de Gases con Detector de Ionización de Flama.
KOH	Hodróxido de Potasio (fórmula química).
MeOH	Metanol.
PUFA's	Acidos Grasos Poliinsaturados (siglas en inglés).