

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales

B0313/86

EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES DE Artemia sp. PROCEDENTES DE DOS SALINAS DE MEXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

BIOLOGO

PRESENTA:

ALICIA PEREZ CHI





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

### DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A LA MEMORIA DE MI MADRE

A RAFA Y A TODOS MIS HERMANOS

A MI ESPOSO DAVID Y A MI HIJA SOFIA

A MIS AMIGOS

#### AGRADECI MI ENTOS

Este trabajo fué realizado bajo la dirección de la M. en C. Thalía Castro Barrera, Jefe del Area de Investigación, Evolución y Desarrollo de los Recursos Naturales Renovables de la Universidad Autónoma Metropolitana, Plantel Xochimilco.

Los experimentos se realizaron en el laboratorio del Centro de Cultivo Comercial de Langostino "El Real", dependiente de la Secretaría de Pesca ubicado en el Municipio de Catemaco, Veracruz.

Quiero agradecer profundamente a Kit, David y Gustavo por su constante apoyo que no tán sólo contribuyó a la realización de éste trabajo sino también a mi formación profesional.

#### JURADO ASIGNADO

Presidente: Biol. Jonathan Franco López

Vocal: M. en C. Jorge Padilla R.

Secretaria: M. en C. Thalía Castro Barrera

Primer suplente: Biol. Adolfo Cruz Gómez

Segundo suplente: Biol. Arturo Rocha R.

# INDICE

		PAGINA
RE	S U M E N	V
I	INTRODUCCION	I
ΙΙ	SINOPSIS DE LA BIOLOGIA DE ARTEMIA SP.	4
	1 GENERAL	4
	2 CARACTERÍSTICAS DE LOS QUISTES Y SU ECLOSIÓN	В
Ш	IMPORTANCIA EN ACUICULTURA	10
	1 Cosecha de Quistes	10
	2 CONDICIONES PARA LA ECLOSIÓN	11
IV	MATERIAL Y METODO	13
	1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS	13
	2 PROCESO DE COLECTA	13
	3 CONTROL	14
	4 DISEÑO EXPERIMENTAL	14
	5 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS EXPERIMENTALES	14
	6 INCUBACIÓN DE LOS QUISTES	16
	A) MEDIO DE CULTIVO	16
	B) SALINIDAD	16
	c) Temperatura	18
	d) Aireación	18
	E) ILUMINACIÓN	18
	7 Muestreo	18
	8 TRATAMIENTO DE LOS DATOS	19

٧	RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS	20
	1 YAVAROS	20
	A) EFECTO DE LA TEMPERATURA	20
	B) EFECTO DE LA SALINIDAD	20
	c) EFECTO DEL TIEMPO	24
	2 BAHIA DE CEUTA	24
	A) EFECTO DE LA TEMPERATURA	24
	B) EFECTO DE LA SALINIDAD	27
	c) EFECTO DEL TIEMPO	27
	3 AQUAFAUNA	27
	A) EFECTO DE LA TEMPERATURA	27
	B) EFECTO DE LA SALINIDAD	30
	c) EFECTO DEL TIEMPO	30
VI	ANALISIS ESTADISTICO DE DATOS	32
	1 YAVAROS	33
	2 BAHIA DE CEUTA	34
	3 AQUAFAUNA	35
VII	DISCUSION	35
VIII	CONCLUSION Y RECOMENDACIONES	41
IX	BIBLIOGRAFIA	46

#### INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

#### Figura 1

Sitios con existencia de quistes de  $\underline{\text{Artemia}}$   $\underline{\text{sp.en}}$  la República Mexicana

#### Figura 2

Ciclo de vida de Artemia sp.

#### Figura 3

Reproducción sexual de Artemia sp.

#### Figura 4

Sistema de incubación

#### Figura 5

Eficiencia de eclosión de quistes de YAVAROS a 25°C

#### Figura 6

Eficiencia de eclosión de quistes de YAVAROS a  $30\,^{\circ}\text{C}$ 

#### Figura 7

Eficiencia de eclosión de quistes de BAHIA DE CEUTA a 25°C Figura 8

Eficiencia de eclosión de quistes de BAHIA DE CEUTA a 30°C Figura 9

Eficiencia de eclosión de quistes de AQUAFAUNA a 25°C Figura 10

Eficiencia de eclosión de quistes de AQUAFAUNA a  $30\,^{\circ}\text{C}$ 

#### Figura 11

Valores máximos de la eficiencia de eclosión relativa para cada cepa

#### Cuadro 1

Temperatura de incubación para los experimentos

#### Cuadro 2

Datos de eficiencia de eclosión obtenidos para todos los experimentos

#### ANEXO 1

Resultados del ANOVA de 4 factores, modelo 1

#### ANEXO 2

Valores máximos de eficiencia de eclosión

#### ANEXU 3

Significancia de las diferencias de valores máximos

#### RESUMEN

SE ESTUDIÓ LA EFICIENCIA DE ECLOSIÓN DE LOS QUISTES DE YAVAROS, SONORA Y BAHÍA DE CEUTA, SINALOA, COLECTADOS A PARTIR DE POBLACIONES SILVESTRES. SE COMPARÓ LA EFICIENCIA FRENTE A UN CONTROL CON QUISTES DE LA MARCA COMERCIAL - "AQUAFAUNA", BAJO DISTINTAS CONCENTRACIONES DE SALINIDAD (5, 15, 25 y 35°/00 Y DE TEMPERATURA (25 Y 30° C) OBTENIENDO LAS LARVAS NAUPLIO A DISTINTOS TIEMPOS DE MUESTREO.

Los quistes se incubaron en recipientes de vidrio de 1 litro con fondo - cónico, con aireación constante, bajo la combinación de temperatura y salinidad diseñada para cada experimento.

LA MÁXIMA EFICIENCIA DE ECLOSIÓN SE LOGRÓ CON LOS QUISTES DE BAHÍA DE -- CEUTA CON 308 800 NAUPLIOS/G. DE QUISTES A 25°C, 25°/00 A LAS 48 HS., SEGUI DA POR LOS QUISTES DE AQUAFAUNA (199 500 NAUPLIOS/G.) Y POR ÚLTIMO LOS DE YAVAROS (62 700 NAUPLIOS/G.).

LA MAYOR CONCENTRACIÓN SALINA UTILIZADA (35°/00) FAVORECIÓ LA EFICIENCIA DE ECLOSIÓN DE LOS QUISTES DE YAVAROS Y BAHÍA DE CEUTA NO ASÍ PARA LOS QUISTES DE AQUAFAUNA. SE PLANTEA UNA ESTIMULACIÓN SOBRE LA SÍNTESIS DE GLICEROL Y SU EFECTO EN EL PROCESO DE ECLOSIÓN.

LA IMPORTANCIA DE ESTIMAR LA EFICIENCIA DE ECLOSIÓN DE CEPAS MEXICANAS - ESTRIBA EN EL CONOCIMIENTO DE LA POTENCIALIDAD DE UN RECURSO NACIONAL.

# EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES DE Artemia sp. PROCEDENTES DE DOS SALINAS DE MEXICO.

#### INTRODUCCION.

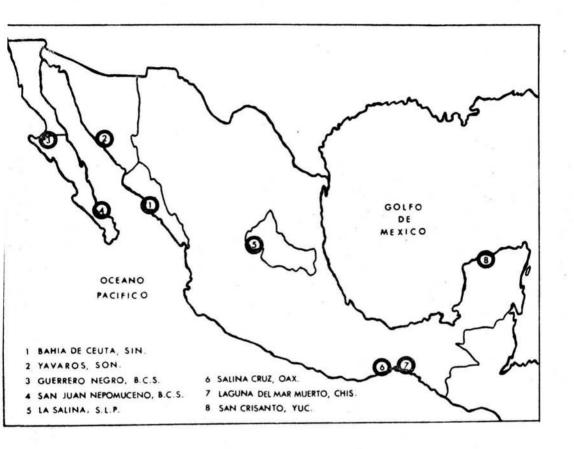
Por muchos años las larvas nauplio recién eclosionadas de Artemia sp.\*, han sido el alimento vivo más comunmente usado en los cultivos de peces, crustáceos y otros organismos acuáticos (Sorgeloos, 1976).

En la actualidad se requiere de gran cantidad de huevecillos de Artemia sp. para suministrar éste alimento vivo, y en México casi en su totalidad es importado, a pesar de que existe como - un recurso natural.

Recientemente se ha detectado la existencia de quistes enzonas específicas de la República Mexicana como: Bahía de Ceuta, Sin.; Yavaros, Son.; Guerrero Negro y San Juan Nepomuceno, B.C.S. y algunas otras (Castro, 1980) (fig. 1). Este hecho, aunado a la demanda actual de quistes y debido a la ampliación de la carcinicultura en México, plantea un futuro prometedor. Por este motivo es conveniente evaluar el estado del recurso, antes de iniciarsu aprovechamiento.

La investigación de <u>Artemia</u> sp. a nivel mundial, es abundan te y específica, principalmente la realizada en el centro de referencias de <u>Artemia</u> sp. en la Universidad Estatal de Gante, Bélgica; pero en nuestro país tan sólo se han dado a conocer algunos aspectos de <u>Artemia</u> sp. como un recurso potencial.

<sup>\*</sup>Tomando en cuenta la nota editorial sobre la taxonomía de <u>Artemia</u> sp., según Sorgeloos (1980), se considerará <u>Artemia</u> a nivel genérico.



DE QUISTES DE Artemia sp.

EN LA REPUBLICA MEXICANA

Entre estos aspectos se encuentra el de Sasso (1978), don de se considera la importancia de Artemia sp. como un organismo importante para la acuicultura.

En la compañía "Sosa Texcoco", en el Edo. de México se realizaron análisis bromatológicos con <u>Artemia</u> sp., que demostraron un alto contenido proteico de las larvas y los adultos (Pontes, et. al., 1977).

En la Universidad de Sonora se realizó un estudio morfológico descriptivo del género <u>Artemia</u> sp. (Rascón y Beltrán, -1979).

En el Instituto Politécnico Nacional y en la Universidad - Nacional Autónoma de México se ha utilizado a Artemia sp. como alimento vivo de organismos en diversos proyectos de investigación (Mille, S., 1981; Cabrera, J., 1979\*).

La Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Kochimilco y la Secretaría de Pesca, iniciaron un programa en 1979, que - contempla varias líneas de investigación sobre las poblaciones de Artemia sp. en la República Mexicana (Castro, 1980).

A este respecto el presente estudio se realizó con quistesde dos poblaciones nativas de <u>Artemia</u> sp.: Bahía de Ceuta, Sin. y Yavaros, Son.; zonas que por el carácter endémico de la población, por su accesibilidad y relativa abundancia, son de especial interés.

Se evaluó la eficiencia de eclosión de los quistes de ambas zonas, bajo distintas condiciones de salinidad (5,15,25, y 35 °/°°) y de temperatura (25 y 30 °C), para verificar las condiciones óptimas de eclosión en estos quistes. Comparando tal

<sup>\*</sup>Comunicación personal.

SINOPSIS DE LA BIOLOGIA DE Artemia sp..

#### 1.- General.

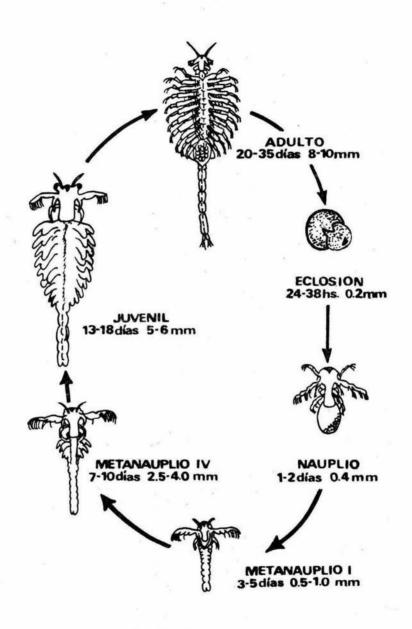
Este interesante crustáceo anostraco, vive y se reproducegeneralmente en estanques salados, naturales y artificiales en muchas partes del mundo. Es extremadamente eurióico con una gran tolerancia hacia la temperatura y la salinidad (Jennings y Whita ker, 1941).

Durante su ciclo de vida (fig. 2), la precopulación en los - adultos de <u>Artemia</u> sp. se inicia por el macho, abrazando a la hembra con sus antenas, entre el útero y el último par de toracópodos. En esta posición de "montura" la pareja puede nadar por largos períodos (Sorgeloos, 1976).

Después de la muda pre-apareamiento, la hembra libera una generación de occitos maduros que pasan desde los ovarios a los o viductos en menos de 2 hr., permaneciendo ahí de 1-40 hr..

En sí la cópula se efectúa rápidamente: El abdomen del macho se encorva hacia el de la hembra y un pene ES introducido en la apertura del útero. Más tarde los óvulos pasan al útero en un lapso de 30 min.. Los huevos permanecen en el útero de 3-5 días, independientemente de sí fueron fertilizados o no (Hentig, 1971).

De esta forma Artemia sp. durante su ciclo reproductivo puede producir: Huevos durables con cascarón duro y obscuro (quis tes); nauplios libres, eclosionados en el saco ovígero; huevossúbitos de pared clara y delgada, que de inmediato continúan su desarrollo y huevos decolorados, no fecundados, los cuales no -



tigura 2. CICLO DE VIDA DE Artemia sp.

pueden seguir desarrollandose (fig. 3).

Una hembra deposita de 7 a 80 huevos o larvas a intervalos de 3 a 11 días, dependiendo notablemente de las condiciones del medio (Ivleva, 1969).

El diámetro de los huevos de <u>A∓temia</u> sp. es de≈0.2 mm. ypesan de 2.8 a 4.0 mg.. El desarrollo de los huevos se completa en un período de 5-6 días.

Dentro de la membrana de eclosión (externa), las nuevas antenas y mandíbulas diferenciadas empiezan a moverse; dentro de un corto período, la membrana de eclosión se rompe y surge un nauplio, libre nadador. Esta primera larva de color café-naranja, tiene 3 pares de apéndices: La antena, con función locomotora; la anténula sensorial y las rudimentarias mandíbulas. Los nauplios pasan rápidamente a través de los estadios de metanauplio I y II a expensas de la reserva de vitelo. Durante los siguientes 7-10 días pasan por los estadíos de metanauplio III y IV los cuales difieren uno de otro, en el grado de segmentación del cuerpo, en la transformación de la segunda antena y en la apariencia de las patas torácicas y de la misma forma, hasta el IX estadio.

Desde el décimo en adelante, el segundo par de antenas en - los machos pierde su primitiva función locomotora, es decir, - pierden sus largas setas y se encorvan hacia la cabeza, experi - mentando una diferenciación sexual. A este tiempo, llamado estado juvenil, Artemia sp. tiene una longitud del cuerpo de 5-6 mm., con la forma general del adulto, presentando el macho como ya se mencionó las antenas transformadas en apéndices prensiles ó abrazaderas, y en lambembra, estas antenas siguen siendo apéndices sensoriales.

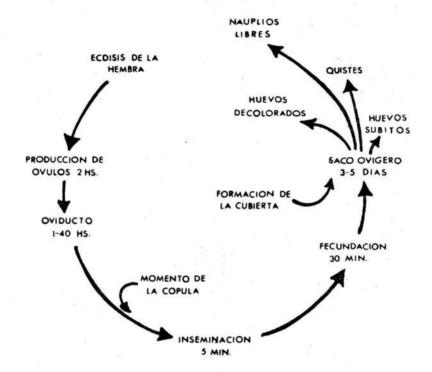


figura 3. REPRODUCCION SEXUAL DE Artemiasp.

La madurez sexual se alcanza de 20 a30 días, cuando el organismo mide de 8 a 10 mm.El animal adulto esta caracterizado por los ojos compuestos, anténulas sensoriales, tracto digestivo lineal y 11 pares de toracópodos funcionales (Sorgeloos, 1976) (fig. 2).

Artemia sp. es un típico organismo filtrador ingiere alimentos de partículas que van desde 5 hasta 50 micras aproximadamente. Con el continuo batir de los toracópodos el organismo forma una corriente que va a lo largo del surco ventral del animal hacia la boca, sirviéndole al mismo tiempo para respirar y y para colectar partículas de alimento. En la naturaleza, Artemia sp. consume detritus orgánicos y organismos vivientes deltamaño adecuado, principalmente bacterias y algas microscópicas.

#### 2.- Características de los quistes y su eclosión.

Como mecanismo de adaptación ecológica, Artemia sp. libera embriones enquistados que pueden resistir condiciones extremas del medio ambiente. Estos quistes presentan una cubierta sólida que impide el intercambio de iones con el medio y detiene el desarrollo en uno de los estados finales de la embriogénesis (gástru -la), produciendo un período de latencia, diapausa, o criptobiosis. Los quistes permanecerán en éste estado hasta que la salinidad -descienda a un valor por abajo del nivel umbral (85 °/o,), y será hasta entonces cuando se desarrolle una nueva generación de Artemia sp. (Persoone y Sorgeloos, 1979).

En el habitat de <u>Artemia</u> sp. esto ocurre sobre bases cíclicas o estacionales de lluvia y sequía de agua dulce en el biotopo.

Los quistes secos pueden soportar: deshidratación casi completa dejando solamente trazas de agua residual; temperaturas extremas por arriba de 105 100°C por más de una hora, y cercanas al cero absoluto; radiación; distorsión y daño mecánico; y solventes or gánicos como la acetona y otros (Heip, J., et. al., 1977).

Los quistes de Artemia sp., contienen considerables cantidades de carbohidratos, principalmente trihalosa que es la prin cipal fuente de energía para el desarrollo del embrión; Clegg -(1962) y Dutrieu (1960) (citados en: Ivleva, 1969), encontraron 17% de trihalosa en peso seco, ésta concentración cae cerca de cero en el tiempo de eclosión. La trihalosa en gran parte se -convierte en glicógeno y glicerol durante el desarrollo del hue vo. Un incremento en la salinidad del agua inhibe marcadamente la oxidación de la trihalosa y disminuye también la síntesis de glicógeno. Bajo una hidratación normal el glicerol se acumula entre el embrión y la cubierta externa del huevo, alcanzando un máximo en su concentración, justo antes de la eclosión. La acumulación del glicerol libre debajo de la cáscara incrementa la presión osmótica interna y los quistes empiezan a absorber agua. Esto crea condiciones favorables para el desarrollo del embrión y la ruptura de la cáscara. El efecto inhibitorio de la alta sa linidad sobre el desarrollo del quiste se debe a la lenta oxida ción de la trihalosa y la carencia de agua en el quiste (Ivleva, 1969).

Durante el desenquistamiento es posible diferenciar 2 esta dos: La emergencia inicial, rompiendo el cascarón y la eclosión final, saliendo del saco membranoso. El primero es un discreto proceso abortivo y una larva es considerada emergida si el ojo nauplio es aparente. La primera indicación de eclosión del saco es usualmente la proyección del primer par de antenas. Se consi

dera que una larva nauplio ha eclosionado cuando los dos primeros pares de apéndices se proyectan fuera del saco y son móviles (Jennings y Whitaker, 1941).

#### IMPORTANCIA EN ACUICULTURA.

Una de las principales ventajas de utilizar Artemia sp., es que se puede mantener en forma de quiste, un producto aparentemen te inerte. Se incuban en agua con cierta concentración de sales y más tarde eclosionan las larvas nauplio, listas para ser proporcio nadas como alimento vivo. Sus necesidades primordiales son fáciles de satisfacer en el laboratorio y no es complicado mantener un - cultivo durante tiempo indefinido. Esta ventaja permite seleccionar el tamaño de Artemia sp., desde larva hasta adulto, que se re quiera para alimentar a otros organismos en cultivo.

La producción de nauplios es un procedimiento muy simple:sin embargo cuando se trabaja a gran escala y con altas densidades de quistes, es muy importante la aplicación de técnicas apropiadas - para obtener la máxima eficiencia de eclosión y la mínima cantidad de quistes necesaria para producir un peso o número específico de nauplios de Artemia sp. (Sorgeloos, 1980). Se considera -- "Eficiencia de eclosión" al número de larvas nauplio que eclosionen a partir de un peso constante de producto incubado (Sorgeloos, et.al., 1978).

#### 1.- Cosecha de guistes.

Las técnicas de cosecha de quistes en condiciones naturales, consisten basicamente en la colecta, separación, lavado y secado de los mismos.

Dirigidos por el viento y las corrientes, los quistes flota $\underline{\underline{n}}$  tes son arrastrados a lo largo de las orillas de los cuerpos de -

agua, donde pueden permanecer largos períodos, hasta que son recogidos con cucharones y vaciados en bolsas. Durante éste período en
época de lluvias, los quistes pueden sufrir un ciclo de hidratación y deshidratación provocando una activación temporal en el metabolis mo del quiste.

Estudios relacionados con este punto revelan que el contenido energético de estos quistes decrece y que el tamaño de las larvas nauplio recién eclosionadas es significativamente reducido. En casos extremos de exposición a múltiples ciclos de hidratación-deshidratación, el contenido de energía de los quistes cae a niveles -- tan críticos que hace imposible la eclosión (Sorgeloos, 1976).

Cada cosecha frecuentemente está compuesta por quistes que - han sufrido diferentes períodos de hidratación-deshidratación en la playa, además de arena, plumas, sales, insectos y otras impurezas, lo que hace variar mucho la eficiencia de eclosión entre los lotes obtenidos.

Las quejas de los acuicultores sobre las significantes diferencias en la eficiencia de eclosión de un lote de quistes a otro puede ser explicado, al menos parcialmente, por la repetida activación-inactivación del metabolismo durante el período de procesa do, desde su colecta hasta su distribución (Sorgeloos, op.cit.), por lo que algunas marcas comerciales realizan estudios para mejo rar la eficiencia de eclosión.

2.- Condiciones para la eclosión.

Del estudio del efecto de varios factores fisicoquímicos sopre el proceso de eclosión, las condiciones más favorables han s $\underline{i}$  do definidas:

a) La temperatura, actúa activando los procesos metabólicos

del quiste. La eclosión se efectúa rapidamente y la eficiencia de eclosión se hace máxima a los 30°C (Sorgeloos, 1980).

Hentig (1971), midió el porcentaje de eclosión (número de - nauplios eclosionados por número de quistes incubados) en distintas combinaciones de salinidad y temperatura para los quistes de Utah, U.S.A., y observó un óptimo a 20°C y 32°/oo, aunque se aprecia en sus gráficas un porcentaje mayor en los dos primeros días a 30°C y 15°/oo.

A 5°/oo de salinidad la supervivencia de las larvas nauplio eclosionadas y su tolerancia al "stress" por la salinidad no se ven afectados. De hecho la larva puede tranferirse directamente a agua con más de 150°/oo sin sufrir daño alguno (Sorgeloos, 1980).

c) Los quistes de <u>Artemia sp.</u> pueden eclosionar en concentraciones tanbajas de oxígeno como 1.0 mg./l. (Sorgeloos, op.cit.).

En condiciones anaeróbicas, los quistes aún hidratados, no inician metabolismo de carbohidratos, esencial en el proceso de eclosión, debido principalmente a la falta de donadores de electrones que impiden la oxidación de la trihalosa (Heip, et.al.1977), por lo que es recomendable mantenerlos bajo una buena aireación para incrementar el oxígeno disuelto y aumentar el area de exposición al agua, ambas consideraciones asegurarán un buen porcentaje de eclosión (Sorgeloos, op.cit.).

- d) Uno de los factores clave para una exitosa eclosión a baja salinidad, es el pH del medio. Sato, 1977 (citado por Sorgeloos
  en 1980), demostró que la eclosión hasta el estado larval E-2 (embrión aún con membrana de eclosión presente), es disparada por una
  enzima; ésta es activa en el intervalo de pH que va de 7.5 a 9.0.
  En un medio con bajas concentraciones de sales y especialmente con
  altas concentraciones de quistes, la capacidad amortiguadora del
  medio debe incrementarse para mantener el pH superior a 7.5.
- e) "El desarrollo embriológico de los quistes hidratados que no son estimulados por la luz se retrasa hasta que se aplica un rayo luminoso" (Sorgeloos, 1973). La eficiencia de eclosión es considerablemente más alta bajo condiciones de luz que en la obscuridad. La cantidad de luz con la cual se asegura un máximo de eclosión es de aproximadamente 1000 lux. Esta intensidad se alcanza colocando un tubo de luz fluorescente de 60 Watts a 20 cm. del aparato incubador (op.cit.).

#### MATERIAL Y METODO.

1.- Obtención de las muestras.

La muestra de quistes de Bahia de Ceuta, Sin., se colectó en Junio de 1980 y la de Yavaros, Son. en Diciembre del mismo año, - directamente de las salinas por el personal técnico que labora en el centro de Acuacultura de la Secretaría de Pesca en Culiacán, - Sinaloa.

2.- Proceso de colecta.

Los quistes se colectaron en la playa mediante palas y se vaciaron en pequeños costales para su transporte al centro de procesado.

Los quistes se hicieron pasar a través de una serie de tami

ces de 200, 250 y 200 micras, colocados verticalmente en orden de creciente, con el tín de separarlos de las plumas, mudas de insectos, arena, sales y otras partículas, al mismo tiempo que se fueron lavando con agua dulce limpia. Esta separación y lavado duró-8 minutos aprox. Se recogieron en una polsa con malla de 100 micras. Enseguida se sometieron a un baño con permanganato de potasio al 0.1% durante 4 minutos. Se lavaron con agua dulce nuevamen te y se centrifugaron durante un minuto, para extraerles casi toda el agua y extendidos sobre una manta, se secaron al sol por un período de 4 hs.

#### 3.- Control.

Los quistes que se utilizaron como control, pertenecen a la marca comercial "Aquafauna" (serie No.501611). Este es un producto importado cuyos quistes provienen de Macau, Brasil y que a la fecha ha mostrado la más alta eficiencia de eclosión (Vanhaecke, et.al., 1981).

#### 4.- Diseño experimental.

Se realizaron un total de 8 experimentos con los quistes de cada cepa, cada uno con tres réplicas y con las combinaciones de las variables, tal como se muestra en el cuadro 1.

Para seleccionar los valores que se muestran en dicho cuadro, se tomaron en cuenta los factores que propician una mayor eclosión dentro de los 2 primeros días, tal como se mencionó en: Condiciones para la eclosión; así como las condiciones óptimas de eclosión para varias cepas de quistes (Vanhaecke y Sorgeloos, 1981) y aquellas que, bajo condiciones de clima cálido, suponen un manejo práctico.

5.- Preparación de las muestras experimentales.

CUADRO 1
Temperaturas de incubación para los experimentos.

CEPA DE	SALINIDAD (°/oo)							
QUISTES	5	15	25	35				
Yavaros	25°C	25°C	25°C	25°C				
	30°C	30°C	30°C	30°C				
Bahia de Ceuta	25°C	25°C	25°C	25°C				
	30°C	30°C	30°C	<b>30°</b> C				
Aquafauna	25°C	25°C	25°C	25°C				
	30°C	30°C	30°C	30°C				

Las muestras obtenidas se hicieron pasar a través de un tamiz de acero con malla de 150 micras, con el fin de deshacer pequeños cúmulos de quistes aún presentes en los lotes.

f 6.- Incubación de los quistes.

En este trabajo se considera incubación desde el momento en que los quistes son sumergidos en el agua hasta que finaliza el experimento (a las 60 hs.).

a) Se colocaron 0.5 g. de quistes en un frasco de incubación de un litro con 500 ml. de agua a la temperatura y a la salinidad indicada para cada experimento (cuadro I).

Los frascos de incubación fueron cilindros de vidrio con fondo cónico (figura 4).

Se colocó una tapa de caja de Petri a cada frasco para evitar pérdida de agua por evaporación.

b) Las variaciones en la salinidad del medio se obtuvieron di solviendo la cantidad de sal requerida (sal de mar, no yodada), - en un litro de agua hervida y filtrada. La concentración se comprobó con un refractómetro manual (American Optical d=0.5  $^{+}$  1.0%).



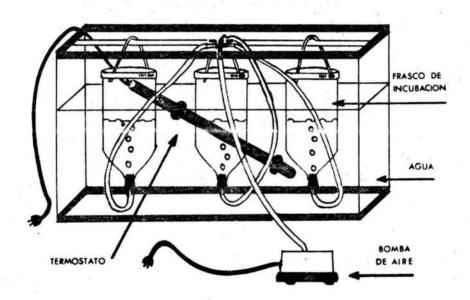


figura 4. SISTEMA DE INCUBACION

Se realizó un analisis del contenido iónico de la sal de mar utilizada para los experimentos, obteniéndose los siguientes resultados:

NaCl	0.2263 M
MgSO <sub>4</sub>	0.0005 M
MgCl <sub>2</sub>	0.0001 M
CaCl <sub>2</sub>	0.0021 M
KCl	0.2869 M
NaHCO3	0.0021 M
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.0002 M

El análisis se efectuó en el Depto. de Ingeniería Bioquímica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas de I.P.N..

- c) La temperatura se controló colocando los frascos en un bano de agua, conteniendo a su vez un termostato (EBO-J'A'GER de 100 Watts $^{\pm}$ 0.7°C).
- d) La aireación se aplicó desde el fondo de cada frasco con una bomba de aire para acuario de 115 V., (Falcon con 2 salidas) a razón de 0.82±0.07 l./min. por frasco.
- e) Los quistes se incubaron durante 60 hs. bajo iluminación constante, solar indirecta durante el día y con una lámpara fluorescente de 15 Watts a 20 cm. de distancia, durante la noche (figura 4).

#### 7.- Muestreo.

Las .muestras de cada experimento se tomaron a las 24, 36, 48 y 60 hs. a partir del momento en que se inició la incubación.

Cada muestreo consistió en tomar 5 muestras de 1.0 ml.cada una de cada frasco de eclosión, goteando cada muestra sobre una placa de vidrio para facilitar el recuento de las larvas, bajo un

microscopio estereoscópico (American Optical).

Se contó el número de nauplios eclosionados, los emergidos y los muertos, considerando a éstos como ya eclosionados.

Se midieron las variaciones del pH en cada uno de los frascos a cada tiempo, mediante un potenciómetro (Corning+0.05%) y se repuso el agua perdida por evaporación.

8.- Tratamiento de los datos.

Los datos de la eficiencia de eclosión fueron comparados a través de un ANOVA de 4 factores, modelo 1, con los efectos de - tratamiento fijos (Sokal y Rohif, 1981) y los valores de las 3 réplicas.

Se realizaron isopletas de la eficiencia de eclosión con la media aritmética de las 3 réplicas para cada temperatura (25 y 30°C), con cada cepa de quistes, incluyendo las 4 concentraciones de salinidad (5,15,25 y 35°/oo) y los 4 tiempos de muestreo.

Utilizando pruebas de 't' de Student, se compararon los valores máximos de eficiencia de eclosión entre las diferentes temperaturas, salinidades y tiempos obtenidos para cada cepa, para
ver si indican condiciones especiales para el manejo de los quis
tes de cada cepa.

La comparación de los valores máximos entre tiempos fué con secutiva, con el tin de definir si con mayor tiempo de incubación de los quistes, el aumento en la eficiencia de eclosión, es significativo.

Se compararon los valores máximos para la eficiencia de eclosión mediante pruebas de t de Student entre las diferentes ce
pas, con el fin de definir cuál cepa respondió mejor ante el método aplicado.

Se realizó un histograma de la eficiencia de eclosión rela-

tiva, con los valores máximos de eficiencia de eclosión para cada una de las cepas de quistes.

#### RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS.

Del total de experimentos realizados con los quistes de cada cepa se obtuvieron los datos que se muestran en el cuadro 2,
en el los valores para la eficiencia de eclosión están expresados
en miles de nauplios por gramo de quistes incubados. El valor de
cada celda representa la media aritmética de las 3 réplicas de ca
da experimento.

La variación del pH en los experimentos para cada cepa fué desde 7.69 hasta 8.01, sin alejarse del valor señalado como óptimo para la eclosión de altas densidades de quistes (Sorgeloos, - 1980), sin afectar de manera significativa la eficiencia de eclosión obtenida para los experimentos.

Con los valores del cuadro 2 se construyeron las figuras de la 5 a la 10, que representan el comportamiento de la eclosión - de los quistes de cada cepa bajo los distintos tratamientos. El análisis de tales gráficas se muestra a continuación para cada - cepa:

- 1.- YAVAROS (figuras 5 y 6).
- a) Efecto de la temperatura. Para los quistes de Yavaros, a 25°C se obtuvo una eficiencia de eclosión baja a las 24 hs. y ascendente en función del tiempo hasta las 48 hs.. A 30°C la eclosión se aceleró desde las 24 hs. no mostrando un aumento notable en los tiempos posteriores de muestreo.

La mayor eficiencia de eclosion fué a 30°C con 62,700 nauplios/g. y a 25°C con 60,900 nauplios/g..

b) Efecto de la salinidad. La eficiencia de eclosión aumen-

C U A D R O 2. Eficiencia de eclosión (nauplios/g).

El valor de cada celda representa la medida aritmética de las 3 réplicas de cada experimento en miles

		YAVAROS			BAHIA DE CEUTA			AQUAFAUNA (control)					
Ť (°C)	S (°∕∞)	24 Hs.	36 Hs.	48 Hs.	60 Hs.	· 24 Hs.	36 Hs.	48 Hs.	60 Hs.	24 Hs.	36 Hs.	48 Hs.	60 Hs
25	5	4.33	10.40	13.93	13,40	80. 47	128.87	158, 07	147.80	48.87	77.47	91.67	93.33
	15	3.73	13,13	19.60	22, 40	137.87	228.80	257.00	279. 53	127.07	171.00	189.67	199.47
	25	10.00	23, 60	27.80	30. 27	137.67	247.00	308.80	287.87	117.27	160.73	183.93	195, 20
	35	7.47	40. 47	60.93	59.00	100.07	274.78	306, 80	289.40	35.60	69.47	82. 87	87.13
30	5	9.60	18.80	19.40	17.33	17.80	33,60	41.67	41.27	88.07	108.00	108.67	108.80
	15	22.00	23. 73	23.40	23. 47	111.93	154.30	143.60	120.80	83.00	102.33	98. 87	100.60
	25	31.53	47.87	51.07	45.80	128.20	197.40	208.93	189.00	76.07	94.60	89.33	78.07
	35	40.60	57.73	62.73	59.60	183.13	252, 00	253.73	216.47	70.33	95.07	99.00	. 88.80

## **YAVAROS**

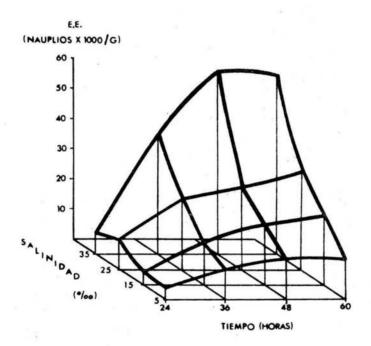


figura 5. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 25 °C.

## **YAVAROS**

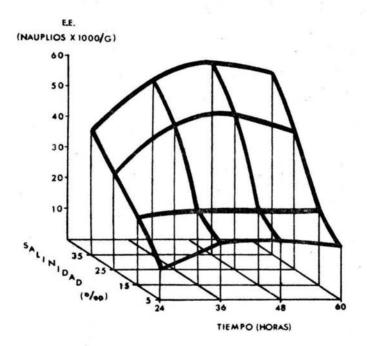


Figura 6. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 30 °€

to conforme aumento la salinidad opteniendose el mayor valor a 35°/oo con 62,700 nauplios/g. a 30°C.

En la mayoría de los muestreos se observaron nauplios de color blanco opaco, algunos nauplios desintegrados, un poco de bas<u>u</u> ra pesada como pequeñas partículas de arena y polvo, además de m<u>u</u> chos quistes sin eclosionar.

c) <u>Efecto del tiempo</u>. La eficiencia de eclosión aumentó en - función del tiempo hasta las 48 hs., después de éste tiempo no se notó un aumento significativo en la mayoría de los casos.

A las 60 hs. se observó un ligero enturbiamiento del cultivo bajo las 4 concentraciones de salinidad en ambas temperaturas debido principalmente a las larvas desintegradas, posiblemente — por el tiempo de incubación que permite que el vitelo sea consumido por los mismos nauplios y ante la falta de alimento adicional se ocasione muerte por inanición de las larvas más desarrolla das.

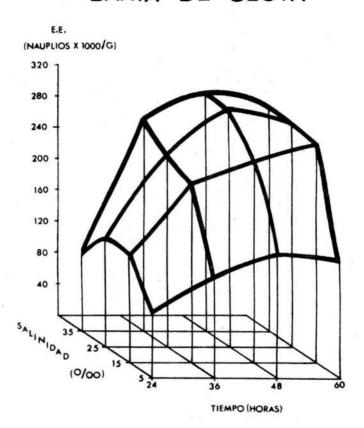
El valor máximo se obtuvo a las 48 hs. y 35°/oo de salinidad con 62,700 nauplios/g..

- 2.- BAHIA DE CEUTA (figuras 7 y 8).
- a) Efecto de la temperatura. Los resultados a 25°C fueron más satisfactorios que a 30°C; y al igual que los quistes de Yava ros, los valores de eficiencia de eclosión fueron mayores a las 24 hs.. Tal parece que la mayoría de las larvas que van a eclosión nar, emergen desde las 24 hs. ya que posteriormente no se observa un notable aumento en la eficiencia de eclosión.

La mayor eficiencia de eclosión se obtuvo a los 25°C con - 308,800 nauplios/g. y a 30°C con 253,700 nauplios/g.

Al igual que con los quistes de Yavaros, los nauplios fue-

# BAHIA DE CEUTA



7. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 25 °C.

### BAHIA DE CEUTA

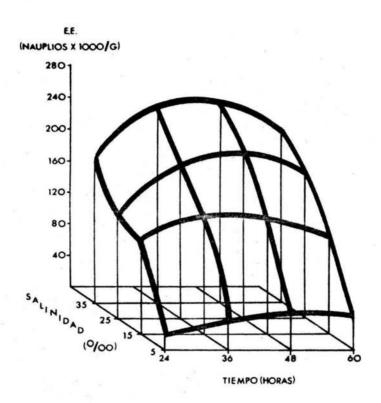


figura 8. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 30 °C.

ron más activos durante todos los experimentos a 25°C.

b) <u>Efecto de la salinidad</u>. La eficiencia de eclosión aumentó conforme aumentó la salinidad. El máximo valor alcanzado fué a 25°/°, con 308,800 nauplios/g. Contrario a los resultados obtenidos para yavaros.

En general se apreciaron los cultivos limpios, las larvas - muy activas con un color rojo brillante, principalmente en los experimentos a 25°C.

c) <u>Efecto del tiempo</u>. La eficiencia de eclosión fué aumentando en función del tiempo en forma notable bajo las 4 diferentes concentraciones de sal, siendo máxima a las 48 hs., y continuó aumentando ligeramente hasta las 60 hs. en 15°/°, de salinidad.

Se obtuvo una eclosión ascendente hasta las 48 hs. a  $30^{\circ}\text{C}$  - en 5, 25 y  $35^{\circ}/_{\circ\circ}$ , después de éste tiempo, decrece ligeramente. La mejor eficiencia se obtuvo a las 36 hs. a  $15^{\circ}/_{\circ\circ}$  de salini-dad.

El valor máximo de eficiencia de eclosión fué a las 48 hs.-con 308,800 nauplios/g. a  $25^{\circ}$ C y  $25^{\circ}$ / $_{\circ}$ .

- 3.- AQUAFAUNA (Figuras 9 y 10).
- a) Efecto de la temperatura. A 25°C la eficiencia de eclosión aumentó en función del tiempo más notablemente que a 30°C continuando éste aumento hasta las 60 hs., alcanzando valores de hasta 199,470 nauplios/g.. En contraste, a 30°C se obtienen 4 curvas muy similares que no evidencian diferencias notorias en la eficiencia de eclosión entre ellas y tampoco en tiempos sucesivos. Este resultado no fué causado por efecto directo de la temperatura, ya que a 25°C se obtuvieron 2 curvas (a 5 y --35°/oo de salinidad) tan bajas como las 4 curvas obtenidas para 30°C.

# **AQUAFAUNA**

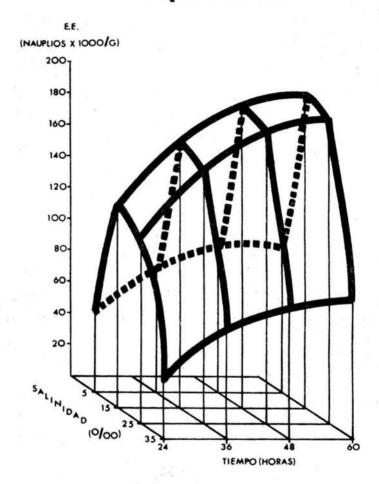


figura 9. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 25°C.

### AQUAFAUNA

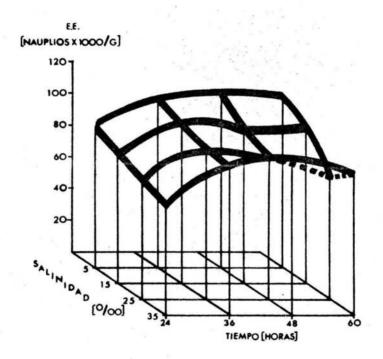


figura 10. EFICIENCIA DE ECLOSION DE QUISTES A 30°C.

A 30°C la mayor eficiencia fué de 108,800 nauplios/g.

b) Efecto de la salinidad. Con estos quistes se observó un - comportamiento contrario al de Yavaros y de Banía de Ceuta, la eficiencia de eclosión aumentó conforme disminuyó la salinidad de 25 a 15°/oo. A 5 y 35°/oo también se observa igual comportamiento, - aún cuando los valores hayan sido bajos. A 30°C todas las curvas muestran un comportamiento semejante.

En general las muestras tomadas durante los experimentos con quistes de Aquafauna, se observaron limpias y las larvas nauplio activas.

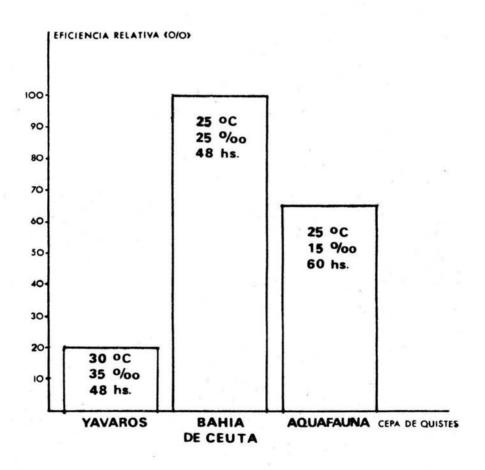
c) Efecto del tiempo. A las 24 hs., bajo las distintas concentraciones de salinidad, eclosionaron por lo menos el 50% de la
máxima eficiencia de eclosión lograda bajo cada tratamiento, a las
36 hs. hubo un 80%, a las 48 hs. el 95% y se alcanzó un 100 a las
60 hs.. Estos resultados obtenidos a 25°C indican que la eficiencia de eclosión continuó aumentando hasta las 60 hs., siendo a es
te tiempo cuando se obtuvieron los valores más altos en comparación con otros tiempos.

El valor máximo de eficiencia de eclosión (199,500 nauplios/ g.) se obtuvo a las 60 hs. con 15°/oo de salinidad.

Bajo 30°C las mayores eficiencias se obtienen en menor tiem po; a las 24 hs. eclosionó el 80% de la máxima eficiencia obtenida y a las 36 hs. en la mayoría de los casos eclosionó el 100%, es en este tiempo cuando se obtienen los valores máximos de eficiencia de eclosión.

A 5°/oo el aumento después de las 36 hs. es mínimo, ya que en éste momento ya eclosionó el 99%. Después de 36 hs., para las otras salinidades, se registraron porcentajes menores, que vienen

## fig.11 VALORES MAXIMOS DE EFICIENCIA DE ECLOSION RELATIVA PARA CADA CEPA.



a representar la muerte y desintegración de aquellas larvas que eclosionaron primero.

Resumiendo, en el caso de Aquafauna, a 25 y 30°C, se observan diferencias entre los valores obtenidos para la eficiencia de eclosión, sin una clara y aparente relación. Además de las observaciones anotadas es conveniente considerar la fecha en la cuál se realizaron los experimentos, ya que este factor parece coincidir con los resultados. Las 2 curvas que muestran la mayor eficiencia de eclosión a 25°C se realizaron en Junio de 1981. Las restantes, hechas en Dicimbre del mismo año (con los menores valores obtenidos), y los 4 experimentos a 30°C hechos en el mes de Noviembre de 1981, mostraron una baja considerable; lo que hace pensar en que esté involucrado un proceso de envejecimiento o una mala conservación de los quistes.

En la posibilidad de "envejecimiento", se tuvieron experien cias colaterales con éstos quistes, provenientes de 2 lotes seria dos (No. 501611 y 501612), adquiridos al mismo tiempo pero que - fueron utilizados en distintas fechas. La eficiencia de eclosión disminuyó considerablemente en los quistes del lote que se utilizó con posterioridad, a pesar de haberse mantenido en las mismas condiciones que cuando fueron adquiridos.

#### ANALISIS ESTADISTICO DE DATOS.

Con el fin de detectar alguna diferencia significativa entre la totalidad de los datos obtenidos (mostrados en el cuadro 2), se realizó un ANOVA con los 4 factores: Cepa, tiempo, salinidad y temperatura. Los resultados se muestran en el anexo 1.

A partir de los valores de F obtenidos y partiendo de la hipotesis de que el evento de ser semejantes suceda, se desprende

que el efecto de la temperatura, la salinidad, el tiempo y el tipo de cepa sobre la eficiencia de eclosión, es independiente y -- significativa con un 95% de confianza, consecuentemente, las interacciones entre 2 factores como cepa-tiempo, cepa-salinidad, etc. que vienen a ser las interacciones de primer orden, son independientes. Asimismo las interacciones de segundo y tercer orden (entre 3 y 4 factores respectivamente).

Tomando en cuenta que los valores máximos nos representan -las mejores condiciones para la eclosión de los quistes, éstos se
extrajeron del cuadro 2 para ser comparados mediante pruebas de t
y definir si estos valores indican condiciones especiales para la
eclosión de los quistes de cada cepa; los valores extraídos se -muestran en el anexo 2.

De las pruebas de trealizadas con los datos del anexo 2, se obtuvieron los valores que se muestran en el anexo 3, del análisis de estos datos se tiene:

1.- YAVAROS. Para estos quistes no hubo diferencia significativa entre los tratamientos bajo las 2 temperaturas (25 y 30°C). De esto se infiere que es indistinto trabajar con una u otra temperatura para la eclosión de los quistes de Yavaros; pero tomando en cuenta las observaciones hechas durante los cultivos experimentales, acerca de la movilidad y vitalidad de las larvas, cabe señalar que fueron mayores para aquellas larvas eclosionadas a -- 25°C que a 30°C por lo que es más conveniente trabajar a 25°C la eclosión de estos quistes.

Con respecto a la salinidad, el aumento en la eficiencia de eclosión que se observa al aumentar la concentración de sal es -- poco notable, principalmente entre 5 y 15°/oo de salinidad, en don

de no hubo diferencia significativa. En ambos experimentos no se observó gran actividad de las larvas nauplio.

Haciendo referencia al tiempo, se tuvo un aumento significativo de las 24 a las 36 hs. en la eficiencia de eclosión, no así en tiempos posteriores, ya que aún cuando hubo un ligero aumento éste no fué significativo. Los valores más altos se obtuvieron a 30°C y en menor tiempo, lo que comprueba para el caso de Yavaros, que la temperatura acelera el proceso de eclosión, no aumentando significativamente la eficiencia de eclosión.

2.- BAHIA DE CEUTA. La temperatura si tuvo un efecto significativo en estos quistes, obteniéndose mejores resultados bajo 25°C. Este efecto se muestra en el anexo 3 con una t=4.21.

Con respecto a la salinidad, los resultados del anexo 3 - - muestran que si hubo diferencia significativa entre 5 y 15°/oo,- entre 5 y 25°/oo y entre 5 y 35°/oo de salinidad, pero no entre las restantes. Los valores de t obtenidos para las parejas antes mencionadas son: 9.88, 10.52 y 42.64 respectivamente.

El aumento de la eficiencia de eclosión en función del tiem po fué significativo hasta las 48 hs. de iniciada la incubación, a 25°C y 25°/oo, como se observó en el cuadro 2, condiciones bajo las cuales se obtuvo el valor máximo; por el contrario, a las 60 hs. se observa una ligera disminución de la eficiencia de ecclosión. Esta disminución se observó en la mayoría de los experimentos, ya que de acuerdo con los resultados, más del 90% de lar vas ya eclosionó a las 48 hs. y el aumento a partir de este tiem po hasta el siguiente no es significativo. Este periodo, más que permitir un aumento, provoca la muerte por inanición de las larvas que eclosionaron primero.

3.- AQUAFAUNA. Los valores mā ximos obtenidos en función de la temperatura sí mostraron una diferencia significativa (t=8.42) y evidencian una mejor eficiencia de eclosión a 25°C.

La significancia de las diferencias de los valores máximos de eficiencia de eclosión entre salinidades, fué notable entre 5 y  $15^{\circ}/oo$  con una t=16.84 y entre 5 y  $25^{\circ}/oo$  con una t=9.43. Para las determinaciones entre 5 y  $35^{\circ}/oo$  y entre 15 y  $25^{\circ}/oo$  no hubo diferencia significativa, ya que alcanzaron un valor de t=1.04 y t=0.95 por abajo del valor teórico de  $t_{(0.05, 4)}=2.78$ . La obtención de estos resultados confirman las observaciones anotadas en el capítulo de resultados, acerca del proceso de "envejecimiento" o de la mala conservacioón de las cepas.

El aumento de los valores para la eficiencia de eclosión en función del tiempo fué significativo, de las 24 a las 36 hs. con una t=3.72 y de las 36 a las 48 hs. con una t=3.07 para los experimentos a 25°C y 15°/oo de salinidad. Aún cuando el dato de eficiencia de eclosión a las 60 hs. (anexo 2) muestra un ligero aumento, éste no es significativo (t=1.82) ya que un 95% del total de larvas eclosionadas, se logro desde las 48 hs.

Básicamente los resultados nos sugieren que:

A.- La temperatura afectó la tasa de eclosión (lapso desde la incubación hasta la producción de nauplios) acelerándola, pero no aumentando la eficiencia de eclosión, ya que se alcanzaron valores semejantes de máxima eficiencia de eclosión en ambas temperaturas (25 y 30°C) principalmente con las cepas de Yavaros y Bahía de Ceuta. En el caso de "Aquafauna" y considerando los resultados obtenidos, la temperatura de 25°C favoreció la eficien

ciencia de eclosión.

B.- Con respecto a la salinidad, Sorgeloos (1980) menciona que entre más baja sea la salinidad (cercana a 5°/oo) mayor es - la eficiencia de eclosión. Los quistes de Yavaros y Bahía de Ceuta, de acuerdo con los resultados del presente trabajo, no se ajustan a tal patrón, siendo estos opuestos de manera significativa, es decir, la eficiencia de eclosión en términos generales au menta conforme aumenta la salinidad.

Se observó un patrón de comportamiento similar con los quistes de Yavaros y Bahía de Ceuta frente a la variable salinidad, quizá debido a su origen biogeográfico cercano..

Así, el análisis de las posibles causas de éstos resultados puede abordarse desde distintos aspectos:

1) Considerando el aspecto energético del metabolismo de -los quistes, Clegg (1974) demostró que la emergencia de embrio-nes se observó solamente en aquellas poblaciones de quistes, los
cuales mostraron una disminución en trihalosa y aun aumento subsecuente en glicógeno y glicerol. Esto sugiere que el metabolismo de carbohidratos está relacionado con la emergencia, principal
mente el glicerol.

La concentración de glicógeno y glicerol aumenta en función del tiempo de hidratación (en agua de mar natural), mientras que la concentración de trihalosa disminuye. Clegg (1964) sugiere -- que la mayor parte de trihalosa metabolizada es convertida en -- glicógeno y glicerol y el resto es oxidada.

Aparentemente el glicógeno se almacena como la principal -fuente de energía después de la eclosión, antes de que la alimen
tación de la larva nauplio se inicie (Clegg. 1965).

Cuando los quistes se incuban a mayores salinidades (es decir a presiones osmóticas del medio, más altas), disminuye la tas sa metabólica de carbohidratos y el tiempo desde la hidratación hasta la ruptura, se incrementa progresivamente. Clegg (1964) explica que inicialmente esto resulta de una deficiencia dentro -- del quiste.

Durante la incubación, el glicerol se acumula debajo de la cáscara en cantidades suficientes para incrementar la presión os mótica interna hasta el punto de romper la cáscara y liberar la larva.

Se demostró que a una presión osmótica incrementada, hay -una estimulación de la síntesis neta de glicerol, la cuál es una
indicación de que el glicerol libre puede jugar el papel de vencer la diferencia de presión osmótica entre el interior del quis
te y el medio ambiente. Cuando la presión osmótica del medio se
aproxima a 65 atm. (más o menos igual a 115°/ooS) no ocurre desa
rrollo adicional ni metabolismo de carbohidratos (Clegg, 1964, 1965).

Huggins y Boulton (1970) (citados en Benijts, et.al.1979),observaron diferencias importantes en el metabolismo de trihalosa de quistes de 2 diferentes localidades geográficas.

Esto nos lleva a pensar que la salinidad empleada estimuló la síntesis de glicerol, causando a su vez la ruptura de la cáscara, lo que resulta en una eficiencia de eclosión incrementada, en las dos cepas mexicanas.

Considerando al control utilizado (quistes de Aquafauna) és te es adecuado, debido a que se corrobora el que la eficiencia de eclosión aumente al disminuir la salinidad, aún cuando los valores de eficiencia de eclosión obtenidos hayan sido bajos. Pero

el necho de que ésto no haya ocurrido también con los quistes de las cepas mexicanas (Yavaros y Bahía de Ceuta) aún cuando fueron sometidos a las mismas condiciones, hace suponer que, además de lo mencionado en el párrafo anterior, existen algunas diferen-cias a nivel de cepas y que la respuesta obtenida es diferente por diferencias muy particulares de cada una de ellas.

- Tomando en cuenta las diferencias a nivel de cepas, éstas pueden ser debidas a:
- a.- El historial reproductivo de las hembras. Con respecto a este punto, es conveniente mencionar que la producción de quistes por parte de la hembra puede ser por reproducción sexual oparte nogenética y que ninguna diferencia en tiempo se requiere para ambas posibilidades. Esto sugiere que aunque el desarrollo de los quistes se detiene en gástrula, muchas modificaciones ocurren antes de que estos sean liberados por la hembra. Una de esas modificaciones es la formación de una cáscara impermeable -- compleja,, (Heip, J. et.al., 1977).

Se sabe que una cantidad extra de hemoglobina es sintetizada por las hembras como resultado de bajos contenidos de oxígeno en el medio (Gilchrist, 1954. citado en Decleir y Vos, 1977).

Dutrieu (1960) combina la formación de quistes a bajas concentraciones de oxígeno con la ocurrencia de la hemoglobina y -- Sorgeloos (1975) (ambos citados en Decleir y Vos, 1977) extiende este concepto a la "Teoría de la reproducción controlada por el oxígeno", la cual ofrece una explicación ecológica a la reproducción alternada.

Aún cuando la alta salinidad, con la consecuente baja concentración de oxígeno, favorezca la producción de quistes, muchos otros factores están involucrados, tales como: La edad del animal, la densidad de la población y la cantidad de alimento -- (Heip, et.al., 177).

b.- Tiempo de colecta de quistes, La colecta de quistes para la realización de éste trabajo se nizo en condiciones naturales, es decir, se recogieron de las salinas de Bahía de Ceuta y de Yavaros en donde los quistes pudieron haber estado sujetos a varios periodos de hidratación y deshidratación, provocando una caída en su contenido energético, dificultando la eclosión (Sorgeloos, 1976). Este hecho probablemente influyó en las significantes diferencias en la eficiencia de eclosión entre las cepas de Yavaros y Bahía de Ceuta, no así para los quistes de Aquafauna en el cual un proceso de envejecimiento o mala conservación de los quistes puede estar implicado.

Por todo lo anterior, se propone el realizar un estudio acer ca de la constitución y grosor de la cáscara de las cepas mexica nas con el fin de esclarecer si el aumento en la eficiencia de e closión en las cepas mexicanas por aumento en la salinidad, está dada por un proceso osmótico o por presentar su cáscara un menor grosor.

Se propone que al trabajar con quistes de cualquier cepa, el tiempo que se planteé para la experimentación sea el más corto - posible para evitar bajas en la eficiencia de eclosión por mala conservación de los quistes. Así una vez abierta la "lata", es - recomendable consumirla lo más pronto posible para evitar pérdidas por bajas en la eficiencia de eclosión, ya que aún cuando se conserven a baja temperatura, su viabilidad baja.

Es necesario conservar a los quistes a baja temperatura, pe

ro además con bajo contenido de agua (menor de 0.1g H<sub>2</sub>O por gramo de peso seco de quistes) y sin oxígeno para suprimir el metabolismo (Clegg y Conte, 1980).

#### CONCLUSIONES.

- 1.- La temperatura afectó la tasa de eclosión acelerándola, pero no aumentando la eficiencia de eclosión en las 3 cepas trabajadas (Yavaros, Bahía de Ceuta y Aquafauna), siendo la mejor la de 25°C.
- 2.- La mejor concentración salina para la eclosión de quistes de Yavaros y Bahía de Ceuta fué de 35º/oo y para los quistes de "aquafauna" de 15º/oo.
- 3.- La concentración de salinidad empleada, estimuló la sín tesis de glicerol, obteniendose una eficiencia de eclosión incrementada para las cepas de Yavaros y Bahía de Ceuta.
- 4.- Bajo las concentraciones de salinidad y temperatura con sideradas (5, 15, 25 y 35°/00 y 25 y 30°C respectivamente), el mejor tiempo para cosecha de nauplios fué a las 48 hs. para los quistes de las 3 cepas.
- 5.- La máxima eficiencia de eclosión se obtuvo con los quistes de Bahía de Ceuta a 25°C con 25°/00 de salinidad y a las 48 hs. con un valor de 308 800 nauplios/g. de quistes incubados.
- 6.- El lote de quistes de Bahía de Ceuta tuvo significativamente una mayor eficiencia de eclosión sobre el lote de quistes de "Aquafauna" y éste sobre el de Yavaros.

La importancia de estimar la eficiencia de eclosión de cepas mexicanas estriba en el conocimiento de la potencialidad de un recurso nacional.

Un lote de quistes puede considerarse bueno si sus valores de eficiencia de eclosión fluctúan entre 200 000 y 300 000 nauplios / g. de quistes.

La máxima eficiencia se obtuvo con el lote de quistes de Bahía de Ceuta (308.800 nauplios / g. de quistes), que se ubica por encima del valor máximo del intervalo antes mencionado.

Los máximos valores de eficiencia de eclosión logrados para los lotes de quistes de Yavaros y "Aquafaund" (62 730 y 199 470 nau plios respectivamente) quedan fuera de tal intervalo, pero es necesario realizar experimentos con diferentes lotes de cada cepa, principalmente con los de Yavaros, para estimar si la baja eficiencia obtenida es característica del lote con el cuál se trabajó o es característica propia de la cepa.

Nuevamente es necesario mencionar que la demanda de quistes ha excedido a la oferta, debido no a la escaséz propiamente del recurso, sino más bien a la falta de técnicas apropiadas para la cosecha, limpieza, conservación y óptima utilización de los quistes.

ANEXO 1. Análisis de varianza para una variable dependiente.
A, cepa; B, tiempo; C, salinidad; D, temperatura;
O, réplicas.

!			MINO ERROR	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F	PROB.	CUADRADOS MEDIO ESPERADOS
1	MEDIA	C	)	3116630.59	1	3116630. 594	7384.03	.0001	288(1) + 96(6)
2	Λ	A	0	1052568.47	2	526284, 237	732.74	.0000	96(2) + 92(13)
3	B	8	0	118770.40	3	39590.134	296.94	.0000	72(3) + 24(14)
4	C	C	O	173766.85	3	59588.950	114.66	.0000	72(4) + 24(15)
5	D	Γ	00	55894.96	1	55894.961	283.32	.0035	144(5) + 48(16)
6	0			844.15	2	422.077			96(6)
7	AB	A	BO	49296, 63	6	8216.106	126.90	.0000	24(7) + 8(21)
8	ΛC	Λ	CO	220476, 91	6	36746.151	187.36	.0000	24(8) + 8(22)
9	BC	В	CO	11701.55	9	1300.172	23.84	.0000	18(9) + 6(23)
0	AD	A	DO	77364.08	2 3 3	38682, 041	144.08	.0002	48(10)+ 16(24)
1	BD	В	DO *	32228.19	3	10742.730	450.06	.0000	36(11) + 12(25)
2	CD	C	DO	36599.20	3	12199.735	78.69	.0000	36(12 + 12(26))
3	AO			2872.98	4.	718. 244			32(13)
1	BO			799.97	6	133, 329			24(14)
5	CO			3118.08	6	519,680			24(15)
6	DO			394.57	2	197. 286			48(16)
7	ABC	F	BCO	11378.50	18	632.139	9.74	.0000	6(17) + 2(23)
R	ABD	P	BDO	15484.21	6	2580, 702	74.01	.0000	12(18) + 4(29)
9	ACD	A	CDO	49818.93	5	8303.154	159.55	.0000	12(19) + 4(30)
0	BCD	В	CDO	4058.20	9	450.911	7.89	.0001	9(20) + 3(31)
1	ABO			776.95	12	64.746			8(21)
2	ACO			2353, 29	12	195.108			8(22)
3	BCO			981.50	18	54.528			6(23)
4	ADO	~		1073. 90	4	268.475			16(24)
5	BDO			143.22	6	23.870			12(25)
6	CDO			930.20	6	155.033			12(26)
.7	ABCD	P	BCDO	4999.50	18	277.750	6.40	.0000	3(27) + (32)
28	ABCO			2336.79	36	64.911			2(28)
9	ABDO			418.41	. 12	34.867			4(29)
0	ACDO			624.51	12	52,043			4(30)
31	BCDO			1028.09	18	57.116			3(31)
32	ABCDG			1562.48	36	43.402			(32)

ANEXO 2. Valores máximos de eficiencia de eclosión (nauplios/g.).

Los datos se presentan en miles con ± la desviación estandar.

	YAVAROS	BAHIA DE CEUTA	AQUAFAUNA
TEMPERATURA			
A 25°C	$60.93 + 1.22$ (35 % $\frac{9}{00}$ , 48 Hs.)	308.80 ± 13.65 (25 %oo, 48 Hs.)	199.47 ± 7.68 (15 %oo, 60 Hs)
A 30°C	$62.73 \pm 5.49$ (35°/ $\infty$ , 48 Hs.)	253.73 ± 18.06 (35 %00, 48 Hs.)	$108.80 \pm 5.29$ (5 %, 60 Hs.)
SALINIDAD			
A 5 %00	19.40 + 2.42	158.07 + 4.88	108.80 + 5.29
	(30°C, 48 Hs.)	(25°C, 48 Hs.)	(30°C, 760 Hs.)
A 15 %00	23.73 + 3.01	279.53+20.72	199.47 + 7.68
	(30°C, 36 Hs.)	(25°C,760 Hs.)	(25°C, 60 Hs.)
A 25 %oo	51.07 + 1.40	308.80 + 13.65	195.20 + 15.86
	(30°C, 48 Hs.)	(25°C, 48 Hs.)	(25°C, 60 Hs.)
A 35 %00	62.73 + 5.49	306.80 + 3.56	99.00 ± 15.37
	(30°C, 48 Hs.)	(25°C, 48 Hs.)	(30°C, 48 Hs.)
TIEMPO			
24 Hs.	40.60 ± 4.85	183.13 + 3.84	127.07 + 8.74
	(30°C, 35°/00)	(30°C, 35°/00)	(25°C, T5°/00)
36 Hs.	57.73 ± 6.24	274.78 + 15.32	171.00 + 5.30
	(30°C, 35 %00)	(25°C, 35°/00)	(25°C, 15°/00)
48 Hs.	62.73 + 5.49	308.80 + 13.65	189.67 + 11.41
	(30°C, 35°/00)	(25°C, 25°/00)	(25°C, T5°/00)
60 Hs.	59.60 + 1.00	287.87 + 14.09	199.47 + 7.68
	(30°C, 35°/00)	(25°C, 25°/00)	(25°C, T5°/00)

ANEXO 3. Significancia de las diferencias de los valores máximos de eficiencia de eclosión; entre temperaturas, salinidades y tiempos, para cada cepa con 4 grados de libertad y 95% de confianza.

СОМР	ARACION	YAVAROS	BAHIA DE CEUTA	AQUAFAUNA	
Entre	25 y 30°C	0.55	4.21 *	8.42 *	
Entre	5 y 15°/∞	1.94	9.88 *	16.84 *	
	5 y 25°/∞	19.57 *	10.52 *	9.43 *	
	5 y 35°/∞	12.50 *	42.64 *	1.04	
	15 y 25°/∞	14.26 *	2.04	0.95	
	15 y 35°/∞	10.78 *	2.25	10.13 *	
	25 y 35°/∞	3.56 *	0.25	10.79 *	
Entre	24 y 36 Hs.	3.75 *	10.06 *	3.72 *	
	36 y 48 Hs.	1.04	2.87 *	3.07 *	
	48 y 60 Hs.	0.97	1.85	1.82	

<sup>\*</sup>Existe diferencia significativa.

### LITERATURA CITADA

- 1) BENIJTS. F.. G. VANDEPUTTE AND P. SORGELOOS, 1977. Energetic aspects of the metabolism of hidrated Artemia cysts. In fundamental and applied research on the brine shrimp Artemia salina (L.) in belgium. European mariculture society special publication, No. 2, Jaspers. E. and Persdone G. Eds. Int. for mar. scient. research, Bredene, Belgium 1977, 1979.
- 2) CASTRO, T. (1980) Distribución geográfica e importancia de --"Artemia" en México y evaluación de la población en el sur de la Bahía de Ceuta, Sinaloa, México. Reporte de investigación No. 6 U.A.M. Xochimilco, Div. de Ciencias Biológicas y de la Salud. México, D.F. 18 p.
- 3) CASTRO, T. y C. Gallardo, 1985. <u>Artemia sp.</u> en investigación y docencia. Cua dernos 2 CBS. Univ. Aut. Me-tropolitana, Xochimilco, Div. de Ciencias Bio lógicas y de la Salud. México, D.F. 43 p.
- 4) CLEGG. J.S. 1964. The control of emergence and metabolism by external osmotic pressure and the role of -free glycerol in developing cysts of <u>Artemia</u> <u>salina</u>. J. exp. Biol., 41:879-892.

5) CLEGG. J.S. 1965, The Origin of Trehalose and its significance during the formation of encysted dormant em-bryos of <u>Artemia salina</u>.

Comp. Biochem. Physiol., 14: 135-143

- 6) CLEGG, J.S. 1974. Biochemical adaptations associated with the

  embryonic dormancy of <u>Artemia salina</u>

  Trans. Amer. Micros. Soc., 93(4): 481-490
- 7) CLEGG, J.S. and F. P. Conte. 1980. A review of the cellular and developmental biology of <u>Artemia</u>. In the
  brine shrimp <u>Artemia</u>. 1980. Vol. 2. Physiology, Biochemistry, Molecular Biology. G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels, and E. Jaspers
  (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. -664 p.
- 8) Decleir, W. and J. Vos. 1977. Some aspects of respiration in <a href="Artemia salina">Artemia salina</a> L. In fundamental and applied research on the brine shrimp <a href="Artemia salina">Artemia salina</a> (L.) in <a href="Belgium">Belgium</a>. European mariculture society special publication, No. 2, Jaspers. E. and Persone G. Eds. Int. for mar. scient. re- -- search, Bredene, Belgium 1977. 1979.
- 9) HEIP, J.; DE CHAFFOY, D.; METTRIE R.; MOENS, L.; SLEGERS, H.;

  SWEMMEN, L.; VAN BROEKHOVEN. A. and KONDO, M.

  (1977) Biochemical aspects of developmet of 
  the brine shrimp <u>Artemia salina</u> (L.): 19-32.

  Fundamental and applied research on the brine

  shrimp Artemia salina (L.) in Belgium. 110 p.

- 10) HENTIG, R. von (1971) Influencia de la salinidad y la temperatura en el desarrollo, crecimiento, reproducción y balance energético de <u>Artemia salina</u>.
  Spring-Verlag. Hamburg. Germany (FRG) Trad. Ehnis D.E.: 124 p.
- 11) IVLEVA. I.V. (1969) Branchiopoda; 62-95 Mass cultivation of invertebrates. Biology and Methods. Acad. Sci of the USSR All-Union Hydrobiological Society Izdatel' stvo "Nauka" Moskva. Translated in -English by "Israel Program for Scientific ---Translations". Jerusalem 1973: 148 p.
- 12) JENNINGS, R.H. and D.M. WHITAKER (1941) The effect of saling ty upon the rate of excystment of Artemia. Biol. Bull. 80(2) 194-201
- 13) PERSONE G. AND P. SORGELOOS (1979) General aspects of the --Ecology and Biogeography of <u>Artemia</u>. Lecture presented of the International I Simposium on the Brine Shrimp, <u>Artemia salina</u>, L. Corpus -Christy Texas. U.S.A. August 20-23, 1979.27p.
- 14) PONTES, A.; M.M.D. SILVE, C.G. SANTILLAN, (1977)

  Desarrollo y aprovechamiento de algunos crustáceos en el Ex-Lago de Texcoco, II Congreso

  Nacional de Ingeniería Bioquímica. 15-18 Nov.

  Sosa Texcoco. México, D.F. 9 p.
- 15) RASCON, M.A.D. y E.R.A. BELTRAN (1979) Biología de <u>Artemia</u> <u>salina</u>. (Tesis) Universidad de Sonora, Esc. de Ciencias Químicas. Hermosillo Sonora (México) 32 p.

- SASSO, Y.L.F. (1974) Cultivo intensivo de <u>Artemia</u> <u>salina</u> (Leach)
  su importancia y aplicación en acuicultura, (Tesis) U.N.A.M. México, D.F. 65 P.
- 17) SOKAL, R.R. and F.J. ROHLF, (1981) Biometry. 2a. Ed. Edit. Freeman and Company. San francisco E.U.A.
- 18) SORGELOOS, P. (1973) First report on the triggering effect of light on the hatching mechanism of <u>Artemia</u> salina dry cyst. Marine Biology: 22, 75-76
- 19) SORGELOOS, P. (1976) The brine shrimp <u>Artemia salina</u>. A bo-ttleneck in mariculture, FAO Technical Conference on Aquaculture on Kyoto, Japon. 9 p.
- 20) SORGELOOS, P. (1976) Ocurrence of Artemia in nature and its morphological development from nauplius to -- adult: 1-7 Fundamental and applied research on the brine shrimp Artemia salina (L.) in -- Belgium EMS Special Publication No. 2. Ed. -- Jaspers, E. Institute for Marine Scientific Research, Bredene (Belgium). 110 p.
- 21) SORGELOOS, P.; G. PERSOONE,; M. BAEZA-MESA,; E. BOSSUYT,; E. BRUGGEMAN, (1978) The use of <u>Artemia</u> cysts in acuaculture: The concept of "hat ching efficiency" and description of a new method for cyst processing: 715-721. In: Proc. 9th. Ann Meeting of the WMS. Ed. Avault. J.
- 22) SORGELOOS, P. (1980) The use of the brine shrimp Artemia salina in aquaculture. 42 p. The brine shrimp -Artemia. Vol. 3. Ecology, Culturing. Use in -Aquaculture. Eds. Persoone. G.; Sorgeloos. P. Roels, O.A.; Jaspers, E. Universa Press. Wetteren (Belgium).

- 23) SO RGELOOS, P.; E. BOSSUYT; P. LAVENS; P. LEGER; P. VANHAECKE
  and D. VERSICHELE (1981) The use of brine shrimp Artemia in crustacean hatcheries and nurseries. In hand book "Shrimp farming" in press. 46 p.
- 24) VANHAECKE, P.; SORGELOOS, P. (1981) International Study on 
  Artemia. XIX. Hatching date on 10 commercial sources of brine shrimp cyst and re-evalua- 
  tion of the "hatching efficiency" concept.

  Paper presented at the WMS technical sessions, Seattle (WA-USA). March 8-10. 13 p.

bh9/