

128
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

"SOBREVIVENCIA DE LA ARTEMIA FRANSISCANA,
KELLOG, SIN ALIMENTACION EN DIFERENTES
TEMPERATURAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
BIOLOGO

PRESENTA:
ROBERTO MUÑOS CRUZ

MEXICO, D.F.

1994.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN





Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron el pasante(s) ROBERTO MUÑOZ CRUZ

con número de cuenta 8428121-6 con el Título: Sobrevivencia de Artemia Franciscana, Kellog, sin alimentación en diferentes temperaturas.

Otorgamos nuestro Voto Aprobatorio y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de Lic. en Biología

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
Dr.	Federico Alberto	Abreu Grobois	
Director de Tesis	Alberto de Jesús	Sánchez Martínez	
M. en C.	Jorge Luis	Hernández Aguilera	
M. en C.	Rosa Estela	Toral Almazán	
Suplente	M. en C. Ruth Cecilia	Vanegas Pérez	
Suplente			

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. F. Alberto Abreu Grobois, por la excelente dirección y estimulación para la realización del presente trabajo.

Al laboratorio de Bioquímica Marina de la estación Mazatlán del ICMYL-UNAM, por las facilidades y recursos para llevar a cabo este trabajo.

Al Dr. Alberto Sánchez Martínez, M. en C. Jorge Luis Hernández Aguilera, M. en C. Rosa Estela Toral Almazán y M. en C. Ruth Cecilia Vanegas Pérez, por la revisión del presente trabajo.

La realización de este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de Flavia, la mujer que siempre ha estado a mi lado.

**Encontrarás el gozo de tu tiempo, cuando tus actos alcancen la honestidad de tus palabras.
(a la memoria de Victor Manuel)**

INDICE

	PAG
1.- RESUMEN	1
2.- INTRODUCCION	2
3.- OBJETIVOS	5
4.- HIPOTESIS	6
5.- MATERIALES Y METODOS	7
5.1 Bioensayo 1: Supervivencia de nauplios eclosionados y adultos cultivados en laboratorio	7
5.1.1 Técnica para la eclosión de nauplios	7
5.1.2 Separación de nauplios recién eclosionados	7
5.1.3 Conteo y preparación de réplicas de tratamiento para nauplios	8
5.1.4 Obtención de adultos en laboratorio	9
5.1.5 Separación de adultos y preparación de tratamientos	9
5.1.6 Diseño experimental	9
5.1.7 Evaluación de la supervivencia para nauplio y adultos	10
5.2 Bioensayo 2 : Supervivencia de nauplios decapsulados y adultos silvestres	11
5.2.1 Técnica para la decapsulación de nauplios	11
5.2.2 Obtención de adultos silvestres	12
5.2.3 Separación de adultos silvestres y preparación de réplicas de tratamiento	12
5.2.4 Diseño experimental	13
5.2.5 Variación de pH durante el almacenaje	13
5.2.6 Variación de talla final en el almacenaje de adultos silvestres	13
5.3 Bioensayo 3 : Supervivencia de nauplios decapsulados en distintas salinidades	14
5.4 Análisis estadístico	15
5.4.1 Supervivencia calculada de nauplios decapsulados y adultos silvestres	15

6.- RESULTADOS	17
6.1 Bioensayo 1 : Supervivencia de nauplios eclosionados y adultos cultivados en laboratorio	17
6.2 Bioensayo 2 : Supervivencia de nauplios obtenidos por decapsulación y adultos silvestres	19
6.2.1 Influencia del sexo en la supervivencia	22
6.2.2 Variación de pH	23
6.2.3 Variación de talla final	24
6.3 Bioensayo 3 : Supervivencia de Nauplios en diferentes salinidades	25
6.4 Supervivencia calculada en nauplios decapsulados y adultos silvestres	27
7.- DISCUSION	31
7.1 Almacenaje de nauplios y adultos en diferentes temperaturas	31
7.2 Variación de la calidad de <i>Artemia</i> como alimento vivo durante el almacenaje	33
7.3 Supervivencia calculada para nauplios obtenidos por decapsulación y adultos silvestres.	34
7.4 Supervivencia de nauplios y adultos de <i>Artemia</i> en medios con presencia/ausencia de agitación	35
7.5 Influencia del sexo en la supervivencia de <i>Artemia</i>	35
7.6 Variación de talla en adultos de <i>Artemia</i> durante el almacenaje	36
7.7 Variación de pH en el almacenaje de <i>Artemia</i>	36
7.8 Efecto de la salinidad en la supervivencia de nauplios y adultos	37
8.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	38
9.- ANEXOS	40
9.1 Clasificación sistemática de <i>Artemia</i>	40
9.2 Biología y ciclo de vida	40
10.- BIBLIOGRAFIA	42

INDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRAFICAS.

	PAG
FIG. 1	8
FIG. 2	10
FIG. 3	12
FIG. 4	14
TABLA I	17
TABLA II	18
TABLA III	19
TABLA IV	20
TABLA V	21
TABLA VI	22
TABLA VII	22
TABLA VIII	23
TABLA IX	23
TABLA X	24
TABLA XI	24
TABLA XII	25
TABLA XIII	25
TABLA XIV	27
TABLA XV	28
TABLA XVI	28
FIG. 5	18
FIG. 6	20
FIG. 7	21
FIG. 8	25
FIG. 9	26
FIG. 10	29
FIG. 11	30
FIG. 12	41

1.- RESUMEN

En este trabajo se evaluó principalmente el efecto de la temperatura en la sobrevivencia de nauplios y adultos de *Artemia franciscana* bajo condiciones de almacenaje comercial simuladas en laboratorio. Los resultados muestran que en el caso de los nauplios provenientes de la cepa Utah, su máxima sobrevivencia se obtiene en temperaturas de 4 y 12°C para tiempos de 24, 48, 72 y 96 horas, conservando las características físicas de un alimento vivo óptimo (escaso desarrollo, color naranja y movilidad). En el caso de los adultos la capacidad de respuesta a las distintas temperaturas fue variable, lo cual se atribuye a factores como: régimen de alimentación u origen geográfico de la cepa, ya que los provenientes de la cepa Utah en un medio con una salinidad de 36 ‰ alcanzan su máxima sobrevivencia en una temperatura de 4°C, mientras a los de la cepa Ceuta en un medio con salinidad de 86 ‰ sobreviven mejor en una temperatura de 12°C. El efecto en la sobrevivencia de nauplios y adultos *Artemia* de otros factores analizados parece ser mínimo, tal es el caso de la agitación del medio, su pH y salinidad, así como el sexo en el caso de los adultos. Un análisis comparativo, a través de una ecuación polinomial, del efecto de los factores temperatura y tiempo en la sobrevivencia de nauplios provenientes de la cepa Utah y adultos de la cepa Ceuta, mostró que en los nauplios el efecto del tiempo de almacenaje fue menor, mientras que en los adultos el efecto de este factor fue mayor; en el caso de la temperatura, los nauplios resisten un intervalo menor en comparación de los adultos. En base a nuestras observaciones y en la información bibliográfica, se recomienda en el almacenaje el empleo de temperaturas comprendidas entre 4 y 12°C para nauplios provenientes de Utah (región templada) por periodos de hasta 72 horas, mientras que en adultos, la recomendación para una temperatura y tiempo de almacenaje para una cepa en específico dependerán de la región de origen y de su estado de alimentación.

2.- INTRODUCCION.

El uso de *Artemia* como una fuente de alimento vivo para larvas de peces está documentado en los trabajos que Seale y Rollesfen publicaron en 1933 y 1939 respectivamente; la demanda comercial de este organismo durante los años sesenta motivó el desarrollo de una línea de investigación enfocada a implementar técnicas para optimizar su empleo en instalaciones de acuicultura. Sin embargo, el conocimiento y potencialidad del uso de *Artemia* que han generado estas investigaciones resultan ser muy teóricos todavía y sin una aplicación directa o comercializada a las prácticas de cultivo, permaneciendo ajenos a la gente relacionada con la acuicultura (Sorgeloos *et al*, 1986).

La comercialización de quistes de *Artemia* en cualquier parte del mundo y la facilidad de las técnicas (hidratación y decapsulación) para obtener nauplios a partir de éstos, permite a las granjas donde se cultivan larvas de peces y crustáceos disponer de una fuente práctica de alimento vivo en forma de nauplio; éste se recomienda en acuicultura ya que cubre la mayoría de los requerimientos de macro y micronutrientes para larvas de peces y crustáceos, garantizando mejoras en su tasa de crecimiento y sobrevivencia, además de presentar buena perceptibilidad, palatabilidad y fácil captura (Barnabé, 1991; Sorgeloos, 1979; Torrentera y Tacon, 1989).

En contraste con el uso común de nauplios de *Artemia* como alimento vivo, la utilización de *Artemia* juvenil y adulta se limitaba a pruebas de cultivo, debido a su restringida disponibilidad comercial y a su alto precio. En los últimos años países como China, Filipinas y Tailandia cultivan este organismo de manera extensiva y semi intensiva en zonas donde se produce sal comercial, obteniendo una producción controlada de quistes y *Artemia* adulta. La planeación y construcción de estos centros de producción se lleva a cabo en sitios cercanos a granjas de camarón que emplean *Artemia* adulta para alimentar los primeros estadios larvales (Abelin, 1991).

El valor nutricional de los nauplios de *Artemia* como un alimento vivo reside principalmente en su contenido de ácidos grasos, mismos que varían en relación al origen geográfico de la cepa. Las cepas de *Artemia* que contienen ácidos grasos 20:5-22:6W3 se utilizan para el cultivo de organismos marinos y las que contienen ácidos grasos 18:2-18:3W3 para alimentar larvas de peces dulceacuícolas. La deficiencia nutricional que presentan algunas cepas de *Artemia* puede disminuirse suministrando una dieta enriquecida en su contenido lipídico, ya que estos organismos poseen una capacidad limitada para la biosíntesis de ácidos grasos. Por su parte,

el contenido proteico de *Artemia* es similar entre cepas de diferente origen geográfico, sin embargo, el incremento de sus niveles y de amino ácidos esenciales dependerá de la etapa de desarrollo del organismo, constituyendo el 47% del peso seco en nauplios y el 60% en adultos. El contenido de minerales en las distintas cepas presenta una variabilidad relativa, la cual se atribuye a los diferentes métodos de medición. El nivel de vitaminas (niacina, piridoxina, y riboflavina) en *Artemia* es ligeramente menor al requerido para alimentar peces de agua fría (Legèr *et al*, 1986; Sorgeloos, 1979; Watanabe *etal*, 1983)

Una de las principales limitantes para la explotación de *Artemia* en sistemas de cultivo, es la carencia de técnicas adecuadas de almacenaje y transporte que preserven su calidad nutritiva como un alimento vivo. La práctica generalizada de almacenar nauplios en una temperatura mayor a 25°C sin suministrar alimento y aireación produce una elevada mortalidad en pocas horas, debido a que los organismos satisfacen sus requerimientos energéticos a través del catabolismo de sus propias reservas proteicas (Abelin, 1991); en oposición a estos resultados, Claus *et al.* (1979) obtuvieron mortalidades mínimas después de almacenar nauplios durante 48 horas en condiciones similares, disminuyendo 2.5% el peso seco de los nauplios, así como los niveles de carbohidratos y lípidos (Sorgeloos *et al*, 1983; Sorgeloos, 1991).

El uso de temperaturas de refrigeración (0 a 4°C) para preservar nauplios de *Artemia* por períodos de 48 horas, en densidades de 100 a 500, 2000 o 15000 por ml, garantiza su calidad nutritiva y una viabilidad del 90% cuando se transfieren a tanques de cultivo con una temperatura del agua de 25°C. El empleo de bajas temperaturas retarda el crecimiento del primer estadio naupliar, evita la pérdida del contenido energético y facilita la digestión y captura por parte del depredador (Sorgeloos *et al*, 1983; 1991; Léger *et al.*, 1986; Vanhaecke *et al*, 1983). La técnica anterior permite a las granjas maximizar el cultivo de *Artemia*, cosechando diariamente y evitando el manejo de grandes volúmenes de agua (Sorgeloos, 1991). En los sitios donde se cosechan juveniles y adultos de *Artemia*, Sorgeloos *et al* (1986) recomiendan colocar 1Kg/2lt., en peso húmedo, con una temperatura del agua entre 10 y 15°C, mientras que Abelin (1991) sugiere almacenar 100 grs de *Artemia* adulta (peso húmedo) por cada litro de agua, utilizando una temperatura de 12 a 15 °C y un tiempo de 72 horas bajo condiciones controladas de laboratorio.

Las técnicas de preservación más recientes, tales como liofilización, refrigeración ráfaga, en seco y con rocío, resultan inconvenientes ya que son muy costosas para pequeños centros de producción y no garantizan la calidad nutritiva del alimento vivo (Abelin, 1991).

Para transportar nauplios o estadios más desarrollados de *Artemia* se recomienda empaclar densidades de 100 g/l (peso húmedo) en bolsas de plástico, conteniendo éstas una tercera parte de agua marina enfriada (5-10°C) y el resto con oxígeno inyectado; una vez que la bolsa se ha llenado, se sujeta la boca con elástico y se coloca en cajas isotermas con hielo; de esta manera se

ha obtenido una sobrevivencia del 90% después de 24 horas de almacenamiento (Sorgeloos *et al*, 1986).

Por lo expuesto anteriormente se entiende que existe la necesidad de un mayor conocimiento de los requerimientos de temperatura y tiempo de almacenamiento que garanticen una sobrevivencia óptima de *Artemia*, bajo condiciones similares a las que se utilizan en el transporte y almacenaje comercial. Dicha información permitiría recomendar modificaciones a las prácticas más comunes sobre el manejo de *Artemia* que se realizan en acuicultura, que permitan inclusive reducción de gastos.

3.- OBJETIVOS.

-Cuantificar la sobrevivencia de nauplios y adultos de *Artemia franciscana* bajo almacenaje y sin alimento durante 120 horas.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Evaluar el efecto de la temperatura en la sobrevivencia de nauplios y adultos de *Artemia franciscana*.
- Conocer la influencia de la agitación del medio (concentración de oxígeno disuelto) en la sobrevivencia de *Artemia franciscana*.
- Comparar la sobrevivencia de nauplios de *Artemia franciscana* en dos salinidades (36 y 86 ‰).
- Estimar la influencia del sexo en la sobrevivencia de *Artemia franciscana* adulta.

4.- HIPOTESIS

- a) Dado que la temperatura es uno de los principales factores que regulan y controlan el metabolismo de organismos acuáticos, entre ellos los susceptibles de cultivo, éstos deberán sobrevivir más tiempo cuando se exponen en las temperaturas inferiores de su intervalo de tolerancia, en comparación con el tiempo de sobrevivencia que se obtendría al exponerlos en las temperaturas superiores de este intervalo.
- b) Al poseer los nauplios de *Artemia* recién eclosionados un elevado contenido de reservas energéticas, estos deberán sobrevivir más tiempo en comparación a los adultos, cuando ambos estadios son almacenados en medios con parámetros físico químicos óptimos.
- c) Si en el almacenaje y transporte de *Artemia* la agitación del medio (concentración de oxígeno disuelto) garantiza una mayor sobrevivencia, entonces al prescindir de ésta se obtendría una mayor mortalidad.
- d) Dado que la *Artemia* sobrevive en medios naturales donde la salinidad llega a registrar las 70 ‰, entonces el almacenaje en medios con diferente salinidad no deberá afectar su sobrevivencia.
- e) Al presentarse en los adultos de *Artemia* un notable dimorfismo sexual, éstos podrán presentar una capacidad de respuesta diferencial, cuando se almacenan en idénticas condiciones.

5.- MATERIALES Y METODOS .

5.1. Bioensayo 1 : Supervivencia de nauplios eclosionados y adultos cultivados en laboratorio.

5.1.1. Técnica para la eclosión de nauplios.

Los nauplios de *Artemia franciscana* utilizados en este trabajo se obtuvieron a partir de quistes secos de la cepa del Gran Lago Salado (UTAH, E.U.A.) marca Freepack, para lo cual se siguió la técnica de eclosión propuesta por Sorgeloos *et al.* (1980), la cual consiste en colocar 1 gr de quistes en 200 ml de agua marina, previamente filtrada en una malla con luz de 0.45 micras y esterilizada en autoclave a 15 psi durante 15 minutos. Para fomentar la sincronía de eclosión, los quistes se hidrataron durante 12 horas a una temperatura de 4°C; la concentración de quistes a eclosionar se estableció en relación con la que se utiliza en granjas donde se aprovecha *Artemia*, que es de 5 g/l de agua. Para asegurar una eclosión eficiente se controlaron los siguientes parámetros físico químicos:

TEMPERATURA: se mantuvo en un intervalo de 25 a 30°C, ya que una temperatura menor o mayor retarda la eclosión de los nauplios.

AIREACION: se obtuvo con una bomba para acuario, con la salida de aire al fondo del recipiente; la forma cónica de éste, permitió una distribución más homogénea del aire, manteniendo en suspensión a los quistes y evitando así su acumulación en el fondo.

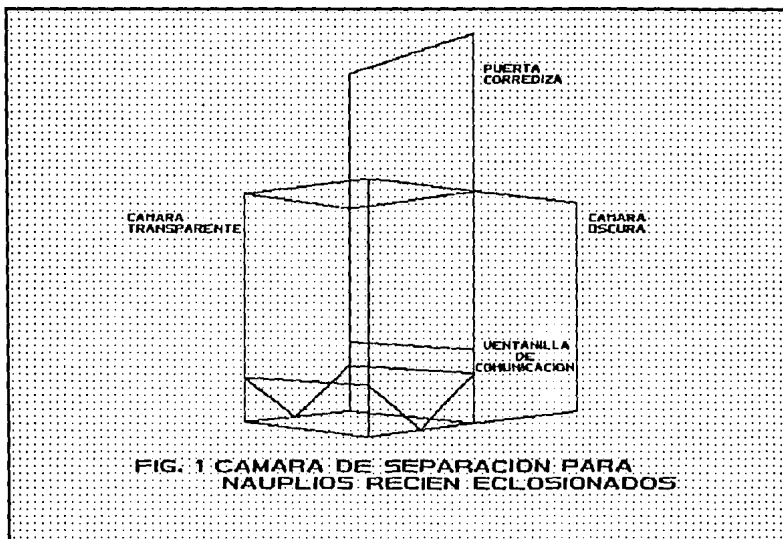
SALINIDAD: se utilizó agua marina con salinidad de 36 ‰, previamente filtrada y esterilizada.

ILUMINACION: se mantuvo una fuente de iluminación (foco de 75 W) constante durante las 24 horas de duración del proceso.

5.1.2. Separación de nauplios recién eclosionados.

Para separar los nauplios recién eclosionados de cascarones vacíos, quistes que no alcanzaron a eclosionar adecuadamente y basuras, se diseñó una caja de separación (20 x 10 x 25 cm) fabricada en cristal (figura 1), la cual se compone por una cámara oscura y una cámara transparente comunicadas a través de una ventanilla tipo guillotina; para facilitar la extracción de los nauplios, el fondo de ambas cámaras se construyó en forma de V. El contenido del recipiente

donde se eclosionaron los nauplios se colocó en la cámara oscura, dejándose reposar durante 10 minutos para que los restos de quistes vacíos, nauplios sin capacidad natatoria y basuras se depositaran en el fondo; posteriormente se abrió la ventanilla y se colocó por fuera de la cámara transparente una fuente de luz intensa para que los nauplios, debido a su fototáctismo positivo, migraran hacia ésta. Una vez que en la cámara oscura el número de nauplios sin migrar fue mínimo, se cerró la ventanilla y se extrajeron por sifón los nauplios contenidos en la cámara transparente.



5.1.3. Cuento y preparación de réplicas de tratamiento para nauplios.

Los nauplios separados se colocaron junto con 200 ml de agua en un recipiente de fondo cónico y se suministró aireación desde el fondo para distribuirlos de manera homogénea en el medio. Para realizar el conteo de los nauplios se extrajeron 10 muestras de 1 ml con una micro pipeta automática; cada muestra de 1 ml se dividió en alícuotas de 0.1 ml que se colocaron en una caja petri; para facilitar el conteo los organismos se fijaron con lugol y se utilizó un microscopio estereoscópico. El número promedio de nauplios que se obtuvo en 1 ml fue de 810 ± 18.5 .

Las réplicas de tratamiento se prepararon colocando 1 ml del recipiente que contenía a los nauplios junto con 9 ml de agua en bolsas de plástico con fondo en forma de V, lo cual facilitó la

extracción del volumen de agua con nauplios al finalizar cada prueba experimental; por lo tanto, cada réplica tuvo 81 nauplios por ml en promedio. El volumen de agua ocupó una tercera parte del volumen total y las dos terceras partes restantes se llenaron con aire inyectado, utilizando para ésto una bomba de acuario. La relación volumen de agua:aire se basó en la utilizada para el transporte comercial de *Artemia* (Sorgeloos *et al.*, 1986).

5.1.4. Obtención de adultos en laboratorio.

Con la técnica antes descrita, a partir de quistes secos se obtuvieron nauplios mismos que se colocaron en un acuario de 30 lts. con fondo en forma de V, empleando agua marina con una salinidad de 36 ‰ previamente filtrada y esterilizada, la cual se recambió cada vez que el medio se enturbiaba. La temperatura del cultivo se mantuvo en 25°C aproximadamente, la aireación se proporcionó desde el fondo del acuario, manteniendo así a los organismos en suspensión y aumentando la probabilidad de que encontrarán alimento, mismo que se suministró a las 36 horas de la eclosión, empleando para ello micro algas (*Dunaliella tertiolecta*) cultivadas en laboratorio y suministradas a saciedad (*ad libitum*).

5.1.5. Separación de adultos y preparación de réplicas de tratamiento.

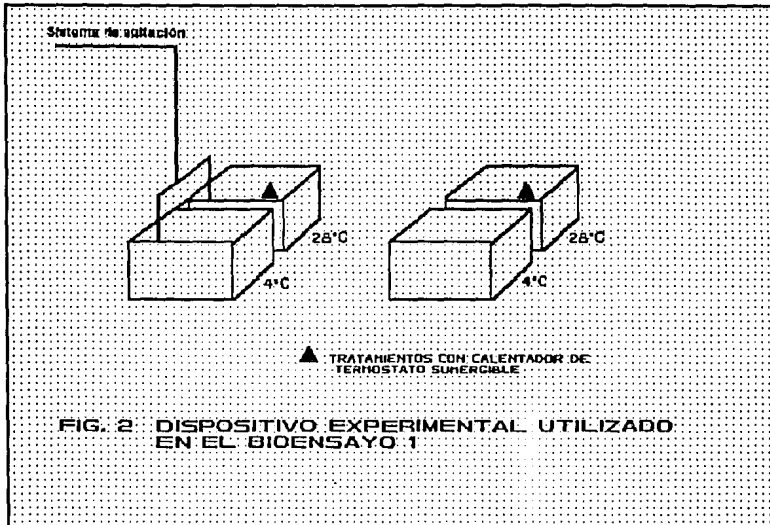
Una vez obtenidos los adultos en el laboratorio, las réplicas de tratamiento se realizaron colocando en bolsas de plástico 20 organismos junto con 20 ml de agua salina (36 ‰), previamente filtrada y esterilizada.

De la misma manera que al empacar nauplios, el volumen de agua que contenía a los adultos ocupó la tercera parte de la bolsa y las dos terceras partes restantes se llenaron con aire.

5.1.6. Diseño experimental.

El diseño experimental se realizó colocando los tratamientos en bloque completamente aleatorio (figura 2), éstos fueron resultado de la combinación de tres factores: etapa de desarrollo (nauplios y adultos), temperatura (4°C y 28°C) y presencia ó ausencia de agitación (condiciones designadas a lo largo del trabajo como A: agitación y E: medio estático). El número de réplicas de tratamiento en las que se evaluó la sobrevivencia en cada período de almacenaje (24 ,48 ,72 ,96 y 120 horas), fue de 3. La comparación estadística posterior se realizó únicamente entre los tratamientos analizados en un mismo período de almacenaje.

El control de las temperaturas experimentales se logró colocando recipientes con agua dentro de un cuarto con temperatura controlada a 4°C; para la temperatura de 28°C se utilizó un calentador de inmersión gradual. El movimiento del volumen de agua se logró aireando desde el fondo del recipiente.



5.1.7. Evaluación de la sobrevivencia para nauplios y adultos.

Para evaluar la sobrevivencia de los nauplios, cada 24 horas se analizaron tres réplicas de cada tratamiento, para lo cual se transfirió el contenido de cada réplica en un tubo de ensayo; previa agitación de cada tubo, se tomaron tres muestras de 1 ml con ayuda de una micro pipeta automática; para facilitar el conteo de los nauplios cada muestra se subdividió en alícuotas de 0.1 ml vivos y se empleó un microscopio estereoscópico. El porcentaje de sobrevivencia de cada muestra se calculó con base en la relación número inicial (81 nauplios)-número final de nauplios vivos y se obtuvo el promedio de las tres muestras de cada réplica. La sobrevivencia de los nauplios en cada tratamiento por efecto de los diferentes tiempos de almacenaje, se calculó promediando los porcentajes de las tres réplicas.

El cálculo de la sobrevivencia para cada réplica se resume en la siguiente ecuación.

$$\text{SOBREVIVENCIA} = \text{Ni} - \text{Er}/3$$

Ni= número inicial de nauplios en un ml.

Er= promedio de nauplios vivos en 3 muestras de 1 ml.

En el caso de los adultos, para calcular la sobrevivencia se consideró al total de organismos, determinándose su valor en base a la relación número inicial-número final de organismos vivos de cada réplica.

5.2. Bioensayo 2 : Sobrevivencia de nauplios decapsulados y adultos silvestres.

5.2.1 Técnica para la decapsulación de nauplios.

Los quistes de *Artemia franciscana* a decapsular se obtuvieron de la misma fuente de los quistes del Bioensayo 1. La técnica de decapsulación que se utilizó fue la sugerida por Sorgeloos *et al* (1986), la cual consiste en hidratar durante dos horas 1 gr de quistes, los cuales se colocan en un recipiente de fondo cónico con 200 ml de agua de agua marina con salinidad de 36‰ y aireación ligera. Luego de comprobarse con observaciones continuas al microscopio su hidratación (forma esférica), se filtraron en una malla y se colocaron en la solución decapsuladora: 7.14 ml de blanqueador comercial (5% de cloro activo) con 6.53 ml de agua destilada y 0.33 ml de hidróxido de sodio al 40%. Para mantener esta solución en circulación y hacer más eficiente su acción sobre todos los quistes, se utilizó un agitador magnético y se realizaron observaciones continuas al microscopio. Una vez que se comprobó que la mayor parte de los quistes estuvieran decapsulados (coloración anaranjada) se procedió a neutralizar la acción del cloro adicionando una solución de ácido acético al 40%; después de 10 segundos se enjuagaron con agua dulce.

Los parámetros físico químicos en la eclosión, la separación, preparación de réplicas de tratamiento y el conteo de nauplios se hicieron de la misma manera que en el bioensayo 1. El número de nauplios por ml que se obtuvo en este bioensayo fue 1250 ± 11.4 .

5.2.2. Obtención de adultos silvestres.

La colecta de adultos de *Artemia* silvestre se realizó en las salinas de Bahía de Ceuta, Sinaloa (figura 3), para lo cual se utilizó una red de cuchara de doble copo, con una abertura de malla de 0.5 mm en el copo interior y de 1 mm en el copo exterior. Este dispositivo permite seleccionar en el copo interno a organismos con tallas adultas y en el externo a organismos de tallas menores (juveniles y metanauplios). Los organismos capturados se traspasaron a cubetas con agua de las salinas con una concentración de 86 ‰ de salinidad. Para el transporte al laboratorio se agregaron bolsas selladas con hielo dentro de las cubetas con el objetivo de reducir la temperatura y así disminuir la actividad de los organismos. Durante el traslado se oxigenó el agua utilizando una bomba de aire de 12 voltios DC.

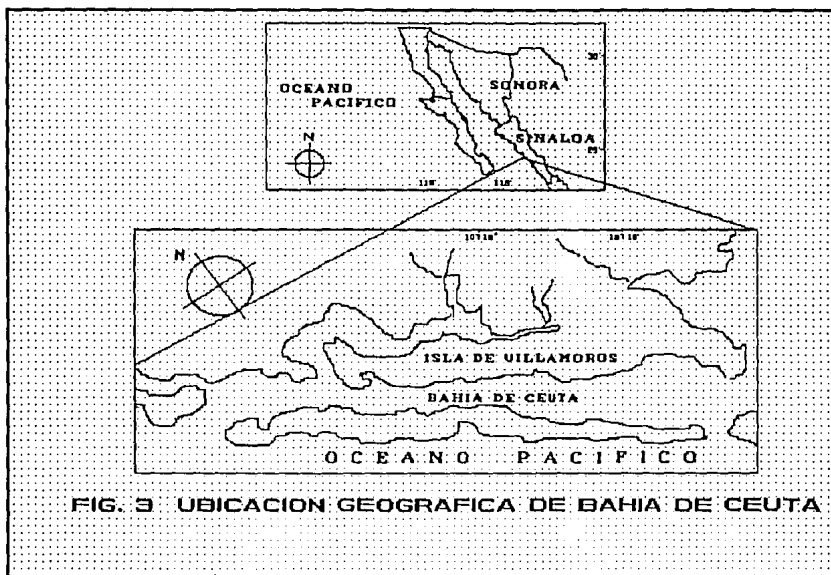


FIG. 3 UBICACION GEOGRAFICA DE BAHIA DE CEUTA

5.2.3. Separación de adultos silvestres y preparación de réplicas de tratamiento.

En el laboratorio, los adultos silvestres se separaron por sexo para poder evaluar de manera aislada el efecto de la temperatura en su sobrevivencia. Una vez separados los adultos en recipientes de 700 ml se calculó el número promedio de hembras y machos que se podía extraer en alicuotas de 2.5 ml, el cual fue de 13 ± 1.5 hembras y 16 ± 1.8 machos. Para la preparación de

réplicas de tratamiento, se tomó una alícuota de 2.5 ml de cada recipiente y se colocaron dentro de una bolsa de plástico, agregándose 24 ml de agua de la salina (previamente filtrada) para finalmente tener en cada réplica 29 adultos (13 hembras y 16 machos) en 29 mls de agua.

La relación volumen de agua-aire en las réplicas de tratamiento, se basó conforme a la utilizada para el transporte comercial de las *Artemias*.

5.2.4. Diseño experimental.

Como resultado de diferencias considerables observadas entre los tratamientos del bioensayo 1, en relación a la temperatura, se decidió en este segundo bioensayo utilizar 4, 12, 20 y 28°C como temperaturas experimentales, aunadas a la presencia o ausencia de agitación, resultando así 8 tratamientos para cada etapa de desarrollo (nauplios y adultos), mismos que se colocaron aleatoriamente en un bloque (fig 4). El número de réplicas por cada tratamiento, en las que se evaluó la sobrevivencia para los períodos analizados (24, 48, 72, 96 y 120 horas) fue de 3. La comparación estadística de los resultados de sobrevivencia, se llevo a cabo únicamente entre los tratamientos expuestos a un mismo período de almacenaje.

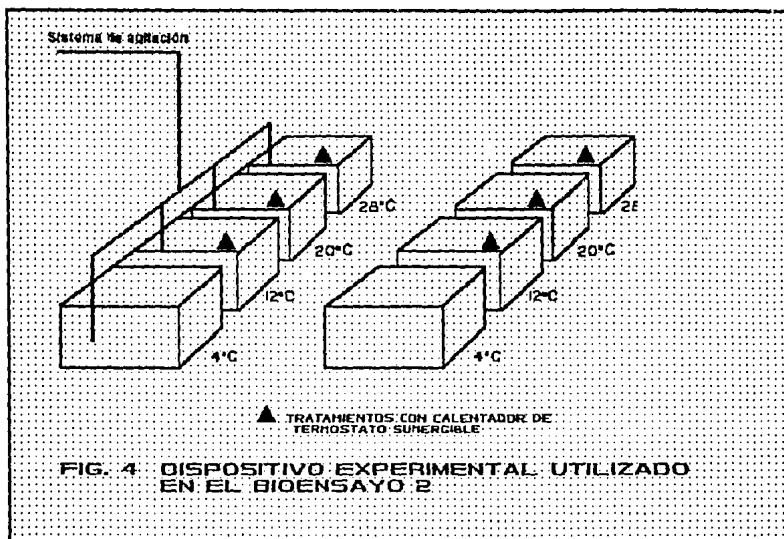
La temperatura de los tratamientos, el método de agitación, así como el procedimiento para evaluar la sobrevivencia de nauplios y adultos en este segundo bioensayo, se realizaron de la misma manera que en el primer bioensayo.

5.2.5. Variaciones del pH durante el almacenaje.

Con la finalidad de conocer los cambios que se produjeron en el medio conforme aumentó el tiempo de almacenaje, se midió el pH en cada réplica de tratamiento, utilizándose para ésto un potenciómetro.

5.2.6. Variación de talla final durante el almacenaje de adultos silvestres.

Con la idea de observar un posible crecimiento de los adultos silvestres, se midió la longitud de los organismos de cada tratamiento en el último período de almacenaje de cada tratamiento. Utilizando para ésto una cámara clara adaptada a un microscopio estereoscópico, con el que se trazó la línea media de los organismos sobre un papel a una escala conocida. Las tallas se obtuvieron midiendo los trazos con un digitalizador.



5.3. Bioensayo 3 : Supervivencia de nauplios decapsulados en diferentes salinidades.

Este bioensayo se elaboró después de conocer los resultados de supervivencia en adultos cultivados en laboratorio y silvestres en un medio con distinta salinidad (36 y 86 ‰), y así tratar de observar el efecto de este parámetro en la supervivencia de los nauplios. Los tratamientos se colocaron de manera aleatoria en bloque, contemplando las variables salinidad (36 y 86 ‰) y temperatura (4 y 12°C) en la supervivencia de nauplios decapsulados. El número total de réplicas de tratamiento que se analizaron en cada período de almacenaje (24, 48, 72 y 96 horas), fue de 4. La comparación estadística se realizó entre tratamientos sometidos a un mismo período de almacenaje.

La técnica de decapsulación fue similar a la que se empleó en el bioensayo 2, la separación y conteo de nauplios, que en este bioensayo fue de 1250 ± 13.2 por ml, la preparación de réplicas de los tratamientos y la relación volumen de agua-aire en las bolsas, se realizó de la misma manera que en los anteriores bioensayos.

5.4.- Análisis estadístico.

Para conocer el efecto de los diferentes factores (estadio, temperatura, presencia o ausencia de agitación, sexo, salinidad) entre tratamientos sometidos a un mismo período de almacenaje, se aplicó un análisis de varianza (ANDEVA) de tres vías. Este método también se utilizó para valorar las variaciones en talla de los adultos y el pH de los sistemas experimentales. Para realizar los ANDEVA, los valores porcentuales de sobrevivencia (Sb) se transformaron a valores angulares con distribución normal a través de la función $\arcsen \sqrt{\%S}$ (Steel y Torrie, 1988).

El análisis de diferencias entre tratamientos individuales se obtuvo con la prueba de comparación múltiple de Tuckey (Sokal y Rolf, 1969). Para utilizar la matriz de diferencias que se generó con esta prueba, los tratamientos se agruparon en relación a su similitud estadística, para lo cual se utilizó un código (CS) de letras en orden alfabético, según muestra el siguiente ejemplo.

TEMP (°C)	TIEMPO (h)	%Sb	C.S	TIEMPO (h)	%Sb	C.S
4	24	99.5	a	48	90.2	a
12	24	98.5	a	48	88.7	a
20	24	97.3	a	48	82.8	b
28	24	96.7	a	48	75.6	c

El análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples se elaboraron con el programa estadístico SYSTAT.

5.4.1. Sobrevivencia calculada en nauplios decapsulados y adultos silvestres.

Con la finalidad de realizar un análisis integral de los resultados de este estudio y conocer el efecto combinado de las variables temperatura y tiempo de almacenaje en la sobrevivencia de nauplios y adultos de *Artemia*, se generó un modelo de regresión polinomial de forma:

$$\text{Sobrevivencia} = \text{Constante} + t + d + t*d + t*t + d*d + t^3 + d^3 + t*d^2 + d*t^2.$$

Donde t=temperatura (°C)

d=tiempo (días)

El resultado de esta regresión no sólo permite la interpolación de los valores de sobrevivencia sobre un espacio continuó tridimensional en función de t y d, sino también es

posible valorar la contribución de los efectos de la interacción de estos mismos parámetros sobre la sobrevivencia (a través de los coeficientes y su nivel de significancia en las combinaciones $t*d$, $t*d^2$ y $d*t^2$).

La ecuación que se genera por medio de la regresión describe una superficie tridimensional de la sobrevivencia de *Artemia* en función de la temperatura (t) y el tiempo de almacenaje (d), también conocida como "superficie de respuesta". En el presente trabajo, se suavizó el patrón de variación de los resultados por medio del promedio salteado de los datos de sobrevivencia. Para hacer más accesible la presentación gráfica de este análisis, en lugar de dibujar un polígono tridimensional, se graficó un "diagrama de contorno", es decir, una representación cartesiana (bidimensional) de la superficie de respuesta, con los valores de la altura (la sobrevivencia) graficada como isolíneas que unen todos los puntos con valores iguales.

La comparación estadística entre sobrevivencia obtenida y sobrevivencia calculada con la ecuación polinomial, se llevó a cabo con una prueba de X^2 (Chi-cuadrada, Steel y Torrie, 1988). El modelo de la ecuación polinomial se elaboró con el programa estadístico SYSTAT y la superficie de respuesta con el programa SURFER.

6.- RESULTADOS.

6.1. BIOENSAYO 1: SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS ECLOSIONADOS Y ADULTOS CULTIVADOS EN LABORATORIO.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) principalmente en los factores temperatura (4 y 28 °C), etapa de desarrollo (nauplio vs adulto) y etapa*temperatura (ET*T) a las 72, 96 y 120 horas de almacenaje; otros factores que presentaron diferencias significativas fueron: la ausencia o presencia de agitación (A/E) a las 96 horas y su combinación con la temperatura (T*A/E) a las 96 y 120 horas (tabla I).

TABLA I : Contribución de variabilidad ($P < 0.05$) de las fuentes del bioensayo I en los diferentes intervalos de tiempo estudiados.

FUENTE	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.
ETAPA (ET)	0.50	0.51	0.01	<0.01	<0.01
TEMPERATURA (T)	0.90	0.60	<0.0	<0.01	<0.01
A/E	0.46	0.92	0.63	0.02	0.31
ET*T	0.31	0.28	0.03	<0.01	<0.01
ET*A/E	0.84	0.45	0.49	0.07	0.26
T*A/E	0.82	0.96	0.72	0.03	0.04
ET*T*A/E	0.81	0.21	0.18	0.08	0.84

El análisis de comparación múltiple entre tratamientos, presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) a las 72, 96 y 120 horas de almacenaje, resultando ser la temperatura (4 y 28°C) el principal factor de variabilidad. La presencia o ausencia de agitación (A/E) mostró diferencias significativas ($P < .05$) únicamente en el tratamiento de nauplios sometido a 4°C después de 96 horas de almacenaje (tabla II y figura 5).

Durante el desarrollo del bioensayo se observó en los organismos almacenados por periodos de 24, 48, 72 y 96 horas con una temperatura de 4°C, una notable reducción de su actividad, conservando su color y retardando el desarrollo a estadios más avanzados, características que fueron menos notables a las 120 horas de almacenaje. Comparativamente, los organismos almacenados durante 48 horas en una temperatura de 28°C, se apreciaron más desarrollados, con pérdida notable de color y peso, y fragmentación de los no-vivos.

TABLA II. Porcentajes de sobrevivencia en los tratamientos del Bioensayo I. C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estandar.

	NAUPLIOS / AGITACION						NAUPLIOS / ESTATICO					
	4 °C	E.S	C.S	28 °C	E.S	C.S	4 °C	E.S	C.S	28 °C	E.S	C.S
24 hrs.	97.1	2.9	a	96.4	1.1	a	96.0	1.1	a	93.4	2.1	a
48 hrs.	97.4	2.6	a	88.0	4.4	a	91.5	4.1	a	90.1	2.7	a
72 hrs.	82.2	2.1	a	35.7	2.8	b	84.0	1.9	a	24.6	2.9	b
96 hrs.	80.8	3.9	a	0.04	0.4	d	59.9	0.9	b	0.02	0.2	d
120 hrs.	79.1	1.3	a	0.04	0.1	c	66.7	3.3	a	0.01	0.1	c

	ADULTOS / AGITACION						ADULTOS / ESTATICO					
	4 °C	E.S	C.S	28 °C	E.S	C.S	4 °C	E.S	C.S	28 °C	E.S	C.S
24 hrs.	96.8	0.4	a	98.3	0.2	a	95.2	0.2	a	96.5	0.9	a
48 hrs.	86.4	1.4	a	93.3	0.2	a	91.4	0.1	a	91.6	1.2	a
72 hrs.	85.2	0.4	a	48.3	1.5	b	82.2	0.5	a	35.7	1.2	b
96 hrs.	84.6	0.7	a	35.0	0.8	c	82.1	0.2	a	35.0	0.4	c
120 hrs.	60.9	1.5	a	21.7	0.2	d	53.2	0.7	a	30.0	1.4	d

**SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS Y ADULTOS
ANALISIS DE COMPARACIONES MULTIPLES / BIOENSAYO 1**

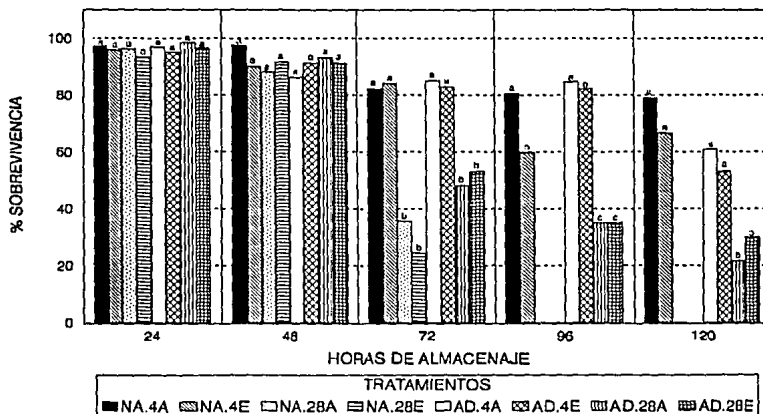


FIG 5.- Sobrevivencia de nauplios (NA) y adultos (AD) de *Artemia Franciscana* expuestos a dos temperaturas (4 y 28°C), presencia (A) y ausencia de agitación (E), durante diferentes tiempos de almacenaje.

6.2. BIOENSAYO 2 : SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS OBTENIDOS POR DECAPSULACION Y ADULTOS SILVESTRES.

El análisis de varianza indicó diferencias estadísticas ($P<0.05$) en la sobrevivencia de los organismos debido a los factores temperatura (T) y etapa/temperatura (ET*T) en cada intervalo de tiempo analizado y en la etapa de desarrollo (ET) a las 48, 72, 96 y 120 horas. Los factores restantes mostraron diferencias significativas únicamente a las 96 horas (tabla III).

TABLA III : Contribución de variabilidad ($P<0.05$) de las fuentes del bioensayo 2 en los diferentes intervalos de tiempo estudiados.

FUENTE	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.
ETAPA (ET)	0.27	<0.0	<0.0	<0.01	<0.01
TEMPERATURA (T)	<0.0	<0.0	<0.0	<0.01	<0.01
A/E	0.66	0.05	0.19	0.01	0.48
ET*T	<0.0	<0.0	<0.0	<0.01	<0.01
ET*A/E	0.79	0.01	0.72	<0.01	0.14
T*A/E	0.09	0.42	0.71	<0.01	0.25
ET*T*A/E	0.22	0.78	0.82	<0.01	0.35

El análisis de comparación múltiple entre tratamientos mostró diferencias significativas ($P<0.05$) en los tratamientos de adultos con 4°C de temperatura a partir de las 48 horas; mismos que presentaron la menor sobrevivencia. A las 72 y 96 horas de almacenaje los tratamientos estadísticamente distintos fueron los nauplios con 28°C y adultos con 4°C, presentando éstos la menor sobrevivencia; el resto de los tratamientos no difirieron estadísticamente, a pesar de que presentaron resultados variables, por ejemplo, a las 96 horas los adultos con 20°C en un medio estático presentaron una sobrevivencia de 85.5%, mientras que su homólogo en un medio con agitación registró 35.6%. Después de 120 horas de almacenaje los tratamientos con mayor sobrevivencia en nauplios (entre 52 y 73%) se presentaron en temperaturas de 4 y 12°C, en el caso de los adultos los tratamientos con mayor sobrevivencia (entre 20 y 32%) fueron los de 12 y 20°C de temperatura, no obstante la diferencia de los resultados en éstos tratamientos, no se apreciaron diferencias significativas (tablas IV, V y figuras 6, 7).

Las características físicas, coloración y desarrollo que se observaron en nauplios y adultos en temperaturas de 4 y 12°C, fueron semejantes a las observadas durante el primer bioensayo con temperatura de 4°C, y las de tratamientos con 20 y 28°C con los de 28°C del primer bioensayo.

TABLA IV. Porcentajes de sobrevivencia en los tratamientos para nauplios del Bioensayo 2. C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estandar.

	NAUPLIOS / AGITACION											
	4°C	E.S	C.S	12°C	E.S	C.S	20°C	E.S	C.S	28°C	E.S	C.S
24 hrs.	95.7	0.1	a	98.3	0.3	a	98.1	0.2	a	98.1	0.8	a
48 hrs.	89.2	0.4	a	98.4	0.2	a	97.3	0.6	a	90.0	1.0	a
72 hrs.	83.0	0.8	a	98.0	0.2	b	95.2	0.8	a	13.6	0.4	b
96 hrs.	61.9	1.0	a	78.9	4.1	d	62.5	2.5	a	5.0	0.3	b
120 hrs.	61.6	1.4	a	71.6	2.3	a	10.5	1.2	b	3.7	0.2	b

	NAUPLIOS / ESTATICO											
	4°C	E.S	C.S	12°C	E.S	C.S	20°C	E.S	C.S	28°C	E.S	C.S
24 hrs.	94.9	0.6	a	98.6	0.1	a	98.3	0.4	a	97.8	0.4	a
48 hrs.	79.2	0.6	a	97.9	0.2	a	97.9	0.2	a	92.5	0.5	a
72 hrs.	67.6	0.5	a	98.0	0.4	a	94.6	0.3	a	10.7	2.0	b
96 hrs.	56.0	1.9	a	79.9	1.2	a	57.5	0.9	a	4.8	0.3	b
120 hrs.	52.9	1.7	a	73.8	0.7	a	8.2	0.1	b	1.5	0.2	b

**SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS
ANALISIS DE COMPARACIONES MÚLTIPLES / BIOENSAYO 2**

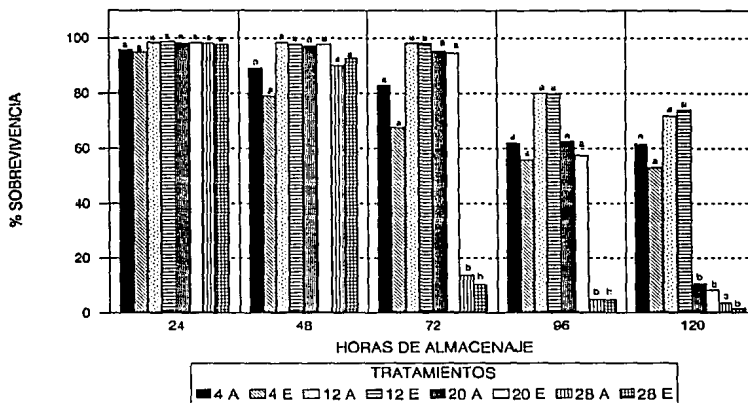


FIG 6.- Sobrevivencia de nauplios (NA) decapsulados de *Artemia Franciscana* expuestos a cuatro temperaturas (4, 12, 20 y 28°C), en presencia o ausencia de agitación, durante diferentes tiempos de almacenaje.

TABLA V. Porcentajes de sobrevivencia en los tratamientos para adultos del Bioensayo 2. C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estándar.

ADULTOS / AGITACION												
	4°C	E.S	C.S	12°C	E.S	C.S	20°C	E.S	C.S	28°C	E.S	C.S
24 hrs.	89.80	3.4	a	94.97	1.6	a	98.77	0.0	a	100.0	0.0	a
48 hrs.	40.13	2.3	b	88.30	2.5	a	93.93	1.0	a	91.15	4.2	a
72 hrs.	4.87	1.1	b	94.97	1.0	a	78.22	6.0	a	42.53	13.0	a
96 hrs.	0.00	0.0	b	30.73	4.7	b	35.57	2.4	b	14.90	5.2	b
120 hrs.	0.00	0.0	b	20.87	1.6	a	21.87	2.4	a	13.80	4.3	a
ADULTOS / ESTATICO												
24 hrs.	84.53	3.3	a	97.27	1.2	a	100.0	0.0	a	90.90	1.0	a
48 hrs.	51.80	4.5	b	93.61	1.8	a	99.20	0.6	a	98.77	1.0	a
72 hrs.	4.90	2.5	b	66.41	4.3	a	78.77	6.3	a	4.90	11.0	b
96 hrs.	2.47	1.0	b	37.80	2.7	b	85.48	2.9	a	4.53	0.9	c
120 hrs.	0.00	0.0	b	20.70	4.3	a	32.27	2.4	a	10.33	3.2	a

**SOBREVIVENCIA DE ADULTOS
ANALISIS DE COMPARACIONES MÚLTIPLES / BIOENSAYO 2**

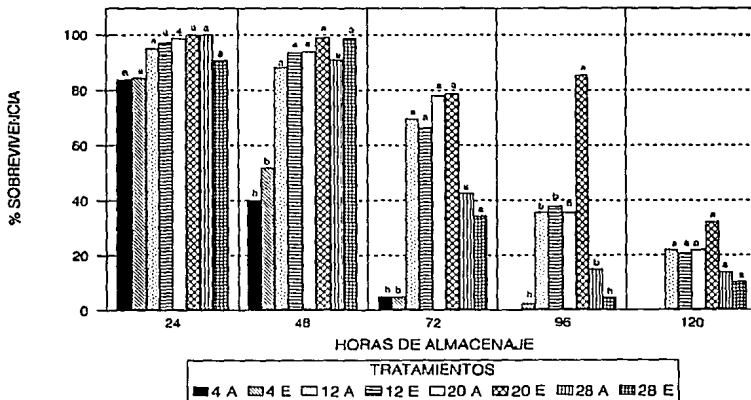


FIG 7.- Sobrevivencia de adultos (AD) de *Artemia Franciscana* expuestos a cuatro temperaturas (4, 12, 20 y 28°C) en presencia (A) o ausencia de agitación (E), durante diferentes tiempos de almacenaje.

6.2.1. INFLUENCIA DEL SEXO EN LA SOBREVIVENCIA.

El análisis de varianza mostró que el sexo (hembras y machos) contribuyó de manera significativa ($P < 0.05$) en la sobrevivencia de los organismos únicamente a las 72 horas de almacenaje, mientras que la temperatura (T) presentó diferencias significativas en todos los periodos de tiempo. Otros factores con diferencias significativas fueron: sexo/temperatura (S/T) a las 72 horas, ausencia o presencia de agitación (A/E) a las 48 y 96 horas, y en combinación con la temperatura (T*A/E) a las 96 horas (tabla VI).

TABLA VI: Contribución de variabilidad ($P < 0.05$) de las fuentes en los diferentes intervalos de tiempo estudiados.					
FUENTE	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96hrs.	120 hrs.
SEXO (S)	0.51	0.13	0.03	0.92	0.14
TEMPERATURA (T)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
A/E	0.76	0.01	0.80	0.03	0.71
S*T	0.68	0.04	0.36	0.82	0.80
S*A/E	0.10	0.57	0.61	0.23	0.68
T*A/E	0.52	0.69	0.54	<0.01	0.27
S*T*A/E	0.97	0.80	0.29	0.79	0.92

La prueba de comparación múltiple para los resultados de sobrevivencia de hembras y machos en tratamientos de un mismo periodo de tiempo, no mostró diferencias significativas ($P < 0.05$), lo cual se aprecia en la tabla VII, donde se presentan los porcentajes de sobrevivencia en machos y hembras a las 72 horas de almacenaje en temperaturas de 12 y 20°C .

Tabla VII Análisis de comparación múltiple en la sobrevivencia de machos y hembras después de 72 horas de almacenaje C.S.: variabilidad estadística E.S.: Error estandar						
MEDIO CON AGITACION						
HORA	MACHOS	E.S.	C.S.	HEMBRAS	E.S.	C.S.
12°C	63.8	3.1	a	75.8	3.2	a
20°C	74.6	8.9	a	82.97	16.1	a
MEDIO ESTATICO						
12°C	60.6	4.5	a	84.4	6.9	a
20°C	84.6	9.3	a	68.9	13.6	a

6.2.2. VARIACION DE pH.

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) en la mayoría de los factores de variación a las 24 y 120 horas de almacenaje, mientras que en el intervalo de 48 horas los factores temperatura (T) y etapa/temperatura (ET*T) difirieron estadísticamente del resto y junto con la etapa de desarrollo (ET) a las 96 horas. (tabla VIII).

TABLA VIII : Contribución de variabilidad ($P < 0.05$) de las fuentes en los resultados de pH para los diferentes intervalos de tiempo estudiados.

FUENTE	24 hrs.	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.	120 hrs.
ETAPA	0.36	0.75	0.77	<0.01	<0.01
TEMP.	<0.01	<0.01	0.26	<0.01	<0.01
A/E	0.01	0.08	0.27	0.10	<0.01
ET*TEMP.	<0.01	<0.01	0.09	<0.01	<0.01
ET*A/E	<0.01	0.26	0.35	0.06	0.67
TEMP.*A/E	<0.01	0.87	0.37	0.62	<0.01
ET*TEMP.*A/E	<0.01	0.11	0.34	0.69	0.08

La prueba de comparación múltiple entre tratamientos presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) en los valores de pH, únicamente en los nauplios con 28°C luego de 96 y 120 horas de almacenaje, los valores de pH en ambos periodos de tiempo fueron superiores a 8 (tabla IX).

TABLA IX. Valores de pH para los tratamientos de nauplios y adultos a las 96 y 120 horas.
C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estandar. n.d.: no determinado.

	NAUPLIOS / AGITACION				NAUPLIOS / ESTATICO			
	pH-96 hrs.	C.S.	pH-120 hrs.	C.S.	pH-96 hrs.	C.S.	pH 120 hrs.	C.S.
4°C	7.7	b	7.6	c	7.6	b	7.5	c
12°C	7.6	b	7.5	c	7.6	b	7.4	c
20°C	7.6	b	7.6	c	7.6	b	7.9	b
28°C	8.2	a	8.4	a	8.2	a	8.4	a
	ADULTOS / AGITACION				ADULTOS / ESTATICO			
4°C	7.7	b	n.d.		7.7	b	n.d.	
12°C	7.7	b	7.6	c	7.6	b	7.46	c
20°C	7.6	b	7.6	c	7.6	b	7.63	c
28°C	7.8	b	8.0	b	7.7	b	7.88	b

6.2.3 VARIACION DE TALLA FINAL.

Los resultados del análisis de varianza indicaron que los factores que ejercieron un efecto significativo ($P < 0.05$) en la comparación de talla final fueron la temperatura (T) y el sexo (S) (tabla X).

TABLA X : Variabilidad estadística ($P < 0.05$) de las fuentes en los resultados de talla final.

FUENTE	VALOR DE P.
SEXO (S)	<0.01
TEMPERATURA (T)	<0.01
A/E	0.42
S*T	0.13
T*A/E	0.68
S*A/E	0.56
S*T*A/E	0.96

A pesar de que en el tratamiento con 4°C la talla de hembras y machos fue mayor, en comparación del resto de tratamientos, el análisis estadístico con la prueba de comparación múltiple no mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) en la talla final de los organismos sometidos en distintas temperaturas (tabla XI y figura 8).

TABLA XI. Valores de talla final (mm) en los tratamientos de adultos del Bioensayo 2.
C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estandar.

	HEMBRAS / AGITACION			MACHOS / AGITACION		
	TALLA (mm)	E.S	C.S	TALLA (mm)	E.S	C.S
4°C	6.18	0.0	a	5.03	0.1	a
12°C	4.46	2.0	a	3.91	0.1	a
20°C	5.08	0.0	a	4.32	0.0	a
28°C	5.06	0.0	a	4.32	0.0	a
	HEMBRAS / ESTATICO			MACHOS / ESTATICO		
4°C	5.93	0.8	a	4.99	0.6	a
12°C	4.55	0.1	a	4.04	0.2	a
20°C	5.19	0.0	a	4.04	0.0	a
28°C	4.92	0.4	a	4.11	0.7	a

FRECUENCIA DE TALLAS FINALES

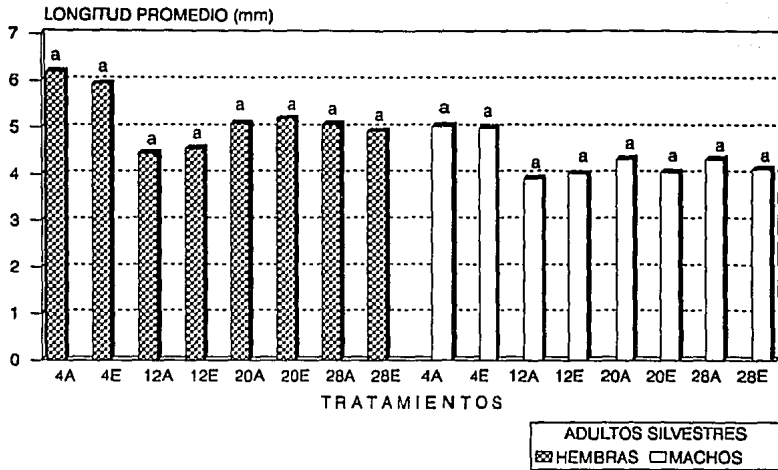


FIG 8.- Frecuencia de tallas finales en hembras y machos de *Artemia Franciscana* expuestos a cuatro temperaturas (4, 12, 20 y 28°C) en presencia o ausencia de agitación (A: agitación. E: estático).

6.3. BIOENSAYO 3 : SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS EN DIFERENTES SALINIDADES.

El análisis de variabilidad en los factores de este bioensayo, evaluada con el análisis de varianza, presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) únicamente en el caso de la salinidad (S) a las 24 y 48 horas (tabla XII).

FUENTE	24 hrs	48 hrs.	72 hrs.	96 hrs.
TEMPERATURA (T)	0.57	0.87	0.10	0.10
SALINIDAD (SAL)	0.05	0.05	0.08	0.09
T*SAL	0.07	0.09	0.44	0.60

En comparación con los nauplios almacenados en una salinidad de 36 %, los nauplios almacenados en 86 % presentaron los porcentajes de sobrevivencia más bajos después de 24 horas, fenómeno que se acentuó más notoriamente después de haber almacenado durante 72 horas, sin embargo, la prueba de comparación múltiple en cada intervalo de tiempo, presentó diferencias significativas ($P < 0.05$) únicamente para el tratamiento de 12°C con salinidad de 86 % después de 24 horas de almacenaje (tabla XIII y figura 9).

TABLA XIII. Porcentajes de sobrevivencia en los tratamientos del Bioensayo 3. C.S.: variabilidad estadística. E.S.: error estándar.												
	SALINIDAD / 36 %						SALINIDAD / 86 %					
	4°C	C.S	E.S	12°C	C.S	E.S	4°C	C.S	E.S	12°C	C.S	E.S
24 hrs.	96.20	a	1.2	98.40	a	0.8	93.38	a	1.8	89.45	b	1.4
48 hrs.	89.26	a	2.5	92.73	a	2.8	88.30	a	2.1	80.01	a	2.8
72 hrs.	86.13	a	1.8	83.65	a	4.9	64.53	a	1.7	67.77	a	3.3
96hrs.	82.08	a	1.8	87.40	a	1.4	59.59	a	1.6	55.73	a	1.4

A lo largo del bioensayo se apreció que el grado de desarrollo de los nauplios, su movilidad y coloración en ambas salinidades, se presentaron de manera similar a los observados en nauplios de los bioensayos 1 y 2 con las mismas temperaturas.

INFLUENCIA DE LA SALINIDAD EN LA SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS BIOENSAYO 3

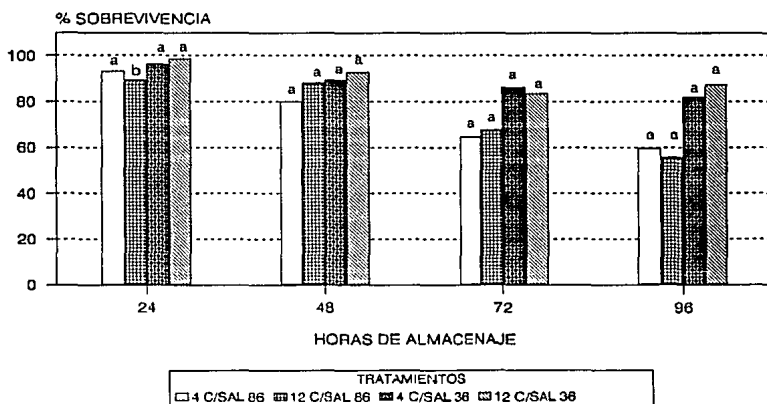


Fig 9.- Sobrevivencia de nauplios de *Artemia Franciscana* expuestos a dos temperaturas (4 y 12°C) y medios con distinta salinidad (36 y 86 ‰).

6.4. SOBREVIVENCIA CALCULADA EN NAUPLIOS DECAPSULADOS Y ADULTOS SILVESTRES.

El modelo de regresión polinomial que se ajustó a los resultados de sobrevivencia de nauplios de Utah y adultos provenientes de Ceuta, fue de tercer grado, generando con éste los coeficientes que se presentan en la tabla XIV. Este análisis permite por medio de una prueba de T-Student valorar la contribución de cada una de las fuentes de variación al modelo, de esta manera se puede apreciar que en los nauplios la influencia de la fuente **tiempo (D)** no contribuyó significativamente ($T=1.05$, $P=0.29$), mientras que en los adultos su contribución fue significativa ($T=-2.43$, $P<0.05$). Por el contrario, la fuente **temperatura (T)** contribuye significativamente a la explicación de los niveles de variación observados en la sobrevivencia de los nauplios ($T=2.16$, $P<0.05$) mientras que en los resultados de los adultos su contribución fue no significativa ($T=0.23$, $P=0.81$). La interacción entre estos factores (**T*D**) presentó diferencias significativa para los dos estadios. El modelo de regresión incluyó parámetros cúbicos debido a que se encontraron interacciones significativas.

TABLA XIV : Coeficientes de la regresión polinomial y nivel de significancia de las fuentes de variación. COEF. Coeficiente de regresión. "t" valor de studet. P<0.05

FUENTE	NAUPLIOS			ADULTOS		
	COEF.	"t"	P	COEF.	"t"	P
CONST.	77.67	8.15	<0.001	93.51	9.74	<0.001
TEMPERATURA (T)	4.79	2.16	<0.05	0.52	0.23	0.81
TIEMPO (D)	6.96	1.05	0.29	-16.27	-2.43	<0.05
T*D	1.10	2.74	<0.001	2.68	6.64	<0.001
T*T	-0.29	-1.91	0.05	0.04	0.29	0.77
D*D	-7.74	-2.98	<0.001	-10.65	-4.06	<0.001
T*D*T	0.05	1.73	0.08	-0.002	-0.71	0.47
D*D*D	0.87	2.67	<0.001	1.71	5.21	<0.001
T*D*D	-0.61	-1.26	0.20	-0.20	-4.30	<0.001
D*D*T	-0.04	-4.72	<0.001	-0.04	-4.96	<0.001

Estos resultados sugieren que para los periodos de tiempo estudiados, la variable tiempo tiene un efecto significativo en la sobrevivencia de adultos almacenados sin recibir alimento, mientras que los nauplios son relativamente insensibles a este factor. Lo contrario se encontró para el factor temperatura, ya que los nauplios fueron relativamente sensibles a las diferentes temperaturas probadas, mientras que los adultos tienden a no ser afectados significativamente por este parámetro (figuras 10 y 11).

El análisis de varianza aplicado al modelo de regresión polinomial demostró que, en general, se ajusta significativamente a los datos observados (tabla XV). Sin embargo, al comparar estadísticamente los valores de sobrevivencia observada y calculada con la prueba de Chi-cuadrada, se encontró que los resultados obtenidos con ésta fueron en general menores al correspondiente en tablas con un nivel de significancia del 5%, aceptándose así, la hipótesis de similitud entre los valores comparados. Únicamente en los tratamientos de nauplios con 20°C y adultos con 28°C el valor de X^2 resultó ser significativo (tabla XVI). En base a estos resultados se plantea que los modelos reflejan eficientemente la sobrevivencia con el tiempo en todas las temperaturas, menos en 20°C para nauplios y 28°C para adultos.

TABLA XV : Variabilidad estadística (P<0.05) de las fuentes de la regresión polinomial.

ETAPA	FUENTE	P
NAUPLIOS	REGRESION	<0.05
ADULTOS	REGRESION	<0.05

TABLA XVI : Comparación de sobrevivencia observada y calculada con la prueba chi-cuadrada para un valor en tablas de 11.07 con 5% de significancia

ETAPA	TEMP. (°C)	CHI-CUAD.	P
NAUPLIO	4	0.6	n.s
NAUPLIO	12	2.4	n.s
NAUPLIO	20	27.8	<0.05
NAUPLIO	28	11.0	n.s
ADULTO	4	0.2	n.s
ADULTO	12	7.3	n.s
ADULTO	20	7.4	n.s
ADULTO	28	288.0	<0.001

SOBREVIVENCIA CALCULADA PARA NAUPLIOS

TEMPERATURA (°C)

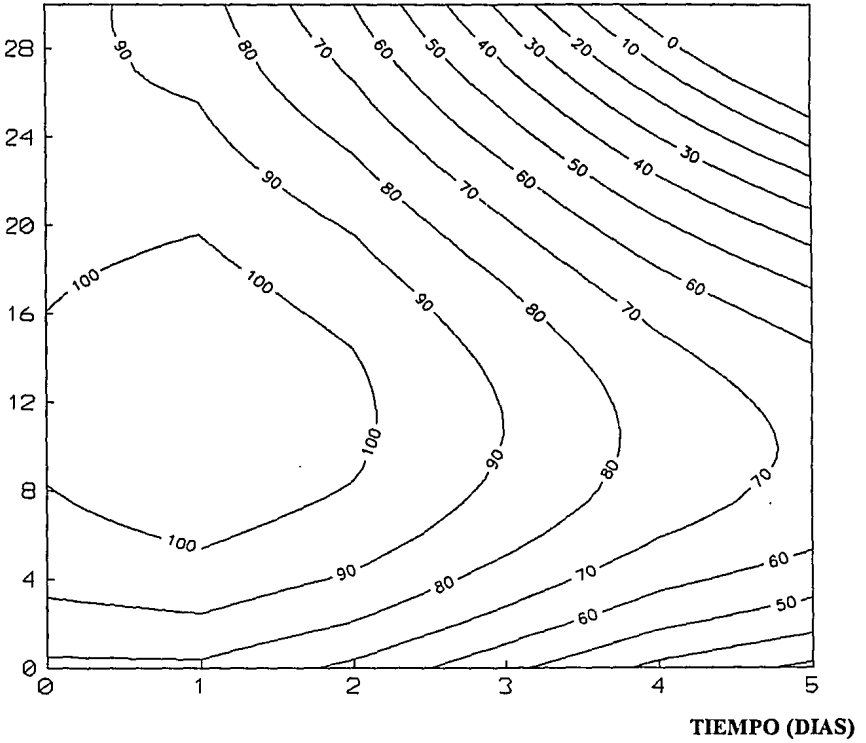


FIGURA 10

SOBREVIVENCIA CALCULADA PARA ADULTOS

TEMPERATURA (°C)

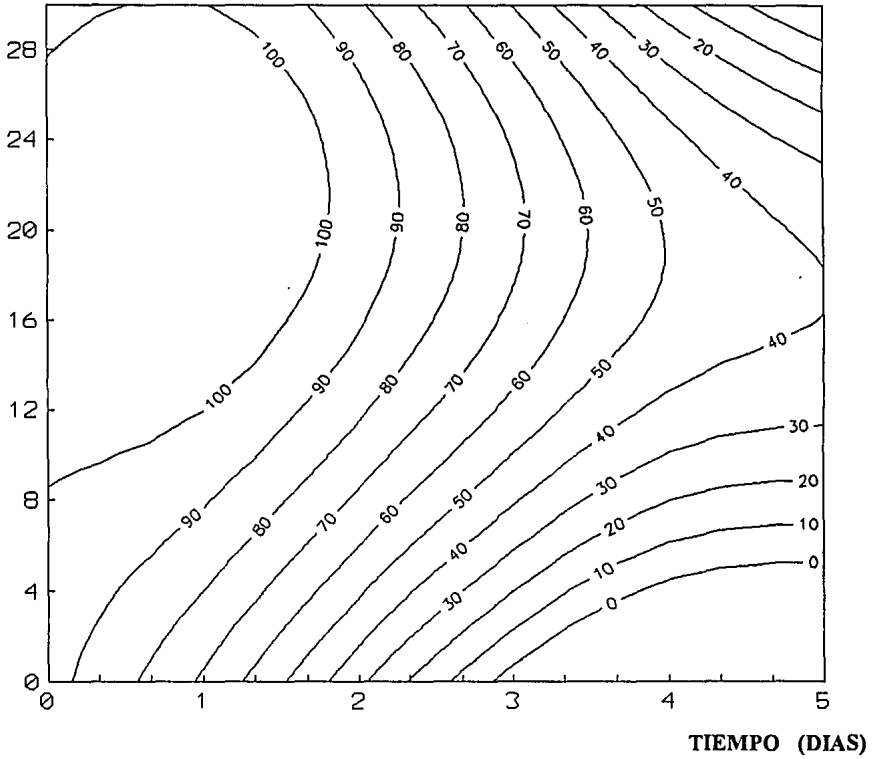


FIGURA 11

7.- DISCUSION.

7.1 ALMACENAJE DE NAUPLIOS Y ADULTOS DE *ARTEMIA* EN DIFERENTES TEMPERATURAS.

En organismos con natación activa y alimentación constante (*Artemia* y Copepodos) el principal factor de regulación metabólica es la temperatura, misma que se relaciona directamente con la actividad locomotora (Wolvekamp, 1960). El almacenaje de nauplios de *Artemia* en bajas temperaturas es una práctica común en acuicultura; autores como: Lèger *et al.* (1983), Lèger *et al.* (1986) y Sorgeloos *et al.* (1983), recomiendan su almacenaje en temperaturas comprendidas entre 2 y 4°C por un lapso de 48 horas, lo cual garantiza un elevado porcentaje de sobrevivencia. Sorgeloos (1991) obtuvo resultados similares después de 24 horas de almacenaje en temperaturas menores a 10°C.

En este estudio los porcentajes de sobrevivencia que se obtuvieron en el almacenaje de nauplios de *Artemia*, presentaron poca variación cuando se emplearon las mismas temperaturas. Así, en una temperatura de 4°C para nauplios eclosionados y decapsulados y de 12°C para nauplios decapsulados, los porcentajes fueron superiores al 93% después de 24 horas y al 80%, luego de 48 horas. Almacenando durante 72 horas, la sobrevivencia se mantuvo de manera general por arriba del 80%, porcentaje que también se registró a las 96 horas con una temperatura de 12°C, mientras que con 4°C la sobrevivencia fluctuó entre el 55 y 80%. En el caso de los nauplios decapsulados, el almacenamiento en una temperatura de 20°C por espacio de 72 horas, presentó una sobrevivencia mayor al 90%, decayendo al 50% a las 96 horas. Con una temperatura de 28°C la sobrevivencia crítica de los nauplios se observó después de 48 horas de almacenaje, decayendo del 90% al 30%, resultado que contrasta con lo publicado por Sorgeloos *et al.* (1986) quienes al almacenar densidades elevadas de nauplios en una temperatura ambiente (25°C), ausencia de aireación y alimento, registraron altas mortalidades en pocas horas.

En base a lo expuesto anteriormente, la temperatura que se recomendaría para almacenar y conservar durante un tiempo de 48 horas a los nauplios de la cepa Utah obtenidos por eclosión, sería de 4°C y para los nauplios obtenidos por decapsulación, la temperatura fluctuaría entre 4 y 12°C, asegurando así una sobrevivencia máxima. Incluso, empleando estas mismas temperaturas y períodos de almacenaje más prolongados (72-96 horas) se garantizaría entre el 90 y 80% de sobrevivencia. Los resultados de sobrevivencia para los nauplios sometidos a una temperatura de 4°C que se obtuvieron en el presente trabajo, fueron muy similares a los que mencionan las publicaciones anteriormente citadas, en las que se garantizan sobrevivencias máximas en temperaturas bajas, sin embargo, la mayor sobrevivencia que se obtuvo en una temperatura de

12°C, indica que la ganancia en sobrevivencia que se puede lograr reduciendo el metabolismo con temperaturas bajas tiene su límite inferior dependiendo de la cepa que se utilice.

Para almacenar juveniles y adultos de *Artemia* producidos ó colectados en granjas y salinas, Sorgeloos *et al.* (1986) sugieren utilizar temperaturas en el intervalo de 5 a 10°C, obteniendo con ello elevados porcentajes de sobrevivencia. Por su parte, Abelin (1991) recomienda el empleo de una temperatura de 12 a 15°C y aplicación de aireación, para almacenar 100 grs. de *Artemia* juvenil y adulta en un litro de agua por espacio de 72 horas. En el presente estudio los adultos provenientes de la cepa Utah y de la cepa Ceuta respondieron de distinta manera a condiciones de almacenaje semejantes. Por ejemplo, cuando se almacenó por un período de 24 horas con una temperatura de 4°C, los adultos de Utah presentaron 90% de sobrevivencia y los de Ceuta 80%. En períodos de almacenaje de 48, 72 y 96 horas, la cepa Utah presentó el 80% de sobrevivencia, mientras que en la cepa Ceuta disminuyó al 50% después de 48 horas. Sin embargo, cuando se almacenaron los adultos de Ceuta en temperaturas de 12 y 20°C, los valores de sobrevivencia que se registraron para las 24, 48 y 72 horas fueron superiores al 95, 88 y 65%, respectivamente. El uso de 28°C para almacenar durante 48 horas, presentó menos del 50% de sobrevivencia en ambas cepas.

Estos resultados en *Artemia* adulta permiten sugerir parámetros de temperatura y tiempo de almacenaje para asegurar una sobrevivencia óptima, los cuales se relacionan con las condiciones del medio natural o del cultivo. En el caso de la cepa Utah es aconsejable una temperatura de 4°C para un período de 48 horas e incluso hasta 96 horas con una disminución del 10% en su sobrevivencia, manteniendo la salinidad del agua de cultivo para el transporte; mientras que para la cepa Ceuta, que se colectó en su medio natural, es aconsejable una temperatura de 12°C durante 48 horas y emplear agua del área de cosecha para el almacenaje. En ambos casos, es recomendable la reducción gradual de la temperatura hasta alcanzar la temperatura para almacenamiento.

En comparación con los adultos, la mayor sobrevivencia que presentaron los nauplios conforme se incrementó el tiempo de almacenaje, puede atribuirse al aprovechamiento de las reservas energéticas con que cuentan estas larvas recién eclosionadas (Castro, 1985 y Sorgeloos, 1991) o simplemente a que este estadio está mejor adaptado que los adultos a subsistir sin la presencia de alimento. Por su parte, la mayor sensibilidad de los adultos al tiempo de almacenamiento, en especial la cepa Ceuta, se debe probablemente a una insuficiencia de reservas energéticas para cubrir sus requerimientos fisiológicos, lo cual resulta de la carencia de alimento en su medio natural. A pesar de que la información generada por el presente trabajo no permite distinguir diferencias en la sensibilidad de las *Artemia* hacia la temperatura, la mayor sobrevivencia de los adultos en intervalos de temperatura elevada y de su alta mortalidad con el tiempo, en

comparación a los elevados porcentajes de sobrevivencia de los nauplios en bajas temperaturas, es atribuible a una capacidad fisiológica de origen genético para adaptarse y sobrevivir en determinadas temperaturas, lo cual dificulta la generalización de resultados para cepas de origen geográfico distinto (Engel y Angelovic, 1968). En el caso de los adultos de la cepa Ceuta, éstos podrían estar mejor adaptados a temperaturas elevadas típicas de su lugar de origen, por lo que el cambio a temperaturas menores previo a la fase experimental, contribuyó a que se presentaran las mortalidades observadas. Sorgeloos *et al.* (1986) obtuvieron porcentajes de sobrevivencia diferentes, cuando sometieron nauplios de *Artemia* provenientes de distintas cepas a un mismo régimen de temperatura. Anger y Dawris (1981) señalan que la resistencia de estadios larvales de cangrejo araña *H. araneus*, previamente alimentados, a períodos de inanición en diferentes temperaturas (2, 6, 12 y 18°C), decrece conforme la temperatura se incrementa, por lo que su resistencia depende en gran medida de su alimentación inicial. La temperatura se reconoce como el principal factor ambiental que regula y modifica la biología de *Artemia*, ya que se ha comprobado una mayor influencia en el crecimiento y capacidad reproductiva, en comparación de otros factores tales como: salinidad y concentración de oxígeno en el medio (Wear y Haslet, 1986).

7.2. VARIACION DE LA CALIDAD DE ARTEMIA COMO ALIMENTO VIVO DURANTE EL ALMACENAJE.

Los nauplios de *Artemia* recién eclosionados satisfacen sus necesidades metabólicas empleando reservas energéticas de origen embrionario, mismas que se agotan después de 24-36 horas de la eclosión en temperatura ambiente, requiriendo entonces de alimento externo; la ausencia de éste ocasiona que su valor nutricional y su coloración disminuyan, decreciendo por lo tanto su calidad como alimento vivo. El empleo de bajas temperaturas para almacenar nauplios reduce la actividad metabólica del organismo; ésto garantiza que al ser suministrado como alimento vivo contenga gran parte de sus reservas vitelinas, mismas que son de un alto valor nutritivo para el depredador; además, la conservación de su color y su escasa movilidad, son factores que se consideran también para recomendar el uso de estas temperaturas (Castro, 1985., Sorgeloos, 1991., Lèger *et al.* 1986).

Durante el desarrollo del presente estudio se apreció que los nauplios almacenados en bajas temperaturas, presentaron características morfológicas y de comportamiento similares a las que se señalan en la bibliografía. En el caso de los adultos de ambas cepas, se observaron pérdidas mínimas de coloración y una capacidad natatoria reducida, conservándose íntegros los organismos muertos en estos tratamientos a lo largo de las 120 horas de almacenaje. En condiciones de temperaturas similares Lèger *et al.* (1983) y Sorgeloos *et al.* (1983) encontraron que la

disminución del valor nutricional (peso seco, contenido calórico y composición bioquímica) fue mínima tras haber almacenado adultos de *Artemia* por periodos de 48 horas, manteniendo los organismos una sobrevivencia elevada al ser suministrados como alimento en medios de cultivo con temperatura de 25°C

Comparativamente, en temperaturas de 20 y 28°C los nauplios se desarrollaron a estadios más avanzados, mientras que los adultos se observaron más delgados; en ambos estadios hubo una pérdida de color notable, mayor movilidad y fragmentación de los organismos muertos, aumentando con ésto la materia orgánica en suspensión. Es por ésto que en los intervalos de temperatura para el almacenaje de nauplios y adultos, que se recomendaron en el apartado anterior se excluyó la temperatura de 20°C, pues a pesar de que se presentaron porcentajes de sobrevivencia altos en esta temperatura, los organismos carecían de las características de un alimento vivo ideal. El almacenaje en temperaturas altas ocasiona que la calidad nutritiva disminuya notablemente, Claus y Benijts (1979) y Szyper (1989) registraron decremento del contenido de carbohidratos y lípidos, en nauplios y adultos de la cepa Utah después de 48 y 72 horas, respectivamente. En estudios de inanición en invertebrados acuáticos Wehrtman I, (1991) y Straus (1985) obtuvieron altas mortalidades a consecuencia de la pérdida de lípidos y fuentes energéticas, lo cual afecta a nivel celular los mecanismos de síntesis proteica. En estudios de inanición para zoeas de *C. maenas* empleando temperaturas relativamente elevadas (18°C), Ralph (1983) observó una disminución del peso seco y del contenido de carbón y nitrógeno, como consecuencia del metabolismo de reservas lípidicas.

7.3 SOBREVIVENCIA CALCULADA PARA NAUPLIOS OBTENIDOS POR DECAPSULACION Y ADULTOS SILVESTRES.

Los porcentajes de sobrevivencia calculada, obtenidos a través de los coeficientes generados con la ecuación polinomial, sugieren que la variable tiempo tiene un efecto menor en la sobrevivencia de los nauplios provenientes de la cepa Utah, mientras que la influencia de la temperatura es mayor, ésto se comprueba en la superficie de respuesta donde se observan los niveles de sobrevivencia comprimidos dorsoventralmente (figura 10). Comparativamente, los adultos provenientes de la cepa Ceuta fueron menos tolerantes al tiempo de almacenamiento en comparación con su respuesta a la temperatura, observándose los niveles de la superficie de respuesta comprimidos lateralmente (figura 11). Los resultados de este análisis y su semejanza con los obtenidos en este estudio, permiten sugerir el empleo de modelos predictivos para conocer el efecto de variables no evaluadas en pruebas de este tipo.

7.4. SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS Y ADULTOS DE ARTEMIA EN MEDIOS CON PRESENCIA Y AUSENCIA DE AGITACION.

Cuando se almacenan de nauplios de *Artemia* en bajas temperaturas disminuye su actividad metabólica y su movilidad, lo cual provoca que los organismos se depositen en el fondo del recipiente que los contiene y mueran sofocados. Por lo anterior Léger *et al.* (1983), Leger *et al.* (1986), Sorgeloos *et al.* (1983) y Sorgeloos (1991) recomiendan suministrar aireación durante el almacenaje o transporte, con la finalidad de mantener a los organismos en suspensión y mantener adecuados los niveles de oxígeno en el medio. En los resultados del presente trabajo, la incorporación de un sistema de agitación en tratamientos con una temperatura específica, no representó un factor significativo en la sobrevivencia de los organismos, ya que los tratamientos homólogos que carecieron de este sistema presentaron porcentajes de sobrevivencia muy similares. Estos resultados permiten recomendar el almacenaje o transporte de nauplios y adultos de *Artemia* prescindiendo de la aireación, cuando se emplean densidades similares a las de este estudio. En pruebas de anaerobiosis para nauplios y adultos de *Artemia* efectuados con temperaturas altas, Declair *et al* (1980) observaron que estos organismos tienen la capacidad de contrarrestar el decremento de oxígeno en el medio modificando su tasa respiratoria y produciendo ácido láctico, restableciendo su tasa respiratoria normal cuando se han adaptado. Esta adaptación consiste en la formación de hemoglobina.

7.5. INFLUENCIA DEL SEXO EN LA SOBREVIVENCIA DE ARTEMIA.

Tomando en consideración que la capacidad de responder a condiciones adversas de temperatura se relaciona con el contenido energético de los organismos, se pensó que las diferencias físicas y fisiológicas que existen entre hembras y machos de *Artemia*, podrían ser factores determinantes en la sobrevivencia de los organismos, y consecuentemente que los resultados estuvieran influenciados por esto si el número de hembras y machos no fuera similar en los tratamientos; sin embargo se comprobó que en ambos sexos la exposición en una temperatura específica les afectó de la misma manera.

7.6. VARIACIONES DE TALLA EN ADULTOS DE ARTEMIA DURANTE EL ALMACENAJE.

A pesar de que la talla final de los adultos de *Artemia franciscana* de la cepa Ceuta sometidos a diferentes temperaturas presentó poca variabilidad estadística, la diferencia que se observó entre tratamientos sometidos a una temperatura de 4°C y los tratamientos restantes, es atribuible a una mayor demanda metabólica de los organismos sometidos a temperaturas altas, empleando sus reservas para contrarrestar la ausencia de alimento. Esta interpretación está basada en los estudios de Anger y Dawris (1981) y Wehrman (1991), quienes han evaluado el desarrollo de larvas de crustáceos sometidas a la ausencia de alimento. Las diferencias estadísticas que se presentaron en relación con el sexo, se deben a la diferencia natural de tamaño que existe entre hembras y machos.

7.7. VARIACIONES DE pH EN EL ALMACENAJE DE ARTEMIA.

La mortalidad que presentaron los nauplios y adultos en este trabajo cuando se almacenaron en temperaturas menores a 20°C, difícilmente puede atribuirse a la variación de parámetros fisicoquímicos del medio, tales como el pH, ya que las variaciones de este parámetro en los diferentes períodos de tiempo analizados no fueron significativas. Los resultados de sobrevivencia obtenidos permiten suponer la capacidad de estos organismos para contrarrestar la ausencia de alimento, modificando sus tasas de excreción y regulando sus reservas energéticas. Hernandoera y Kaushik (1981) evaluaron los niveles de excreción de amonía en ausencia de oxígeno para *Artemia* proveniente de la cepa Utah y registraron niveles de concentración similares después de siete días, estos resultados los atribuyen a una modificación del estado metabólico de los organismos como respuesta a la ausencia de alimento y a una actividad bacteriana reducida, sin embargo, proponen que estos resultados dependen en parte de la densidad de organismos utilizada. El aumento de los valores de pH que se registró en los tratamientos con temperaturas elevadas después de 96 y 120 horas, en los que se observó acumulación y descomposición de materia orgánica, puede atribuirse al aumento de los procesos metabólicos de los organismos en altas temperaturas.

7.8. EFECTO DE LA SALINIDAD EN LA SOBREVIVENCIA DE NAUPLIOS Y ADULTOS

La salinidad del medio es un parámetro que afecta la sobrevivencia de *Artemia* únicamente cuando sus concentraciones son altas (260 ‰), las cuales difícilmente se encuentran en su medio natural; ésto lo concluyen Browne *et al.* (1988) después de realizar pruebas con diferentes combinaciones de temperatura y salinidad. Estos resultados concuerdan con los publicados por Sorgeloos *et al.* (1986) quienes encontraron una relativa insensibilidad de *Artemia* a niveles de salinidad altos. En estudios de respirometría Engel y Angelovic (1968) demostraron que los cambios en la actividad metabólica de nauplios de *Artemia* provenientes de Utah, depende en mayor medida de los cambios de temperatura, ya que las tasas de respiración que obtuvieron en medios con distinta salinidad fueron muy semejantes, estos resultados los atribuyen a una plasticidad genética de los organismos para tolerar salinidades ambientales diferentes a los de su lugar de origen, lo cual dificulta la comparación de resultados entre cepas distintas. En este trabajo el almacenaje de nauplios de *Artemia* en medios con 36 y 86 ‰ de salinidad, presentó valores de sobrevivencia superiores al 90% después de 24 horas y al 80% después de 48 horas. Sin embargo cuando se incremento el tiempo a 72 y 96 horas, los porcentajes en el medio con 86 ‰ fueron superiores al 60 y 50%, respectivamente, mientras en 36 ‰ se mantuvieron por arriba del 80% en ambos periodos de tiempo; no obstante las diferencias numéricas entre estos porcentajes, estadísticamente no presentaron variabilidad. Estos resultados permiten recomendar el uso de salinidades en el intervalo de 36 a 86 ‰ en periodos de 24 y 48 horas, lo cual garantizaría porcentajes de sobrevivencia máxima; el almacenaje por más tiempo en una salinidad de 86 ‰ provocaría una mortalidad considerable. El comportamiento que presentaron los nauplios fue similar al de adultos de la cepa Ceuta almacenados en un medio de 86 ‰ y temperaturas de 4 y 12°C, apreciándose en ambos estadios un decremento considerable de la sobrevivencia después a las 72 horas de almacenaje; lo anterior se atribuyó en el caso de los adultos a temperatura extremas (4°C) que difícilmente se encuentran en el lugar de origen y al nivel de nutrición, factores que en el caso de nauplios provenientes de Utah quedarían descartados ya que las dos temperaturas (4 y 12°C) se consideran típicas del lugar de origen y a que los organismos contienen un nivel alto de reservas nutritivas. Los resultados de este estudio no permiten atribuir un efecto inmediato de la salinidad en la sobrevivencia, ya que los niveles fueron altos para ambos estadios en periodos de 24 y 48 horas; las diferencias que se observaron al incrementarse el tiempo de almacenaje pueden atribuirse al nivel de nutrición de adultos.

8.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Para obtener una sobrevivencia superior al 90% cuando se almacenan nauplios de *Artemia* recién eclosionados o decapsulados provenientes de una cepa de clima templado, como es el caso de Utah, es recomendable emplear temperaturas constantes dentro de un rango de 4 y 12°C, por períodos de hasta 48 horas. Incrementando el tiempo de exposición a 72 horas se pueden obtener sobrevivencias entre un 80 y 90%. El uso de estas temperaturas garantiza que los nauplios conserven las características de un alimento vivo ideal para el depredador.

En el caso de adultos de *Artemia*, a los que se proporciona alimento en condiciones controladas y que provienen de una cepa de clima templado, como es el caso de Utah, se recomienda almacenar en temperaturas cercanas a los 4°C por períodos de hasta 72 horas, lo cual garantiza que los organismos presenten niveles de sobrevivencia altos y características óptimas como alimento vivo. Por su parte, en adultos silvestres que se cosechan en zonas donde se produce sal comercial y que se ubican en un clima tropical, donde las condiciones climáticas son cambiantes y el alimento es limitado, como es el caso de la cepa Ceuta, deben emplearse temperaturas en el intervalo de 10 a 25°C durante 48 horas. La recomendación general para almacenar adultos en intervalos de temperatura y tiempo óptimos que garanticen una sobrevivencia máxima, dependerá principalmente del origen geográfico de la cepa y su estado de nutrición. El efecto de otros factores tales como el pH del medio y el sexo de los organismos es mínimo, ya que la sobrevivencia de hembras y machos de *Artemia franciscana* registrada en las distintas temperaturas empleadas en este estudio fue muy semejante y las variaciones de pH fueron mínimas.

El uso de temperaturas altas, mayores a 28°C, para almacenar nauplios y adultos de *Artemia* sin proporcionarles alimento ocasiona una elevada mortalidad después de 48 horas así como la disminución de las características de un alimento vivo óptimo. Esta práctica es común cuando se produce o cosecha en exceso y se carece de los recursos necesarios para almacenar en bajas temperaturas, por lo que es más recomendable suministrarles alimento y posteriormente emplearlos como alimento para organismos en cultivo.

Con base en la similitud que presentaron los resultados de sobrevivencia en nauplios y adultos de *Artemia* de ambas cepas cuando se usó un sistema para mantener en movimiento el medio que contiene a los organismos, con la finalidad de evitar su depositación en el fondo, y cuando se prescindió de éste, se puede recomendar el almacenaje en medios sin agitación empleando densidades de nauplios y adultos similares a las utilizadas en el presente estudio, lo cual puede reducir gastos de inversión cuando se produce o explota este recurso.

La respuesta de los adultos silvestres almacenados en un medio con salinidad de 86 % en temperaturas de 12 y 20°C permite sugerir el uso de medios con esta salinidad para almacenar o transportar durante 48 horas; el decaimiento posterior de los niveles de sobrevivencia que se observó es atribuible a una insuficiencia de reservas inergéticas para contrarrestar la ausencia de alimento. En el caso de los nauplios, éstos presentaron una sobrevivencia óptima en medios con diferente salinidad (36 y 86 %) hasta las 48 horas de almacenamiento, lo cual permite recomendar el uso de medios con una salinidad alta (86 %) para almacenar o transportar nauplios de *Artemia* recién eclosionados durante 48 horas; con más tiempo de almacenamiento los resultados que se obtuvieron en ambas salinidades no difirieron estadísticamente. Sin embargo, en una granja de cultivo estas diferencias pueden representar pérdidas en los costos de inversión.

La explotación comercial de una cepa de *Artemia*, requiere de una serie de pruebas básicas, que permitan optimizar su uso y manejo. La aplicación de los resultados de sobrevivencia del presente estudio, estarían en relación con el transporte y almacenaje, ya que el diseño de tratamientos fue similar al utilizado comercialmente.

Un complemento integral en la realización de este estudio, es el conocimiento de la calidad nutritiva de los organismos almacenados como un alimento vivo, por lo que se sugiere la realización de un análisis más completo, abarcando análisis bromatológicos y de contenido calórico, además de la sobrevivencia de los organismos.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

9. ANEXOS

9.1 Anexo 1.- Clasificación sistemática (Vázquez 1987).

Phylum	Artrópoda
Clase	Crustácea
Subclase	Braquiopoda
Orden	Anostraca
Familia	Artemiidae
Género	<i>Artemia</i> , Leach 1819.

9.2 Anexo 2.- Biología y Ciclo de Vida de *Artemia*.

El quiste de *Artemia* es un estado embrionario latente en etapa de gástrula que está protegido por una envoltura permeable a moléculas de oxígeno, bióxido de carbono y agua, su hidratación ocasiona la reactivación del metabolismo, emergiendo 24 horas después el embrión rodeado por una membrana (estado de paraguas) dentro de la cual completa su desarrollo a un primer estadio larvario conocido como nauplio (E1) o instar I, su color es pardo anaranjado debido a la presencia de vitelo y carotenos, presenta 3 pares de apéndices (antenas, antenulas y mandíbulas rudimentarias) y su tamaño varía entre 400 y 500 micras. Para continuar su desarrollo durante los primeros tres días se nutre de sus reservas de vitelo, al llegar a las fases denominadas como metanauplio I y II, se empieza a alimentar del medio externo. La primera muda que realiza da origen al metanauplio II, el cual progresivamente se transforma en juvenil y después en adulto. Este ciclo tiene una duración de 14 a 17 días aproximadamente, sin embargo, se han reportado ciclos de 9 días. El tamaño de los adultos de *Artemia* varía entre 10 y 20 mm, el macho se reconoce por un par de piezas prensiles en la región cefálica y un par de penes en la parte posterior del tórax, por su parte, la hembra presenta un saco ovígero detrás del undécimo par de toracópodos. Su desarrollo se completa en solo 8 días y se reproduce a una tasa de 300 nauplios o quistes por puesta cada 4 días. (Castro, 1985; Sorgeloos *et al*, 1986).

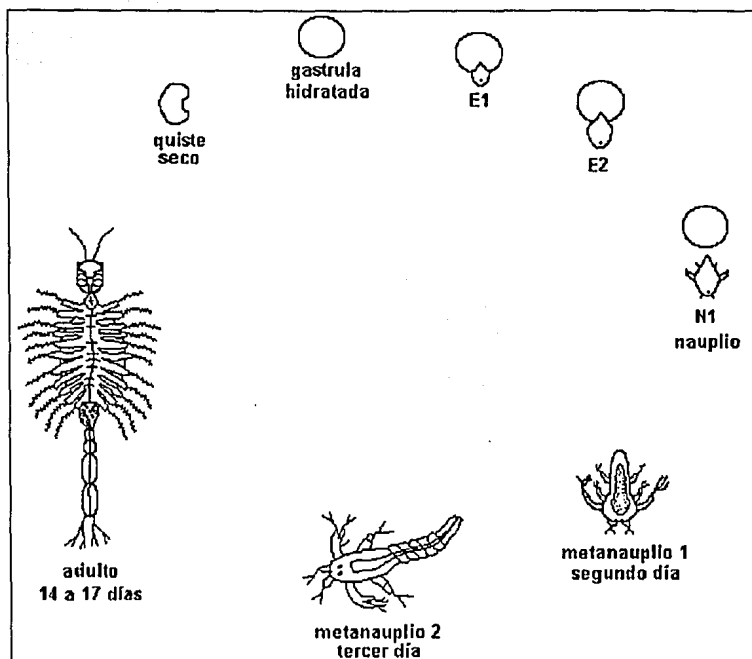


Fig 12. Etapas de desarrollo en el ciclo biológico de *Artemia*

10.- BIBLIOGRAFIA.

- Abelin, P. 1991. Development and evaluation of unconventional forms of *Artemia* sp. as a food source for penaeid shrimp. State University of Gent 189 pp.
- Anger, K and Dawris. 1981. The influence of starvation on larval development of *Hyas araneus* (Decapoda Majidae). Helgolander meeresuntersuchungen. 34 (3) : 287-331
- Barnabé, G. 1991. Acuicultura Vol 1. El uso de *Artemia*. Omega. Barcelona, España. 201-216 pp.
- Browne, R., L. Davis and S. Sallee. 1988. Effects of temperature and relative fitness of sexual and asexual brine shrimp *Artemia*. J. Exp. Mar. Ecol. 124 : 1-20
- Castro, T. 1985. Cuadernos CBS 2 - *Artemia* sp. UAM-Xochimilco, México. 39 pp.
- Claus, C and Benijts F. 1979. The biochemical composition of the larvae of two strains of *Artemia salina* (L) reared in two different algal foods. J.exp.mar.biol.ecol. 36 : 171-183.
- Decler W., J. Vos., C. Van den Braden and F. Bernaerts. 1980. The respiratory physiology of *Artemia*. 2 : 137-145. In Physiology, Biochemistry and Molecular Biology. Universa Press, Belgium.
- Engel, D.W. and J. Angelovic. 1968. The influence of salinity and temperature upon the respiration of brine shrimp nauplii. Comp. Biochem. Physiol. 26 : 749-752
- Hernandoera A. and S.J. Kaushik. 1981. Ammonia excretion of *Artemia* sp (crustacea brachiopoda under axenic conditions). Marine Biology. 63 : 23-27
- Léger, P, Vanhaecke, P. and Sorgeloos, P. 1983. Cold Storage of live *Artemia* nauplii from various geographical sources: Potential and limits in aquacultural Eng. 2 : 69-78. In International Study on *Artemia*. XXIV.

- Léger, P., Bengtson, D, Simpson, K and Sorgeloos, P.; 1986. The use and nutritional value of *Artemia*. as a food source. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 24 : 521-623.
- Ralph, R. 1983. Respiration, energy balance and development during growth and starvation of *Carcinus maenas* L.larvae (decapoda:portunidae). *J.Exp.Mar.Biol.Ecol*, 69 : 105-128
- Sorgeloos, P. 1979. The use of brine shrimp *Artemia* in Aquaculture. *The Brine Shrimp Artemia*. Vol.3. Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. Universa Press, Belgium. 25-45 pp.
- Sorgeloos, P. and G. Persoone. 1980. Technological improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans. Hatching and culturing of the brine shrimp *Artemia salina*. *Aquaculture*. 6 : 303-317.
- Sorgeloos, P., E. Bossuyt., P. Lavens., P. Léger. 1983. In *Handbook of Mariculture*. Vol 1. Ed. J:P:McVey, CRC Press. Florida, USA. 71-96 pp.
- Sorgeloos, P., P. Lavens., P. Léger., W. Tackaert and D. Versichele. 1986. *Manual for the culture and use of brine shrimp Artemia in aquaculture*. State University of Gent, Belgium. 319 pp.
- Sorgeloos, P. 1991. Live feeds and their substitution products for larval nutrition of fish, shrimp and prawn. 86-108 pp. In : *First international course on fish larvae nutrition*. Wageningen Agricultural University. Netherland.
- Sokal, R. and J. Rohlf. 1969. *Biometry*. W.H.Freeman and Company. E.U.A. 776 p.
- Steel, R. and J. Torrie. 1988. *Bioestadística*. McGraw Hill. México. 622 p.
- Straus, J. 1985. Third colloquium: Mediterranean crustacea decapoda. Barcelona, 25 de Marzo de 1985.; *Invest. pesqu. (Barc.)* vol. 51 No.suppl.1
- Szyper, J. 1989. Nutritional depletion of the aquaculture feed organisms *Euterpina acutifrons*, *Artemia sp.* and *Brachionus plicatilis* during starvation. *J. of the world aquaculture society*. 20 (3) : 162-169.

- Torrentera, L. and A. Tacon. 1989. La Producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Programa cooperativo gubernamental FAO-ITALIA (manual técnico).
- Vázquez, L. 1987. Zoología del phylum Arthropoda. Interamericana. México.
- Vanhaecke P., S Sidall., P Sorgeloos. 1984. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origin. J.Exp.Mar.Biol.Ecol. 80 : 259-275. In International Study on *Artemia*.XXXII,
- Watanabe T., CH. Kitajima., S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. Aquaculture. 34 : 115-143 pp.
- Wear R., Haslet S. and Nicola A. 1986. Effects of temperature and salinity on the biology of *Artemia franciscana*, Kellog, from lake grassmere New Zeland. Maturation, fecundity and generation times. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 98 : 167-183
- Wehrtman, I. 1991. How important are starvation periods in early larval development for survival of *Crangon setemspinosa* larvae. Mar.Ecol.Prog.Ser. 73 : 183-190 pp.
- Wolvekamp, H.P. 1960. Metabolism and Growth. 46-51 pp. In: Talbot H. Waterman (Ed). The physiology of crustacea. Academic Press. U.S.A. .p