



113  
227

UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOLOGIA

EFFECTO DE DIFERENTES CANTIDADES DE  
ALIMENTO (*Dunaliella tertiolecta*, BUTCHER) SO-  
BRE EL CRECIMIENTO, SOBREVIVENCIA Y  
MADURACION DE *Artemia franciscana*, KELLOG,  
BAJO CONDICIONES DE CULTIVO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIATURA EN BIOLOGIA.

PRESENTA

MARIA LUISA MALAGON ALVARADO.

Mexico, D. F.

1990.

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.

## INDICE

	Pags.
RESUMEN . . . . .	ii
1.- INTRODUCCION . . . . .	1
1.1.- La utilización de la Artemia en la acuicultura . . . . .	1
1.2.- Características morfológicas, ciclo de vida, alimentación y hábitad de Artemia . . . . .	4
1.2.1.- Morfología . . . . .	4
1.2.2.- Ciclo de vida . . . . .	6
1.2.3.- Alimentación . . . . .	7
1.2.4.- Hábitad y ecología . . . . .	11
1.2.5.- Ubicación taxonómica . . . . .	13
2.- ANTECEDENTES . . . . .	14

2.1.- <i>Objetivos</i> . . . . .	17
3.- <i>MATERIAL Y METODOS</i> . . . . .	18
3.1.- <i>Cultivo de Artemia franciscana</i> . . . . .	18
3.1.1.- <i>Obtención de nauplios de A. franciscana</i> . . . . .	18
3.1.2.- <i>Diseño experimental de los regímenes alimenticios</i> . . . . .	19
3.1.2.1.- <i>Procesamiento usado para determinar la cantidad de alimento requerido para cada tratamiento</i> . . . . .	22
3.1.3.- <i>Sistema de cultivo de Artemia</i> . . . . .	23
3.1.4.- <i>Rutina de cultivo y observaciones</i> . . . . .	25
3.1.5.- <i>Análisis de datos</i> . . . . .	25
3.1.5.2.- <i>Sobrevivencia</i> . . . . .	26
3.1.5.3.- <i>Tasa de ingestión de Artemia</i> . . . . .	26
3.1.5.4.- <i>Crecimiento</i> . . . . .	28
3.1.5.5.- <i>Eficiencia de crecimiento</i> . . . . .	29
3.2.- <i>Cultivo de algas</i> . . . . .	30

3.2.1.- Medio nutritivo . . . . .	30
3.2.1.1.- Preparación de las soluciones del medio "f" . . . . .	30
3.2.2.- Sistema de producción del alimento . . . . .	33
3.2.3.- Esterilización . . . . .	35
3.2.4.- Incubación . . . . .	38
3.2.5.- Métodos de conteo de células de <i>Dunaliella tertiolecta</i>	40
3.2.5.1.- Hematocitómetro o Cámara de Neubauer . . . . .	40
3.2.5.2.- Densidad Óptica . . . . .	41
3.2.5.3.- Curva de Dilución . . . . .	42
3.2.6.- Determinación del peso seco del alga <i>D. tertiolecta</i> .	43
4.- RESULTADOS . . . . .	46
4.1.- Crecimiento . . . . .	46
4.1.1.- Tasa de ingestión . . . . .	53
4.1.2.- Supervivencia . . . . .	57
4.1.3.- Maduración . . . . .	62

4.1.4.- Eficiencia de crecimiento . . . . .	64
5.- DISCUSION . . . . .	72
6.- CONCLUSIONES . . . . .	79
7.- BIBLIOGRAFIA . . . . .	80

## R E S U M E N

El uso de *Artemia* como alimento natural para organismos acuáticos peces y crustáceos principalmente, ha tomado mucha importancia, debido a ésto se están implementando técnicas para la producción de *Artemia* con altas densidades y grandes rendimientos, lo que ha llevado a investigar los factores que afectan su crecimiento.

La calidad y cantidad de alimento son parámetros importantes que afectan el crecimiento de cultivos de *Artemia*. Trabajos realizados por Mason (1963), Reeve (1963) y Nimura (1980) encuentran relaciones entre la cantidad, concentración y calidad de alimento, así como la tasa y eficiencia de crecimiento en esta especie alimentada con diferentes regímenes.

El presente trabajo tiene como objetivos evaluar cuantitativamente el efecto en *Artemia franciscana*, Kellog, de diferentes cantidades de células de *Dunaliella tertiolecta*, Butcher, sobre: crecimiento, maduración, eficiencia de crecimiento y sobrevivencia; y comparar el efecto de distintas concentraciones de alimento, a ración constante sobre los mismos parámetros.

Los resultados obtenidos de cultivos de *A. franciscana* a los que se les proporcionó células de *D. tertiolecta* a diferentes raciones, permitió concluir que las concentraciones usadas de alimento 0.1, 0.4 y  $1.0 \times 10^6$  células/ml no afectan el crecimiento, la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) y la maduración de *A. franciscana* a ración constante ( $3.0 \times 10^6$  células/individuo/día).

La ración tiene un efecto directo sobre crecimiento, eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ), maduración y sobrevivencia, manifestándose en forma diferente en cada uno de éstos parámetros. La optimización de la conversión de fitoplancton a biomasa de *Artemia* se obtiene con una ración de  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día y el mejor rendimiento de biomasa de *Artemia* se obtiene con una ración óptima que va desde 3.2 a  $8.4 \times 10^6$  células/individuo/día.



## 1. INTRODUCCION.

### 1.1 *La utilización de la Artemia en la acuicultura.*

Debido al rápido crecimiento que se ha observado en la camaronicultura, el mercado mundial del camarón se ha visto afectado ya que, gracias a esta industria, la producción de algunos países se ha incrementado dramáticamente como es el caso de Ecuador y China. China aumentó su producción camaronera en un 136% en un año y los ecuatorianos 81% en el mismo período (enero-mayo, 1987). En conjunto, 8 de los países acuicultores han incrementado sus exportaciones en un 91% en el mismo tiempo, mientras que México las ha reducido en un 14%. México está perdiendo su participación en el mercado internacional y es de suma importancia que la recupere, ya que de lo contrario representará un duro golpe a la economía de los sectores involucrados en esta actividad, lo que repercute negativamente en la captación de divisas para nuestro país (Ocean Garden Products, 1987).

México ha comenzado a implementar el cultivo del camarón aprovechando las condiciones naturales favorables existentes en varios puntos de los litorales del Golfo de México y del Pacífico. A partir de octubre de 1987, el gobierno federal ha alentado la producción de camarón en cautiverio a través del Programa Nacional de Cultivo de Camarón en base

al cual se ha logrado incorporar 5400 hectáreas de tierras salitrosas a la engorda del camarón a nivel nacional.

El proceso productivo que recién se inicia ha estado dependiendo hasta ahora de la recolección de larvas del medio silvestre. Hasta la fecha, el medio natural ha podido soportar la demanda de los productores. Sin embargo, conforme se vaya incrementando el área abierta al cultivo se incrementará la presión sobre el medio silvestre y dada la fluctuación temporal que presenta la disponibilidad de postlarva por los cambios climáticos, el abastecimiento de postlarvas será el factor crítico para asegurar el éxito de las granjas de engorda de camarón.

En tal contexto, la producción de postlarvas de camarón en laboratorio permitirá el abastecimiento continuo y suficiente de postlarvas a las granjas camaroneras dedicadas a la engorda del crustáceo, optimizando el uso de la capacidad instalada en estanquería rústica y evitando que ocurran derrumbes en la producción ocasionadas por la escasez que se presenta naturalmente en el medio.

El uso de *Artemia* se ha incrementado enormemente debido a su utilización como alimento natural para una amplia gama de organismos acuáticos bajo cultivo comercial, en particular crustáceos y peces. El hecho de que recientemente se han desarrollado técnicas para la producción de ---

*Artemia* en altas densidades y con grandes rendimientos ha coayudado a la crianza de larvas de camarón.

Las ventajas que *Artemia* presenta como alimento son muchas. Bajo ciertas condiciones naturales se reproducen por medio de huevos enquistados de alta resistencia y, en esta forma, son prácticamente inertes. Esto permite su fácil almacenamiento, lo cual hace que este crustáceo sobresalga de los demás organismos, debido a su constante disponibilidad para los cultivadores. Los quistes pueden ser almacenados durante tiempo indefinido y después de una sencilla incubación eclosionan las larvas nauplios cuyos movimientos natatorios atraen al depredador. Además, dichas larvas son muy tolerantes a diversas condiciones de cultivo y también a la manipulación.

Inclusive, los huevecillos pueden ser desinfectados resultando en un alimento vivo libre de sustancias contaminantes (Sorgeloos et al, -- 1983; Léger et al, 1987). Durante su desarrollo el nauplio presenta un tamaño adecuado para alimentar casi todas las etapas críticas de cultivos de organismos acuáticos carnívoros, son fácilmente digeridos y con una composición bioquímica óptima para sus requerimientos (Sorgeloos, - 1980).

El último ejemplo de la versatilidad de *Artemia* como fuente alimenticia consiste en la disponibilidad de usar nauplios o adultos como portadores de nutrientes esenciales; de pigmentos, de profilácticos y de terapéuticos a los organismos cultivables (Léger et al, 1987).

## 1.2 Características morfológicas, ciclo de vida, alimentación y -- habitat de *Artemia*.

### 1.2.1. Morfología.

En *Artemia*, el tamaño, frecuencia de mudas, rapidez de desarrollo en general, etc., varían de acuerdo a las distintas cepas de que se trate y a la influencia de los diferentes factores físico-químicos del medio, tales como: salinidad, temperatura, concentración de oxígeno, pH, etc., y el tipo de alimentación (Castro et al, 1980).

Para algunos investigadores existen alrededor de 15 mudas por las que atraviesa *Artemia* en su desarrollo a la madurez (Castro et al, 1980); para otros es de 16 y hasta 18 (Sorgeloos et al, 1986). En la siguiente descripción de la morfología solamente se mencionarán las estructuras so bresalientes en las diversas etapas del ciclo biológico de este crustáceo.

En el estado de nauplio (E1), el embrión es de color naranja debido a la presencia de vitelo y de carotenos; presenta tres pares de apéndices: 1) Las antenas, que tienen función locomotora y respiratoria y sus extremos sirven como filtros de las partículas alimenticias; 2) Las anténulas con función sensorial, y 3) Un par de mandíbulas rudimentarias. En la región media de la cabeza se sitúa un ocelo de color rojizo y ojos compuestos, los cuales no se observan fácilmente.

En la porción ventral de la cabeza se presenta un gran labio (labrum) el cual capta las partículas alimenticias y por debajo de éste se encuentra la abertura de la boca.

La larva continúa su crecimiento, nutriéndose exclusivamente de sus reservas vitelinas durante el primer estadio. En adelante comienza a alimentarse con partículas del medio y el aporte de vitelo es parcial durante los primeros dos o tres días. Al llegar a las fases de metanauplios I y II, se alimenta del medio externo.

Según Sorgeloos et al (1986), en estado adulto *Artemia* mide arriba de 10 mm de longitud, caracterizándose por poseer un cuerpo alargado con dos ojos pedunculados compuestos, un tracto digestivo lineal, anténulas sensoriales, 11 pares de toracópodos los cuales realizan varias funciones (los endopoditos, semejantes a remos, sirven de locomoción; -

los epipoditos, con función branquial y las setas sobre los exo y endopoditos filtran pequeñas partículas alimenticias del medio) y en el extremo posterior una furca caudal.

La hembra adulta posee un ovisaco situado en los primeros dos segmentos abdominales y en éste se incuban hasta unos 300 huevecillos en condiciones óptimas. El macho adulto presenta un par de penes situados en los primeros segmentos abdominales.

En *Artemia*, los adultos presentan características morfológicas - muy particulares para cada sexo. El macho se diferencia rápidamente de la hembra por la presencia de un par de segundas antenas modificadas en abrazaderas ("claspers") con las que sujeta a la hembra durante la cópula.

### 1.2.2. Ciclo de vida.

La especie *Artemia* se reproduce asexual o sexualmente según la especie. La reproducción asexual se lleva a cabo por partenogénesis. El ciclo biológico de todas las especies es igual y comienza cuando las hembras expulsan al medio nauplios, que es el primer estadio larval.

En condiciones adversas (alta salinidad, niveles bajos de oxígeno, etc.) las hembras producen huevos enquistados en lugar de nauplios. Dichos enquistes permanecen así durante períodos de desecación ambiental hasta -- que, en condiciones favorables, se rehidratan y continúan su desarrollo hasta eclosionar como nauplios. La larva nauplio se desarrolla rápidamente pasando alrededor de 15 mudas hasta alcanzar la etapa de adulto en dos o tres semanas. Durante la cópula, el macho introduce uno de los -- penes en los oviductos de la hembra para fertilizar los óvulos.

Bajo condiciones óptimas, *Artemia* puede vivir durante varios meses y las hembras pueden generar crías cada 5-7 días durante gran parte de -- su vida madura.

### 1.2.3. Alimentación.

La literatura reportada sobre alimentación de *Artemia* enfocada a -- la estimación cuantitativa de las relaciones entre alimento y crecimiento no es abundante, si se compara con la literatura existente sobre as-- pectos fisiológicos, genéticos, bioquímicos, etc.

Las primeras investigaciones sobre la alimentación de crustáceos marinos caracterizados por presentar alimentación mediante filtración, se llevaron a cabo en general con copépodos y eufáusidos. Dichas investigaciones permitieron, a su vez, conocer las especies de algas adecuadas como alimento, así como la concentración óptima de éstas (Bond, 1933; Marshall y Orr, 1955; Gibor, 1956; Richman, 1958). Sin embargo, Mullin y Brooks (1967) reportaron que la alimentación y eficiencia de crecimiento de algunos copépodos marinos no siempre está correlacionada con las especies de algas o la concentración celular.

Al comparar *Artemia* con otros crustáceos, ésta tiene un mecanismo de alimentación muy primitivo siendo verdaderamente continuo y no selectivo, considerándose un organismo filtrador de alimento fagotrófico -- obligado (Provasoli y Shiraishi, 1959; Barker y Jørgensen, 1966). Las partículas en suspensión pueden ser material de dimensiones pequeñas de origen biológico así como de organismos vivientes con un rango de talla entre 10 y 50 micras. Estas partículas son removidas continuamente del medio por el bateo de las cerdas en los toracópodos. Excepto para el primer estadio larvario, las sustancias solubles no pueden ser ingeridas.

Para determinar la selección de una dieta apropiada para el cultivo de *Artemia*, es necesario considerar los factores antes señalados -



además de la digestibilidad y el valor nutricional del alimento.

En los primeros estadios larvales, la actividad de filtración de *Artemia* no es muy eficiente (Tobias et al., 1979) y se prolonga hasta el estadio VI, en donde solo 1 par de apéndices se ha desarrollado: las segundas antenas, las cuales tienen tanto función locomotora como de alimentación. A medida que las mudas continúan, los toracópodos se diferencian y llegan a ser funcionales uno después del otro hasta el estadio XII-XIII, en donde se alcanza la máxima capacidad de filtración debido a que los once pares de toracópodos están totalmente desarrollados (Dobbeleir et al., 1980).

El éxito de estos trabajos se debió al gran desarrollo de técnicas de cultivo de microalgas que hicieron posible el uso de una variedad de especies de algas como alimento.

Los trabajos de Dobbeleir et al. (1980) y D'Agostino (1980) muestran que puede usarse un amplio rango de alimento vivo y no vivo para el cultivo de *Artemia*. La microalga *Dunaliella tertiolecta* es una de las dietas más adecuadas para tal fin.

El efecto de la concentración de algas se estudió inicialmente en copépodos y eufáusidos, como se mencionó anteriormente; de acuerdo con

estas investigaciones se mostró que la concentración de alimento tiene un marcado efecto sobre la tasa de filtración e ingestión (Ryther, 1954; Marshall y Orr, 1955; Richman, 1958; Cushing y Vucetic, 1963; Mullin, 1963, entre otros).

Estos resultados fueron apoyados por los estudios efectuados por Rigler (1961) en donde se reportó una tasa máxima de ingestión por arriba de cierta concentración de células en *Daphnia magna*, concluyendo que debajo de esta concentración la cantidad de alimento ingerido por --- *Daphnia* puede disminuirse debido a sus limitaciones en su habilidad de filtrar.

Investigaciones conducidas por Reeve (1963, b) con cultivos de *Artemia salina* alimentados con tres especies de algas *Phaeodactylum tricorneratum*, *Dunaliella tertiolecta* y *Chlorella stigmatophora*, mostraron que *Artemia* es capaz de regular sus tasas de alimentación; al incrementarse la concentración de alimento la tasa de ingestión aumenta hasta llegar a un valor máximo, a través de disminuciones proporcionales en la tasa de filtración ajustándose para lograr ingerir un volumen de alimento óptimo. Este volumen óptimo de alimento (que es determinado por el tamaño de *Artemia*) es el mismo independientemente del tamaño individual de las células del fitoplancton. Por lo tanto, para obtener el volumen óptimo se requieren más células de fitoplancton con tamaños pequeños que aquellos de tamaños mayores.

Es importante señalar que la tasa de ingestión máxima en *Artemia* se obtiene arriba de una concentración de algas relativamente baja que se conoce como "concentración crítica" y es diferente según el tamaño - de la especie de alga. En el caso de *Dunaliella tertiolecta*, Reeve - (1963, a) determinó que corresponde a  $0.1 \times 10^6$  células/ml aproximadamente para adultos, las tasas de ingestión en este organismo varían según la edad de *Artemia*, obteniéndose en organismos adultos tasas de ingestión máximas. Además, la concentración crítica es menor que en organismos de más temprana edad. Esta misma relación se ha obtenido con copépodos (Elliassen, 1952; Mullin y Brooks, 1970; Lam y Frost, 1976) y con *Artemia salina* (Sick, 1976).

#### 1.2.4 *Habitad y ecología.*

Sorgeloos et al (1986), mencionan la localización de 300 poblaciones de *Artemia* en el mundo, tanto en lagos salados como en salinas hechas por el hombre.

De acuerdo con Castro et al (1985) *Artemia* ha sido encontrada en América, desde Canadá hasta Perú y Argentina. En México se tienen localizados 14 lugares, principalmente sobre la costa del Pacífico.

Diferentes cepas de *Artemia* se han adaptado a condiciones que fluctúan ampliamente, con temperaturas que oscilan de 6 a 35° centígrados y en medios compuestos principalmente por iones de cloro, sulfatos o carbonatos (Bowen et al., 1978; Sorgeloos, 1979).

La especie *Artemia* se desarrolla muy bien en agua de mar, pero - debido a que no posee anatómicamente un mecanismo de defensa contra los depredadores es una presa fácil de especies carnívoras. Sin embargo, este crustáceo posee un mecanismo fisiológico que le permite habitar un nicho ecológico único que la aisla de la depredación. Tiene el más eficiente sistema osmorregulatorio que se conoce en el reino animal (Crogan, 1958); además, es capaz de sintetizar eficientemente hemoglobinas en ambientes con niveles bajos de oxígeno que prevalecen a altas salinidades (Gilchrist, 1954); y finalmente tiene la habilidad de producir - quistes cuando las condiciones ambientales ponen en peligro la sobrevivencia de la especie.

### 1.2.5. Ubicación taxonómica.

Phylum	Arthropoda
Clase	Crustacea
Subclase	Branchiopoda
Orden	Anostraca
Familia	Artemiidae
Género	<i>Artemia</i> Leach, 1819.

La realización de experimentos con cruzamientos de diferentes poblaciones de *Artemia* revelaron aislamiento reproductivo entre varios grupos (Barigozzi, 1974; Clark y Bowen, 1976), reconociéndose diferentes especies bisexuales. Se han descrito 5 especies, siendo las siguientes:

- A. salina* (Linnaeus) Leach, 1819: Europa y norte de Africa (también referida como *A. tunisiana* Bowen y Sterling, 1978).
- A. franciscana* Kellog, 1906: América. En México.
- A. persimilis* Piccinelli y Prosdocimi, 1968: Argentina.
- A. urmiana* Günther, 1900: Lago Urmia, Irán.
- A. monica* Verrill, 1869: Lago Mono, California, USA.

## 2.0 ANTECEDENTES.

Las primeras investigaciones efectuadas sobre la alimentación y crecimiento de *Artemia* han coincidido en que la calidad y la cantidad de alimento son factores de primordial importancia para su cultivo. Entre el fitoplancton asociado con este crustáceo se encuentra el alga *Dunaliella tertiolecta* Butcher, cloroficia unicelular considerada como uno de los alimentos más adecuados debido a su tamaño, contenido proteínico y lipídico (Sick, 1976). También es interesante por su potencial de cultivo masivo en condiciones controladas.

Entre la bibliografía reportada sobre el crecimiento de *Artemia* alimentada con varios regímenes de células de *D. tertiolecta* se encuentra el realizado por Mason (1963). Este mostró que la concentración (número de células/ml) y el volumen de cultivo no afectan el crecimiento cuando se mantiene constante la cantidad de alimento o ración (número de células/individuo/día). Sin embargo, al variar la ración de alimento manteniendo constante la concentración inicial de algas (100,000 células/ml), obtuvo un profundo efecto sobre el crecimiento, tanto en la tasa de crecimiento como en la talla final alcanzada. El período en donde se presentó más pronunciado este efecto correspondió al rango de tallas que va desde 2 mm hasta 7 mm de longitud total comprendiendo del 4º al 8º día de crecimiento.

El mismo autor encontró que a altas cantidades de alimento la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) se redujo durante los primeros días de desarrollo; no obstante, globalmente los valores de  $K_1$  resultaron correlacionados con la cantidad de alimento. A los 5 mm de longitud total la  $K_1$  decreció al incrementarse la ración. La  $K_1$  máxima observada correspondió a una ración de  $3.2 \times 10^6$  (células/individuo/día).

Reeve (1963,a) reportó también cambios en la eficiencia de crecimiento bruta en relación al tamaño de *Artemia*. Las máximas  $K_1$  obtenidas se presentaron aproximadamente a la mitad del punto de inflexión de la tasa de crecimiento. Los más altos valores de  $K_1$  máximas correspondieron con las concentraciones de células de *Phaeodactylum tricornutum*/ml más bajas. Así que, en este tratamiento tanto la tasa de crecimiento como la talla final de *Artemia* fue menor, al igual que el número total de progenie. En cuanto a la madurez sexual ésta también se alcanzó en más tiempo. Además, al modificar la salinidad, la temperatura y la concentración de algas encontró los siguientes valores óptimos de -- eficiencia de crecimiento: 35 partes por mil de salinidad, 30° centígrados de temperatura y un rango de concentración de células/ml que fluctúa entre 25,000-45,000.

Estimaciones hechas por Nimura (1980) usando dos raciones de alimento, indicaron incrementos de la eficiencia de crecimiento con la edad de *Artemia*, especialmente con la ración de *Chlamydomonas* más bajas. A estas raciones correspondieron los valores más altos de  $K_1$  y también de tallas registradas.

Consideraciones acerca de las respuestas de crecimiento de *Artemia* con varios géneros de algas suministradas como alimento han sido descritas por Sick (1976); las algas con mayor proteína y lípidos permitieron las más altas tasas de crecimiento. Entre estas algas se incluyen *Chlamydomonas sphagnicolo*, *Dunaliella viridis* y *Platymonas elliptica*. Comparativamente, las eficiencias de crecimiento global de *Artemia* obtenidas fueron en promedio del 80% cuando se alimentó con las especies antes citadas mientras que aquellas alimentadas con la diatomea *Nitzschia closterium* y con *Chlorella* fueron más bajas. Además la eficiencia de crecimiento tuvo correlación con la tasa de crecimiento y so brevivencia de *Artemia*, incrementándose significativamente la longitud total con las algas verdes excepto con *Chlorella*; en ésta incluso no hu bo crecimiento. De acuerdo con estos resultados, la madurez sexual se logró únicamente con las tres especies de algas antes citadas.



## 2.1. OBJETIVOS.

2.1.1. Evaluar cuantitativamente el efecto en *Artemia franciscana* de diferentes cantidades o raciones (número de células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día) de alimento sobre:

- a) tasa de crecimiento
- b) maduración
- c) sobrevivencia
- d) eficiencia de crecimiento bruta en *A. franciscana* a lo largo de su desarrollo.

2.1.2 Comparar el efecto de distintas concentraciones iniciales (células/militro) a una ración constante y relacionarlo con los parámetros mencionados anteriormente.

### 3. MATERIAL Y METODOS.

#### 3.1. Cultivo de *Artemia franciscana*.

Los cultivos de *A. franciscana* se mantuvieron constantemente a una temperatura de 28°C, con una salinidad de 35‰, con iluminación tenue y aeración. Los quistes se obtuvieron del *Artemia Reference Center* -- (ARC), Universidad del Estado en Gent, Gante, Bélgica. Proviene de la cepa de San Francisco inoculada en salinas en Kenia, Africa de donde fueron colectados por el ARC.

Diariamente se les suministró como alimento células de *Dunaliella tertiolecta* Butcher cosechadas, en su fase exponencial de crecimiento.

#### 3.1.1. Obtención de nauplios de *A. franciscana*.

Para la obtención de nauplios de *Artemia* se utilizaron quistes - descapsulados de acuerdo a la técnica de Sorgeloos et al (1983). Ecllosionaron el equivalente de 0.5 g de quistes (peso seco), colocándolos - en un recipiente cónico con 400 ml de agua de mar a 35‰, manteniendo una temperatura entre 24-28°C con aeración constante durante 24 hrs. Al

término de este período, se separaron por fototropismo positivo los nauplios de los quistes no eclosionados, cuantificando manualmente el número de nauplios para cada tratamiento.

### 3.1.2. *Diseño experimental de los regímenes alimenticios.*

Se usaron 8 tratamientos con diferentes raciones de *Dunaliella tertiolecta* como alimento, o número de células de *D. tertiolecta* suministradas/Artemia/día (Tabla I).

El número de Artemias por tratamiento correspondió a 100 con excepción de los tratamientos 6 y 8 con 50.

La duración del experimento comprendió por lo menos, hasta la maduración sexual que se definió arbitrariamente como la obtención de una talla de 6 mm de acuerdo, a las sugerencias de Wear y Haslett (1986).

Las raciones del tratamiento 1 al 6 comprendieron de  $0.1-8.4 \times 10^6$  células/individuo/día con una concentración inicial (al inicio de cada día) de  $0.4 \times 10^6$  células/ml. En los tratamientos 7 y 8 se proporcionó alimento con concentraciones iniciales de 0.1 y  $1 \times 10^6$  células/ml res-

TRATAMIENTOS	RACION DISPONIBLE (millones células/Artemia/día)	CONCENTRACION INICIAL (miles células/ml)	N Artemias
T <sub>1</sub>	0.1	400	100
T <sub>2</sub>	0.2	400	100
T <sub>3</sub>	0.5	400	100
T <sub>4</sub>	1.3	400	100
T <sub>5</sub>	3.2	400	100
T <sub>6</sub>	8.4	400	50
T <sub>7</sub>	2.9	100	100
T <sub>8</sub>	3.3.	1,000	50
Control 1	na	100	0
Control 2	na	400	0

TABLA I. Raciones suministradas en cada tratamiento así como la concentración inicial del alimento y el número total de Artemias. na=no aplicable.

tivamente, con raciones iguales a la del tratamiento 5 (aproximadamente  $3 \times 10^6$  células/individuo/día) con el propósito de evaluar el efecto de la concentración del alimento. Todas las concentraciones menos la del tratamiento 7 rebasan la concentración crítica para *D. tertiolecta* que es aproximadamente de  $0.1 \times 10^6$  células/ml (Reeve, 1963b).

Dos tratamientos control sin animales se utilizaron uno con  $0.1 \times 10^6$  y el otro a  $0.4 \times 10^6$  células/ml, para ajustar los datos de tasa de filtración de *Artemia*, de acuerdo a la precipitación de las algas, o bien a su tasa de reproducción.

La cantidad, de algas suministradas como alimento se determinó después de conteos con hematocitómetro y administrando volúmenes adecuados a la concentración experimental. Las cantidades de algas restantes en los tubos experimentales fueron calculados midiendo la absorbancia de muestras de éstas a 630 nm y la concentración se determinó por medio de la correlación entre la absorbancia y el número de células determinado previamente con un hematocitómetro. Cada día se verificaba la correlación entre  $A_{630}$  y concentraciones medidas con hematocitómetro.

3.1.2.1. *Procedimiento usado para determinar la cantidad de alimento requerido para cada tratamiento.*

- i. El filtrado de la suspensión inicial de cultivo se llevó a cabo con una malla de fitoplancton de 50 micras de luz.
- ii. Con un hematocitómetro se cuantificó el No. de algas/ml con una confiabilidad de 90%.
- iii. Se hicieron las diluciones necesarias para obtener el alimento a las concentraciones indicadas en la Tabla I. Para determinar la cantidad de algas por ser proporcionadas a un tratamiento dado, se efectuaron los cálculos de la siguiente manera:

$$\frac{(\text{Ración/Artemia/Tratamiento}) (\text{No. Artemias vivas})}{\text{Concentración de algas}} = \text{ml algas para este tratamiento.}$$

Ecuación (1)

- iv. Las distintas concentraciones de alimento fueron verificadas por medio de espectrofotometría a 630 nm.

### 3.1.3. Sistema de cultivo de *Artemia*.

Para el cultivo de *Artemia* se utilizó una caja de plástico oscura como baño termostático para mantener la temperatura constantemente a 28°C mediante un calentador regulado (EBO - JÄGER). Dentro de ésta se colocaron copas de plástico en forma cónica destinadas para cada uno de los tratamientos del cultivo de este crustáceo; sosteniéndolas a medio flote mediante una lámina de poliestireno. Los tratamientos que tenían un volumen menor a 50 ml de medio se incubaron en tubos de ensayo de 100 ml de capacidad (Figura 1).

El aire se suministró a cada cono mediante una manguera conectada por un extremo a un distribuidor de aire y al otro con una punta desechable de pipeta automática para minimizar el tamaño de las burbujas. Cada una de las mangueras se conectó a un tubo distribuidor PVC alimentado a su vez por un soplador de aire de 1 C.F. (Hidrocultivos). Un filtro de aire tipo artucho fue colocado en la línea de aire entre el soplador y el tubo PVC.

La caja utilizada se cubrió con plástico negro traslúcido para atenuar la luz.

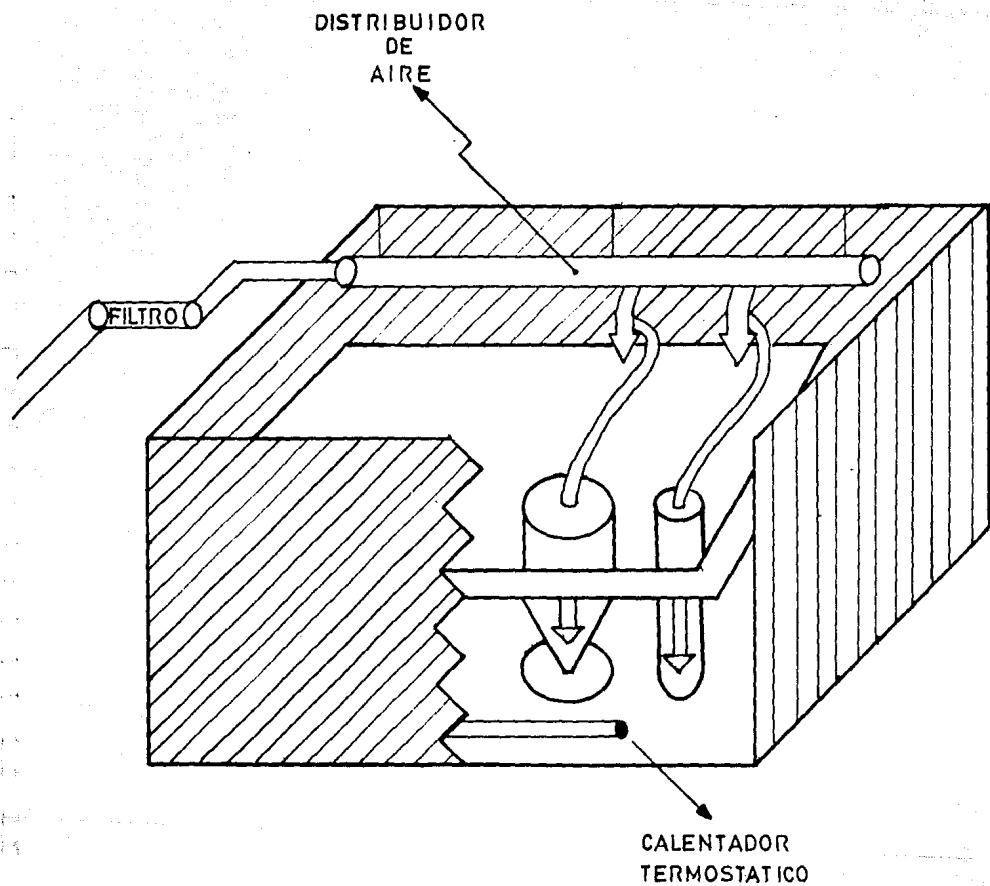


Fig. 1. Sistema de cultivo de *Artemia*.



#### 3.1.4. Rutina de cultivo y observaciones.

Diariamente se efectuaron los siguientes pasos con los cultivos de *Artemia*. Por cada tratamiento se tomó una muestra del alimento después de 24 hrs. de ser suministrado, colocándola en tubos de ensayo para leer absorbancia a 630 nm. Al mismo tiempo se transfirieron las Artemias a un recipiente con agua de mar para contarlas. Posteriormente se adicionó el alimento preparado a la ración y concentración señalada para cada tratamiento. En el caso de haber mortalidad de Artemias se hicieron los cálculos necesarios descritos anteriormente en la ecuación (1), ajustando el alimento al nuevo número de animales.

#### 3.1.5. Análisis de datos.

El programa de tablilla electrónica 1-2-3 Lotus fue utilizado para el procesamiento de la información obtenida en este trabajo, calculándose los siguientes parámetros para los resultados del muestreo diario:

3.1.5.1. La conversión de datos de absorbancia a 630 nm a concentración de células/ml, la cual se describe en la metodología de cultivo de algas.

### 3.1.5.2. *Sobrevivencia.*

La sobrevivencia se expresó en dos formas diferentes, una como el porcentaje de organismos que sobreviven de un día al siguiente, - calculándose de la siguiente manera:

$$\text{Sobr. Diaria (\%)} = \frac{\text{No. Artemias en el día } n}{\text{No. Artemias en el día } n-1} \times 100$$

y como sobrevivencia hasta el día n:

$$\text{Sobr. Acumulativa (\%)} = \frac{\text{No. Artemias observado en el día } n}{\text{No Artemias inicial}} \times 100$$

### 3.1.5.3. *Tasa de ingestión de Artemia.*

Esta se definió como la cantidad de partículas de alimento capturado por el aparato filtrador de *Artemia* (Gauld, 1951), en un período de 24 horas.

La tasa de ingestión diaria por *Artemia* se determinó con la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{Conc. } t_0 - \text{Conc. } 24 \text{ hrs.}) \times \text{Vol.}}{(\text{No. Artemias } t_0 + \text{No. Artemias } t_{24})} \times \frac{1}{2} = \text{Tasa de ingestión diaria promedio (celulas/Artemia/día)}$$

donde:

Conc.  $t_0$  = concentración de algas al inicio de cada día.

Conc.  $t_{24}$  = concentración de algas después de 24 hrs.

Vol = Volumen de medio conteniendo algas.

No. Artemias  $t_0$  = número de Artemias al inicio de cada día.

No. Artemias  $t_{24}$  = número de Artemias después de 24 hrs.

Otra manera como se expresó la tasa de ingestión/diaria/*Artemia* fue sustituyendo la cantidad de algas por su peso seco (mg) correspondiente, siendo entonces:

Tasa de ingestión = mg algas/*Artemia*/día.

(El peso seco de las algas y su determinación se describe más adelante).

De igual manera se cuantificó el consumo de alimento, convirtiendo las tasas de ingestión arriba descritas a su equivalente en peso seco.

#### 3.1.5.4. Crecimiento.

De acuerdo con los datos obtenidos cada 2 días de las tallas de *Artemia*, se cuantificó su incremento en longitud total. Además, se determinó la talla promedio por separado en cada sexo en los tratamientos - donde se observó la diferenciación sexual.

El crecimiento también se define como incrementos en el peso seco - corporal (Paloheimo y Dickie, 1965, 1966 a y b) por lo que para este trabajo se determinó el peso seco de *Artemias* mediante la relación talla-peso seco. Dicha relación se obtuvo usando los resultados de Reeve (1963, a) con los que se ajustó una ecuación curvilínea por medio de un análisis - de regresión de polinomios. La ecuación derivada fue:

$$\text{peso seco (mg)} = 10^{[0.5 + 1.3 \log(LT) + 1.7(\log(LT))^2 - 0.6(\log(LT))^3]}$$

Con esta relación se evaluó el crecimiento en términos de peso seco, con el objeto de poder relacionar alimento ingerido y crecimiento en las mismas unidades.

### 3.1.5.5. Eficiencia de crecimiento.

El alimento ingerido y asimilado puede ser utilizado para crecimiento, reproducción y metabolismo. La eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) nos permite conocer el grado en que se utiliza para el crecimiento corporal sin tomar en cuenta la eficiencia de asimilación del alimento, Conover (1964) así:

$$K_1 = \frac{G}{F} \times 100$$

donde:

G= crecimiento (mg, peso seco)

F= alimento ingerido (mg, peso seco)

### 3.2. Cultivo de algas.

Se proporcionó como alimento a los cultivos de *Artemia* el alga -- *Dunaliella tertiolecta* Butcher cosechada en su fase exponencial de crecimiento.

Esta cepa se ha cultivado rutinariamente en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Estación Mazatlán desde hace varios años, usan

do básicamente la técnica descrita por Fox (1983) con algunas modificaciones.

### 3.2.1. Medio nutritivo.

Los cultivos de algas utilizaron agua de mar filtrada a 0.45 micras y esterilizada en autoclave a 15 p.s.i. durante 30 minutos. El agua marina tenía salinidad de 35<sup>0</sup>/∞ enriqueciéndose con el medio "f" de Guillard (Guillard y Ryther, 1962). La composición de éste se indica en la Tabla II.

#### 3.2.1.1. Preparación de las soluciones del medio "f".

Se prepararon 3 soluciones stock concentradas de nutrientes: 1) Solución de nitratos, 2) Solución de fosfatos y 3) Solución de metales traza (Tabla II).

La solución stock concentrada de metales traza se preparó disolviendo 8.72 g de  $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 6.5 g de  $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en aproximadamente 900 ml de agua destilada, en donde se añadió 1 ml de cada una de las soluciones

SOLUCION STOCK NUTRIENTES	SOLUCION STOCK (g/100 ml)	CONCENTRACION FINAL EN EL MEDIO "f"
(1) $\text{NaNO}_3$	15.00	1.76 $\mu\text{M}$
(2) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	2.6	72.60 $\mu\text{M}$
(3) METALES TRAZA:		
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1.96	0.08 $\mu\text{M}$
$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	3.5	0.16 $\mu\text{M}$
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.5	0.10 $\mu\text{M}$
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	30.42	1.80 $\mu\text{M}$
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.26	1.80 $\mu\text{M}$
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.872	20.0 $\mu\text{M}$
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.65	20.0 $\mu\text{M}$

FUENTE VITAMINICA:

Hidroxocobalamina 1,000.0 mg/ml

Clorhidrato de tiamina ( $\text{B}_1$ ) 100 mg/ml

Clorhidrato de piridoxina ( $\text{B}_6$ ) 50 mg/ml

TABLA II. Medio de cultivo "f" (de Guillard y Ryther, 1962).

de metales traza y se aforó a 1 litro.

Una vez preparada cada una de estas soluciones, se almacenaron en refrigeración al igual que la solución de vitaminas (triduralta pediátrico).

### 3.2.1.2. Preparación del medio "f" de cultivo.

Para la preparación de cada litro de medio "f" se agregó 1 ml de cada una de las soluciones stock de nutrientes concentrados: nitratos, fosfatos, metales traza y 100 microlitros de la fuente vitamínica para obtener la concentración especificada, aforándose a 1 litro con agua de mar. Se esterilizó a 15 p.s.i. durante 20 minutos.

Dado los requerimientos de grandes volúmenes de medio nutritivo para el mantenimiento de suficiente alga *Dunaliella tertiolecta* para alimentar *Artemia*; rutinariamente se emplearon carboys para la elaboración de 16 litros de medio "f" cada vez. La esterilización de estos volúmenes se realizó en autoclave a 15 p.s.i. durante 30 minutos. Después de dejar sedimentar las sales precipitadas durante 24 hrs. se obtenía un medio de cultivo clarificado. Por medio de un sifón se extraía el medio, evi-



tándose de esta manera la tarea de filtrar grandes volúmenes.

### 3.2.2. Sistema de producción del alimento.

Considerando la dinámica de crecimiento del cultivo de *D. tertiolecta*, ésta siempre se cosechó durante su fase exponencial de crecimiento, para garantizar constancia en su calidad alimenticia. El volumen total cosechado de cada fase de cultivo previo a la etapa en carboys, se destinó para el mantenimiento de la cepa y para transferencias de cultivos a volúmenes mayores. La Figura 2 muestra el diagrama de flujo de los cultivos de algas salvo los cultivos de más de 2 litros. Todas las fases del cultivo se hicieron en sistema axénico, llenando el recipiente correspondiente con medio "f", y el volumen adecuado de inóculo. Estos se dejaron crecer durante el tiempo correspondiente, al cabo del cual se utilizó todo el cultivo como inóculo único o parcial en una siguiente fase.

Se utilizaron 5 fases en cultivos sucesivos de 15 ml, 50 ml, 250 ml y 1.7 l. Los cultivos de 1.7 l fueron los destinados como alimento de *Artemia*.

El ciclo de cultivo se inició en tubos de ensayo con 10 ml de medio

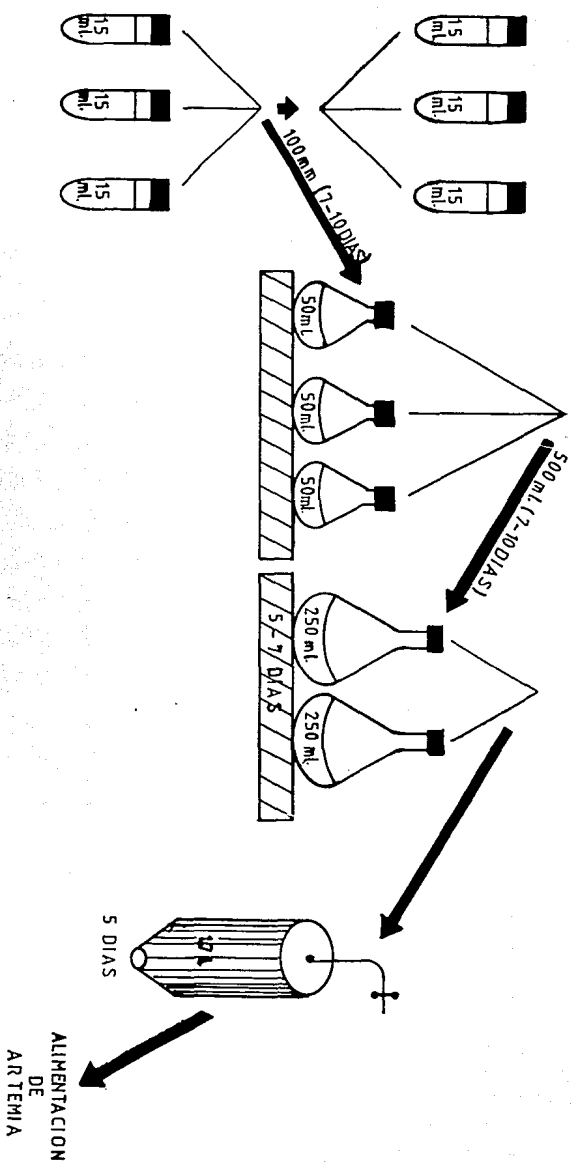


Fig. 2. Diagrama de flujo del cultivo de algas.

inoculados con 5 ml de cepa (*D. tertiolecta*); en la siguiente fase se -  
inocularon con 10 ml de cepa 10 matraces erlenmeyer de 125 ml contien-  
do 40 ml de medio para continuar el cultivo. Como tercer paso, con el  
volumen de 2 de estos matraces (100 ml) se inoculó un matraz de 500 ml de  
capacidad. Cuarto paso, con el volumen de 2 de estos matraces (250 ml)  
se inoculó una botella de plástico invertida de 1.7 l. Estos últimos -  
cultivos se cosechaban al 5º día para alimentar las Artemias.

Los volúmenes de inóculo y de medio nutritivo utilizado en las dis-  
tintas fases del cultivo, así como la cantidad usada y el tiempo de culti-  
vo se indican en la Tabla III.

Todas las transferencias fueron hechas en condiciones ascépticas, -  
con cristalería esterilizada y flameando las superficies del material con  
un mechero situado en una campana de extracción.

### 3.2.3. Esterilización.

La esterilización del equipo de vidrio y del medio nutritivo para  
la producción de algas se llevó a cabo en autoclave a 15 p.s.i. con un -  
tiempo de 20-30 minutos cada vez.

FASES DEL CULTIVO	No. DE RECIPIENTES	INOCULO (ml)	VOL. FINAL DE MEDIO "f" (ml)	DIAS DE CULTIVO
Tubo de ensayo	10	5	10	7-10
Matraz de 125 ml	10	10	40	7-10
Matraz de 500 ml	6	100	150	5-7
Botella de plástico invertida	6	500	1,200	5

TABLA III. Volúmenes de cultivo para las diferentes fases del ciclo del cultivo de algas.

Las botellas de plástico de 1.7 l se esterilizaron químicamente con hipoclorito de sodio (cloro comercial) a una concentración final de 0.6% - antes de cada cultivo. Las botellas de plástico se llenaron con medio - "f" esterilizado previamente para realizar los cultivos.

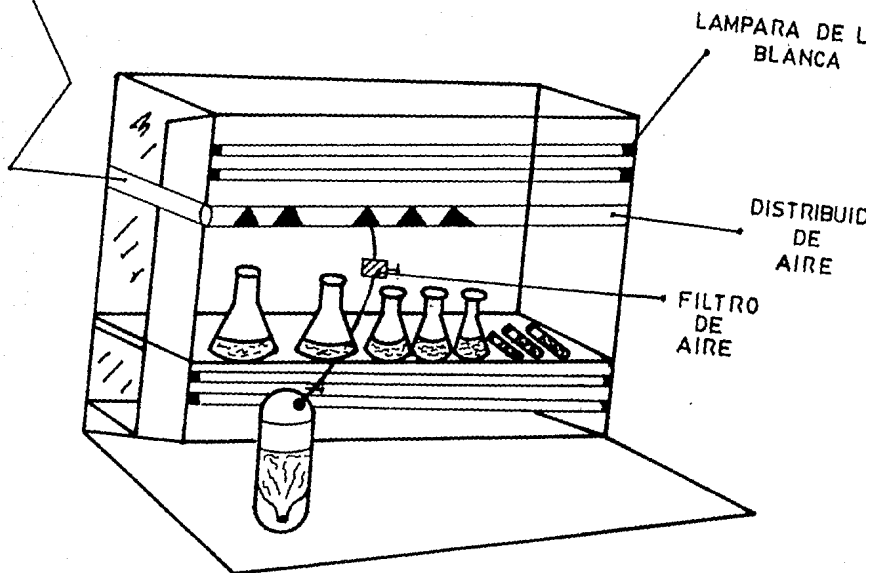
#### 3.2.4. Incubación.

Un conjunto de anaqueles fueron usados con suficiente iluminación para las distintas fases del cultivo de algas, cada anaquel estaba provisto de 2 lámparas de luz blanca fría de 40 watts cada una, con una iluminación equivalente a los 2400 lux durante las 24 hrs. del día. Las lámparas se colocaron en una superficie vertical detrás de los cultivos, de tal manera que abarcaron toda la superficie (Figura 3).

La temperatura del laboratorio de algas se controló mediante un sistema de aire acondicionado central, manteniendo una temperatura promedio de 25°C.

Los cultivos en cristalería se agitaron manualmente 2 veces al día, sin aeración suplementaria. Los recipientes de 1.7 l necesitaron de agitación continua, lo cual se logró por burbujeo con aire, suministrando adicionalmente un intercambio gaseoso. Cada recipiente de cultivo estaba provisto de una varilla de vidrio unida a una manguera y ésta a un distribuidor de aire conectado a la línea de aire con la misma disposición que en los cultivos de *Artemia* (Figura 3). El flujo de aire suministrado en los cultivos en botellas de 1.7 l correspondió a 2 l/min.

SUMINISTRO DE  
AIRE SOPLADO



LAMPARA DE L  
BLANCA

DISTRIBUCION  
DE  
AIRE

FILTRO  
DE  
AIRE

FIG. 3. Laboratorio de producción de algas.

### 3.2.5. Métodos de conteo de células de *Dunaliella tertiolecta*.

#### 3.2.5.1. Hematocitómetro o Cámara de Neubauer.

La cuantificación del número de células de algas se realizó mediante un hematocitómetro o cámara de Neubauer con 0.1 mm de profundidad provisto de 2 cámaras, cada una de ellas consiste de 16 cuadros de 0.2 X 0.2 mm de lado cada uno ( $0.64 \text{ mm}^2$  de superficie total), utilizando un microscopio óptico con objetivo de 10X. Se contaron las células dentro de los cuadros de 0.2 X 0.2 mm y aquellas que tocaron los bordes superior y derecho, hasta alcanzar un número igual o mayor de 400 células. El conteo de este número de células fue necesario para tener una confiabilidad de 90% con un error de 10% (Stein, 1979). Se calculó el número de células promedio/cuadro y de ahí la concentración de células/mililitro.

Suponiéndose que las células presentan una distribución al azar, fue importante homogenizar el cultivo agitándolo con cuidado antes de proceder a tomar una muestra.

Debido a que las células de *D. tertiolecta* son biflageladas y muy ágiles, fueron fijadas para el conteo de las mismas usando el mínimo volumen necesario de una solución de Utermöhl al 0.5%.

Una vez que se tuvo el promedio de células de las cámaras, el cálculo total de células por mililitro se efectuó de la siguiente manera:

$$\text{No. de células/ml} = (\text{N.P.}) (0.25 \times 10^6)$$

donde:

N.P. = número promedio de células/cuadro.

$0.25 \times 10^6$  = factor de extrapolación cuando se utilizan cuadros de  $0.20 \times 0.20$  mm a 0.1 mm de profundidad.

### 3.2.5.2. Densidad óptica.

Otro método utilizado para determinar el número de algas presentes en un cultivo fue por densidad óptica mediante un espectrofotómetro. En tre los métodos, éste ofrece la ventaja de ser muy práctico, rápido y con suficiente precisión, sin embargo, ésta puede ser afectada por los siguientes factores:

- i. Homogenización inadecuada de la muestra antes de ser usada para las mediciones de densidad óptica, o la sedimentación de las células en los procesos de mediciones.
- ii. Irregularidades en las propiedades ópticas de los recipientes usados.



- iii. Uso inadecuado de la longitud de onda de luz usada para las mediciones de la densidad óptica de células de algas.
- iv. Mal ajuste del espectrofotómetro.

Debido a éstos factores, se determinó frecuentemente la correspondencia de las mediciones de densidad óptica contra la concentración de células (hematocitómetro) obteniéndose de esta forma las correlaciones mediante una curva de dilución.

### 3.2.5.3. *Curva de Dilución (Stein, 1979).*

A partir de una suspensión densa de algas (filtradas previamente con una malla de 50 micras) se hizo la siguiente serie de diluciones: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 y 1/64 con agua de mar filtrada.

La absorbancia de cada una de las diluciones fue determinada con el espectrofotómetro a 630 nm. Las lecturas se efectuaron de la más diluída a la más densa.

Por último, se construyó una curva graficando absorbancia (o densidad óptica-D.O.) contra número de células/mililitro (hematocitómetro)

para verificar la correlación entre una medida y la otra.

La determinación de la cantidad de algas suministradas para los cultivos de *Artemia* se realizó por el método de densidad óptica.

Las lecturas de D.O. se extrapolaron directamente con la ecuación - de la curva obtenida por medio de la Curva de Calibración (D.O. contra -- número de células/ml) anteriormente determinada.

### 3.2.6. *Determinación del peso seco del alga Dunaliella tertiolecta.*

El método utilizado para determinar el peso seco de ésta alga fue el descrito por Lovegrove (1962) con algunas modificaciones:

- i. Se colectó 300 ml de cultivo de algas, filtrándola a través de una malla de 50 micras.
- ii. Esta suspensión de algas se agitó antes de proceder a tomar 5 muestras de 50 ml cada una, para posteriormente transferirlas a matraces erlenmeyer de 100 ml de capacidad.
- iii. Con la cámara de Neubauer se determinó la concentración de algas - de la muestra de cultivo inicial.

- iv. Cada muestra de 50 ml de cultivo se filtró a través de un filtro previamente secado y tarado. Cada recipiente se enjuagó con el mismo volumen de agua marina filtrada.
- v. Enseguida se filtró a través de un filtro previamente secado y tarado la misma cantidad de agua de mar utilizada para enjuagar los erlenmeyer, haciéndose 4 réplicas con la finalidad de determinar el peso de las sales del agua de mar en ese volumen.
- vi. Por último, se secaron los filtros a 80°C durante 72 hrs. y se pesaron.

El peso seco por célula de *D. tertiolecta* fue entonces calculado

como:

$$\bar{P}_{DUN} = \frac{(\bar{P}_{f+DUN} - \bar{P}_f)}{N}$$

donde:

$\bar{P}_{DUN}$  = peso seco promedio por célula de *D. tertiolecta*.

$\bar{P}_{f+DUN}$  = peso seco promedio de filtros con algas.

$\bar{P}_f$  = peso seco promedio de filtros por los cuales se pasó el agua de mar (sin algas).

N = número de células en la muestra del cultivo de algas.

Esto se calculó por separado para cada réplica ( $\bar{P}_{DUN}$  1-4) y luego se promedió el valor de  $\bar{P}_{DUN}$  para obtener una estimación del peso seco promedio por célula de *Dunaliella tertiolecta* cultivada en las condiciones descritas.

#### 4. RESULTADOS.

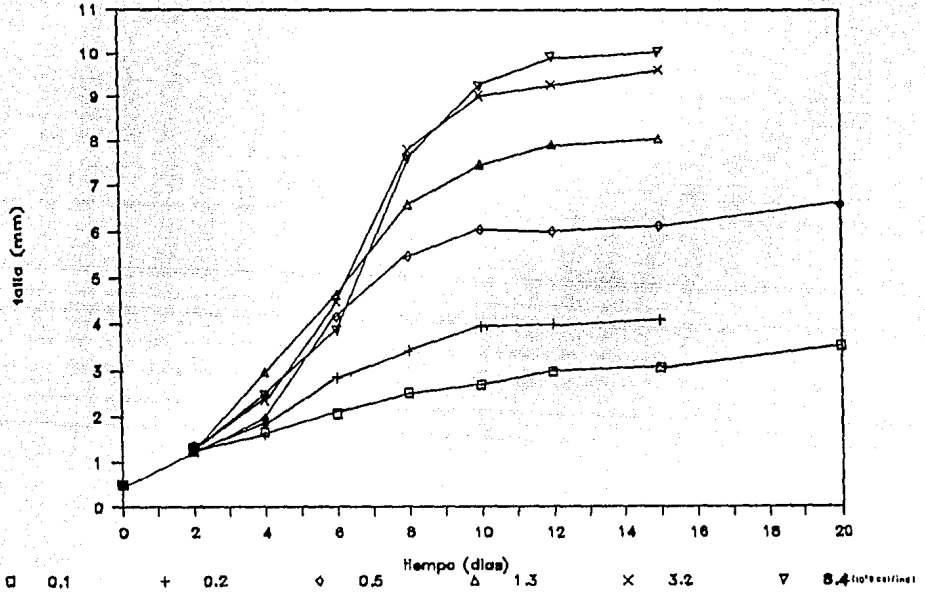
El cultivo de *Artemia franciscana* con varios regímenes alimenticios permitió obtener información para evaluar el efecto de diferentes raciones y concentraciones de alimento sobre el crecimiento, sobrevivencia, - eficiencia de crecimiento y maduración de éste crustáceo.

##### 4.1. Crecimiento.

De acuerdo a los datos experimentales obtenidos sobre el crecimiento de *A. franciscana* con diferentes raciones alimenticias se encontró un efecto notable de éstas sobre su crecimiento.

La Gráfica 1 muestra el crecimiento de *Artemia* para los tratamientos 1 a 6, con raciones diferentes de alimento desde  $0.1-8.4 \times 10^6$  células/*Artemia*/día durante 20 días de duración del experimento. Claramente se observa el efecto de la ración, obteniéndose tallas significativamente mayores conforme la ración aumenta; los tratamientos 1 y 2 con raciones más bajas de alimento presentaron las tallas finales más pequeñas con un rango de 3.5-4.1 mm de longitud total (LT) en comparación con el tratamiento 3 con  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día (Tabla IV-VI) este -

## CRECIMIENTO (T1-T6)



GRÁFICA 1. Crecimiento diario de *Artemia franciscana* expresado como su longitud total (mm) durante un período de 20 días, variando la cantidad de alimento desde 0.1 a  $8.4 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/ *Artemia*/día (Tratamiento 1 al 8= T<sub>1</sub>-T<sub>8</sub>) a una concentración constante de algas (400,000 células/ml).

		(a)								(b)								
		Número total de Artemias								Sobrevivencia diaria								
Temp. Per.	Temp.																	
(d)	(hrs)	(C)	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
0		27.0	90	100	100	100	100	50	100	50	94	97	100	100	100	100	100	100
1	30.0	27.5	85	97	100	100	100	50	100	50	88	93	98	100	99	98	93	90
2	21.3	27.3	75	90	98	100	99	49	99	45	89	93	83	98	98	80	96	91
3	23.5	27.0	67	56	87	98	87	39	95	41	64	92	90	100	99	87	90	100
4	24.0	27.6	58	53	78	98	96	38	86	41	96	91	91	96	96	98	72	93
5	26.3	28.0	56	48	71	94	92	37	25	38	98	97	100	99	100	97	96	100
6	22.3	27.9	55	47	71	93	92	36	24	38	94	95	90	98	98	100	96	98
7	23.0	27.8	52	45	64	91	90	36	23	37	96	100	95	99	100	97	100	100
8	22.0	27.1	50	45	61	90	90	35	23	37	100	95	97	97	97	97	100	97
9	25.3	27.3	50	43	59	87	87	34	23	36	91	96	91	98	99	100	100	100
10	25.0	27.5	44	41	54	85	86	34	23	36	72	100	100	100	100	98	100	100
11	25.0	28.0	32	21	54	85	86	33	23	36	85	100	98	100	90	100	95	100
12	23.0	27.3	26	21	53	85	78	33	22	36	75	90	92	100	73	98	96	81
13	28.3	27.5	19	20	49	85	60	32	21	29	92	75	100	93	76	100	100	89
14	19.0	28.0	24		49	79	54	32	21	26	71		90	95	50	88	74	39
15	23.0	27.5			45	75	37	27	16	10	95		83					
16					38						100		63					
17					28						71		21					
18					10						100							
19											80							
20																		
PROMS:	24.1	27.5	52.2	51.9	51.5	90.3	84.0	37.2	45.3	36.6	87	92	88	95	92	96	94	92

TABLA IV. Indica el número de Artemias (a) por día para cada tratamiento (T) durante los 20 días de duración del experimento, así como la sobrevivencia diaria porcentual (b); considerando la temperatura (°C) y el período (horas) durante el cual se suministró la ración correspondiente.

Racion por Artemia										
(millones de celulas/ind/dia)										
Time:	Per.:	Temp.:								
(d):	(hrs):	(°C):	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
0		27.0	---	---	---	---	---	---	---	---
1	30.0	27.5	0.10	0.23	0.56	1.40	3.51	8.77	1.07	5.53
2	21.0	27.3	0.11	0.24	0.57	1.40	3.53	8.87	1.08	3.72
3	23.5	27.0	0.12	0.31	0.61	1.42	3.58	10.05	1.16	4.11
4	24.0	27.6	0.08	0.22	0.53	1.33	3.43	8.62	1.02	3.53
5	26.3	28.0	0.05	0.22	0.54	1.30	3.44	8.66	1.45	3.39
6	22.3	27.9	0.09	0.22	0.56	1.40	3.51	8.91	4.07	3.53
7	23.0	27.8	0.09	0.22	0.54	1.39	3.47	9.07	4.07	3.45
8	22.0	27.1	0.08	0.23	0.55	1.40	3.51	3.20	4.17	3.45
9	25.3	27.3	0.08	0.21	0.55	1.38	3.45	8.91	4.17	3.48
10	25.0	27.5	0.08	0.22	0.54	1.39	3.49	9.07	4.17	3.53
11	25.0	28.0	0.07	0.22	0.57	1.40	3.51	9.17	4.17	3.53
12	23.0	27.3	0.09	0.21	0.56	1.40	3.32	9.07	4.05	3.53
13	25.3	27.5	0.08	0.21	0.54	1.40	2.92	8.96	4.20	3.15
14	19.0	28.0			0.57	1.35		9.07	4.29	3.33
15	23.0	27.5			0.53					
16					0.51					
17					-0.01					
18										
19										
20										
FROM:	24.1	27.5	0.1	0.2	0.5	1.3	3.2	3.4	2.9	3.3

TABLA V. Cantidad de alimento suministrado por *Artemia* en un día para cada tratamiento (T), durante los 20 días de duración del experimento.



Tiempo		Temperatura		Crecimiento (mm)															
(d)	(hrs)	(C)		T1	incr.	T2	incr.	T3	incr.	T4	incr.	T5	incr.	T6	incr.	T7	incr.	T8	incr.
0		27,0		0,50		0,50		0,50		0,50		0,50		0,50		0,50		0,50	
1	00,0	27,5																	
2	21,3	27,3		1,33	0,41	1,36	0,43	1,36	0,43	1,26	0,38	1,23	0,36	1,31	0,40	1,47	0,48	1,31	0,40
3	23,5	27,0																	
4	24,0	27,6		1,67	0,17	1,85	0,25	1,97	0,30	2,98	0,86	2,38	0,58	2,49	0,59	2,29	0,40	1,97	0,33
5	26,3	28,0																	
6	22,3	27,9		2,08	0,21	2,96	0,50	4,17	1,10	4,65	0,84	4,51	1,07	3,88	0,69	5,56	1,64	4,58	1,31
7	23,0	27,8																	
8	22,0	27,1		2,53	0,22	3,43	0,29	5,48	0,66	6,59	0,97	7,80	1,65	7,58	1,85	8,25	1,35	7,39	1,40
9	25,3	27,3																	
10	25,0	27,5		2,70	0,09	3,96	0,26	6,04	0,28	7,48	0,45	9,05	0,63	9,25	0,84	8,99	0,37	9,19	0,30
11	25,0	28,0																	
12	23,0	27,3		2,98	0,14	4,00	-0,02	6,00	-0,02	7,93	0,22	9,28	0,11	9,93	0,34	9,20	0,10	9,22	0,02
13	25,3	27,5																	
14	19,0	28,0																	
15	23,0	27,5		3,06	0,03	4,09	0,03	6,11	0,04	8,06	0,04	9,62	0,11	10,03	0,03	9,68	0,16	9,30	0,03
16																			
17																			
18																			
19																			
20				3,53	0,09			6,60	0,10										
PROM: 24,1 ; 27,5																			

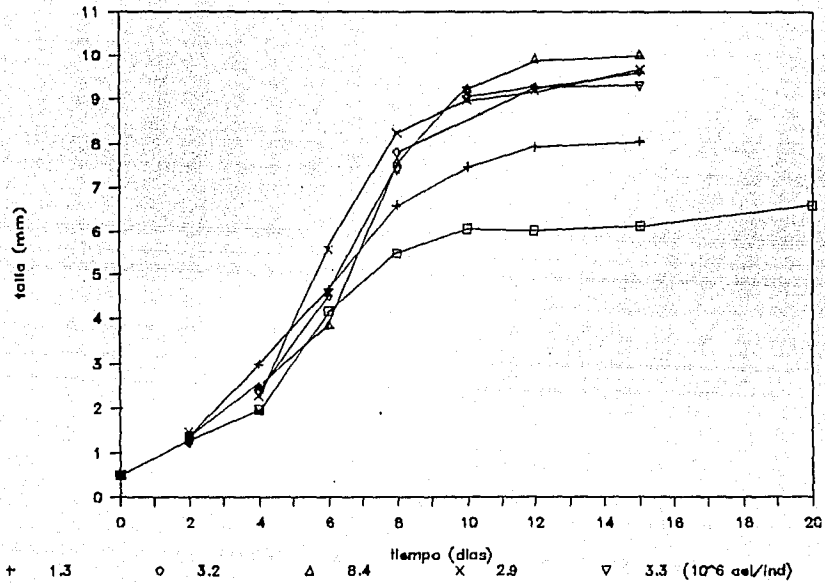
TABLA VI. Muestra el crecimiento de *Artemia* diario (Longitud total, mm) para cada tratamiento, así como su incremento por día durante los 20 días de duración del experimento.

efecto no fue significativo (prueba de Tukey con  $P > 0.01$ ); obteniéndose una talla máxima global de 10.03 mm de LT (tratamiento 6).

Al consultar la Tabla VI se puede observar a *grosso modo* que durante los primeros 4 días no hubo diferencias marcadas en el crecimiento entre tratamientos, sin embargo, el efecto de diferentes raciones sobre el crecimiento se estableció entre el 4º y 8º día. En este período (1.6-8.3 mm) la tasa de crecimiento es máxima y corresponde al desarrollo total de los toracópodos, lo cual incrementa su capacidad filtradora y consecuentemente su eficiencia de alimentación.

En la Gráfica 2 se aprecia el crecimiento de nauplios de *Artemia* - alimentados con una cantidad constante de algas de  $3.0 \times 10^6$  células/individuo/día, aproximadamente (tratamientos 5, 7 y 8) a tres distintas - concentraciones (0.1, 0.4 y  $1 \times 10^6$  células/ml). En éstos se presentó un crecimiento similar aunque la concentración de alimento fuera distinta. Por consiguiente, se descarta el efecto de por lo menos estas concentraciones, sobre el crecimiento de *A. franciscana*. También se incluyen datos de los tratamientos 4 y 6 con fines comparativos.

## CRECIMIENTO (T3-T8)



GRAFICA 2. Crecimiento diario de *Artemia franciscana* expresado como su longitud total (mm) durante un período de 20 días, variando la concentración de alimento de 0.1, 0.4 y  $1 \times 10^6$  células/ml con una cantidad constante aproximada de algas ( $3 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/Artemia/día). Tratamientos 3 al 8= T<sub>3</sub>-T<sub>8</sub>.

#### 4.1.1. Tasa de ingestión.

La Tabla VII y Gráficas 3 y 4 muestran la cantidad de alimento ingerido o tasa de ingestión (ti) y la talla de *Artemia* en los distintos tratamientos.

La tasa de ingestión de *Artemia* se incrementó conforme ésta crecía, alcanzando un valor máximo en cada tratamiento equivalente al máximo suministrado. Los tratamientos 1 al 3 ( $0.1-0.5 \times 10^6$  células/individuo/día) tuvieron una tasa de ingestión baja y constante a lo largo del experimento, sin embargo, para los tratamientos 4 al 8 ( $1.3-8.4 \times 10^6$  células/individuo/día) la tasa de ingestión se incrementó sustancialmente conforme crecieron las Artemias de acuerdo a las distintas raciones. La tasa de ingestión máxima globalmente correspondió al tratamiento 6 con  $8.4 \times 10^6$  células/individuo/día que siempre fueron cantidades en exceso de la capacidad de ingestión de *Artemia* de las tallas observadas.

Los tratamientos 5, 7 y 8 presentaron tasas de ingestión similares aún cuando la concentración de alimento fue considerablemente diferente, No hubo, por consiguiente, efecto de la concentración de alimento sobre la tasa de ingestión a ración constante.

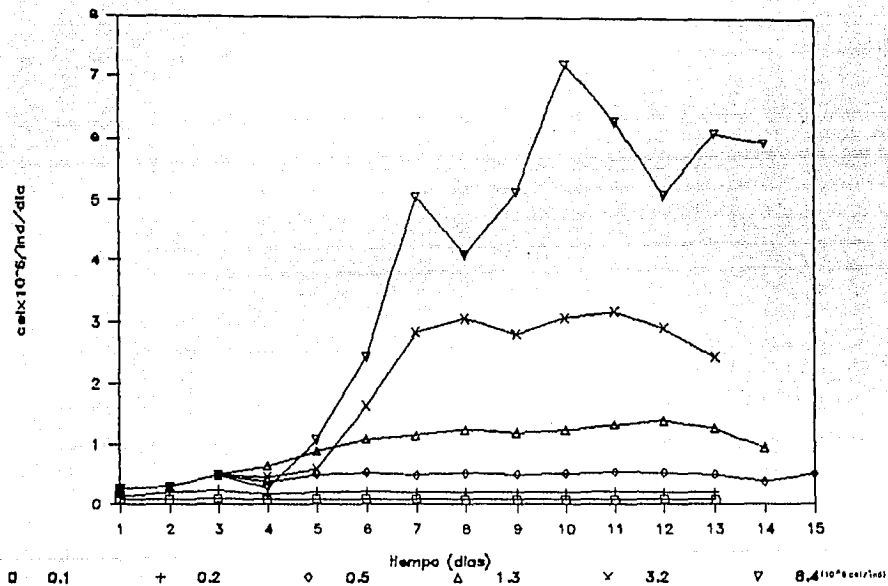
Además se relacionó las tasas de ingestión máximas observadas con

Tiempo (d)	Per. (hrs)	Temp. (C)	Sobrevivencia acumulativa %								Tasa de ingestión diaria por <i>Artemia</i> (millones de células/ind/día)							
			T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
0		27.0	94	97	100	100	100	100	100	100	---	---	---	---	---	---	---	
1	30.0	27.5	83	90	98	100	99	98	99	90	0.08	0.12	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	
2	21.3	27.3	74	56	87	96	97	78	95	82	0.08	0.20	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	
3	23.5	27.6	64	53	76	98	96	75	86	82	0.05	0.23	0.45	0.45	0.49	0.49	0.49	
4	24.0	27.6	61	48	71	94	92	73	82	76	0.07	0.17	0.37	0.63	0.46	0.27	0.65	
5	26.3	28.0	66	47	71	93	92	71	96	76	0.08	0.21	0.50	0.88	0.58	1.08	1.50	
6	22.3	27.9	56	45	64	91	90	71	97	74	0.09	0.22	0.53	1.10	1.65	2.45	2.34	
7	23.6	27.8	53	45	61	90	90	69	97	74	0.08	0.20	0.49	1.16	2.86	5.08	3.15	
8	22.0	27.1	53	43	59	87	87	67	97	72	0.08	0.21	0.52	1.25	3.03	4.12	2.65	
9	25.3	27.3	49	41	54	85	86	67	97	72	0.07	0.20	0.50	1.20	2.83	5.15	3.03	
10	25.0	27.5	35	41	54	85	86	66	97	72	0.07	0.20	0.51	1.25	3.10	7.21	4.31	
11	25.6	28.0	36	41	53	85	78	66	94	72	0.07	0.22	0.54	1.24	3.19	6.30	4.07	
12	23.0	27.3	22	37	49	85	57	64	92	58	0.09	0.20	0.50	1.41	2.94	5.11	3.56	
13	22.3	27.5	20	28	49	79	43	64	92	52	0.07	0.20	0.49	1.28	2.46	6.12	3.43	
14	19.0	28.0	14		44	75	22	56	99	20			0.39	0.96		5.97	1.84	
15	23.0	27.5	8		37								0.51					
16			3		23													
17			6		5													
18			6															
19			5															
20			0															

PRONGS: 24.1 ; 27.5 ;

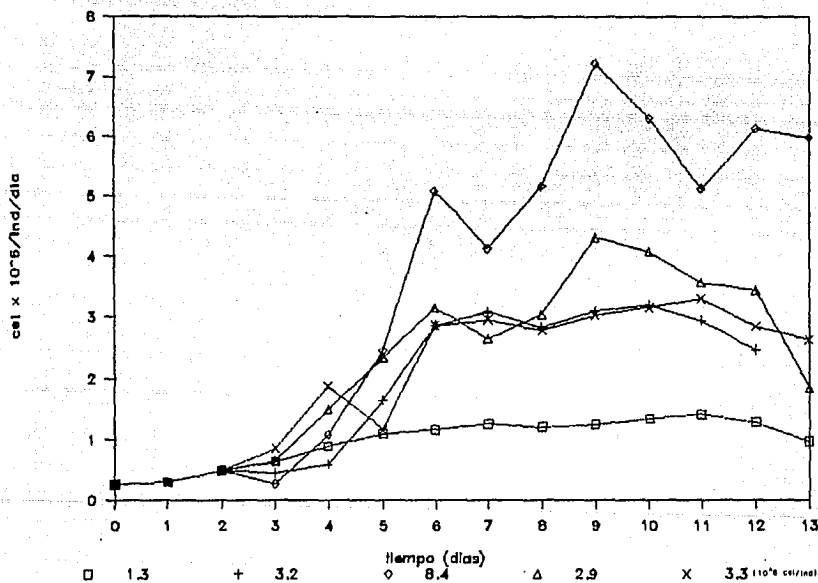
TABLA VII. Indica (a) la sobrevivencia acumulativa y (b) la tasa de ingestión diaria por *Artemia*, para cada tratamiento (T) durante los 20 días de duración del experimento.

### TASA DE INGESTION (T1-T6)



GRAFICA 3. Relación entre la tasa de ingestión y la longitud total (mm) de *Artemia franciscana* manteniendo una cantidad de alimento desde 0.1 a  $8.4 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día (Tratamiento 1 al 6= T<sub>1</sub>-T<sub>6</sub>) a una concentración constante de algas (400,000 células/ml) durante un período de 15 días.

## TASA DE INGESTION (T4-T8)



GRAFICA 4. Relación entre la tasa de ingestión y la longitud total (mm) de *Artemia franciscana* manteniendo una cantidad de alimento constante aproximada de  $3 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día (Tratamientos 5, 7 y 8) y variando la concentración de algas desde 0.1, 0.4 y  $1 \times 10^6$  células/ml, durante un período de 13 días.

el tamaño de *Artemia* correspondiente, expresadas en peso seco (Gráfica 5) y se calculó la ecuación de regresión de los datos del tratamiento 6 y el tamaño de *Artemia* expresada en log (peso seco, microgramos), siendo la siguiente ecuación:

$$\text{tasa de ingestión máxima} \\ (\text{mg peso seco/día}) = 609.5 \times [1 - e^{(-0.0075 \times \text{peso seco (mg)})}]$$

ecuación (2)

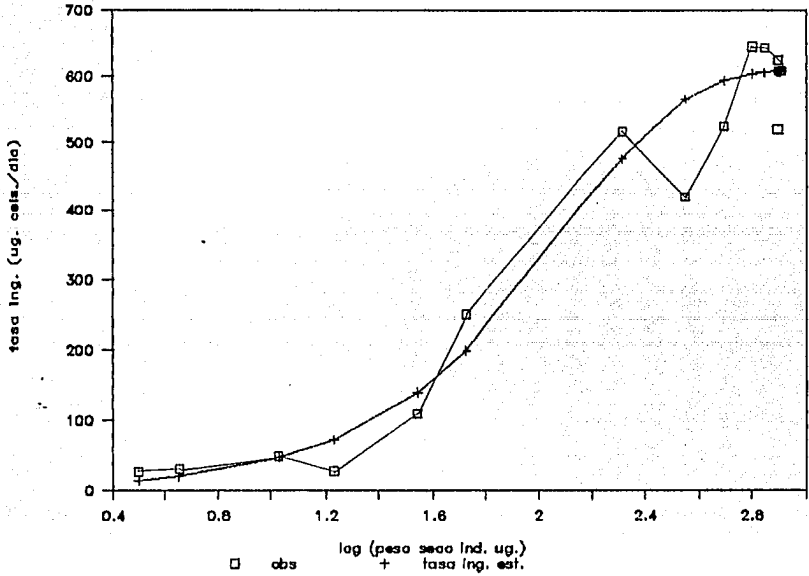
La similitud entre la tasa de ingestión observada y calculada (Gráfica 5) sugiere la capacidad predictiva de la ecuación de máxima tasa de ingestión contra tamaño en *Artemia*.

#### 4.1.2. Sobrevivencia.

En *Artemia* se aprecia una variación de su sobrevivencia a lo largo de su crecimiento para cada ración alimenticia suministrada (Gráfica 6 y 7). En la Tabla VII y Gráfica 8 se observa una relación entre la sobrevivencia y la ración alimenticia; se obtuvo una sobrevivencia máxima con los tratamientos 4 y 5 ( $1.3$  y  $3.2 \times 10^6$  células/individuo/día, respectivamente), con tendencia a disminuir tanto a mayores como a menores raciones.



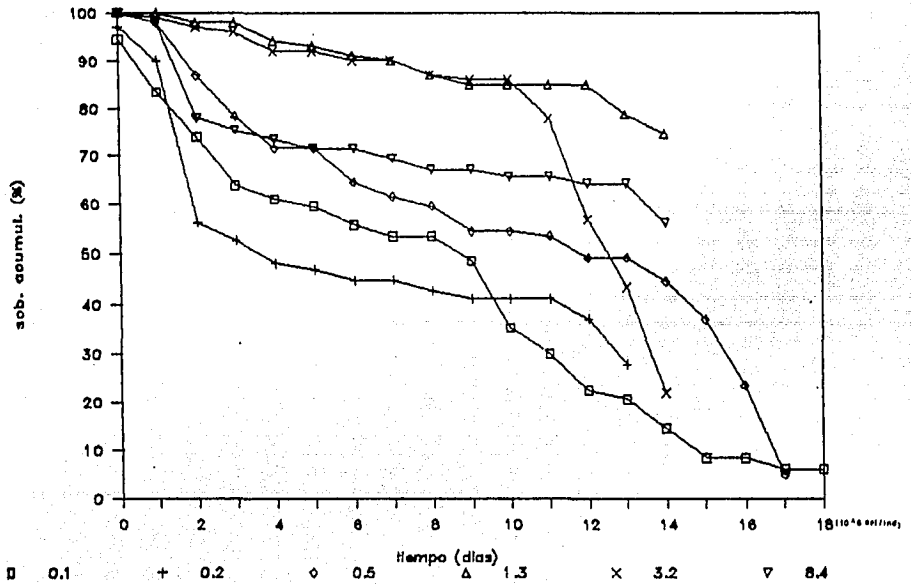
## TASA DE INGESTION MAX. VS PESO SECO



GRAFICA 5. Tasas de ingestión celular máximas observadas en *Artemia franciscana* (células  $\times 10^6$ /individuo/día), en correspondencia con el peso seco (mg peso seco de *Artemia*/día) con las distintas raciones alimenticias.

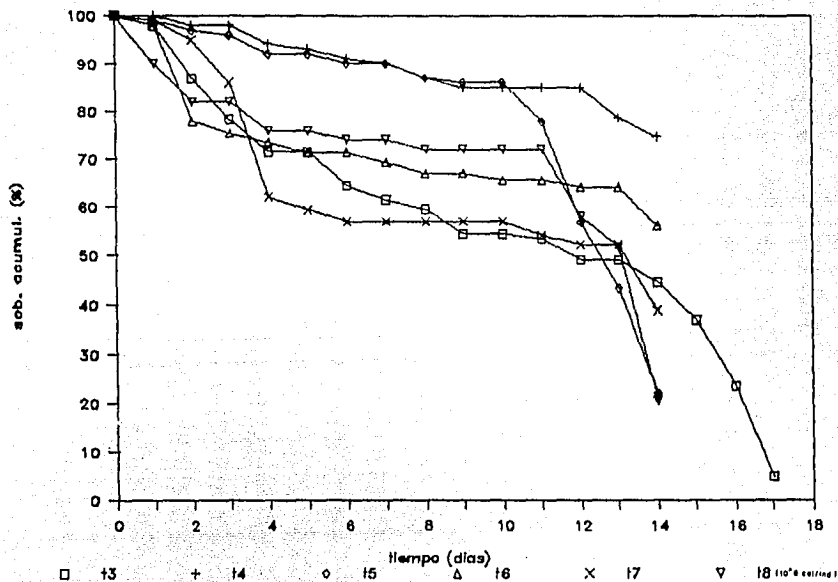
ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

### SOBREVIVENCIA (T1-T6)



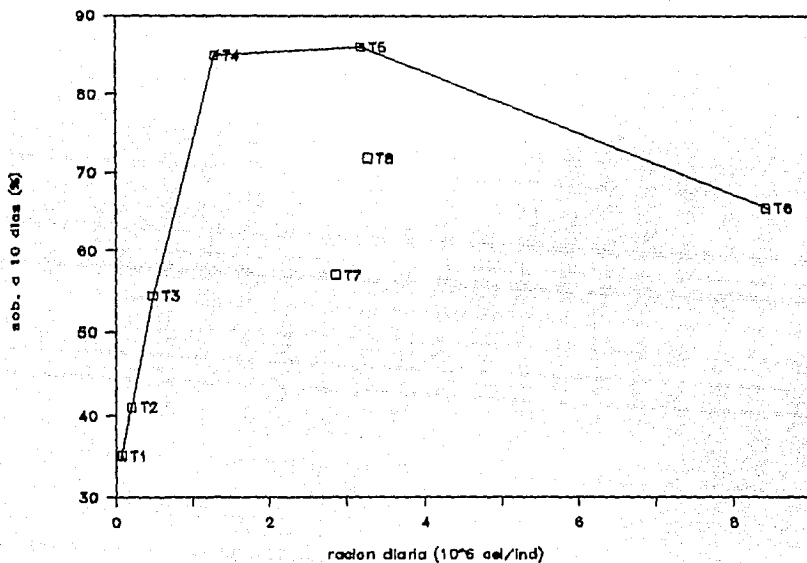
GRAFICA 6. Efecto de las distintas raciones de alimento sobre la sobrevivencia acumulativa (%) en *Artemia franciscana*, durante un periodo de 18 días. Tratamientos 1 al 8 = T<sub>1</sub>-T<sub>8</sub>.

## SOBREVIVENCIA (T3-T8)



GRAFICA 7. Efecto de la concentración de alimento sobre la sobrevivencia acumulativa (%) en *Artemia franciscana*, durante un período de 18 días. Tratamiento 3 al 8 = T<sub>3</sub>- T<sub>8</sub>.

## EFECTO DE RACION SOBRE SOBREVIVENCIA



GRAFICA 8. Relación entre la sobrevivencia acumulativa (%) a los 10 días de crecimiento en *Artemia franciscana* y la ración de alimento suministrada. Tratamiento 1 al 8= T<sub>1</sub>-T<sub>8</sub>.

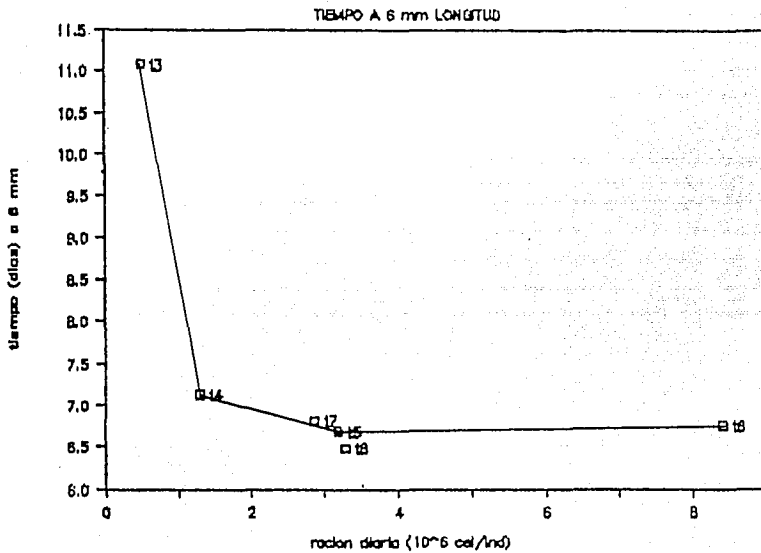
Los tratamientos 7 y 8 en comparación con el tratamiento 5 muestran que aunque tienen una ración similar de alimento, si hay un efecto de la concentración de éste sobre la sobrevivencia. El tratamiento 7 - con menor concentración presentó menor sobrevivencia con respecto de los otros 2 tratamientos alimentados con aproximadamente  $3 \times 10^6$  células/individuo/día.

#### 4.1.3. Maduración.

Durante el experimento se encontró una relación entre la cantidad de alimento y el tiempo requerido para alcanzar la talla de 6 mm de longitud total que puede considerarse como una aproximación del punto de maduración sexual en *Artemia* (Wear y Hasslet, 1986).

Los tratamientos 4 al 8 con raciones altas ( $1.3-8.4 \times 10^6$  células/individuo/día) muestran que dicha talla promedio se alcanzó en un tiempo - significativamente menor, entre el 6º y 7º día (Gráfica 9), en comparación con los tratamientos 1 al 3 con bajas raciones. El tratamiento 3 ( $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día) presentó esta talla promedio hasta el 11º día. Los resultados de los tratamientos 1 y 2 no se muestran en la Gráfica 9 debido a que no pudieron alcanzar 6 mm de LT promedio, en el -

## EFFECTO DE RACION SOBRE MADURACION



GRAFICA 9. Relación entre las distintas raciones de alimento y el tiempo (días) en donde se alcanza la talla de 6 mm.

período de duración del experimento (Tablas VIII y IX).

Al observar los tratamientos 5, 7 y 8 puede apreciarse que la concentración no tuvo efecto sobre la maduración.

#### 4.1.4. Eficiencia de crecimiento.

De acuerdo a la relación que existe entre el peso seco y la longitud total en *Artemia* según datos de Reeve (1963, a) se convirtieron las tallas a peso seco y así fue computada la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) en este trabajo. El peso seco del alga *Dunaliella tertiolecta* se determinó en el laboratorio durante este estudio y correspondió a -- 102 mg peso seco/millón de células.

En las Tablas VIII-XI se indican los valores de  $K_1$  para cada tratamiento, así como la conversión de la longitud total de *Artemia* a peso seco (mg) y el alimento ingerido/individuo/día también en peso seco (mg). En todos los tratamientos, se observa un cambio en la  $K_1$  en *Artemia* durante su desarrollo. Este cambio puede apreciarse a manera de ejemplo en la Gráfica 10 para el tratamiento 4 ( $1.3 \times 10^6$  células/individuo/día), en donde se observa que la eficiencia de crecimiento bruta se incrementa en relación al crecimiento del organismo hasta alcanzar una  $K_1$  máxima.

		T1					T2									
		talla		pesc		alim			talla		pesc		alim			
tiempo	Per. (d)	Temp. (C)	talla prom	talla prom	talla prom	pesc seco (microg)	incret en (microg)	inger /indiv (microg acumulat)	efic (%)	talla prom	talla prom	talla prom	pesc seco (microg)	incret en (microg)	inger /indiv (microg acumulat)	efic (%)
0		27,0	0,50			1,8	---			0,50			1,8	---		
1	30,0	27,5														
2	31,3	27,3	1,33			4,7	2,8	16,35	17,4	1,36			4,8	3,0	32,98	9,2
3	23,5	27,0														
4	24,0	27,6	1,67			7,1	2,4	16,92	14,4	1,85			8,7	3,9	41,06	9,5
5	26,3	28,0														
6	22,3	27,9	2,08			11,2	4,2	17,47	23,8	2,86			23,9	15,2	43,27	35,0
7	25,0	27,8														
8	22,0	27,1	2,53			17,7	6,4	16,24	39,7	3,43			38,1	14,2	40,98	34,7
9	25,3	27,3														
10	25,0	27,5	2,70			20,7	3,0	15,01	20,2	3,96			56,0	17,8	40,35	44,2
11	25,0	28,0														
12	23,0	27,3	2,98			25,5	5,8	15,93	35,3	4,00			57,5	1,5	42,74	3,6
13	25,3	27,5														
14	19,0	28,0														
15	23,0	27,5	3,06	6,10		28,3	7,6			4,09			61,1	3,6		
16																
17																
18																
19																
20			3,53	5,20	6,98	41,1	12,8									
: PROMOS :		24,1	27,5						25,28							22,70

**TABLA VIII.** Muestra la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ , %) promedio en *Artemia franciscana* --- diaria para los tratamientos 1 y 2 con  $0.1$  y  $0.2 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta* individuo/día respectivamente. Señalando la talla promedio (LT, mm), su peso seco correspondiente (mg) y el alimento ingerido por *Artemia* (mg) diariamente, durante los 20 - días de duración del experimento.





=====																	
T5							T6										
						alim						alim					
						ingr						ingr					
Temp:	Per. :	Temp. :	talla	talla	talla	peso	incred	ingr	efic :	talla	talla	talla	peso	incred	ingr	efic :	
td :	(hrs)	(C)	prom	prom	prom	saco	en	/indiv	fi	prom	prom	prom	saco	en	/indiv	fi	
						microg		microg		%		microg		microg		%	
						ma		ha		ma		ha		ma		ha	
=====																	
0 :		27.0 :	0.50			1.8	---			0.50			1.8	---			
1 :	36.0 :	27.5 :															
2 :	24.3 :	27.3 :	1.20			4.1	2.3	36.56	4.0	1.51			4.5	2.7	56.56	4.6	
3 :	23.5 :	27.0 :															
4 :	24.0 :	27.6 :	2.38			15.3	11.2	96.01	11.7	2.49			17.0	12.5	76.59	16.3	
5 :	26.3 :	26.0 :															
6 :	22.3 :	27.3 :	4.51			30.0	64.7	228.31	28.3	3.88			32.3	35.3	360.49	10.0	
7 :	23.0 :	27.0 :															
8 :	22.0 :	27.1 :	7.80			36.0	305.9	605.65	50.5	7.58			354.9	302.0	938.12	32.2	
9 :	25.3 :	27.3 :															
10 :	25.0 :	27.5 :	9.05	3.60	3.50	536.5	210.9	604.52	34.3	9.25	3.40	10.10	636.4	281.5	1261.20	22.3	
11 :	25.0 :	26.0 :															
12 :	23.0 :	27.3 :	9.28	3.63	10.08	642.5	45.6	625.70	7.3	9.93	3.30	11.16	733.5	147.1	1164.56	12.6	
13 :	25.3 :	27.5 :															
14 :	19.0 :	28.0 :															
15 :	23.0 :	27.5 :	9.62	3.03	10.32	714.0	71.5			10.03	5.20	9.75	805.9	170.5			
16 :																	
17 :																	
18 :																	
19 :																	
20 :																	
=====																	
FROM:		24.1 :	27.5 :														
=====																	
										22.79 :							
=====																	

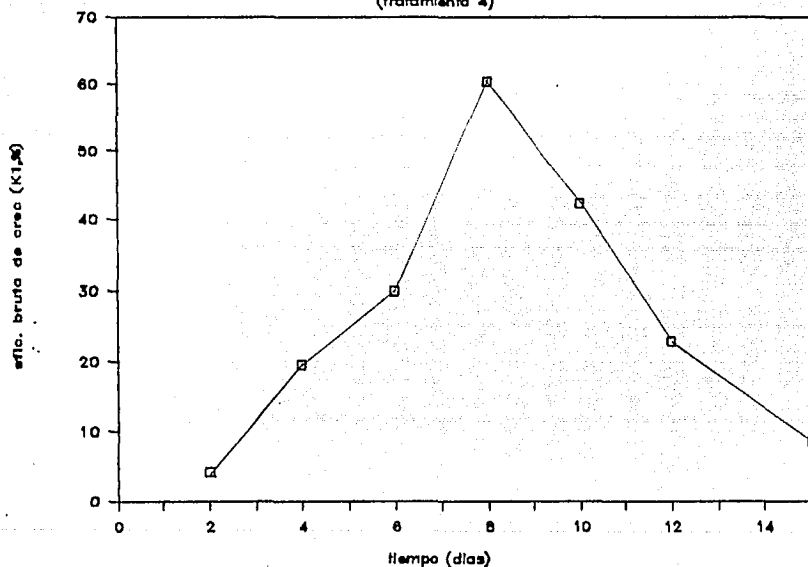
TABLA X. Muestra la eficiencia de crecimiento bruta ( $K$ , %) promedio en *Artemia franciscana* diaria para los tratamientos 5 y 6 con  $3.2$  y  $8.4 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/indiv duo/día respectivamente. Señalando la talla promedio (LT, mm), su peso seco (mg) correspondiente y el alimento ingerido por *Artemia* (mg) diariamente, durante los 20 días de duración del experimento.

		T7							T8									
		alim							alim									
		pese increm inger							pese increm inger									
Temp:	Per:	Temp:	talla	talla	talla	seco	en	/indiv	efic	talla	talla	talla	seco	en	/indiv	efic		
(d)	(hrs)	(C)	prom	prom	prom	prom	pese	(microg)	K1	prom	prom	prom	prom	pese	(microg)	K1		
		ma		han		(microg)		acumulat (%)		ma		han		(microg)		acumulat (%)		
0		27.0	0.50				1.8	---					0.50				1.8	---
1	30.0	27.5																
2	21.7	27.3	1.47				5.6	3.7	56.56	5.6	1.31			4.5	2.7	56.56	4.8	
3	25.5	27.0																
4	24.0	27.6	2.28				13.8	8.3	116.06	7.1	1.97			10.0	5.5	136.17	4.0	
5	26.3	28.0																
6	22.3	27.9	5.56				144.5	100.6	390.34	33.4	4.58			33.5	73.5	303.92	23.7	
7	25.0	27.6																
8	22.0	27.1	8.25	8.06	8.44	454.9	310.4	591.19	52.5	7.39	7.40	7.63	329.5	246.0	593.03	41.5		
9	25.5	27.3																
10	25.0	27.5	8.79	9.23	8.55	585.3	330.4	743.57	17.4	9.19	7.90	3.74	624.4	294.8	592.18	49.8		
11	25.0	28.0																
12	23.0	27.3	9.20	8.40	10.05	625.4	41.0	773.69	5.3	9.22	8.65	9.50	630.4	5.0	657.49	0.9		
13	29.3	27.5																
14	19.0	28.0																
15	23.0	27.5	9.66	9.20	10.16	727.1	100.8			9.30	8.90	5.67	646.6	16.2				
16																		
17																		
18																		
19																		
20																		
PROM:	24.1	27.5								20.40								20.79

TABLA XI. Muestra la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ,%) promedio en *Artemia franciscana* diaria para los tratamientos 7 y 8 con  $2.9$  y  $3.3 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día respectivamente. Señalando la talla promedio (LT,mm), su peso seco (mg) correspondiente y el alimento ingerido por *Artemia* (mg) diariamente, durante los 20 días de duración del experimento.

## EFICIENCIA DE CRECIMIENTO (K<sub>1</sub>)

(tratamiento 4)



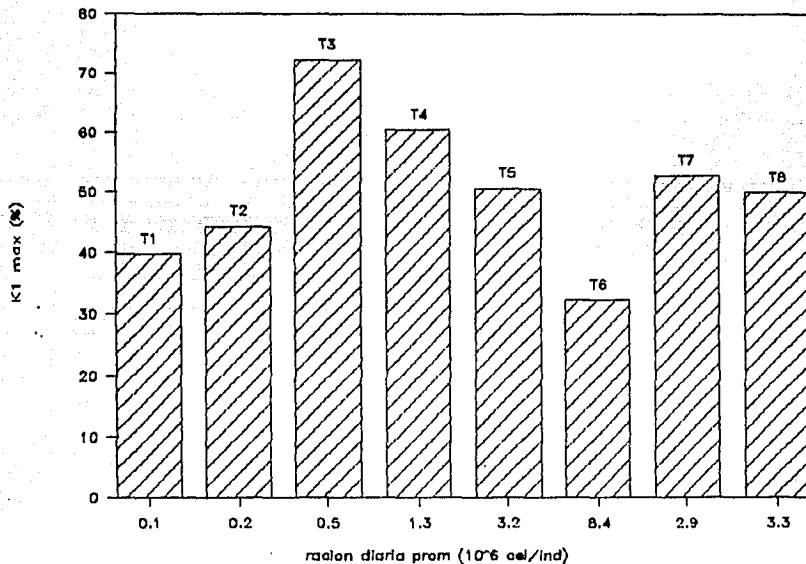
GRAFICA 10. Eficiencia de crecimiento bruta (K<sub>1</sub>, %) diaria en *Artemia franciscana* para la ración de  $1.3 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día durante un período de 14 días.

En éste caso correspondió a 60% para el período entre el 6º y 8º día, de creciendo posteriormente con el tiempo. El período que abarca la  $K_1$  máxima corresponde también a la etapa con la máxima tasa de crecimiento - (Gráfica 1).

El valor más alto de eficiencia de crecimiento bruta fue mayor en las raciones intermedias ( $0.5$  y  $1.3 \times 10^6$  células/individuo/día) tratamientos 3 y 4 respectivamente (Gráfica 11). Esto indica que al incrementarse o disminuirse la ración de  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día se obtiene una reducción en la eficiencia de utilización del alimento para el crecimiento. Entre todos los tratamientos, el mayor valor de  $K_1$  máxima fue de 72.2% (Tratamiento 3, Gráfica 11).

Al observar la Gráfica 11, se puede apreciar que prácticamente la  $K_1$  fue similar para los tratamientos 5, 7 y 8 con diferentes concentraciones de alimento, es decir, no hubo efecto de la concentración sobre la eficiencia de crecimiento bruta.

## RACION VS. KI MAXIMA OBSERVADA



GRAFICA 11. Eficiencias de crecimiento brutas máximas ( $K_1$ , %) en *Artemia franciscana* con diferentes raciones alimenticias.

## 5. DISCUSION.

En el presente trabajo pudo observarse que, en general, el rango de concentraciones iniciales de alimento ( $0.1-1.0 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/ml) empleadas a ración constante no afectó el crecimiento, la tasa de ingestión, la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) y la maduración en *Artemia franciscana*. Esto se debe probablemente, a que la ración (células de *D. tertiolecta*/*Artemia*/día) y no la concentración de alimento juega el papel determinante que define la cantidad de energía destinada al crecimiento y maduración de este crustáceo.

De esta manera pudo apreciarse que la ración de alimento suministrado afectó marcadamente el crecimiento de este organismo, obteniéndose incrementos conforme la ración era mayor tanto en la tasa de crecimiento como en la talla final alcanzada en el intervalo de tiempo observado. Al incrementarse el tamaño del organismo fue mayor su requerimiento y su capacidad para filtrar el alimento. Los resultados anteriores concuerdan con lo reportado por Mason (1963) para *A. salina*.

En la mayoría de los tratamientos la tasa de crecimiento fue máxima en el período comprendido entre el 6º y 8º día. En este período (5-8 mm de longitud total) se llega a la diferenciación total de los 11 toracópodos

(aproximadamente 7 mm de LT); que le confiere al organismo una capacidad mayor para la filtración aumentando considerablemente ésta cuando los 11 pares de toracópodos están totalmente desarrollados, lo cual ocurre en el estadio 12 aproximadamente a los 10 mm de LT (Shrehardt, 1987).

En experimentos de crecimiento realizados por Reeve (1963, b) trabajando con *A. salina* reporta que la tasa de ingestión deja de incrementarse arriba de cierta concentración de alimento y menciona que esta tasa de ingestión máxima corresponde a una tasa de crecimiento máxima como consecuencia de que hay una mayor cantidad de alimento digerido por unidad de tiempo. Por arriba de éste nivel alimenticio el paso del alimento por el intestino es muy rápido y esto hace que haya una disminución en la eficiencia de digestión.

Lo anteriormente señalado coincide con los resultados obtenidos durante este estudio, ya que *Artemia* incrementa su tamaño y por consecuencia su tasa de ingestión de acuerdo con la disponibilidad de alimento, -- obteniéndose una tasa máxima de ingestión (aproximadamente 600 mg/individuo/día, Tabla X) con el Tratamiento 6 donde se suministró  $8.4 \times 10^6$  células/individuo/día o sea 858 mg/individuo/día. En este tratamiento se registró la máxima talla final de 10.03 mm de LT aunque cuando se compara con la talla obtenida de 9.62 mm de LT en el tratamiento 5 con menor ración ( $3.2 \times 10^6$  células/individuo/día) no fue significativamente diferen-



te de acuerdo a la prueba de Tukey. Sin embargo, en los tratamientos 1 y 2 con raciones más bajas ( $0.1$  y  $0.2 \times 10^6$  células/individuo/día respectivamente), la talla final alcanzada fue de  $3.5$  y  $4.1$  mm de LT para cada tratamiento. Probablemente es debido a que el alimento ingerido sólo provee la energía necesaria para el mantenimiento biológico y mínimamente para el crecimiento pero no así para la maduración.

Al relacionar las tasas de ingestión máximas observadas y calculadas con el tamaño de *Artemia* expresado en peso seco, es evidente la capacidad predictiva de la ecuación de máxima tasa de ingestión contra el tamaño de *Artemia* (Gráfica 5). Una relación muy similar fue descrita por Brune y Anderson (1984) para el mismo organismo alimentado con *Phaeodactylum tricornutum*.

Con respecto a la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) observada en este crustáceo durante cada tratamiento, se aprecian incrementos de la  $K_1$  en relación a aumentos de la talla hasta un valor máximo después del cual decrece (Gráfica 10 y Tablas VIII-XI). La variación de la  $K_1$  en el desarrollo de *Artemia* refleja los cambios en su capacidad de incorporación de alimento a tejido corporal, existiendo una relación entre la  $K_1$  máxima y la tasa de crecimiento máxima correspondiendo éstas al desarrollo total de los toracópodos.

Esta  $K_1$  máxima muestra una tendencia a decrecer en las más altas -- cantidades de alimento, como ha sido reportado en los trabajos realizados por Mason (1963), Reeve (1963, a) y Nimura (1980). Así mismo en éstos - encuentran variaciones en la  $K_1$  en relación al tamaño de este crustáceo; lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo. Los valores más altos de  $K_1$  máxima correspondieron a los tratamientos 3 y 4 con raciones intermedias de alimento ( $0.5$  y  $1.3 \times 10^6$  células/individuo/día - respectivamente); la mayor  $K_1$  máxima (72%) se obtuvo con el tratamiento 3. En base a las observaciones hechas por Reeve (1963, c) y Mason (1963) lo señalado arriba puede estar relacionado si se considera que con menores - cantidades de alimento, el alimento ingerido permanece más tiempo en el - intestino propiciando con ello una mayor eficiencia digestiva y como consecuencia posible una mayor eficiencia de crecimiento.

Considerando la talla de 6 mm de *Artemia* como indicadora del inicio de la madurez sexual (Wear y Hasslet, 1986), se puede estudiar cuantitativamente el efecto de la cantidad de alimento sobre la tasa de maduración. Los tratamientos 1 y 2 con raciones demasiado bajas presentaron una talla final menor a los 6 mm. El tratamiento 3 presentó una talla final de -- 6.98 mm de LT hasta el 11º día, lo cual refleja que aunque la maduración puede alcanzarse, ésta se logró en mayor tiempo en comparación con los tra tamientos 4-8, los cuales alcanzaron la maduración aproximadamente entre el 6º y 7º día.

Como consecuencia de lo discutido anteriormente se puede apreciar - que arriba de la ración de  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día (tratamiento 3) la  $K_1$  decrece al igual que los tiempos de maduración pero no así la talla final alcanzada, siendo éstas mayores conforme la ración era mayor. De la misma manera Reeve (1963, b) reporta para este organismo tallas mayores con tiempos de maduración menor, que se relacionan con valores bajos de  $K_1$  y concentraciones bajas de alimento.

Al variar la ración alimenticia la sobrevivencia de *A. franciscana* se afectó, obteniéndose una sobrevivencia máxima con los tratamientos 4 y 5 ( $1.3$  y  $3.2 \times 10^6$  células/individuo/día, respectivamente) con tendencias a disminuir tanto a mayores como a menores raciones. Casi siempre el alimento es uno de los factores críticos en la sobrevivencia de cualquier especie (Wynne-Edwards, 1962), lo cual explica que al incrementarse la ración hay mayor disponibilidad de alimento para satisfacer todas las demandas energéticas para el crecimiento. Sin embargo, la acumulación de desechos metabólicos en el medio tanto de las algas como de las Artemias en condiciones de exceso de alimento es uno de los factores que influye negativamente en la sobrevivencia.

Retomando lo anterior, al comparar los tratamientos 5, 7 y 8 con raciones similares (aproximadamente  $3.0 \times 10^6$  células/individuo/día) pero - con diferentes concentraciones ( $0.4$ ,  $0.1$  y  $1.0 \times 10^6$  células/ml, respectiva

mente) puede apreciarse que el tratamiento 8 presentó menor sobrevivencia con respecto al tratamiento 5, lo cual indica que aunque *Artemia* puede ingerir altas cantidades de alimento a tal concentración, hay una mayor mortandad probablemente por una mayor acumulación de desechos metabólicos de las algas y de la propia *Artemia*.

Comparativamente, entre estos tres tratamientos el tratamiento 7, con menor concentración presentó menor sobrevivencia debido tal vez a que éste crustáceo gastó mayor energía para ingerir una misma cantidad de alimento comparativamente con la del tratamiento 5 en un volumen mayor de medio, y en consecuencia su sobrevivencia fue afectada desfavorablemente.

Los resultados obtenidos en este estudio tienen una aplicación relevante en la acuicultura de *Artemia* y su uso en el de camarón, ya que permite visualizar estrategias alternativas de acuerdo a las condiciones de cultivo. Específicamente si uno desea adultos de Artemias lo más rápido posible sin importar el costo de su alimentación entonces la ración a suministrar debe ser relativamente mayor. Es decir, para obtener una talla promedio de 10 mm de LT en 15 días a 28°C y 35ppm es necesario suministrar aproximadamente  $3 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/individuo/día. Sin embargo, si lo que se desea es optimizar los costos de producción del alimento es imprescindible utilizar raciones menores para obtener eficiencias de crecimiento mayores.

Otra estrategia para maximizar costos de producción del cultivo de camarón, es producir nauplios a partir de Artemias adultas cultivadas, - por lo cual es importante conocer y optimizar la sobrevivencia y la maduración sexual de este organismo. Bajo condiciones experimentales de este trabajo, las raciones de alimento que proporcionaron mejores resultados tanto de tasa de crecimiento y maduración fueron entre  $3 \text{ y } 8 \times 10^6$  - células/*Artemia*/día que corresponden a los tratamientos 5 y 6.

Debido a que existen pocos trabajos relacionados con la alimentación de *Artemia* sería conveniente ampliar los resultados obtenidos en esta investigación para optimizar este recurso como fuente alimenticia en el cultivo de camarón.

## 6. CONCLUSIONES.

- i) Las concentraciones usadas de alimento ( $0.1$ ,  $0.4$  y  $1.0 \times 10^6$  células de *Dunaliella tertiolecta*/ml) no afectan el crecimiento, la eficiencia de crecimiento bruta ( $K_1$ ) y la maduración de *Artemia franciscana* a raciones constantes ( $3.0 \times 10^6$  células/individuo/día).
- ii) La ración (células de *D. tertiolecta*/Artemia/día) tiene un efecto directo sobre el crecimiento,  $K_1$ , maduración y sobrevivencia, manifestándose en forma diferente en cada uno de estos parámetros:
- a) La tasa de crecimiento y la talla final aumentan con incrementos en la ración alimenticia, comprendiendo ésta desde  $0.1 \times 10^6$  hasta  $3.2 \times 10^6$  células/individuo/día.
  - b) La ración equivalente a  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día presentó el óptimo de conversión de fitoplancton (*D. tertiolecta*) a biomasa de *Artemia* ( $K_1$ ).
  - c) La maduración no se obtiene cuando se proporcionan raciones menores a  $0.5 \times 10^6$  células/individuo/día.
  - d) La sobrevivencia óptima se obtuvo con raciones intermedias entre  $1.3$  y  $3.2 \times 10^6$  células/individuo/día, disminuyendo tanto a mayores como a menores raciones.

LITERATURA CITADA.

BARKER-JØRGENSEN, C. 1966. Feeding 69-133. In: Marine Biology III. Proceedings 3rd International Interdisciplinary Conference on Marine Biology. Edmondson, W.T. (Ed.). New York Acad. of Scie., Interdisc. Communications Program, N. Y., USA, Academy of Sciences, Interdisciplinary, 313 pp.

BARIGOZZI, C. 1980. Genus *Artemia*: Problems of systematics: 147-153. In: The brine shrimps *Artemia*. Vol. I. Morphology, Genetics, Radiobiology, toxicology. Persoone, G; Sorgeloos, P.; Roels, O.; Jaspers, E. (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium, 345 pp.

BOND, R.M. 1933. A contribution to the study of the natural food cycle - in aquatic environments with particular consideration of microorganisms and dissolved organic matter. Bull. Bingham Oceanogr. Coll. 4 (4): 1-89.

BOWEN, S.T.; DURKIN, J.P.; STERLING, G.; CLARK, L.S. 1978. *Artemia* hemoglobins: genetic variation in parthenogenetic and zygogenetic populations. Biol. Bull., 155: 273-287.

- BOWEN, S.T.; STERLING, G. 1978. Esterease and malate dehydrogenase isozyme polymorphisms in 15 *Artemia* populations. *Comp. Biochem. Physiol.*, - 61B: 593-595.
- BRUNE, D.E.; ANDERSON, H.T. 1984. The application of process kinetics for predicting optimum performance of continuous brine shrimp cultures. -- World Maricul.Soc. 15: 108-119.
- CASTRO, T.; GALLARDO, C. 1985. *Artemia sp.* Cuadernos CBS 2. Universidad - Autónoma Metropolitana Xochimilco, México, D.F.
- CASTRO, T.; SANCHEZ, L.; DE LARA, R. 1985 a. Natural sources of brine -- shrimp (*Artemia*) in México. Second International Symposium on the Brine Shrimp *Artemia*. Antwerpen (Belgium), September 1-5, 1985.
- CLARK, L.S.; Bowen, S.T. 1976. The genetics of *Artemia salina*. VII. Reproductive isolation. *J. Hered.*, 67(6): 385-388.
- CONOVER, R.J. 1964. Food relations and nutrition of zooplankton. Proc. -- Symp. Exp. Mar. Ecol., Univ. RI, Occ. Publ. 2: 81-91.



- CROGHAN, P.C. 1958. The osmotic and ionic regulation of *Artemia salina* -  
(L). J. Exp. Biol., 53 (1): 219-233.
- CUSHING, D.H.; VUCETIC, T. 1963. Studies on a *Calanus* patch. III. The --  
quantity of food eaten by *Calanus finmarchicus*. J. Mar. Biol. Ass. U.  
K. 43: 349-371.
- D'AGOSTINO, A.S. 1980. The vital requirements of *Artemia*: physiology and  
nutrition: 55-82. In: The brine shrimp *Artemia* Vol. 2. Physiology, --  
Biochemistry, Molecular biology. Perssone, G.; Sorgeloos, P.; Roels,  
O.; Jaspers, E. (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium, 664 pp..
- DOBBELEIR, J.; ADAM, N.; BOSSUYT, E.; BRUGGEMAN, E.; SORGeloos, P. 1980.  
New aspects of the use of inert diets for high density culturing of -  
brine shrimp: 165-174. In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology,  
Culturing, Use in Aquaculture. Persoone, G.; Sorgeloos, P.; Roels, O.;  
Jaspers, E. (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium, 456 pp.
- ELLIASSEN, E. 1952. The energy metabolism of *Artemia salina* in relations  
to body size, seasonal rhytms, and different salinities. Univ. Bergen  
en Arb. Naturv. R. II, 1-18.

- FOX, J.M. 1983. Intensive Algal Culture Techniques, Crustacean Aquaculture. Handbook of Mariculture, Vol. I. p. 15-41.
- GAULD, D.T. 1951. The grazing rate of planktonic copepods. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 29: 695-706.
- GILCHRIST, B.M. 1954. Haemoglobin in *Artemia*. Proc. R. Soc., Series B 143: 136-136.
- GILBOR, A. 1956. Some ecological relationships between phyto and zooplankton. Biol. Bull. Mar. Biol. Lab., Wood Hole 111: 230-235.
- GUILLARD, R.R.L.; RYTHER, J.H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Granh. Can. J. Microbiol. 8: 229-239.
- GÜNTHER, R.T. 1900. Contributions to the natural history of Lake Urmí, N.W. Persia, and its neighbourhood. J. Linn. Soc. Zoology 27: 345-452.
- KELLOG, V.L. 1906. A new *Artemia* and its life conditions. Science, N.Y. 24: 594-596.

LAM, R.K.; FROST, W. 1976. Model of copepod filtering response to changes in size and concentration of food. Limnol. Oceanogr. 21: 490-500.

LEACH, W.E. 1849. Entomostraca: En: Dictionaire des sciences naturelles. Vol. 4, 524-543.

LEGER, PH.; NAESSENS-FOVQUAERT, E.; SORGELOOS, P. 1987. International -- Study on *Artemia*. XXXV. Techniques to manipulate the fatty-acid profile in *Artemia nauplii* and the effect on its nutritional effectiveness for the marine crustacean *Mysidopsis bahia* (M.) In: *Artemia* research and - its applications. Vol. 3. Sorgells, P.; Bengtson, D.A.; Declair, W.; - Jaspers, E. (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium.

MARSHALL, S.M.; Orr, A.P. 1955. On the biology of *Calanus finmarchiae*. -- VIII Food uptake, assimilation and excretion in adult and stage V - - *Calanus*. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 34: 495-529.

MASON, D.T. 1963. The growth response of *Artemia salina* (L.) to various - feeding regimes. Crustaceana, 5: 138-150.

MULLIN, M.M. 1963. Some factors affecting the feeding of marine copepods of the genus *Calanus*. Limnol. Oceanogr. 8: 239-250.

MULLIN, M.M.; BROOKS, E.R. 1967. Laboratory culture, growth rate, and feeding behavior of a planktonic marine copepod. Limnol. Oceanogr. 12: 657-666.

MULLIN, M.M.; BROOKS, E.R. 1970. Growth and metabolism of two planktonic marine copepods as influenced by temperature and type of food. 74-95. In: Marine Food Chains., Steele, J.H.; Oliver & Boyd, (Eds.), Edinburgh.

NIMURA, Y. 1980. Retarded growth of *Artemia salina* by Overfeeding. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 48 (6): 681-87.

OCEAN GARDEN PRODUCTS, INC. 1987. Comportamiento del mercado del camarón. Sep-Oct. p.3.

PALOHEIMO, J.E.; DICKIE, L.M. 1965. Food and Growth of fishes. I. A Growth curve derived from experimental data. J. Fish. Res. Ed. Canada, 22: 521-542.

\_\_\_\_\_. 1966a. Food and growth of fishes. II. Effects of food and temperature on the relation between metabolism and body weight. J. Fish. Res. Ed. Canada, 23: 869-908.

- \_\_\_\_\_. 1966b. Food and growth of fishes. III. Relations among food, body, size and growth efficiency: Fish. Res. Ed. Canada. 23: 1209-1248.
- PICCINELLI, M.; PROSDOCIMI, T. 1968. Descrizione tassonomica delle due specie *Artemia salina* L. e *Artemia persimilis* n. sp. Ist. Lomb (Rend. Sci.) B 102: 113-118.
- PROVASOLI, L.; SHIRAIISHI, K.; LANCE, J.R. 1959. Nutritional idiosyncrasis of *Artemia* and *Tigriopus* in monoxenic culture. Ann. N.Y. Acad. Sci. 77: 250-261.
- REEVE, M.R. 1963a. Growth efficiency in *Artemia* under laboratory conditions. Biol. Bull. (Woods Hole, Maso). 125: 133-145.
- \_\_\_\_\_. 1963b. The filter feeding of *Artemia*. I. In pure cultures of plant cells. J. Exp. Biol. 40: 195-205.
- \_\_\_\_\_. 1963c. The filter feeding of *Artemia*. III. In faecal pellets and their associated membranes. J. Exp. Biol. 40: 215-227.
- RICHMAN, S. 1958. The transformation of energy by *Daphnia pulex*: Ecol. Monogr. 28: 273-291.

- RIGLER, F.H. 1961. The relation between concentration of food and feeding rate of *Daphnia magna* Straus. Canad. J. Zool. 39: 857-68.
- RYTHER, J.H. 1954. Inhibitory effects of phytoplankton upon the feeding of *Daphnia magna* with reference to growth, reproduction and survival, Ecology, 35: 522-33.
- SCHREHARDT, A. 1987. Ultrastructural investigations of the filter-feeding apparatus and the alimentary canal of *Artemia*. In: *Artemia* Research and its Applications. Vol. I. Sorgeloos, P.; Bengtson, D.A.; DECLEIR, W.; - JASPERS, E. (Eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium. pp. 33-52.
- SICK, L.V. 1976. Nutritional effect of five species of marine algae on the growth, development, and survival of the brine shrimp *Artemia salina*. Mar. Biol., 35: 69-78.
- SORGELOOS, P. 1979. The brine shrimp, *Artemia salina*; A bottleneck in Mariculture: 321-324. In: FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto - 1976. Pillay, T.V.R.; Dill, Wm. A. (Eds.). Fishing News Books Ltd., -- Farnham, England, 653 pp.
- \_\_\_\_\_, 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture: - 25-46. In: The brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culturing, Use in

aquaculture. Persoone, G.; Sorgeloos, P.; Roels, O.; Jaspers, E. (Eds.).  
Univ. Press, Wetteren, Belgium, 428 pp.

SORGeloos, P. 1983. Brine shrimp *Artemia* in coastal saltworks: Inexpensive -  
source of food for vertically integrated aquaculture: Aquaculture Magazine,  
9 : 25-27.

SORGeloos, P. 1983. Potential of the mass production of brine shrimp, *Artemia*.  
J. Soc. Underwater Technology. Spring 1983: 27-30.

SORGeloos, P.; BOSSUYT, E.; LAVENS, P.; Leger, Ph.; VANHAECKE, P.; VERSICHELE,  
D. 1983. The use of brine shrimp *Artemia* in crustacean hatcheries and nurse--  
ries: 71-96. In: CRC Handbook of mariculture. Vol. I. Crustacean aquacultu-  
re. McVey J.P. (Ed.) CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. 442 pp.

SORGeloos, P.; LAVENS, P.; Leger, Ph.; TACKAERT, W.; VERSICHELE, D. 1986. Ma-  
nual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. - - -  
*Artemia* Referent Center. State University, Ghent, Belgium, 320 pp.

STEIN, J.R. 1979. Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth  
Measurements. Cambridge. Univ. Press. 446 pp.

TOBIAS, W.L.; SORGELOOS, P.; BOSSUYT, E.; ROELS, O.A. 1979. The technical feasibility of mass culturing *Artemia salina* in the St. Croix "Artificial Upwelling" Mariculture System: 203-214. In: Proc. 10th Annual Meeting World Mariculture Society. Avault J.W., Jr. (Ed.). Louisiana State University. Baton Rouge, Louisiana, USA, 899 pp.

VERRIL, A.E. 1869. Contributions to zoology from the museum of Yale College. III. Descriptions of some new American phyllopod Crustacea: Amer. J. Sci. Arts, New Haven 43: 244-254.

WEAR, R.C.; HASLETT, S.J. 1986. Effects of temperature and salinity on the Biology of *Artemia franciscana* Kellog from Lake Grassmore, New Zealand, Growth and Mortality. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 98: 153-166.

WYNNE-EDWARDS, U.C. 1962. Animal dispersion in relation to Social Behaviour. Oliver & Boyd, Edinburgh.



*Por su colaboración en el diseño de la portada y por su amistad,  
agradezco mil a Ismael Domínguez Naranjo.*