

Composición bioquímica de nauplios y metanauplios de *Artemia* sp. (Crustacea, Anostraca) proveniente de la salina artificial de Araya, nororiente de Venezuela

Biochemical composition of nauplii and metanauplii of *Artemia* sp. (Crustacea, Anostraca) from the Araya saltworks, northeastern Venezuela

Miguel Guevara*

César Lodeiros

Laboratorio de Acuicultura, ext. Plancton

Departamento de Biología Pesquera

Instituto Oceanográfico de Venezuela

Universidad de Oriente

Venezuela

*E-mail: mguevara@sucre.udo.edu.ve

Recibido en mayo de 2003; aceptado en septiembre de 2003

Resumen

En el presente trabajo se establecieron comparaciones entre la proporción de proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos grasos en dos estadios (nauplios y metanauplios) de *Artemia* sp. proveniente de la salina de Araya, nororiente de Venezuela. La población de *Artemia franciscana* de San Francisco (EUA) se empleó con fines de referencia, debido a su uso en actividades de acuicultura. Los organismos analizados de ambas poblaciones presentaron diferencias significativas en el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y fosfolípidos entre los diferentes estadios; no obstante, entre poblaciones no se establecieron diferencias significativas. Las mayores concentraciones de proteínas se registraron en los metanauplios, con 67% para los organismos de Araya y 56% para los de San Francisco. Las mayores concentraciones de lípidos (22% y 24%), carbohidratos (17% y 11%) y fosfolípidos (26% y 35%, respectivamente) se encontraron en los nauplios tanto de Araya como los de San Francisco. Los ésteres de colesterol, el colesterol, los triglicéridos y los ácidos grasos n-3 y n-6 fueron significativamente diferentes entre los estadios y las poblaciones analizadas. Los ésteres de colesterol y los ácidos grasos n-3 y n-6 fueron mayores en los metanauplios de la población de San Francisco, con valores de 37%, 11% y 7%, respectivamente. La mayor concentración de triglicéridos se encontró en los nauplios de San Francisco (39%), mientras que la mayor concentración de colesterol estuvo en los metanauplios de Araya (50%). Los resultados sugieren que la población de *Artemia* sp. de Araya reúne componentes nutricionales para cubrir las necesidades alimenticias, particularmente de larvas de peces y crustáceos marinos bajo condiciones de cultivo.

Palabras clave: *Artemia*, composición bioquímica, salinas, Venezuela.

Abstract

In this work, we compared the proportion of proteins, lipids, carbohydrates and fatty acids in populations of *Artemia* sp. from the Araya saltworks in northeastern Venezuela, during two stages (nauplii and metanauplii) of their development. The population of *Artemia franciscana* from San Francisco Bay (USA) was used as reference because of its wide use in aquaculture. The organisms of both populations showed significant differences in protein, lipid, carbohydrate and phospholipid contents between both stages; however, no significant differences were established between both populations. The highest protein concentrations were found in metanauplii: 67% for Araya and 56% for San Francisco. The highest concentrations of lipids (22% and 24%), carbohydrates (17% and 11%) and phospholipids (26% and 35%) were found in nauplii for both populations. Cholesterol esters, cholesterol, triglycerids, and n-3 and n-6 fatty acids were significantly different between stages and between populations. Cholesterol esters, and n-3 and n-6 fatty acids were higher in San Francisco metanauplii, with values of 37%, 11% and 7%, respectively. The highest triglycerid concentration (39%) was found in San Francisco nauplii and the highest cholesterol concentration in Araya metanauplii (50%). The results suggest that the *Artemia* population from the Araya saltworks contains the necessary elements to cover the nutritional requirements of fish larvae and marine crustaceans under culture.

Key words: *Artemia*, biochemical composition, saltworks, Venezuela.

Introducción

En la nutrición de los organismos acuáticos en cultivo, uno de los factores limitantes es la obtención y producción de alimentos que cubran, de forma equilibrada, tanto los requerimientos esenciales para el crecimiento como los costos de producción (Watanabe *et al.*, 1983). La alimentación de peces y crustáceos en los primeros estadios larvarios es una fase crítica de la cual depende, en gran proporción, el éxito del cultivo. En esta etapa, la mayoría de las larvas son pelágicas y necesitan alimento vivo que cumpla con las demandas energéticas y los cambios anatómicos, fisiológicos y etológicos que ocurren durante su desarrollo (Pousão-Ferreira *et al.*, 1997).

Entre las dietas vivas, *Artemia* spp. constituyen de los alimentos más utilizados debido al tamaño pequeño de sus nauplios y metanauplios, así como a su fácil manejo y cultivo (Sorgeloos *et al.*, 1993). *Artemia* es una de las fuentes nutricionales más utilizadas para la alimentación de numerosas especies acuícolas, empleándose como alimento vivo para las primeras etapas del cultivo o como inductor de la reproducción de camarones peneidos (Amat *et al.*, 1982; Nascimiento *et al.*, 1992). *Artemia* también ha sido empleada en la fabricación de harinas, formulación de dietas artificiales y como vehículo de enriquecimiento de sustancias esenciales para una determinada especie de cultivo, a través de nauplios y/o biomasa adulta (Craig *et al.*, 1994).

Los quistes de *Artemia* se venden comercialmente y provienen de diferentes fuentes (China y EUA, entre otras) que presentan entre sí variaciones en su calidad nutritiva y biometría (Webster y Lovell, 1990). La calidad nutritiva es determinada principalmente por el contenido de ácidos grasos, destacándose entre éstos los poliinsaturados, tales como los ácidos linolénico o 18:3n-3, eicosapentanoico (EPA) o 20:5n-3 y el docosahexanoico (DHA) o 22:6n-3. Estos ácidos grasos son considerados esenciales para los organismos acuáticos, debido a su papel tanto en la estructura como en la función de las membranas celulares. La deficiencia de estos compuestos en cualquier población de *Artemia* es indicativa de la baja calidad nutricional de las mismas (Sargent *et al.*, 1997).

En Venezuela los estudios en *Artemia* se han enfocado hacia aspectos ecológicos y biométricos de cuatro poblaciones recolectadas de salinas ubicadas en el nororiente, específicamente de la Laguna de Boca Chica e Isla de Coche en el estado Nueva Esparta (Scelzo y Voglar, 1980; Ratta, 1988; Sandor, 1988; Campos, 1989; De Donato y Graziani, 1993) y de la salina de Araya del estado Sucre (Fernández, 1983; Teruel, 1985; Campos, 1989; De Donato y Graziani, 1993; Estévez *et al.*, 1996; De Donato *et al.*, 2002), así como de las salinas de las Cumaraguas del estado Falcón, en el occidente del país (De Donato y Graziani, 1993; Álvarez y Sánchez, 1994). Sin embargo, la calidad nutricional de estos organismos está poco estudiada, reportándose solamente el contenido de macromoléculas en ejemplares adultos de Araya sometidos a cultivo (Correa *et al.*, 1999), y el perfil de ácidos grasos insaturados de la población de las Cumaraguas, Paraguaná (Sánchez y

Introduction

One of the limiting factors in the cultivation of aquatic organisms is the availability of nourishment that can be a balanced combination of the essential elements and economic profitability (Watanabe *et al.*, 1983). Feeding fish and crustaceans in their first stages of life is a delicate phase that determines to a great extent the ultimate success of the enterprise. In these stages, most salt-water larvae need live nourishment that meet their energetic requirements for the anatomical, physiological and ethological changes that take place during their development (Pousão-Ferreira *et al.*, 1997).

Among the different options of live nourishment, *Artemia* spp. are among the most widely used, due to the small size of their nauplii and metanauplii and because they are easy to handle and cultivate (Sorgeloos *et al.*, 1993). In aquaculture, *Artemia* is used as live nourishment to feed a number of species during the first stages of cultivation or to induce reproduction in penaeid shrimp (Amat *et al.*, 1982; Nascimiento *et al.*, 1992). *Artemia* has also been used to produce feeding powder, to formulate artificial diets and to enrich substances that are essential for certain cultivated species, through nauplii and/or adult biomass (Craig *et al.*, 1994).

Artemia cysts are sold commercially and come from different suppliers (China, USA, among others). Their nutritional value and their biometry vary (Webster and Lovell, 1990). Nutritional value is mostly determined by polyunsaturated fatty acid contents, such as linolenic acids or 18:3 n-3, eicosapentaenoic acids (EPA) or 20:5 n-3, and docosahexaenoic acids (DHA) or 22:6 n-3. These fatty acids are considered essential for aquatic organisms because of their role in the structure and function of cell membranes. Any deficiency of these compounds in a population of *Artemia* indicates low nutritional value (Sargent *et al.*, 1997).

In Venezuela, the focus of studies on *Artemia* has been on ecological and biometrical aspects of four populations collected at saltworks located in the northeastern part of the country, specifically in Boca Chica Lagoon and the island of Coche in the state of Nueva Esparta (Scelzo and Voglar, 1980; Ratta, 1988; Sandor, 1988; Campos, 1989; De Donato and Graziani, 1993); at the Araya saltworks in the state of Sucre (Fernández, 1983; Teruel, 1985; Campos, 1989; De Donato and Graziani, 1993; Estévez *et al.*, 1996; De Donato *et al.*, 2002); and at the saltworks of Las Cumaraguas in the state of Falcón, in the western part of the country (De Donato and Graziani, 1993; Álvarez and Sánchez, 1994). However, the nutritional value of these organisms has been poorly studied; there is only one report on the macromolecular contents in cultivated adult specimens from Araya (Correa *et al.*, 1999), and another on the unsaturated fatty acid profile of the Las Cumaraguas population (Sánchez and Álvarez, 1992). In the present study, we report the average protein, lipid and carbohydrate contents and the fatty acid profile of a population of *Artemia* sp. collected from the Araya saltworks, northeastern Venezuela.

Álvarez, 1992). En el presente estudio se reporta el contenido promedio de proteínas, lípidos, carbohidratos y el perfil de ácidos grasos de una población de *Artemia* sp. obtenida de las salinas de Araya, Venezuela.

Materiales y métodos

Origen de las muestras

Las muestras de quistes de *Artemia* sp. se recolectaron en los márgenes de las salinas de Araya (10°39'30" N y 64°16'00" W) empleando un cepillo de cerdas finas; posteriormente se pasaron por un tamiz (180 µm) y se lavaron con agua de mar. Para el secado, las muestras se sometieron a corrientes de aire por 45 min y se guardaron en frascos ámbar a 25 ± 2°C hasta su posterior análisis. Con la finalidad de establecer comparaciones de la composición bioquímica de las poblaciones de Araya, se adquirieron quistes de *Artemia franciscana* cuyo origen fue la Bahía de San Francisco, EUA (población San Francisco), debido a su amplio uso como alimento en acuicultura.

La decapsulación e incubación de los quistes se realizó según la metodología de Sorgeloos *et al.* (1977). Los quistes (5 g L⁻¹) se colocaron, para su eclosión, en un envase cilindro-cónico con 8 L de agua de mar filtrada (32 g L⁻¹), provisto de aireación e iluminación constante. Los nauplios (instar I-II) se cosecharon a las 24 h y los metanauplios (instar III-V) a las 72 h, según los criterios establecidos por Bengtson *et al.* (1991), con la ayuda de un tamiz de 60 µm. Luego, se lavaron con 1 L de agua de mar filtrada, seguida con 500 mL de solución de formiato de amonio (2%) y 2 L de agua destilada. Finalmente, se concentraron en filtros de fibra de vidrio (GF/C) y se guardaron en cajas de Petri a una temperatura de -20°C para los análisis bioquímicos posteriores, los cuales se realizaron por triplicado.

Análisis nutricional

Las proteínas fueron cuantificadas mediante el método del reactivo Foulín-fenol descrito por Lowry *et al.* (1951), utilizando albúmina de bovino como patrón. Los carbohidratos se determinaron por el método colorimétrico del fenol en ácido sulfúrico descrito por Dubois *et al.* (1956), utilizando como patrón glucosa y los lípidos totales según Overturf y Dryer (1967) y Beninger (1984). Los resultados se expresaron en miligramos del componente por gramo de la masa seca total de *Artemia*, obtenida por tratamiento a 60°C/24 h. Para una comparación con resultados de otras investigaciones, los valores se expresaron en proporciones.

Las diferentes clases de lípidos fueron caracterizadas y cuantificadas por cromatografía de capa fina con un detector de ionización a la llama (Ohsima *et al.*, 1987; Shantha, 1992), utilizando un analizador Iatroscan MK-5, acoplado a un integrador de área Hewlett Packard, modelo 3390A. Las condiciones de trabajo empleadas fueron las siguientes: flujo de aire

Material and methods

Origin of the samples

Our samples of *Artemia* sp. cysts were collected from the ponds in the Araya saltworks (10°39'30"N, 64°16'00"W), using a fine brush; they were later sifted (180 µm), washed in seawater, dried for 45 min in an air stream and kept in amber jars at 25 ± 2°C. For comparison purposes, we also bought some *Artemia franciscana* cysts from San Francisco Bay (USA), which are widely used in aquaculture.

For the decapsulation and incubation of these cysts, we followed the method of Sorgeloos *et al.* (1977). The cysts (5 g L⁻¹) were put in a conical container with 8 L of filtered seawater (32 g L⁻¹), with constant illumination and aeration. Nauplii (instar I-II) were obtained within 24 h and metanauplii (instar III-V) within 72 h, according to criteria established by Bengtson *et al.* (1991), using a 60-µm mesh. They were first washed in 1 L of seawater, and then in 500 mL of ammonium formate solution (2%) and 2 L of distilled water. They were finally concentrated in fiberglass filters (GF/C) and kept in Petri dishes at a temperature of -20°C for further biochemical analyses, which were made in triplicate.

Nutritional analysis

We quantified protein content following the Foulín-phenol reagent method described by Lowry *et al.* (1951), using bovine albumin as standard; carbohydrate content following the colorimetric method of phenol in sulfuric acid described by Dubois *et al.* (1956), using glucose as standard; and total lipid content according to Overturf and Dryer (1967) and Beninger (1984). The results were expressed in component milligrams per total *Artemia* dry mass, obtained by treatment at 60°C/24 h. To compare with the results of other studies, values were expressed by proportions.

The different classes of lipids were characterized and quantified by fine layer chromatography with a flame ionization detector (Ohsima *et al.*, 1987; Shantha, 1992), using an Iatroscan MK-5 analyzer coupled with a Hewlett Packard area integrator, model 3390A. Working conditions were as follows: 2 mL min⁻¹ airflow, 160 mL min⁻¹ hydrogen flow, and analyzing speed of 10 cm min⁻¹. The different classes of lipids were identified by comparing the retention times of the samples with the times registered for commercial standards, and the results were expressed in percentages on the basis of lipid classes.

The conversion of fatty acids into their methyl esters was made using Brokerchoff's method as described by Carter (1993), with gas chromatography, following the recommendations of Liu (1994). The gas chromatograph (Varian, model 3300) was equipped with a stainless steel capillary column (Db-wax) of 30 m in length, 3.5 mm in diameter and 1-mm

de 2 mL min⁻¹, flujo de hidrógeno de 160 mL min⁻¹ y velocidad de análisis de 10 cm min⁻¹. La identificación de las diferentes clases de lípidos se llevó a cabo mediante comparación de los tiempos de retención de las muestras con los registrados para los patrones comerciales, expresándose los resultados en porcentajes de distribución sobre la base de las clases de lípidos determinados.

La conversión de los ácidos grasos a sus ésteres metílicos se realizó de acuerdo al método de Brokerhoff descrito por Carter (1993), analizándose a través de cromatografía de gases, siguiendo las recomendaciones de Liu (1994). El cromatógrafo de gases (Varian, modelo 3300) estuvo equipado con una columna capilar (Db-wax) de acero inoxidable de 30 m de largo, 3.5 mm de diámetro y un espesor de película de 1 mm, acoplada a un integrador de área Hewlett Packard modelo 3390A. Las condiciones de trabajo fueron establecidas con nitrógeno como gas de arrastre a un flujo de 30 mL min⁻¹, temperatura del inyector de 280°C, del detector de 300°C, y la inicial de la columna de 160°C. El tiempo inicial fue de 10 min y el final de 49 min, con una temperatura final de 180°C. Los ésteres metílicos de ácidos grasos fueron identificados mediante comparación de los tiempos de retención de patrones comerciales (Sigma Chemical Co.). Los resultados se expresaron en porcentajes de distribución sobre la base de los ácidos grasos encontrados.

Análisis estadísticos

Para evidenciar las diferencias existentes en el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos, triglicéridos, ésteres de colesterol, colesterol, fosfolípidos y concentración total de los ácidos grasos n-3 y n-6 determinados en las poblaciones de *Artemia*, se realizaron análisis de varianza de dos factores, considerando a las poblaciones (Araya y San Francisco) y los estadios (naupliar y metanaupliar) como factores, siguiendo las recomendaciones de Sokal y Rohlf (1981).

Resultados y discusión

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los estadios, siendo el metanaupliar el que presentó mayores concentraciones de proteínas, pero menores de lípidos y carbohidratos, mientras que entre las poblaciones no se evidenciaron diferencias significativas ($P > 0.05$). Los valores de proteínas en los metanauplios fueron de 67% y 56% y en los nauplios de 41% y 43%, para las poblaciones de Araya y San Francisco, respectivamente; en contraste con los lípidos y carbohidratos para los que el estadio naupliar mostró valores de 22–23% y 11–17%, respectivamente, mayores que los de los metanauplios que presentaron 8–13% de lípidos y 9–11% de carbohidratos (tabla 1). La mayor proporción de proteínas en los metanauplios y menor de lípidos en la nauplios también ha sido reportada en diferentes poblaciones de *Artemia* (Helfrich, 1973; Benijts *et al.*, 1976; Claus *et al.*, 1979; Léger *et al.*, 1986; Hoff y Snell, 1993). Dichos resultados sustentan la

film thickness, coupled to a Hewlett Packard area integrator, model 3390A. The following working conditions were established: nitrogen was used as gas with a 30 mL min⁻¹ flow; injector and detector temperatures were 280°C and 300°C, respectively; and the initial temperature of the column was 160°C. Initial time was 10 min and final time 49 min, with a final temperature of 180°C. Methyl esters of fatty acids were identified by comparing them with the retention times of commercial standards (Sigma Chemical Company). The results were expressed in percentages on the basis of fatty acids.

Statistical analysis

To show the different contents of proteins, lipids, carbohydrates, triglycerids, cholesterol esters, phospholipids and total fatty acids n-3 and n-6 in the two populations of *Artemia*, we carried out a two-factor variance analysis, considering the populations (Araya and San Francisco) and stages (naupliar and metanaupliar) as factors, according to the recommendations of Sokal and Rohlf (1981).

Results and discussion

We found significant differences ($P < 0.05$) between both stages: the highest concentrations in proteins, and the lowest concentrations in lipids and carbohydrates were found in the metanaupliar stage; however, no significant differences were found between both populations ($P > 0.05$). Protein values were 67% and 56% in metanauplii, and 41% and 43% in nauplii for the Araya and San Francisco populations, respectively; on the contrary, lipid and carbohydrate values were 22–23% and 11–17% for nauplii, higher than the values of 8–13% and 9–11% for metanauplii (table 1). The higher proportion of proteins in metanauplii and the lower proportion of lipids in nauplii have also been reported in different populations of *Artemia* (Helfrich, 1973; Benijts *et al.*, 1976; Claus *et al.*, 1979; Léger *et al.*, 1986; Hoff and Snell, 1993). These results confirm the hypothesis of protein accumulation for structural and energetic effects in advanced stages, while lipids are used in earlier naupliar stages. Obviously, there is a higher concentration of lipids in nauplii than in metanauplii because they represent the available form of energy for the first hours of life, as there is no functional digestive apparatus at this stage (Katavic *et al.*, 1985; Léger *et al.*, 1986). In contrast with the difference in biochemical composition between both stages, the fact that there are no significant differences between both populations suggests a similar tendency to use macromolecular energy and structure in the populations under study.

The different classes of lipids showed significant differences between stages and between populations ($P < 0.05$), except for phospholipids, which showed significant differences between stages only. Similarly, the highest concentrations of triglycerids and phospholipids were found in nauplii, while the

Tabla 1. Valores medios y desviación estándar de la composición proximal (mg g^{-1}), en base a la masa seca total de nauplios y metanauplios de las poblaciones de *Artemia* sp. de Araya (Venezuela) y *Artemia franciscana* de San Francisco (EUA).**Table 1.** Mean values and standard deviation of the proximal composition (mg g^{-1}), based on the total dry mass of nauplii and metanauplii of the populations of *Artemia* sp. from Araya (Venezuela) and *Artemia franciscana* from San Francisco Bay (USA). Same superscripts in the same row indicate non-significant differences ($P > 0.05$).

	Araya		San Francisco	
	Nauplios	Metanauplios	Nauplios	Metanauplios
Proteínas	411.1 $\pm$ 1.05 ^a	671.1 $\pm$ 1.50 ^b	432.2 $\pm$ 4.30 ^a	560.0 $\pm$ 9.90 ^b
Lípidos	221.3 $\pm$ 1.40 ^a	127.7 $\pm$ 6.20 ^b	235.7 $\pm$ 11.25 ^a	87.7 $\pm$ 3.05 ^b
Carbohidratos	172.2 $\pm$ 6.44 ^a	93.2 $\pm$ 1.40 ^b	111.3 $\pm$ 8.35 ^a	106.0 $\pm$ 8.41 ^b

Superíndices iguales en una misma fila indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

hipótesis de la acumulación de proteínas para efectos estructurales y energéticos en estadios avanzados, más que de lípidos, los cuales son utilizados en las fases más tempranas como la naupliar. Evidentemente los nauplios presentan mayores concentraciones de lípidos que los metanauplios, ya que éstos representan la forma de energía disponible para las primeras horas de vida, ya que en esta etapa los organismos carecen de un aparato digestivo funcional (Katavic *et al.*, 1985; Léger *et al.*, 1986). En contraste con la diferencia en la composición bioquímica entre estadios, la no existencia de diferencias significativas entre poblaciones, sugiere una misma tendencia de uso energético y estructural de las macromoléculas en las poblaciones estudiadas.

Las diferentes clases de lípidos presentaron diferencias significativas tanto entre estadios como entre poblaciones ($P < 0.05$), excepto los fosfolípidos, los cuales sólo presentaron diferencias significativas entre estadios. De esta manera, las mayores concentraciones de triglicéridos y fosfolípidos se determinaron en los nauplios, mientras que el colesterol y los ésteres de colesterol fueron mayores en los metanauplios. Navarro *et al.* (1991), al analizar una población de *Artemia* procedente de España, obtuvieron resultados similares para el colesterol, mientras que para los fosfolípidos los valores mayores estuvieron presentes en los metanauplios. La población de San Francisco posee mayor concentración de ésteres de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos, pero menor de colesterol que la población de Araya (tabla 2). La disminución de las concentraciones de triglicéridos presumiblemente refleja su utilización como combustible metabólico y/o para la biosíntesis de los fosfolípidos (Schauer *et al.*, 1980; Navarro, 1990).

Los análisis de los ácidos grasos (tabla 3) revelaron que, en ambas poblaciones, la mayor proporción estuvo conformada por ácidos grasos saturados, seguida por la de monoinsaturados y polinsaturados. Los porcentajes de los ácidos grasos n-3 y n-6 presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre estadios y entre las poblaciones analizadas, siendo éstos más abundantes en los metanauplios de la población de San Francisco. Léger *et al.* (1986) reportaron que, en *Artemia*, el 80% de los ácidos grasos estaban conformados por el 16:0,

highest concentrations of cholesterol and cholesterol esters were found in metanauplii. Navarro *et al.* (1991) analyzed an *Artemia* population of Spanish origin and found similar results for cholesterol, but the highest values of phospholipids were found in metanauplii. The San Francisco population has a higher concentration of cholesterol esters, triglycerids and phospholipids than the Araya population, but a lower concentration of cholesterol (table 2). The decrease in triglycerid concentrations probably reflects their use as a metabolic fuel and/or for the biosynthesis of phospholipids (Schauer *et al.*, 1980; Navarro, 1990).

Fatty acids analyses showed that in both populations the highest proportions were found in saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, in that order (table 3). The percentages of n-3 and n-6 fatty acids showed significant differences ($P < 0.05$) between stages and populations; they were higher in metanauplii of the San Francisco population. Léger *et al.* (1986) reported that in *Artemia*, 80% of fatty acids were composed of 16:0, 16:1, 18:1, 18:2 n-6, 18:3 n-3, and 20:5 n-3. All of these fatty acids were detected in both strains: they represented 37% and 56% in nauplii and metanauplii of the Araya population, but 51% and 64% in the San Francisco population. Wickings (1972) reported values of 79%, Benijts *et al.* (1976) of 80%, and Claus *et al.* (1979) of 89% for San Francisco nauplii. For other populations, Webster and Lovell (1990) found concentrations between 60% and 63% in *Artemia* nauplii from China, Colombia, Great Salt Lake (USA), and the San Francisco population (USA). Many reports differ substantially, even when they analyze the same populations, a fact that has been mainly attributed to differences in methodology, but also to the genetic variability of *Artemia* and/or to possible differences in the environmental conditions of the geographical zones of origin of the different populations (Schauer *et al.*, 1980).

We found low percentages of eicosapentaenoic fatty acid or 20:5 n-3 in both populations, 0.88% in Araya metanauplii and 1.75% in those from San Francisco. This fatty acid has been considered of great importance, as it is vital to the growth and

Tabla 2. Valores promedios y su desviación estándar del porcentaje de área de las clases de lípidos de los nauplios y metanauplios de las poblaciones de *Artemia* sp. de Araya (Venezuela) y *Artemia franciscana* de San Francisco (EUA).**Table 2.** Mean values and their standard deviation from the proximal composition of the different classes of lipids in nauplii and metanauplii of the *Artemia* sp. population from Araya (Venezuela) and *Artemia franciscana* from San Francisco Bay (USA).

	Araya		San Francisco	
	Nauplios	Metanauplios	Nauplios	Metanauplios
Ésteres de colesterol	7.69 ± 0.18 ^a	14.67 ± 0.82 ^b	11.41 ± 1.02 ^c	36.83 ± 1.48 ^d
Triglicéridos	18.37 ± 0.63 ^a	16.00 ± 0.98 ^b	39.41 ± 0.57 ^c	28.35 ± 0.29 ^d
Colesterol	48.13 ± 1.11 ^a	50.19 ± 0.83 ^b	14.64 ± 1.04 ^c	18.45 ± 1.06 ^d
Fosfolípidos	25.80 ± 0.24 ^a	19.13 ± 0.08 ^b	34.52 ± 0.32 ^a	16.35 ± 0.60 ^b

Superíndices iguales en una misma fila indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

16:1, 18:1, 18:2n-6, 18:3n-3 y el 20:5n-3. Todos estos ácidos fueron detectados en ambas cepas y conformaron el 37% y 56% en nauplios y metanauplios para la población de Araya, mientras que para la población de San Francisco representaron proporciones mayores (51% y 64%, respectivamente). En este contexto, para los nauplios de la población de San Francisco, Wickings (1972) encontró valores de 79%, Benijts *et al.* (1976) reportaron 80% y Claus *et al.* (1979) 89%. Para otras poblaciones Webster y Lovell (1990) determinaron concentraciones entre 60% y 63% en nauplios de *Artemia* de China, Colombia, Great Salt Lake (EUA) y en la población de San Francisco (EUA). Se observa que muchos reportes presentan diferencias notables aún analizando las mismas poblaciones de *Artemia*, lo cual ha sido atribuido, principalmente, a la metodología empleada en la determinación de dichos ácidos grasos, aunada a la variabilidad genética de la *Artemia* y/o a posibles diferencias en las condiciones ambientales de las zonas geográficas de origen de las poblaciones (Schauer *et al.*, 1980).

Para ambas poblaciones se determinaron bajos porcentajes del ácido graso eicosapentanoico o 20:5n-3, 0.88% para los metanauplios de Araya y 1.75% para los de San Francisco. Este ácido graso ha sido considerado como un compuesto de gran importancia, siendo indispensable para el crecimiento y la supervivencia de peces y crustáceos marinos (Léger *et al.*, 1986). Este compuesto no fue detectado en los nauplios de la población de Araya y tuvo una concentración de 1.16% en los de la población de San Francisco. Sorgeloos *et al.* (1993) reportaron concentraciones de este ácido graso entre 0.30% y 13.3% para los nauplios de la población de San Francisco Bay y entre 1.30% y 15.4% para la población de China (Bohai Bay). Las discrepancias entre los reportes y los resultados de esta investigación pueden ser motivadas por las condiciones ambientales y/o genéticas de las poblaciones evaluadas, tal como lo sugieren Lavens *et al.* (1989).

Los resultados obtenidos permiten sugerir que la población de *Artemia* sp. de Araya reúne requerimientos adecuados para cubrir necesidades alimenticias de las larvas de peces y crustáceos cultivables, ya que sus organismos presentan las concentraciones de proteínas y lípidos recomendados por

survival of fish and marine crustaceans (Léger *et al.*, 1986). This compound was not detected in Araya nauplii, but represented 1.16% in the San Francisco population. Sorgeloos *et al.* (1993) reported concentrations of this fatty acid between 0.30% and 13.3% in nauplii from San Francisco Bay and between 1.30% and 15.4% for a Chinese population (Bohai Bay). The differences between these reports and the results of this study may be attributed to environmental and/or genetic differences of the populations under study, as suggested by Lavens *et al.* (1989).

The results of this study allow us to suggest that the *Artemia* populations from Araya may adequately cover the nutritional needs of cultivated larvae of fish and crustaceans, as they possess the necessary protein and lipid concentrations recommended by Castell *et al.* (1986) and FAO (1989), which must be between 30% and 60% and between 13% and 16%, respectively. They also possess suitable concentrations of 18:3 n-3 and 20:5 n-3 fatty acids. Besides this nutritional value, their biometric characteristics (nauplii 460–470 mm long) are appropriate to feed aquatic organisms, and their efficiency values (205.110–212.320 nauplii/g of cyst), hatching percentage (35–51.2%) and production (430–696 mg of nauplii/g of cyst) lie within the range of commercial variants (Vanhaecke and Sorgeloos, 1980; Campos, 1989; De Donato and Graziani, 1993). In this perspective, our study reaffirms the feasibility of commercial exploitation of *Artemia* populations in the Araya saltworks, which would also optimize the production of salt, as suggested by De Donato *et al.* (2002), who evaluated *in situ* their biological balance.

Acknowledgements

We thank the anonymous reviewers for their comments. This study was partially funded by the Venezuelan National Science, Innovation and Technology Fund (FONACIT).

English translation by the authors.

Tabla 3. Valores promedios del porcentaje de área de ácidos grasos de nauplios y metanauplios de las poblaciones de *Artemia* sp. de Araya (Venezuela) y *Artemia franciscana* de San Francisco (EUA); nd = no detectado.**Table 3.** Mean values of the percentage of fatty acids by chromatography in nauplii and metanauplii of the *Artemia* sp. population from Araya (Venezuela) and *Artemia franciscana* from San Francisco Bay (USA); nd = not detected.

Ácidos grasos	Araya		San Francisco	
	Nauplios	Metanauplios	Nauplios	Metanauplios
Saturados	77.68	61.87	49.91	50.59
8:0	0.26	nd	0.18	nd
9:0	1.51	nd	nd	nd
10:0	2.95	0.79	nd	nd
11:0	0.90	1.02	0.58	1.05
12:0	1.09	0.41	1.50	0.57
13:0	13.99	10.12	11.36	10.57
14:0	16.05	10.21	10.00	nd
15:0	6.04	3.70	2.40	nd
16:0	31.60	30.36	16.20	29.81
18:0	0.31	nd	0.74	nd
20:0	1.13	3.03	nd	nd
Monoinsaturados	5.52	18.43	30.71	25.18
16:1	4.58	4.71	4.54	4.98
18:1	nd	13.72	23.78	20.20
20:1	0.94	nd	1.56	nd
22:1	nd	nd	0.83	nd
Poliinsaturados	9.08	14.60	7.64	18.28
18:2 n-6	nd	4.57	5.29	4.20
18:3 n-3	0.95	2.00	0.27	3.32
18:4 n-3	0.81	3.00	0.92	2.79
20:3 n-3	2.32	2.08	nd	3.57
20:4 n-6	5.00	2.07	nd	2.65
20:5 n-3	nd	0.88	1.16	1.75
Totales	92.98	94.90	88.26	94.05
Otros	7.72	5.10	11.74	5.95
Σn-3	4.08^a	7.96^b	2.35^c	11.43^d
Σn-6	5.00^a	6.64^b	5.29^c	6.85^d

Superíndices iguales en una misma fila indican diferencias no significativas ($P > 0.05$).

Castell *et al.* (1986) y FAO (1989), los cuales deben estar entre 30% y 60% y entre 13% y 16%, respectivamente. Además, poseen concentraciones adecuadas de los ácidos grasos 18:3n-3 y 20:5n-3. Aunadas al valor nutritivo de la población de *Artemia* sp. de Araya antes mencionado, se encuentran sus características biométricas (nauplios de 460 a 470 mm de largo), las cuales son apropiadas para la alimentación de organismos acuáticos, así como también presenta valores de eficiencia (205.110–212.320 nauplios/g de quistes), porcentaje

(35–51.2%) y producción de eclosión (430–696 mg de nauplios/g de quistes) dentro del rango promedio de las variantes comerciales (Vanhaecke y Sorgeloos, 1980; Campos, 1989; De Donato y Graziani, 1993). En este sentido, nuestro estudio reafirma la factibilidad de explotación comercial de *Artemia* en las salinas de Araya, en función de obtener beneficios adicionales y optimizar la producción de sal, tal como lo sugieren De Donato *et al.* (2002), quienes evaluaron *in situ* el equilibrio biológico de las poblaciones de *Artemia* sp. en dicha salina.

Agradecimientos

Se agradece la colaboración de los revisores anónimos. El estudio fue parcialmente financiado por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de Venezuela (FONACIT).

Referencias

- Alvarez, Z. y Sánchez, R. (1994). Evaluación de la calidad de la cepa de *Artemia* Las Cumaraguas, Paraguaná, Venezuela. *Cienc. Mar.*, 20(3): 287–299.
- Amat, F., Hontoria, F., Navarro, J. y Varo, I. (1982). Caracterización de tres poblaciones de *Artemia* originarias de la zona Mediterránea con vista a su aprovechamiento en acuicultura. En: *Larvicultura de Camarones Peneidos*. Vol. I. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED-D). Subprograma II: Acuicultura. Colección de reimpresos, pp. 193–196.
- Bengtson, D., Léger, P. and Sorgeloos, P. (1991). Use of *Artemia* as a food source for Aquaculture. In: R. Browne, P. Sorgeloos and C. Trotman (eds.), *Artemia Biology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 255–285.
- Benijts, F., Van Voorden, E. and Sorgeloos, P. (1976). Changes in the biochemical composition of the early larval stages of the brine shrimp, *Artemia salina* L. In: G. Persoone and E. Jasper (eds.), *Proc. 10th European Symposium on Marine Biology: Research in Mariculture at Laboratory and Pilot Scale*. Universal Press, Belgium, pp. 1–9.
- Beninger, P. (1984). Seasonal variation of major lipids classes in relation to the reproductive activity of two species of clams raised in a common habitat: *Tapes decussatus* and *T. philipinarum*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 79: 79–80.
- Campos, M. (1989). Cultivo masivo, biometría y calorimetría de *Artemia* (Crustacea: Anostraca) procedente de tres localidades diferentes de Venezuela. Tesis de Licenciatura, Universidad de Oriente, Venezuela, 42 pp.
- Carter, L. (1993). *Analysis of Triglycerides*. Academic Press, New York, 380 pp.
- Castell, J., Conklin, D., Craigie, J., Lall, S. and Norman, K. (1986). Aquaculture nutrition. In: *Realism Aquaculture, achievements, constraints, perspectives*. European Aquaculture Soc., Belgium, pp. 251–308.
- Claus, C., Benijts, F., Vandeputte, G. and Gardner, W. (1979). The biochemical composition of the larvae of two strains of *Artemia salina* (L.) reared on two different algal foods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 36: 171–183.
- Correa, F., Camacho, V., Rodríguez, D., Cordero, B., De la Rosa, J., Alvarez, Z. and Sánchez, R. (1999). Effect of temperature and salinity on the biochemical composition of *Artemia franciscana* Kellogg 1906, from Araya (Venezuela) and San José (México). *Int. Rev. Hydrobiol.*, 84(6): 579–585.
- Craig, S., Connie, R. and Joan, G. (1994). The effects of enriching live foods with highly unsaturated fatty acids on the growth and fatty acid composition of larval red drum *Sciaenops ocellatus*. *J. World Aquacult. Soc.*, 25(3): 424–431.
- De Donato, M. y Graziani, C. (1993). Determinación de las características biométricas para la evaluación de tres razas de *Artemia* en Venezuela. *Saber*, 5(1): 20–25.
- De Donato, M., Graziani, C. y Lodeiros, C. (2002). Evaluación de las poblaciones naturales de *Artemia* en la salina artificial de Araya, Venezuela. *Bol. Centro Invest. Biol.*, 36(3): 217–374.
- Dubois, M., Gilles, K., Halmilton, J., Rebers, P. and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350–356.
- Estévez, M., Campos, M., Elmasri, R. y Alvarez, R. (1996). Cultivo masivo de *Artemia*, cepa Araya bajo diferentes condiciones. III Congreso Científico de la Universidad de Oriente, Maturín, Venezuela, 25 pp.
- FAO (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados*. Manual de capacitación. Proyecto GCP/RLA/102/ITAL, Brasil, 516 pp.
- Fernández, O. (1983). Optimización de eclosión de la *Artemia* sp. (Branquiopoda) de la península de Araya, mediante los parámetros físico-químicos. Tesis Profesional, IUTEMAR, La Salle, Venezuela, 85 pp.
- Helfrich, C. (1973). The feasibility of brine shrimp production on Christmas Island. *Sea Grant Tech. Rep. UNIH. Sea Grant TR-73-02*: 1–173.
- Hoff, F. and Snell, T. (1993). *Plankton Culture Manual*. 3rd ed. Florida Aqua Farms, Florida, 126 pp.
- Katavic, I., Tudor, M., Komljenovic, J. and Ruzic, N. (1985). Changes in the biochemical composition of *Artemia salina* (L.) in relation to different feeding conditions. *Acta Adriat.*, 26: 123–134.
- Lavens, P., Léger, P. and Sorgeloos, P. (1989). Manipulation of the fatty acid profile in *Artemia* offspring using a controlled production unit. In: N. De Pauw, E. Jaspers, H. Ackefors and N. Wilkins (eds.), *Aquaculture and Biotechnology in Progress*. European Aquaculture Soc., Belgium, pp. 731–735.
- Léger, P., Bengtson, D., Simpsom, K. and Sorgeloos, P. (1986). The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 24: 521–623.
- Liu, K. (1994). Preparation of fatty methyl esters for gas chromatography. *Analysis of lipids in biological materials*. *J. Ann. Oil Chem. Soc.*, 71(11): 1179–1187.
- Lowry, O., Rosebrough, H., Farr, A. and Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin- phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193: 265–275.
- Nascimento, A., Pereira, S. y Lemos, M. (1992). Utilización de organismos marinos como alimento para postlarvas y juveniles de *Penaeus japonicus*. En: *Larvicultura de Camarones Peneidos*. Vol. I. Producción de postlarvas, cultivo y evaluación de microorganismos como alimento. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED), Subprograma II: Acuicultura. Colección de reimpresos, pp. 177–185.
- Navarro, J. (1990). Caracterización de las cepas españolas de *Artemia* desde el punto de vista de su valor nutritivo y de sus fenotipos electroforéticos. Implicaciones prácticas en acuicultura. Tesis doctoral, Universidad de Valencia, España, 170 pp.
- Navarro, J., Amat, F. and Sargent, J. (1991). A study of the variations in lipid levels, lipid class composition and fatty acid composition in the first stages of *Artemia* sp. *Mar. Biol.*, 111: 461–465.
- Ohsima, T., Ratnayare, W. and Ackman, R. (1987). Cool lipids, solvents systems and the effect of fatty acid chain length and unsaturation on lipid class analysis by IATROSCAN TLC/FID. *J. Aacs.*, 64(2): 48–59.
- Overturf, M. and Dryer, R. (1967). *Experiments in Physiology and Biochemistry*. Vol. II. Academic Press, New York, 574 pp.
- Pousão-Ferreira, P., Cairrão, F., Nery, F. y Narciso, L. (1997). El perfil de los ácidos grasos de larvas de *Sparus aurata* se correlaciona con la composición de dietas de enriquecimiento de *Brachionus plicatilis* y *Artemia* sp. *Cienc. Mar.*, 23(1): 83–92.
- Ratta, S. (1988). Evaluación preliminar de la calidad en quistes de *Artemia* sp. provenientes de la isla de Coche. Edo. Nueva Esparta. Tesis profesional, IUTEMAR, La Salle, Venezuela, 89 pp.

- Sánchez, R. y Alvarez, Z. (1992). Ensayos preliminares sobre el valor nutritivo de nauplios de *Artemia* (cepa Las Cumaraguas, Paraguaná, Venezuela). En: Memorias VII Simposio Latinoamericano de Acuicultura. II. Encuentro Venezolano de Acuicultura. Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela, pp. 245–250.
- Sandor, J. (1988). Factibilidad del cultivo de biomasa de *Artemia* en estanques de la granja del Dpto de cultivos. Tesis profesional, IUTEMAR, La Salle, Venezuela, 75 pp.
- Sargent, J., McEvoy, L. and Bell, J. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acid in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117–127.
- Schauer, P., Johns, D., Olney, C. and Simpson, K. (1980). International study on *Artemia*. IX. Lipid level, energy content and fatty acid composition of the cyst and newly hatched nauplii from five geographical strains of *Artemia*. In: G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jasper (eds.), *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universal Press, Belgium, pp. 365–373.
- Scelzo, M. and Voglar, J. (1980). Ecological study of the *Artemia* populations in Boca Chica salt lake, Margarita Island, Venezuela. In: G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jasper (eds.), *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universal Press, Belgium, pp. 258–260.
- Shantha, N. (1992). Thin-layer chromatography flame ionization detection Iatroscan system. *J. Chromatogr.*, 624: 37–51.
- Sokal, R. and Rohlf, F. (1981). *Biometry*. 2nd ed. W. Freeman, San Francisco, 859 pp.
- Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Lavina, E., Baeza, M. and Persoone, G. (1977). Decapsulation of *Artemia* cyst: A simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*, 12: 311–315.
- Sorgeloos, P., Lavens, P., Léger, P. and Tackaert, W. (1993). The use of *Artemia* in marine fish larviculture. In: C. Lee, M. Su and C. Liao (eds.), *Finfish Hatchery in Asia*. Proc. Finfish Hatchery in Asia '91. TML Conference Proc., Taiwan, pp. 73–86.
- Teruel, H. (1985). Determinación de las condiciones óptimas para la eclosión de quistes de *Artemia*, raza Araya, Venezuela. Tesis de Licenciatura, Universidad de Oriente, Venezuela, 85 pp.
- Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P. (1980). International study on *Artemia*. IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin. In: G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels and E. Jasper (eds.), *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universal Press, Belgium, pp. 393–405.
- Watanabe, T., Kitajima, C. and Fujita, S. (1983). Nutritional values of live organism used in Japan for mass propagation of fish: A review. *Aquaculture*, 34: 115–143.
- Webster, C. and Lovell, R. (1990). Quality evaluation of four sources of brine shrimp *Artemia* spp. *J. World Aquac. Soc.*, 21(3): 180–185.
- Wickings, J. (1972). The food value of brine shrimp, *Artemia salina* L., to larvae of the prawn, *Palaeomon serratus* Pennant. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 10: 151–170.