

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Escuela Superior de Ciencias Marinas.



"EFECTOS DEL RETARDO EN LA ALIMENTACION Y CONCENTRACIONES
VARIABLES DE UN MICROFLAGELADO (Tetraselmis sp.) SOBRE
LA SUPERVIVENCIA Y EL CRECIMIENTO DE LARVAS DE LA
CURVINA BLANCA (Atractoscion nobilis) BAJO
CONDICIONES DE LABORATORIO"

Reporte que como requisito parcial
para obtener el Título de Oceanólogo
presentan:

G. ALONSO ARELLANO ZEPEDA.
RAUL BERNAL CHAVEZ.
JOSE DE JESUS RAZO ABUNDIZ.
MANUEL ROMERO GONZALEZ.

Ensenada, B. C. - Septiembre de 1983.

RESUMEN

Se describen y discuten los resultados de dos grupos de experimentos en laboratorio con el ciónido Atractoscion nobilis. El primero para determinar el efecto del retardo en la primera alimentación sobre el crecimiento y la supervivencia de A. nobilis dentro del marco del concepto de período crítico de Hjort (1914) y el punto de no retorno de Blaxter y Hempel (1973); y el segundo para estudiar la posible utilización de Tetraselmis sp. como única fuente de alimento para A. nobilis. Se hicieron cultivos con réplica en condiciones semiestáticas, utilizándose para el primer caso el rotífero Brachionus plicatilis como alimento principal y el microflagelado Tetraselmis sp. como suplemento - acondicionador variándose el tiempo de la primera alimentación. Para el segundo caso se utilizó Tetraselmis sp. como alimento único a diferentes concentraciones. Se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas y se concluye que la mejor supervivencia y el máximo crecimiento para A. nobilis se obtiene si la primera alimentación es proporcionada durante los primeros días después de la absorción del vitelo y que el punto de inanición irreversible para esta especie en particular se encuentra aproximadamente al cuarto día después de la absorción del saco vitelino (6.5 días después de la eclosión). Se concluye también que A. nobilis es incapaz de utilizar Tetraselmis sp. como única fuente de alimento.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y METODOS	5
a) Generalidades	5
b) Retardo en la primera alimentación	9
c) Concentraciones variables de <u>Tetraselmis</u> sp.	11
d) Supervivencia	11
e) Crecimiento	13
III. RESULTADOS	15
a) Retardo en la alimentación	17
b) Concentraciones variables de <u>Tetraselmis</u> sp.	24
IV. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES	33
V. LITERATURA CITADA	38

LISTA DE FIGURAS .

<u>Figura</u>		Página
1	Efecto del retardo en la alimentación sobre la supervivencia de larvas de <u>Atractosción nobilis</u> .	20
2	Retardo en la alimentación. Gráfica de regresión lineal tiempo (días) vs. crecimiento (mm) para larvas de <u>A. nobilis</u> .	23
3	Efecto del retardo en la alimentación sobre el crecimiento de larvas de <u>A. nobilis</u> .	25
4	Efecto de diferentes concentraciones de <u>Tetraselmis</u> sp. (cels./ml) sobre la supervivencia de <u>A. nobilis</u> .	28
5	Concentraciones variables de <u>Tetraselmis</u> sp. Gráficas de regresión lineal tiempo (días) vs. crecimiento (mm) para larvas de <u>A. nobilis</u> .	31
6	Efecto de diferentes concentraciones de <u>Tetraselmis</u> sp. sobre el crecimiento de larvas de <u>A. nobilis</u> .	32

L I S T A . D E T A B L A S

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
I	Diseño experimental. Efecto del retardo en la alimentación.	10
II	Diseño experimental. Efecto de concentraciones variables de <u>Tetraselmis</u> sp.	12
III	Retardo en la alimentación. Resultados de supervivencia de larvas de <u>Atractoscion nobilis</u> .	16
IV	Retardo en la alimentación. Resultados de crecimiento de larvas de <u>Atractoscion nobilis</u> .	22
V	Retardo en la alimentación . Prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos para larvas de <u>A. nobilis</u> .	26
VI	Concentraciones variables de <u>Tetraselmis</u> sp. Resultados de supervivencia de larvas de <u>A. nobilis</u> .	18
VII	Resultados de crecimiento de larvas de <u>A. nobilis</u> bajo diferentes concentraciones de <u>Tetraselmis</u> sp.	29

I. INTRODUCCION.

El éxito en el cultivo de larvas de peces marinos depende de numerosos factores, pero los dos de mayor importancia son: un suministro adecuado de alimento y una calidad del agua razonablemente buena; el tamaño de los organismos que sirven de alimento a las larvas de peces y el nivel de alimento mantenido en los tanques de cultivo son importantes en el inicio de la alimentación para un buen crecimiento y supervivencia subsecuentes (Houde, 1973).

Los niveles de alimentación que han óado mayor éxito en el cultivo de larvas comunmente exceden en mucho a los niveles encontrados en la naturaleza; se necesitan altas concentraciones de alimento en el tiempo en que las larvas se alimentan en forma exógena por primera vez para obtener una supervivencia significativamente buena, pero densidades de alimento más bajas pueden ser adecuadas para larvas de mayor edad; esto implica que una alta mortalidad de larvas debe ocurrir en la naturaleza cuando ellas buscan por primera vez una fuente de alimento exógeno, debido a que pocas son las larvas que tienen la fortuna de hallar un "parche" de alimento (Houde, 1975).

Hjort (1914; 1926) postuló que ocurre un breve período de

alta mortalidad en los primeros estadíos de los peces marinos y colocó este "período crítico" en el momento de la transición hacia la alimentación exógena, es decir, inmediatamente después de la absorción del saco vitelino; consideró que el tamaño del stock comercial de la clase anual es determinado particularmente en el momento de la vida en que hay una mortalidad en masa debido a la escasez de alimento en el mar. Marr (1956) cuestionó la validez del concepto "período crítico" y sugiere que la alta mortalidad al momento de la absorción del saco vitelino en los experimentos de laboratorio no puede ser tomada como una evidencia de que las larvas en el mar tendrán también una mortalidad catastrófica.

Vladimirov (1975) reconoce que los períodos sensibles de desarrollo sí pueden coincidir con períodos de alta mortalidad embrionica y larval bajo condiciones normales pero él lo explica en términos de huevos no fertilizados o de mala calidad; es natural que los embriones y larvas de calidad pobre sean más sensibles a la acción de factores perjudiciales.

Uno de los dos objetivos del presente trabajo es analizar los efectos del retardo en la alimentación sobre la supervivencia y el crecimiento de larvas de un ciónido (Atractoscion nobilis) en el laboratorio. Existen algunos antecedentes sobre este tema de pruebas de inanición (Blaxter y Hempel, 1963; Lasker et. al., 1970; Wyatt, 1972; May, 1970) pero la bibliografía disponible no menciona a la especie A. nobilis. El efecto de la alimentación inicial en la trucha arcoiris Salmo gairdneri fue investigado por Twongo y MacCrimmon (1976; citados por Roberts et. al., 1978);

los resultados indicaron que la alimentación debe comenzar al tiempo de la absorción del saco vitelino para un mejor crecimiento; además, la oportuna alimentación produjo la mayor variación de tamaño; el retardo en la alimentación más allá del estado de absorción del saco vitelino produjo pobre supervivencia.

Lasker et. al., (1970) encontraron que las larvas de la anchoveta del Norte (Engraulis mordax) cuando se alimentaron por primera vez posteriormente a 1.5 días (a 22 °C) después de la absorción del vitelo, sufrió mortalidad en masa. Un retardo en la alimentación de más de 22.5 horas (a 28°C) después de la absorción del saco vitelino de las larvas de la anchoveta (Anchoa mitchilli) resultó en pobre supervivencia (Houde, 1974; citado por Roberts et. al., 1978).

El segundo objetivo de este trabajo es tratar de observar los efectos de la densidad de alimento fitoplanctónico sobre el crecimiento y la supervivencia de los primeros estadíos larvarios de la curvina blanca Atractoscion nobilis. La finalidad es señalar si las larvas de A. nobilis utilizan como única fuente alimenticia a un microflagelado (Leptiselmis sp.). Aunque se ha intentado alimentar a las larvas de peces con fitoplancton, pocos experimentos han tenido éxito puesto que algunas larvas no sobreviven a los controles de inanición. Sólomente Lasker et. al., (1970) dan la única descripción detallada para períodos prolongados, usando únicamente fitoplancton. Sin embargo, en los últimos años se han presentado evidencias que sugieren fuertemente la utilización de microflagelados (Leptiselmis sp., Chlorella sp.)

como fuente de alimento para larvas de la anchoveta del Norte Engraulis mordax (Moffat, 1981; Rodríguez-Murillo, 1983; Carrillo y Solís, comunicación personal). La mayoría de las larvas de peces marinos, con unas pocas excepciones, inician su alimentación exógena sobre organismos vivos, móviles; el plancton animal (zooplancton) ha sido la fuente de alimento de más éxito en experimentos de cultivo, pero algunas larvas han aceptado fitoplancton, particularmente flagelados (Houde, 1973).

Atractoscion nobilis (Ayres), también conocido como Cynoscion nobilis (Ayres), (Castro-Aguirre, 1978), tiene la siguiente distribución geográfica: desde la Isla Vancouver, B.C. ; San Francisco, Calif. y costa occidental de Baja California, hasta Cabo San Lucas, B.C.S., y la parte norte del Golfo de California.

A la curvina blanca A. nobilis se le conoce también como serrano blanco (Mc Clane, 1978). Jordan y Evermann (1923) hablan en forma detallada de las características anatómicas, deportivas y alimenticias de esta especie, la cual está emparentada con la totoaba (Cynoscion macdonaldi), que es otro ejemplar de la familia scianidae, de alto valor comercial. Las larvas de A. nobilis abundan en primera-verano. Los adultos llegan a pesar hasta 90 libras y miden hasta 5 pies de largo (Miller y Lea, 1972).

II. MATERIALES Y METODOS.

a). - Generalidades.

-Obtención de huevos de Atractosción nobilis. - Los huevos de esta especie utilizados en el presente trabajo fueron proporcionados por personal del National Marine Fisheries Service de San Diego, Cal. Estados Unidos. El desove de adultos se realizó en forma natural. Los huevos ya fertilizados se transportaron al Laboratorio de Acuicultura de la Escuela Superior de Ciencias Marinas (E. S. C. M.) de Ensenada B. C., en un recipiente "Thermo". Posteriormente, los huevos se inocularon en acuarios de 10 litros de capacidad cada uno a razón de 20 huevos/l.

-Obtención de rotíferos (Brachionus plicatilis). - La adquisición de estos organismos, que sirvieron como alimento para las larvas de A. nobilis se logró mediante donaciones por parte del personal del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (C. I. C. E. S. E.). El sistema de cultivo de B. plicatilis es el mismo utilizado por Theilacker y McMaster (1971). Los rotíferos fueron transportados en un recipiente de plástico al lugar donde se realizaron los experimentos.

-Obtención de microflagelados. - Tetraselmis sp. fue

cultivada en el Laboratorio del C. I. C. E. S. E. utilizando el medio de cultivo F/2 descrito por Guillard (1972). Un pequeño stock de Tetraselmis sp. (2 galones) fue trasladado al Laboratorio de Acuicultura de la E. S. C. M.

-Sistema de cultivo.- Los experimentos se realizaron en condiciones semiestáticas en recipientes de plástico comercial, circulares (35 cm de diámetro, y 14 cm de profundidad). Hay evidencia de que algunas larvas pelágicas pueden quedar atrapadas en las esquinas de acuarios rectangulares (Shelbourne, 1964) por lo que se eligieron recipientes circulares. Los recipientes se llenaron con 10 litros de agua de mar extraída de las inmediaciones al laboratorio de acuicultura (Bahía de Todos los Santos, B. C.) y filtrada hasta una micra a través de cartuchos "Cuno" y esterilizada mediante un sistema de luz ultravioleta (lámpara U. V. Technology Inc.).

En acuarios pequeños como estos, el patrón de la mortalidad larval puede ser observado a tiempo, se puede mantener un ambiente controlado y homogéneo y es más fácil conservar el alimento a los niveles deseados. Se introdujeron 200 huevos en cada recipiente. Esta densidad de cultivo se encuentra dentro del rango utilizado por varios autores (Lasker et. al., 1970; O'Connell y Raymond, 1970; Houde, 1975; Theilacker y McMaster, 1971). El cultivo fue mantenido sin aireación (Lasker et. al., 1970). En los casos que era necesario ajustar las concentraciones de microflagelados (Tetraselmis sp.) o de microzooplancton (rotífero Brachionus plicatilis), se utilizó un sifón diseñado para evitar el daño

físico o pérdidas de estadíos larvales. No se controlaron factores físico-químicos durante los experimentos. El laboratorio de cultivo proporcionó una buena incidencia de luz durante el día por lo que no se implementó un sistema de iluminación a base de tubos fluorescentes de luz blanca u otro tipo.

La introducción de Tetraselmis sp. a los recipientes de cultivo se efectuó, en todos los casos, un día antes de la inoculación a éstos con huevos de A. nobilis. Las concentraciones de Tetraselmis sp., se determinaron dos veces al día (mañana y tarde), utilizando una solución homogenizada derivada de quince alícuotas de 1 ml cada una, extraídas con una pipeta, de tres niveles en cada recipiente: profunda, media agua y superficial (Rodríguez-Murillo, 1983). La concentración de cada recipiente se determinó con un hematocitómetro marca American Optical de 0.2 mm de profundidad. Los ajustes necesarios para mantener las concentraciones deseadas en base las determinaciones para cada recipiente se efectuaron mediante las siguientes relaciones:

$$\text{Si } C_A < C_D$$

$$\text{Si } C_A > C_D$$

$$\text{Volumen} = \frac{C_D - C_A}{C_F} \times 10^4$$

$$\text{Volumen} = \frac{C_A - C_D}{C_A} \times 10^4$$

donde:

C_A . - Concentración (orgs./ml) en el acuario.

C_D . - Concentración deseada.

C_F . - Concentración en el stock o solución fuente.

Diariamente se extrajeron de cada recipiente las larvas muertas utilizando para ello un gotero de boca ancha. Esto se realizó una vez por la mañana y otra por la tarde. Se realizaron mediciones de longitud a las larvas recién eclosionadas (día 0). También se midieron diariamente las larvas a partir del séptimo día después de la eclosión y hasta el final del experimento. Para esto se extrajeron al azar cinco larvas vivas de cada recipiente para determinar el crecimiento; se preservaron en una solución de formol al 5% y posteriormente fueron trasladadas al Laboratorio de Cultivo del C. I. C. E. S. E., con el fin de medir la longitud estandar, que comprende desde la extremidad de la maxila hasta el final del notocordio, utilizándose para ello un microscopio estereoscópico equipado con un micrómetro ocular.

El diseño experimental fue programado para una duración de 12 días después de la eclosión larval, pero por motivos de mortalidad total de las larvas, varios experimentos concluyeron en forma prematura. Al final de cada experimento se contaron y midieron las larvas sobrevivientes.

En todos los casos, cada experimento fue replicado una vez, con excepción del control de inanición en lo referente al retardo en la primera alimentación (primera serie de experimentos).

b). - Retardo en la primera alimentación.

Como ya se mencionó, no hubo control de parámetros ambientales en los sistemas de cultivo, con excepción de las concentraciones de alimento. Para la cuestión del retardo en la alimentación, únicamente se hicieron mediciones de temperatura y salinidad, ésta última se determinó por medio de un salinómetro-refractómetro marca American Optical Golberg.

El alimento suministrado a las larvas de peces consistió de una combinación del rotífero Brachionus plicatilis con una concentración designada de 4 orgs./ml y del microflagelado Tetraselmis sp., a un nivel aproximado de 5000 cels./ml. El nivel de rotíferos se seleccionó en base a la experiencia de otros autores (O'Connell y Raymond, 1970; Theilacker y McMaster, 1971). A densidades muy bajas de 3 a 4/ml, los rotíferos son una buena fuente alimenticia para las larvas (Theilacker y McMaster, op. cit.).

El tiempo de introducción de rotíferos varió de acuerdo al objetivo del experimento. La tabla I resume el diseño experimental y la manera en que las larvas fueron alimentadas por primera vez. Las concentraciones de rotíferos fueron determinadas casi simultáneamente a las determinaciones de Tetraselmis sp. Las concentraciones de rotíferos se determinaron utilizando una solución homogénea derivada de 3 alícuotas de 10 ml cada una, extraídas con una pipeta a los mismos niveles muestreados para Tetraselmis sp., en cada recipiente. Se utilizó una placa de

TABLA I. Diseño experimental. Efecto del retardo en la alimentación sobre la supervivencia y el crecimiento de larvas de Atractoscion nobilis en laboratorio.

Experimento 1	Densidad de huevos/recipiente.	Densidad designada de rotíferos. (Orgs./ml).	Densidad designada de <u>Tetraselmis</u> sp. (cels./ml).	Primera alimentación: días después de la absorción del saco vitelino.
1 A	200	4	5000	0
1 B	200	4	5000	0
2 A	200	4	5000	2
2 B	200	4	5000	2
3 A	200	4	5000	3
3 B	200	4	5000	3
4 A	200	4	5000	4
4 B	200	4	5000	4
Control	200	0	0	0

1. Cada experimento fue replicado una vez, con excepción del control.

conteo con concavidades de 1 ml cada una para poder determinar la concentración de rotíferos. Los ajustes necesarios se hicieron de igual manera que para Tetraselmis sp., con el fin de mantener los niveles designados.

c).- Concentraciones variables de Tetraselmis sp.

En este caso, se hicieron registros de temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto en todos los acuarios. La Tabla II resume el diseño experimental en esta parte. Las variaciones en el nivel de microflagelados fueron sugeridas por Carrillo-Solís (comunicación personal). Es importante hacer notar que los huevos utilizados en las dos series de experimentos (retardo en la alimentación y concentraciones variables de Tetraselmis sp.), provenían de desoves diferentes. Además, para la serie de experimentos de densidad de Tetraselmis sp., no se inocularon huevos a los acuarios, sino que se introdujeron larvas recién eclosionadas ya que en ese estado llegaron al laboratorio donde se realizaron los experimentos. Las 200 larvas seleccionadas fueron previamente observadas bajo el microscopio estereoscópico, desechándose a aquellas que mostraban deformaciones.

d).- Supervivencia.

La supervivencia final de larvas proporciona un índice general del efecto de la alimentación sobre la supervivencia, pero para examinar el efecto más específicamente con respecto a la transición de larvas que se alimentan por medio de vitelo a

TABLA II. Diseño experimental. Efecto de concentraciones variables de un microflagelado (Tetraselmis sp.) sobre la supervivencia y el crecimiento de larvas de Atractosción nobilis en laboratorio.

Experimento ¹	Densidad de huevos/ recipiente.	Densidad designada de <u>Tetraselmis sp.</u> (cels./ ml)
1 A	200	10000
1 B	200	10000
2 A	200	25000
2 B	200	25000
3 A	200	50000
3 B	200	50000
4 A	200	100000
4 B	200	100000
Control A	200	0
Control B	200	0

1. Cada experimento fue replicado una vez.

alimentación exógena, las poblaciones supervivientes deben ser comparadas sobre una base diaria. Siguiendo el planteamiento de O'Connell y Raymond (1970), para cualquier acuario, el porcentaje de la población superviviente hasta el día n es,

$$S_n = ((P - M_i) / P) \times 100$$

donde:

S_n . - Porcentaje de la población que sobrevive hasta el día n.

P. - Población inicial.

M_i . - Mortalidad al día i, $i=1, \dots, n$.

La expresión anterior no toma en cuenta la mortalidad por "pesca", es decir, no considera a aquellas larvas que fueron extraídas para su posterior utilización al medir su longitud estandar. No obstante, el índice de supervivencia de O'Connell y Raymond (op. cit.) se considera conveniente para los fines de este trabajo. Para este trabajo, la población inicial "P" fue determinada como la suma del número total de sobrevivientes (S), más el número total de larvas muertas (D), incluyendo aquellas muertes causadas por "pesca" (C). Por lo tanto, $P=S+D+C$.

e). - Crecimiento.

Un índice apropiado para observar crecimiento es el

proporcionado por tasas de crecimiento obtenidas por medio de la regresión lineal de la longitud de las larvas en los diferentes estadíos larvales, contra tiempo (en días) después de la eclosión (Rodríguez Murillo, 1983). Las pendientes de las líneas de regresión proporcionan las tasas de crecimiento para las larvas en cada experimento (Saksena y Houde, 1972).

Se realizó la prueba estadística "t de student" con el fin de realizar comparaciones entre el experimento y su réplica y así poder inferir si existía o no diferencia significativa entre ellos. Las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Chi-cuadrada se efectuaron para conocer el comportamiento en cuanto a distribución de los datos de longitud larval. Conforme a los resultados obtenidos de estas pruebas, se observó que los datos estaban muy lejos de tener una distribución normal, por lo que se optó por efectuar un análisis estadístico no-paramétrico mediante la técnica de Kruskal-Wallis y realizar así en forma adecuada comparaciones entre los experimentos (tratamientos). Se eligió esta prueba no-paramétrica en base a literatura citada (Rodríguez-Murillo, 1983).

III. RESULTADOS.

En general, las variaciones de temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto en los sistemas de cultivo fueron mínimas. Las temperaturas promedio para cada grupo de experimentos (retardo en la alimentación y concentraciones variables de Tetraselmis sp.) se mantuvieron alrededor de 18.3 y 17.8 °C. respectivamente. Los valores promedio para los demás parámetros fueron: S_{32.9} y 33.2; pH 7.9 y oxígeno disuelto 7.1 ppm.

Las concentraciones de rotíferos y de Tetraselmis sp. fluctuaron a lo largo de los experimentos en relación a las concentraciones designadas inicialmente; no obstante, ambas se mantuvieron alrededor de las cantidades designadas en el diseño experimental, caracterizado por un nivel de rotíferos de 2 a 6 organismos por mililitro y una concentración de Tetraselmis sp. de 5 000 células por mililitro en lo que respecta a los experimentos de retardo en la alimentación y por variaciones aceptables de Tetraselmis sp. para el caso del grupo de experimentos con diferentes concentraciones de dicho microflagelado.

En la tabla III se pueden observar las diferencias en la duración de los experimentos del primer grupo. La duración mínima

TABLA III. Retardo en la alimentación. Resultado de supervivencia de larvas de *Atractoscion nobilis* bajo diferentes condiciones de alimentación en laboratorio.

Experimento	Población inicial de larvas	Duración del experimento. (días) ¹	PORCIENTO DE SUPERVIVENCIA		
			al día 7	al día 9	al fin del experimento
1 A	164	12	87.2	68.9	64.0
1 B	173	12	80.9	78.6	64.7
2 A	183	12	90.2	67.7	45.3
2 B	177	12	77.4	64.4	33.3
3 A	184	12	51.1	20.6	16.3
3 B	170	12	74.7	29.4	27.0
4 A	170	9	81.7	0.0	0.0
4 B	176	9	78.4	0.0	0.0
Control A	191	9	53.4	0.0	0.0

1. Anotado como: días después de la eclosión

de nueve días después de la eclosión ocurrió bajo condiciones de inanición y también en los experimentos en que las larvas fueron alimentadas por primera vez hasta el cuarto día después de la absorción del saco vitelino. Los experimentos que tuvieron una duración de 12 días después de la eclosión son aquellas cuyas larvas estuvieron en condiciones más favorables, es decir, el retardo en su alimentación no fue tan excesivo como para que no les permitiera a varias de ellas sobrevivir hasta el final del experimento.

En el caso en que el ciánido Atractoscion nobilis fue mantenido bajo diferentes concentraciones de Tetraselmis sp., la duración de los experimentos fue de 8 ó 9 días, es decir, ninguna larva pudo sobrevivir hasta el final de los experimentos (Tabla VI). En las mencionadas Tablas III y VI se pueden apreciar también variaciones en el número inicial de huevos (ó larvas para el segundo caso) que debieron ser 200; las posibles causas de esto serán discutidas posteriormente.

a).- Retardo en la alimentación.

-Supervivencia.

La supervivencia puede ser considerada como uno de los índices más significativos con que puede ser medido el éxito o fracaso de una clase anual en poblaciones de peces marinos. La

TABLA VI. Resultados de supervivencia de larvas de Atractoscion nobilis mantenidas bajo diferentes concentraciones de Tetraselmis sp. en laboratorio.

Experimento	Población inicial de larvas	Duración del experimento (días) ¹	PORCIENTO DE SUPERVIVENCIA.		
			el día 7	el día 8	al final del experimento.
1 A	201	8	47.3	0.0	0
1 B	195	9	16.9	8.7	0
2 A	171	9	50.3	17.5	0
2 B	202	9	54.0	14.8	0
3 A	192	8	10.4	0.0	0
3 B	195	9	48.2	14.9	0
4 A	179	9	14.5	3.9	0
4 B	181	8	50.8	0.0	0
Control A	216	9	70.8	59.7	0
Control B	169	9	84.0	69.8	0

1. Anotada como: días después de la eclosión.

Tabla III resume los resultados de supervivencia para las diferentes pruebas de inanición (retardo en la alimentación). Los datos de supervivencia obtenidos a lo largo de los experimentos fueron desglosados en sus componentes temporales más importantes para facilitar su interpretación y su comparación con otros trabajos (Rodríguez-Murillo, 1983).

Los experimentos con mayor supervivencia fueron aquellos cuyas larvas tuvieron su primera alimentación al momento de la absorción del saco vitelino (1A y 1B) o cercanamente a ese estadio. Hubo una excepción en el día 7 después de la eclosión, en el que los experimentos matriculados 4A y 4B tuvieron mayor supervivencia que los presentados por 3A y 3B. La supervivencia de Atractoscion nobilis al día 7 después de la eclosión se mantuvo superior a un 50% en todos los experimentos.

Los porcentajes de supervivencia observados en el día 9 después de la eclosión y al final del experimento (día 12), fueron bajos en aquellos experimentos en que el retardo en la alimentación fue de 3 días después de la absorción del saco vitelino (3A y 3B). Se observa una mortalidad total en los días 9 y 12 después de la absorción del vitelo para los experimentos 4A y 4B y en el control de inanición. Esto implica que, en general, aquellas larvas alimentadas hasta el cuarto día después de que su vitelo se ha consumido, no sobreviven más allá de 9 días después de la eclosión. (Fig. 1).

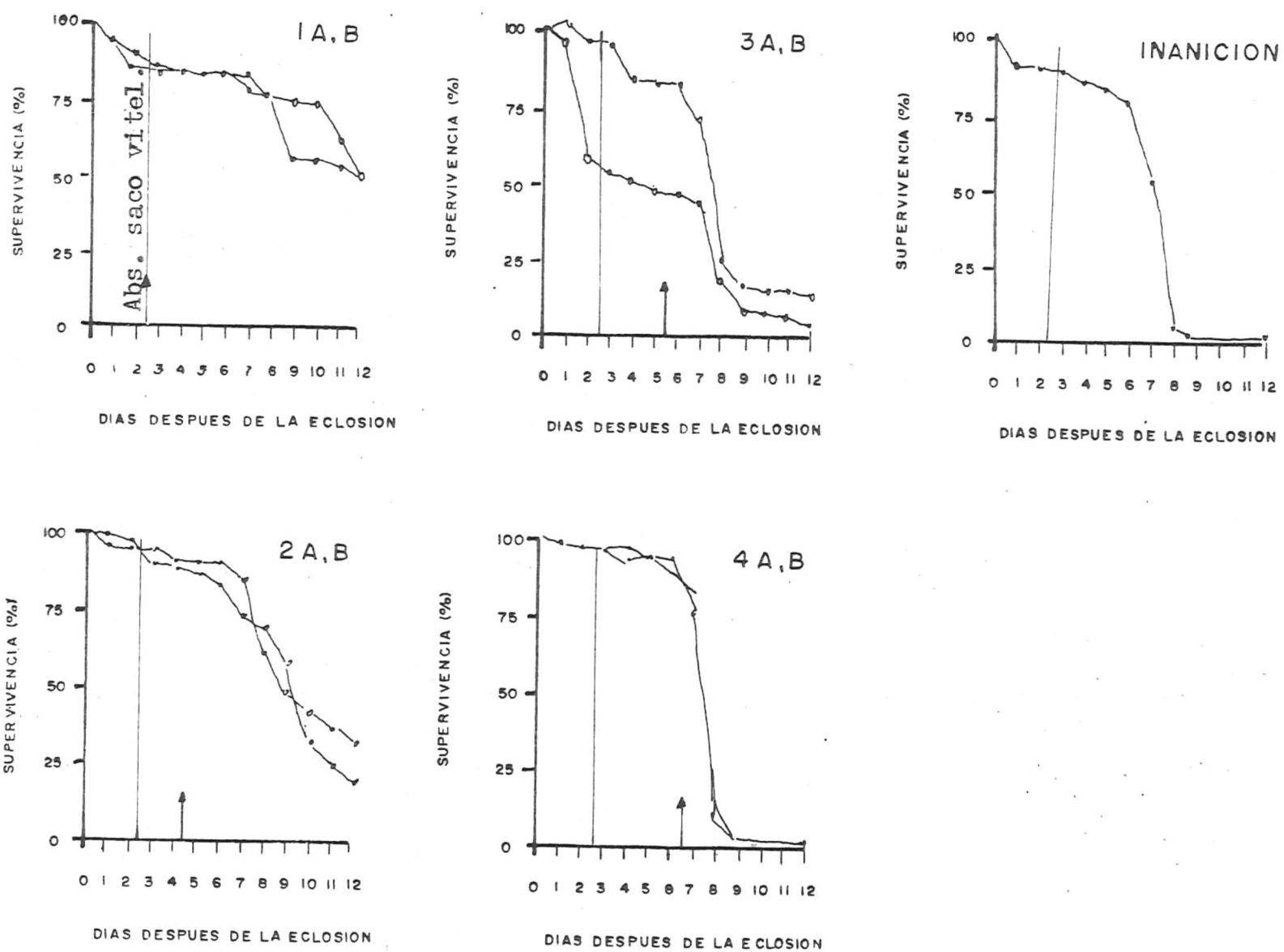


Figura 1. Efecto del retardo en la primera alimentación sobre la supervivencia de larvas de *Atractoscion nobilis* en laboratorio. Aproximadamente 4 orgs./ml de *Brachionus plicatilis* en cada experimento. La flecha vertical indica el tiempo en que se añadió alimento por primera vez.

-Crecimiento.

Como ya se ha mencionado, uno de los objetivos de este trabajo fue el de observar el efecto del retardo en la alimentación en el crecimiento de estadios larvales de Atractoscion nobilis. La Tabla IV resume los resultados de los experimentos. Ahí se pueden ver los datos de crecimiento en longitud estandar y las tasas de crecimiento diario, las cuales son obtenidas por las pendientes de las rectas del análisis de regresión (Fig. 2).

En dicha figura se puede apreciar que las rectas de regresión son muy parecidas entre el experimento y su réplica en cada tratamiento, es decir, que los valores de las tasas de crecimiento diario para cada experimento y su respectiva réplica son muy similares. Lo anterior se demostró realizando la llamada prueba estadística "t de student". A un nivel de significación del 5%, la hipótesis nula de igualdad no puede rechazarse.

Como se puede apreciar en la Tabla IV, existe una relación inversa entre la longitud de las larvas y el retardo en su alimentación. Esto se observa, sin excepción, para los días 7, 9 y al final del experimento. Esto ocurre también con las tasas de crecimiento diario. En los experimentos 1A y 1B, caracterizados por el inmediato suministro de alimento (cuando se absorbe el vitelo), se aprecian los valores más altos de las tasas de crecimiento diario (0.120 y 0.133 mm/día). Por otra parte, los valores menores de tasas de crecimiento diario se encuentran en el

Experimento	Población inicial de larvas	N° de larvas preservadas y medidas	Duración del experimento (días) ¹	C r e c i m i e n t o e n L o n g i t u d ² (mm)				
				Long. est. día 0 \bar{x}	Long. est. Día 7 \bar{x}	Long. est. día 9 \bar{x}	Long. est. fin. exp. \bar{x}	Tasa de crecimiento día 0 al fin del exp.
1 A	164	25	12	2.17	3.28	3.48	3.32	0.120
1 B	173	25	12	2.04	2.72	3.34	3.69	0.133
2 A	183	25	12	2.65	3.15	3.20	3.52	0.067
2 B	177	25	12	2.00	3.02	2.71	3.35	0.090
3 A	184	25	12	2.52	2.90	3.01	3.14	0.075
3 B	170	25	12	2.49	3.13	3.35	3.28	0.072
4 A	170	5	9	2.57	2.90	-	-	0.047
4 B	176	6	9	2.60	3.12	2.75	-	0.038
Control	196	6	9	2.63	3.12	2.80	-	0.036

1. Días después de la eclosión
2. Referida como longitud estandar
- . No se realizaron mediciones para ese día.

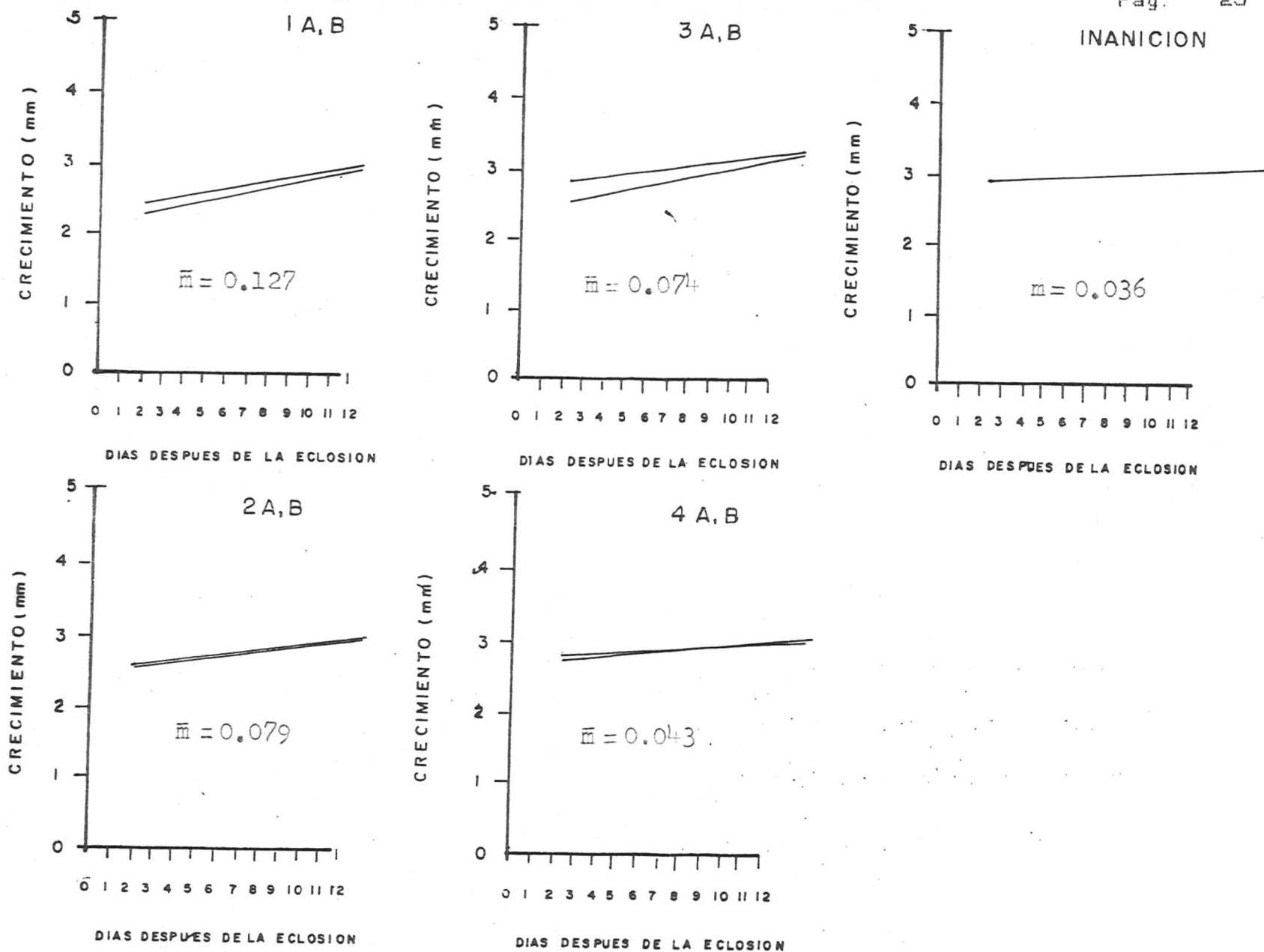


Figura 2. Retardo en la alimentación. Gráficas de regresión lineal, tiempo (días después de la eclosión) VS. Crecimiento (mm) para larvas de *Atractoscion nobilis* bajo diferentes condiciones de alimentación en laboratorio. \bar{m} = pendiente promedio entre experimento y su réplica.

control (inanición) y en aquellos acuarios cuyas larvas no fueron alimentadas sino hasta el cuarto día después de la absorción del saco vitelino (4A y 4B).

La Figura 3 indica más claramente lo arriba expresado. Se observa que las tasas promedio de crecimiento diario tienden a ser menores conforme el retardo en la alimentación para larvas de A. nobilis es más acentuado. La prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis indicó que sí existen diferencias significativas entre los diferentes tratamientos a un nivel de significación del 5% , con excepción de las parejas de experimentos 2,3 y 4,5 (Tabla V).

b).- Concentraciones variables de Tetraselmis sp.

-Supervivencia.

El resumen de los resultados de supervivencia en la serie de experimentos en el que las larvas de A. nobilis estuvieron cultivadas bajo diferentes concentraciones del microflagelado Tetraselmis sp., (sin presencia de zooplancton), se halla comprendido en la Tabla VI. En este grupo de experimentos la duración de ninguno de ellos fue de 12 días como inicialmente se planteara el diseño experimental, ya que la prematura mortalidad total no lo permitió. La duración fue, en algunos casos, de 8 días y, en otros, de 9 días.

Existieron variaciones muy grandes entre algunos

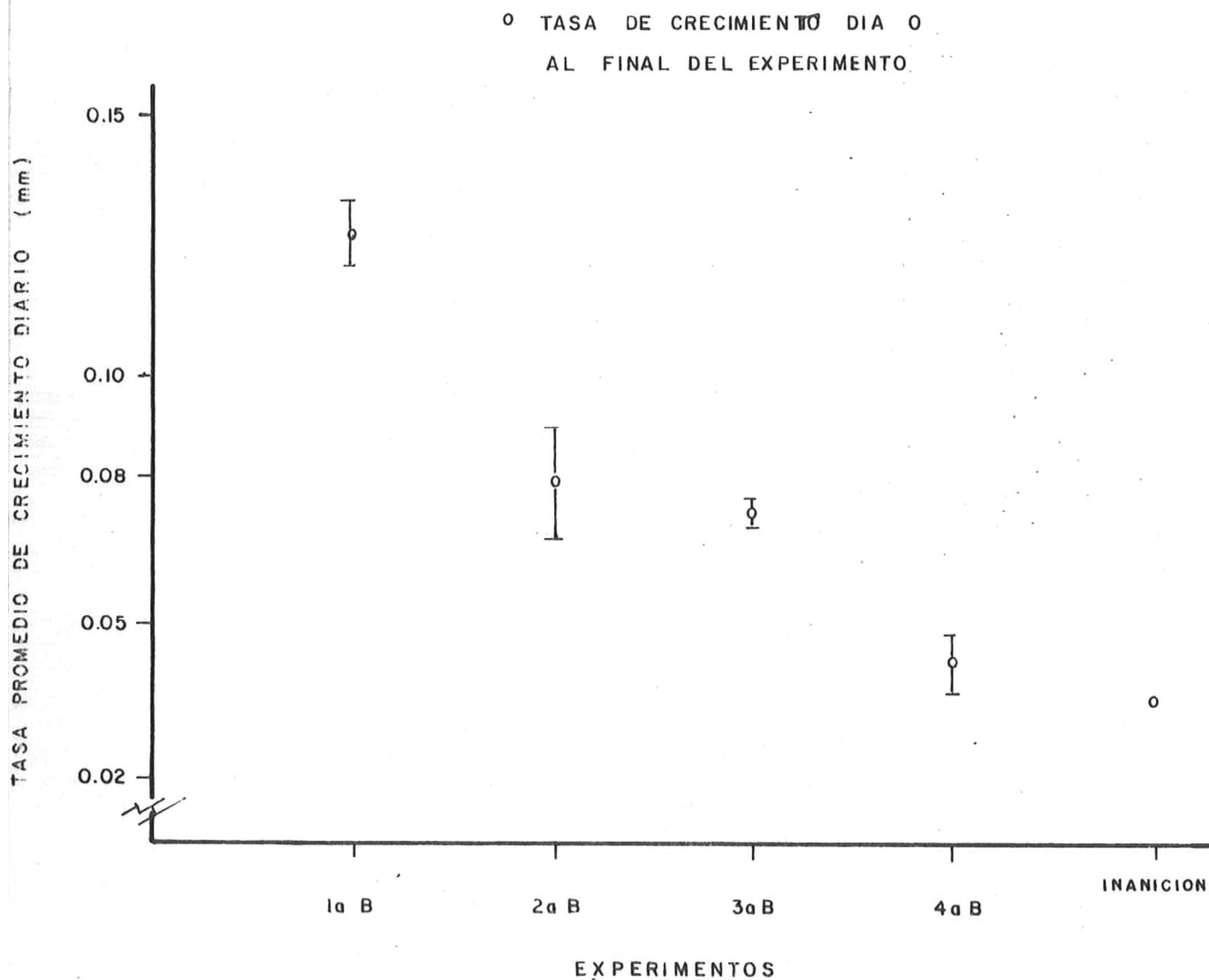


Figura 3. Efecto del retardo en la alimentación sobre el crecimiento de larvas de Atractoscion nobilis en laboratorio. Aproximadamente 4 orgs./ml de Brachionus plicatilis en cada experimento. La línea vertical indica la amplitud del rango para cada caso (experimento y su réplica).

Tabla V. Retardo en la alimentación. Prueba de comparaciones múltiples entre tratamientos (experimentos) para larvas de Atractoscion nobilis en condiciones de laboratorio.

Pareja	Discrepancia observada	Discrepancia máxima compatible.	Decisión al 5% de significancia.
1,2	27.592	20.587	Significativa
1,3	27.470	20.413	"
1,4	75.154	28.290	"
1,5	68.087	36.564	"
2,3	0.122	20.501	No Significativa
2,4	47.562	28.354	Significativa
2,5	40.495	36.614	"
3,4	47.685	28.229	"
3,5	40.617	36.516	"
4,5	7.067	41.438	No Significativa

experimentos y sus réplicas en el día 7 después de la eclosión, con excepción de aquel acuario que tuvo un nivel de 25 000 cels./ml (Fig. 4).

Los valores promedio del porcentaje de supervivencia en el control de inanición al día 7 y al día 8 después de la eclosión fueron de 77.4 y 64.7% .

-Crecimiento.

La Tabla VII resume los resultados obtenidos. El efecto de las diferentes concentraciones de Tetraselmis sp., sobre el crecimiento de larvas de A. nobilis fue otro de los objetivos de este trabajo. En algunos casos, los valores promedio de longitud para un experimento dado no siguen un patrón lógico o secuencial con respecto al tiempo, es decir, que el valor de longitud no se incrementa conforme pasa el tiempo, sino por el contrario, se reduce. En el caso del acuario con 25 000 cels./ml, la longitud promedio fue de 3.32 mm (2A) y de 3.28 mm (2B) para el día 7, y de 2.62 mm y 2.90 mm respectivamente para el día 9 después de la eclosión.

Con respecto a las tasas de crecimiento diario, las diferencias en los valores entre los experimentos no son marcadas, incluso son similares.

Por otra parte, la prueba "t de student" al 5% de significación, mostró que existen diferencias significativas entre

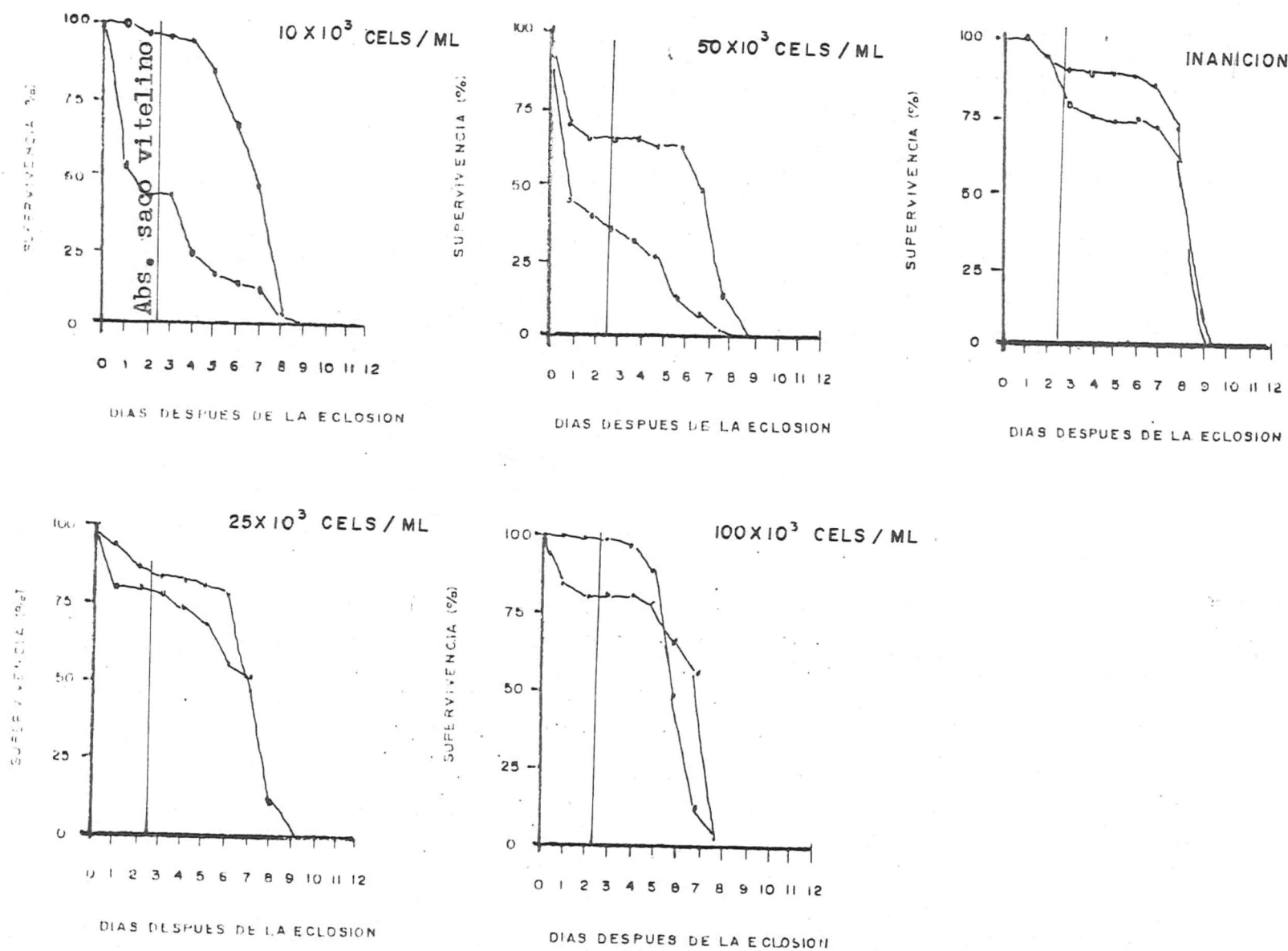


Figura 4. Efecto de diferentes concentraciones de *Tetraselmis sp.* (Cels./ml) sobre la supervivencia de *Atractoscion nobilis* en laboratorio.

TABLA VII. Resultados de crecimiento de larvas de *Atractoscion nobilis* mantenidas bajo diferentes concentraciones de *Tetraselmis* sp. en laboratorio.

Experimento	Población inicial de larvas	Nº de larvas preservadas y medidas.	Duración del experimento (días) ¹	Crecimiento en longitud ² (mm)				
				Long. est. día 0 ³ \bar{x}	Long. est. día 7 \bar{x}	Long. est. día 8 \bar{x}	Long. est. fin. exp. \bar{x}	Tasa de crec. diario: día 0 al fin. del exp. ⁴
1 A	201	7	8	2.37	3.00	3.14	-	0.094
1 B	195	13	9	2.37	2.93	-	3.20	0.090
2 A	171	10	9	2.37	3.32	-	2.62	0.079
2 B	202	9	9	2.37	3.28	-	2.9	0.084
3 A	192	9	8	2.37	3.15	3.31	-	0.090
3 B	195	5	9	2.37	3.33	-	-	0.093
4 A	179	6	9	2.37	3.29	3.29	3.33	0.097
4 B	181	7	8	2.37	3.06	2.96	-	0.095
Control A	216	8	9	2.37	3.36	-	3.02	0.090
Control B	169	8	9	2.37	3.33	-	2.80	0.080

1. Días después de la eclosión.
2. Referida como longitud estandar.
3. Valor promedio obtenido de 10 larvas procedentes del stock.
4. No se realizaron mediciones para ese día.

los tratamientos y sus réplicas en los casos 2A, 2B y 4A, 4B (Fig. 5). El comportamiento de las tasas promedio de crecimiento diario se puede apreciar en la Figura 6. Las variaciones no son muy pronunciadas entre los diferentes tratamientos. Los mayores valores se encuentran en los experimentos con altas concentraciones de microflagelados (50 000 y 100 000 cels./ml). Sin embargo, en el caso intermedio de una densidad de 10 000 cels./ml, se presenta también un valor relativamente grande de 0.092 mm/día. El análisis no-paramétrico de Kruskal Wallis a un nivel de significación del 5% mostró que no existen diferencias significativas entre los diversos tratamientos.

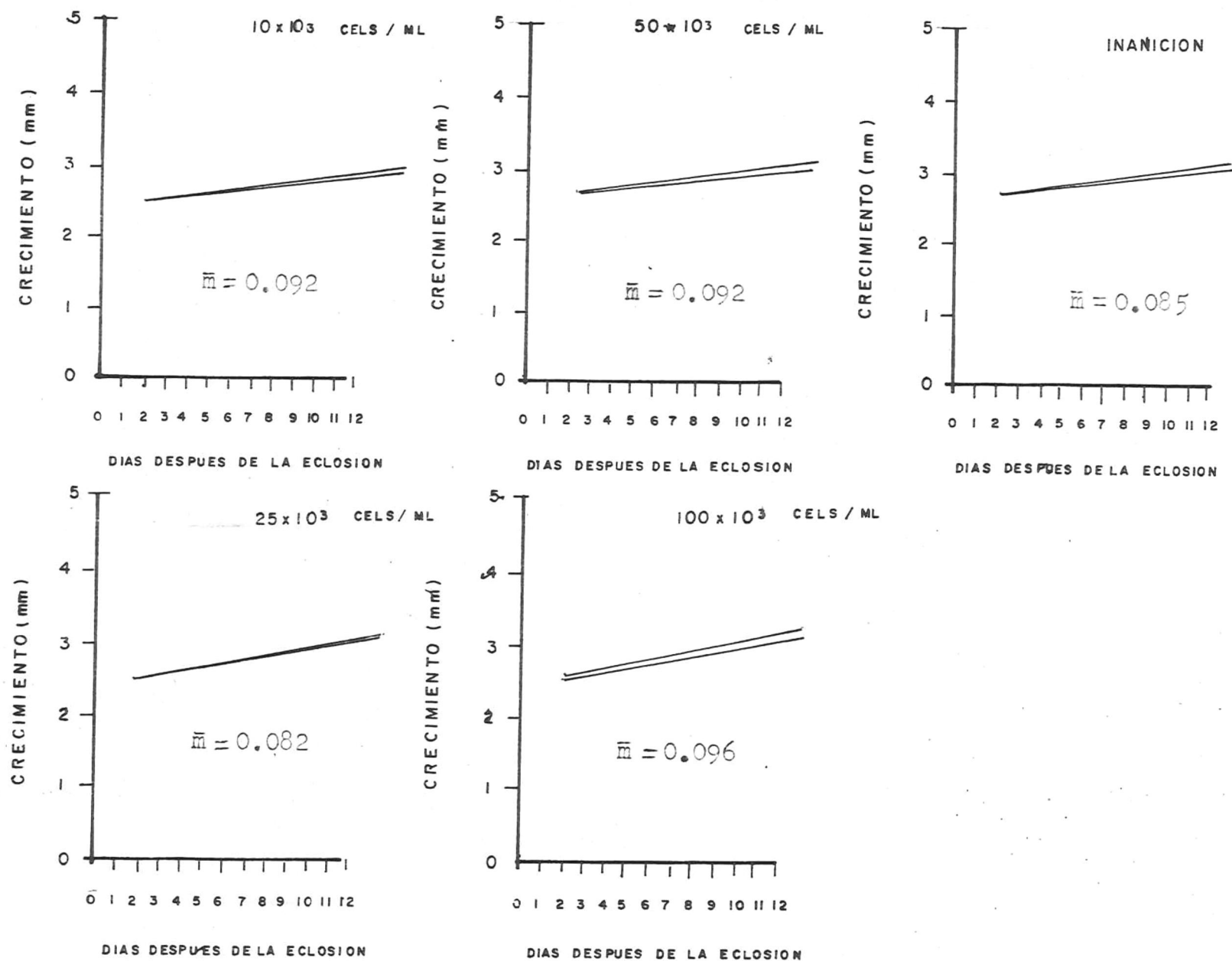


Figura 5. Gráficas de regresión lineal, tiempo (días después de la eclosión) VS. crecimiento (mm) para Larvas de Atractoscion nobilis en laboratorio, bajo diferentes concentraciones de Tetraselmis sp (Cels./ml). \bar{m} = pendiente promedio entre experimento y su réplica.

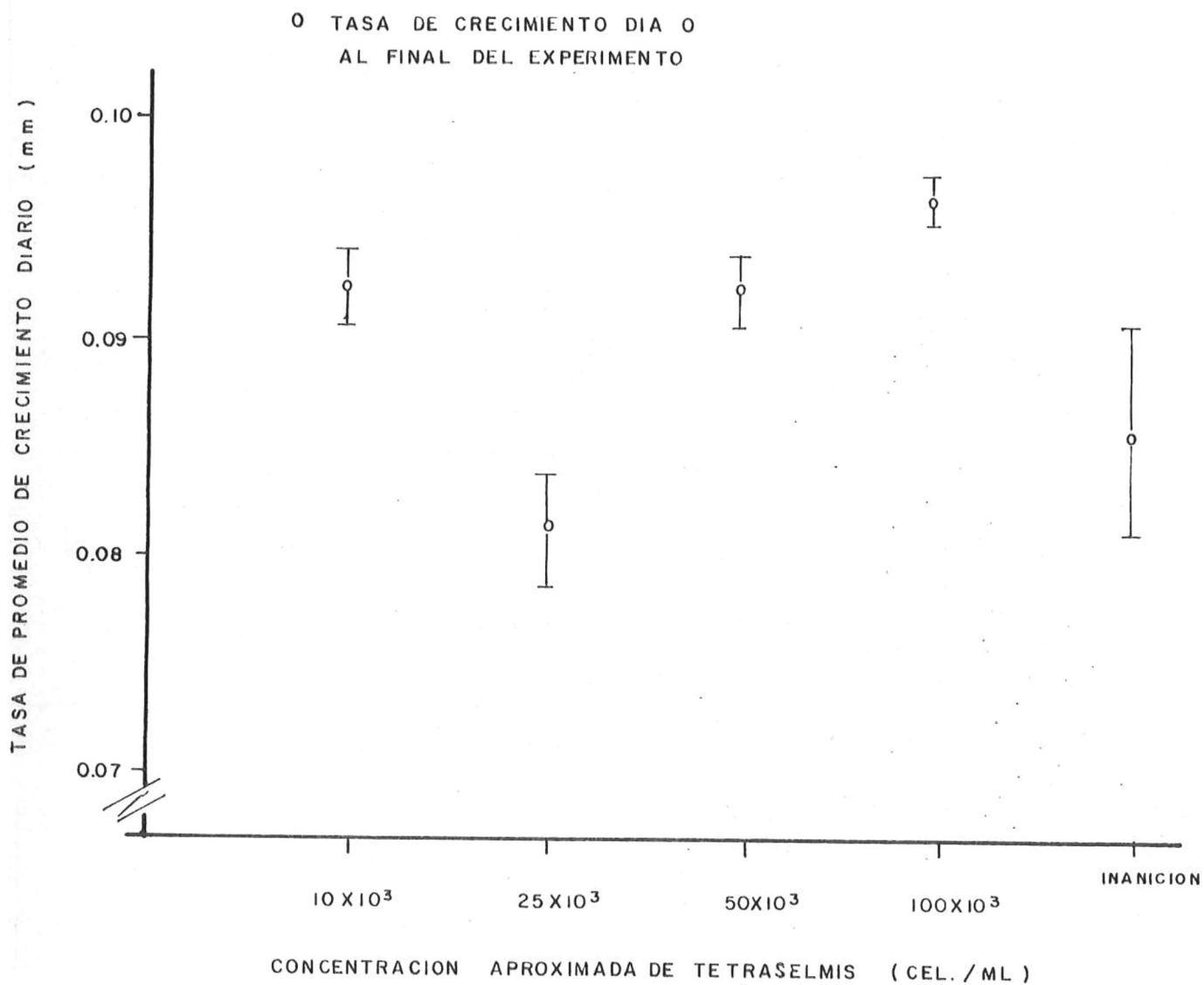


Figura 6. Efecto de diferentes concentraciones de *Tetraselmis* sp. sobre el crecimiento de larvas de *Atractoscion nobilis* en laboratorio.

La línea vertical indica la amplitud del rango para cada caso (experimento y su réplica).

IV. DISCUSIONES Y CONCLUSIONES.

Blaxter y Hempel (1963) observaron que larvas de arenque mantenidas sin alimento en tanques de cultivo, se vuelven progresivamente débiles y gradualmente alcanzan un punto donde no muestran comportamiento alimenticio, aún si el alimento se encuentra disponible. Puesto que es lógicamente improbable que las larvas puedan recuperarse pasando este punto, estos autores se refieren a esto como el "punto de no retorno" (o de inanición irreversible). Lasker et. al., (1970), al investigar el efecto del retardo en la alimentación sobre la supervivencia de larvas de anchoveta Engraulis mordax, concluyen que la alimentación puede ser retardada 1.5 días después de la absorción del saco vitelino sin incremento en la mortalidad, pero un retardo mayor a 1.5 días resulta en una mortalidad catastrófica. Este patrón de mortalidad refleja el concepto de período crítico sugerido por Hjort (1914). Wyatt (1972) encontró que larvas de platijas pasaron a un punto de no retorno después de 8 días sin alimento (a 10°C).

En este trabajo, se observó que los primeros estadíos de la curvina blanca (Atractoscion nobilis) presentan una mortalidad masiva aproximadamente al cuarto día después de la absorción del saco vitelino (Fig. 1; Tabla III), por lo que el punto de inanición irreversible se encuentra alrededor de ese punto. En lo

que respecta al efecto del retardo en la alimentación sobre el crecimiento de A. nobilis, se concluye que el mejor crecimiento ocurre en las larvas alimentadas inmediatamente después de la absorción del saco vitelino y que las tasas de crecimiento diario disminuyen conforme el retardo en la alimentación es más estricto (Fig. 3; Tabla IV). Por lo tanto, las larvas de esta especie sí muestran un período crítico en el sentido en que Hjort (1914) lo menciona. Puede inferirse que las larvas de A. nobilis se ven afectadas en forma considerable en el medio natural. El grado en que se vean afectadas dependerá de su fortaleza o adaptabilidad para resistir a la falta de alimento y a su habilidad para capturar cantidades adecuadas de alimento en las densidades prevalcientes en el océano.

En las Tablas III y VI se puede apreciar que existieron variaciones en el número inicial de huevos (ó de larvas para la serie de experimentos de concentraciones variables de Tetraselmis sp.), que debieron ser 200, lo cual puede atribuirse a la combinación de diferentes causas: incorrecto conteo en el número inicial de huevos o larvas; no todos los huevos eclosionaron y, por último, no todas las larvas muertas fueron detectadas durante la remoción diaria, (se observó que varias larvas muertas estuvieron siendo consumidas por grandes organismos ciliados cuando se extrajeron).

Paloma (1983, comunicación personal), realizando experimentos con A. nobilis, registró una mortalidad en masa de larvas de 14 días de edad, atribuyendo esto a problemas con la

vejiga natatoria. Mediante secciones histológicas encontró que las larvas de 12 días de edad son fisóstomas y señala que la desaparición del ducto neumático, que conecta la vejiga natatoria con el tubo digestivo, parece indicar un período crítico en la vida temprana de la curvina blanca. Se sugiere diseñar una serie de experimentos con una duración mayor de 12 días (de ser posible, hasta el momento de la metamorfosis) con el fin de poder observar otros períodos críticos, en caso de haberlos, para las larvas de A. nobilis. Vladimirov (1975) plantea la posibilidad de que algunas larvas de peces marinos pueden tener uno o varios períodos críticos (de alta sensibilidad) durante su desarrollo.

La segunda serie de experimentos de este trabajo (concentraciones variables de Tetraselmis sp.) tenía como objetivo mostrar los efectos sobre la supervivencia y el crecimiento de larvas de A. nobilis y demostrar con ello la posible utilización de Tetraselmis sp., como única fuente de alimento para dicha especie. Contrario a Scura y Jerde (1977), quienes sugieren la imposibilidad de utilizar diatomeas o microflagelados como fuente de alimento para larvas de anchoveta (Engraulis mordax), en los últimos años se ha presentado evidencia que apoya fuertemente la utilización de microflagelados (Tetraselmis sp. y Chlorella sp.). Moffat (1981) presenta por primera vez evidencia sobre la importancia de microflagelados (Chlorella sp.) como alimento para larvas de E. mordax cultivadas a densidades bajas de zooplancton natural (100, 150 y 300 orgs./l) en un medio conteniendo de 10 000 a 17 000 cels./ml de Chlorella sp. Posteriormente, en 1983, Rodríguez-Murillo encontró

resultados similares con larvas de E. mordax utilizando densidades bajas de microzooplancton (menos de 300 orgs./l) y densidades de 5000 a 10 000 cels./ml de Tetraselmis sp., la cual es la combinación característica de la Corriente de California. Carrillo y Solís (comunicación personal) probaron la importancia de la utilización de Tetraselmis sp., como única fuente de alimento de larvas de E. mordax. De los resultados obtenidos aquí (Figs. 4 y 6; Tablas VI y VII), se observa que tanto la supervivencia como el crecimiento no presentan valores altos con una densidad alta de Tetraselmis sp.; por el contrario, en el control de inanición se observa un mayor porcentaje de supervivencia comparados con los demás experimentos. Posiblemente eso se pueda explicar por la presencia de alimento en uno de los dos acuarios de cultivo que debieron carecer de alimento. En el caso del acuario con 25 000 cels./ml, la longitud promedio fue de 3.32 mm (2A) y de 3.28 mm (2B) para el día 7, y de 2.62 mm y 2.90 mm respectivamente para el día 9 después de la eclosión. Este "encogimiento" larval puede explicarse de tres maneras: error en las mediciones de longitud; tamaño de muestra muy pequeño (en algunos casos fue de 1 o de 2 larvas medidas, ya que la mortalidad no permitió determinar la longitud de las 5 larvas designadas inicialmente en el diseño experimental) y, por último, un evidente encogimiento físico por parte de las larvas por cuestiones no muy claras.

Sin embargo, la importancia del fitoplancton en los sistemas de cultivo no debe ser subestimada. Houde (1973) expresa que el cultivo de larvas de peces es mejorado por la presencia de

afloraciones de fitoplancton en los tanques de cultivo. El fitoplancton probablemente utiliza los metabolitos producidos por las larvas de peces y por el zooplancton que les sirve de alimento. Así, el fitoplancton actúa como un acondicionador del sistema de cultivo (extrae desperdicios metabólicos y suministra oxígeno).

En conclusión, las larvas de Atractoscion nobilis no utilizan al microflagelado Tetraselmis sp., como única fuente de alimento, pero es una buena fuente suplementaria si se combina con el rotífero Brachionus plicatilis. La causa podría ser el tamaño tan pequeño que tiene Tetraselmis sp., (15 a 25 micras) en comparación con el del rotífero (99 a 281 micras aprox.). Houde (op. cit.) señala que la mayoría de las larvas de peces, incluyendo a aquellas con bocas relativamente grandes, tales como atunes y lenguados, se empiezan a alimentar con organismos que varían de 50 a 125 micras de ancho e indica que la mayoría de las larvas de peces no comen fitoplancton.

V. LITERATURA CITADA.

Blaxter, J.H.S. y G. Hempel. 1963. The influence of egg size on herring larvae. Jour. Cons. Inter. Explor. Mer. 28: 211-240.

Carrillo, E. y Solís G. J. 1983. Comunicación personal.

Castro-Aguirre, J.L. 1978. Catálogo sistemático de los peces marinos que penetran a las aguas continentales de México, con aspectos zoogeográficos y ecológicos. Serie Científica Num. 19. Dpto. de Pesca. México 7, D.F. p. 128.

Guillard, R.L. 1972. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Culture of marine invertebrates animals. New York: Plenum, 409 pp.

Hjort, J. 1914. Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research. Rapp. Process. v. Cons. Inter. Explor. Mer. 20: 1-228. (202-210).

Hjort, J. 1926. Fluctuations in the year classes of important food fishes. Jour. Cons. Inter. Explor. Mer. 1: 1-138.

(32-36).

Houde, E. D. 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. World Mariculture Soc. 3: 83-112.

Houde, E. D. 1975. Effects of stocking density and food density on survival, growth and yield of laboratory reared larvae of sea bream Archosargus rhomboidalis (L) (Sparidae). J. Fish. Biol. 7: 115-127.

Jordan, D. S. y B. W. Evermann. 1923. American food and game fishes. Doubleday, Page and Co. 574 pp.

Lasker, R., H. M. Feder, G. H. Theilacker y R. C. May. 1970. Feeding, growth and survival of Engraulis mordax larvae in the laboratory. Marine biology. 5: 345-353.

Mc Clane, A. J. 1978. Field guide to saltwater fishes of North America. Holt, Rinehart, Winston Edit. 128-129.

Marr, J. C. 1956. The "critical period" in the early life history of marine fishes. Jour. Cons. Inter. Explor. Mer. 21: 160-170.

- May, R.C. 1970. Feeding larval fishes in the laboratory: a review. Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep. 14: 76-83.
- May, R.C. 1971. Effects of delayed initial feeding on the larvae of the grunion, Leuresthes tenuis (Ayres). NOAA, Fish. Bull. 69: 411-425.
- Miller, D.J. y R.N. Lea. 1972. Guide to the coastal marine fishes of California. Fish Bulletin # 157. p. 154.
- Moffat, N.M. 1981. Survival and growth of northern anchovy larvae on low zooplankton densities as affected by the presence of Chlorella bloom. Rapp. P. v. Reun. Cons. Inter. Explor. Mer. 178: 475-482.
- O'Connell, C.P., y L.P. Raymond. 1970. The effect of food density on survival and growth of early post yolk-sac larvae of the northern anchovy (Engraulis mordax Girard) in the laboratory. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 5: 187-197.
- Paloma, P. 1983. Comunicación personal.
- Roberts, D.E., L.A. Morey III, G.E. Henderson y K.R. Halcott. 1978. The effects of delayed feeding, stocking density, and food density on survival, growth, and production of larval red drum (Sciaenops ocellata). Proc. Ninth annual meeting World Mar. Soc. Atlanta, Georgia. 333-343.

- Rodríguez Murillo, J.A. 1983. Efecto de bajas densidades de alimento y concentraciones variables de Tetraselmis sp. en el crecimiento y supervivencia de estadíos larvales de la anchoveta Engraulis mordax Girard. Tesis de Maestría en Ciencias. C.I.C.E.S.E. Ensenada, B.C. Mexico. 80 pp.
- Saksena, V.P., y E.D. Houde. 1972. Effect of food level on the growth and survival of laboratory-reared larvae of bay anchovy (Anchoa mitchilli Valenciennes) and scale sardine (Harengula pensacolae Goode and Bean). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 8: 249-258.
- Scura, E.C., y C.W. Jerde. 1977. Various species of phytoplankton as food for larval anchovy, Engraulis mordax, and relative nutritional value of the dinoflagellates Gymnodinium splendens and Gonyaulax polyedra Fish. Bull. 75: 577-583.
- Shelburne, J.E. 1964. The artificial propagation of marine fish. Adv. Mar. Biol. 2: 1-63.
- Theilacker, G.H., y M.F. McMaster. 1971. Mass culture of the rotifer Brachionus plicatilis and its evaluation as food for larval anchovies. Mar. Biol. 10: 183-188.
- Wyatt, T. 1972. Some effects of food density on the growth and behavior of plaice larvae. Mar. Biol. 14: 210-216.

Vladimirov, V. I. 1975. Critical periods in the development of fishes. J. Ichtyol. 15: 851-869.