

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



***“RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE CELULAS
DE Tetraselmis suecica KYLIN (1935) COMO DIETA SOBRE
EL CRECIMIENTO Y LA SOBREVIVENCIA DE
Artemia sp. DE YAVAROS, SONORA, MEXICO,
EN CONDICIONES DE LABORATORIO”***

COMPLEMENTO-MEMORIAS

Que para obtener el Título de

OCEANOLOGO

PRESENTAN:

OLGA FLORES UZETA

YUL LEOPOLD HAASMANNN COSIO

HUMBERTO LOPEZ DADO

FERNANDO SOLIS OSUNA

Ensenada, Baja California, Junio de 1987

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

"RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE CELULAS
DE Tetraselmis suecica KYLIN (1935) COMO -
DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA SOBREVIVEN-
CIA DE Artemia sp. DE YAVAROS, SONORA, ME-
XICO, EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

COMPLEMENTO-MEMORIAS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
O C E A N O L O G O
PRESENTAN:
OLGA FLORES UZETA
YUL LEOPOLD HAASMANN COSIO
HUMBERTO LOPEZ DADO
FERNANDO SOLIS OSUNA

Ensenada, Baja California, Junio de 1987

"RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE CELULAS
DE Tetraselmis suecica KYLIN (1935) COMO -
DIETA SOBRE EL CRECIMIENTO Y LA SOBREVIVEN-
CIA DE Artemia sp. DE YAVAROS, SONORA, ME-
XICO, EN CONDICIONES DE LABORATORIO"

COMPLEMENTO-MEMORIAS QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

O C E A N O L O G O

PRESENTAN:

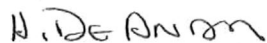
OLGA FLORES UZETA
YUL LEOPOLD HAASMANN COSIO
HUMBERTO LOPEZ DADO
FERNANDO SOLIS OSUNA

Aprobada por:



Presidente del Jurado

M.C. Guillermo Villareal Chávez

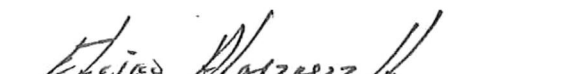


Sinodal Propietario
Oc. Horacio de Anda Delgado



Sinodal Propietario
Oc. Alejandro Cabello Pasini


Sinodal Suplente
Oc. Fernando García Pámanes


Sinodal Suplente
Oc. Eliseo Almanza Heredia

I N D I C E

	Pag.
INTRODUCCION	1
OBJETIVO	3
MATERIALES Y METODOS	4
RESULTADOS	9
CRECIMIENTO	19
SOBREVIVENCIA	13
DISCUSIONES	16
CONCLUSIONES	19
COMENTARIOS	19
LITERATURA CITADA	20

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS

TABLAS NUMERO	CONTENIDO	PAGINA
I	Valores de tallas (mm) y su desviación estándar de <u>Artemia</u> sp. alimentada con diferentes concentraciones de alimento...	10
II	Tallas promedio (mm) con su intervalo de confianza en función del tiempo.....	11
III	Valores de sobrevivencia en función -- del tiempo para originales y réplicas....	14

FIGURA NUMERO		
1	Botella de cultivo.....	5
2	Tanque donde se colocaron las botellas de cultivo a 28°C y aereación constante..	6
3	Curvas de crecimiento de <u>Artemia</u> sp. - cultivada con diferentes concentraciones de alimento	12
4	Histograma del número de organismos sobrevivientes por mililitro al final del experimento.....	15

R E S U M E N

Se cultivaron durante catorce días en condiciones constantes de temperatura a nivel laboratorio, ocho poblaciones del crustáceo Artemia sp. de Yavaros, Sonora, México en botellas de un litro con una densidad de 8 organismos por mililitro alimentados con la microalga Tetraselmis suecica en concentraciones de 10, 60, 150 y 200 mil células/ml, midiéndose el crecimiento y la sobrevivencia.

No alcanzamos a distinguir con claridad los efectos que produjeron las diferentes concentraciones de alimento utilizadas sobre el crecimiento. Mientras que para la sobrevivencia encontramos una relación bastante sugestiva entre la sobrevivencia y la concentración de alimento, aunque no se puede definir que sea debida al tratamiento.

I N T R O D U C C I O N

Muchas especies de crustáceos son cultivadas en la actualidad con fines comerciales y cuando menos en sus estadios larvarios son alimentados con un diminuto crustáceo - branchiópodo, Artemia sp. tal es el caso de la langosta -- del Atlántico Hormarus americanus (Rosemarck, 1978); del -- langostino Macrobrachium rosenbergii (Murai y Andreus, 1978) de los camarones carideos Palaemon serratus (Wickins, 1972) y P. macrodactylus (Little, 1969 citado por Landau y ---- Eifert, 1983); y los peneidos Penaeus vannamei (Landau y - Eifert, 1983); P. kerathurus y P. japonicus (Palmegiano y Trotta, 1983), entre otros.

El corto ciclo de vida de Artemia sp. y su capacidad para soportar condiciones adversas la hacen una especie -- idónea para cultivarla, siendo expresión de ello los trabajos de Sorgeloos y Persoone, 1975; Jahnig, 1977; Rogers y Johnston, 1977).

Artemia sp. es un crustáceo filtroalimentador no selectivo (Tobias et al., 1979a) que puede alimentarse con -- varias especies de microalgas como Dunaliella, Scenedesmus, Spirulina, (Sorgeloos, 1974; Royan, 1980) y especialmente Isochrysis galbana (Wickins, 1972). Además de algas suministradas ya sea congeladas, seca o pulverizadas, se han -- probado dietas inertes como el salvado de arroz, que han --

proporcionado exitosos resultados en el crecimiento, ----
 Royan, (1980).

La madurez sexual es alcanzada por Artemia en diez --
 días bajo condiciones óptimas (Tobias et al., 1979a). ---
 Teramoto y Kinoshita (1961) reportaron que la madurez de -
Artemia fue alcanzada en solo 6 a 7 días (utilizando leva-
 dura y vitaminas como alimento) y que el desove tuvo lugar
 al 11vo. día; Reeve, (1963 citado por Royan, 1980) reportó
 que Artemia nativa de Utha, EE.UU alimentadas con células de
 algas vivas necesitaron 54 días para completar el crecimien-
 to bajo condiciones de laboratorio. Estas grandes variacio-
 nes se explican en función de la naturaleza de las Artemias
 bajo estudio, el tipo de alimento, la ración y las condicio-
 nes de cultivo.

La temperatura óptima reportada para Artemia salina, -
 es de 20-30 °C (Jahnig, 1977; Helfrich, 1973). La eficien-
 cia máxima de crecimiento ocurre a salinidades de 35⁰/oo y
 a una concentración de 25 000 a 30 000 cel/mm³ de -----
Chlorella sp. y Dunaliella sp. a pesar de lo anterior ----
Artemia puede vivir en salinidades que van de 3 a 300 par--
 tes por mil (Croghan, 1958) y en un rango de temperatura de
 9 a 35°C según Bardach et al. 1972, citados por Rogers y --
 Johnston (1977).

Artemia tiene un alto contenido proteico, de 58% como
 indica Rogers y Johnston, (1977) citando a Gallagner y ----

Brown, 1975 y una tasa de conversión reportada por Mason - (1963) arriba de 20% y 79%.

En el presente trabajo se estudia el comportamiento en el crecimiento y sobrevivencia de Artemia ante una serie de combinaciones de Tetraselmis suecica, reportada como un género muy usado como alimento en cultivo de crustáceos, ---- según Aguirre, (1981).

OBJETIVO

Medir los efectos de la concentración de alimento suministrado sobre el crecimiento y la sobrevivencia de Artemia sp. a nivel de laboratorio.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

Fueron utilizados quistes provenientes de Yavaros, Sonora, México, ya que mostraron, en pruebas previas al experimento tener mejor tasa, eficiencia y porcentaje de eclosión que los procedentes de San Francisco, California, --- EE.UU. (lote 503-16).

Se pusieron a eclosionar quistes de Artemia en agua de mar filtrada y pasada por luz ultravioleta con aereación -- constante y agitación por las mismas burbujas de aire.

De aquí se tomaron 8000 nauplios para transferirlos a 4 botellas de cultivo de 1 lt. dichas botellas fueron de -- suero, desfondadas y usadas en posición inversa (Figura 1). Aquí fueron criadas las poblaciones de Artemia de Yavaros -- durante 14 días. Se alimentaron con Tetraselmis suecica --- (proporcionada por el Instituto de Investigaciones Oceanológicas de Ensenada); usando concentraciones de 10 000, ----- 60 000, 150 000 y 200 000 células/ml, respectivamente. Se -- corrió una réplica por cada original (ocho botellas en total). Todas las botellas estuvieron pendiendo en dos travesaños (uno para los originales y otro para réplicas), dentro de un baño maría a temperatura constante de 28°C y --- aereación individual continua, en un tanque de madera de -- 1.5 X 3.0 mts. recubierto con fibra de vidrio (Figura 2).

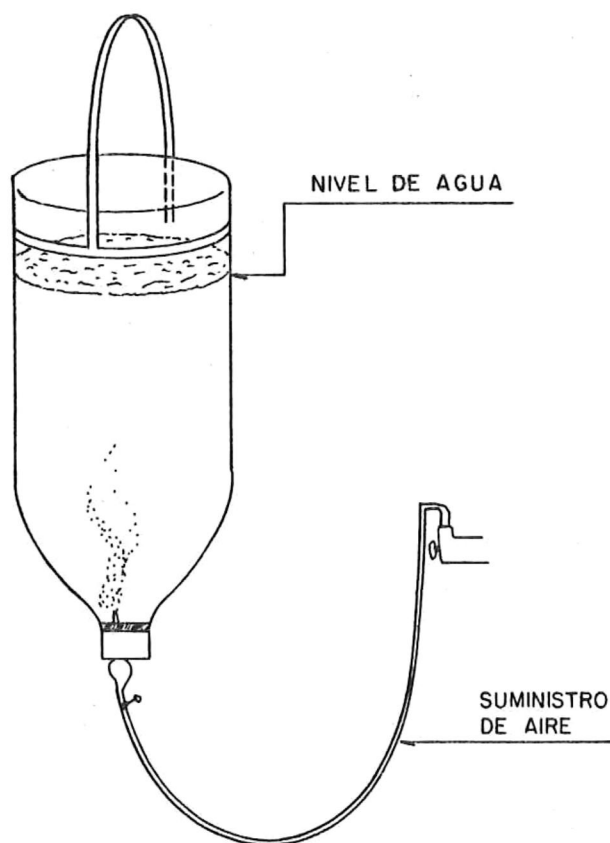


Figura 1 : Botella de cultivo de 1 lt.

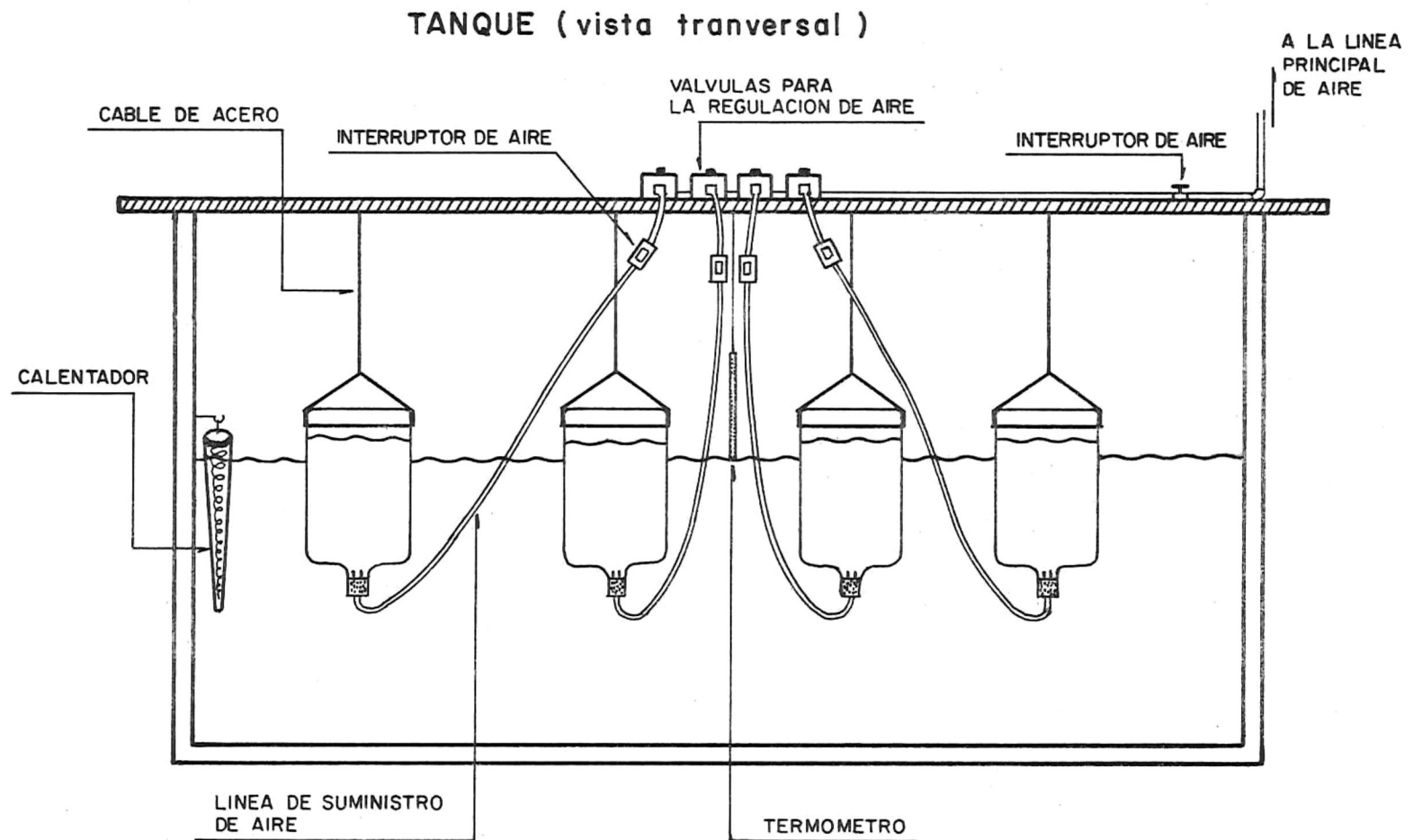


Figura 2: Tanque de madera revestido con fibra de vidrio en el que se colocaron las botellas a una temperatura de 28° C y aereación continua.

El experimento consistió en mantener a la densidad de 8 nauplios/ml., con la concentración de alimento descrita para lo cual se obtuvieron los volúmenes requeridos diariamente de T. suecica utilizando el método de conteo celular con hemtócitómetro el que consiste en contar la densidad de células/ml. del "stock" y de las botellas de cultivo, -- viendo la cantidad de células faltantes en cada botella -- para mantener constante la densidad inicial (10 000, 60 000, 150 000 y 200 000 cel./ml. sin tomar en cuenta la mortalidad de Artemias) y conociendo la densidad celular del ---- "stock" es fácil obtener la cantidad (en ml) de alimento - que hay que agregar a cada botella de cultivo.

Cada cuatro días se realizaron cambios de agua en todas las botellas para prevenir la acumulación de metabolitos y excretas fecales (método propuesto por Silva, 1987* comunicación personal). Los cambios fueron del 90% (900 ml) de agua, por medio de succión con una manguera delgada utilizando un filtro para evitar la fuga de organismos. Enseguida se calentaba el agua en un recipiente de vidrio sobre una plancha eléctrica, llenando las botellas de cultivo con agua de mar 28°C con el fin de no ocasionar un desequilibrio térmico a los organismos.

*Silva Loera A. Maestro del curso de titulación, ---- 1986-1987 Facultad de ciencias Marinas.

Cada tercer día se midió la longitud de los organismos con la ayuda de un microscopio compuesto con objetivo graduado, se tomó en cuenta la longitud total, desde el tope anterior de la cabeza hasta la base de la furca caudal. Se sacrificaron de 7 a 10 organismos/muestra de los que se obtuvo un promedio de tallas.

La sobrevivencia se observó cada cuatro días utilizando una pipeta graduada de 1 m. tomando una muestra homogénea; esto es, aumentando la cantidad de aire regulada por la manguera puesta en la base de la botella, y de aquí introduciendo la pipeta para así contar el número de organismos en cada pipetada y regresándolos a la correspondiente botella de cultivo. Esta operación se repitió diez veces - obteniéndose un promedio de organismos vivos/ml.

Para justificar el hecho de promediar los valores de crecimiento entre original y réplica se aplicó la Prueba t de Student (Sokal y Rohlf, 1969).

R E S U L T A D O S

CRECIMIENTO

Los promedios entre los originales y sus réplicas fueron usados en el presente trabajo para los datos de crecimiento después de aplicarles la prueba t de Student con $H_0: \mu_1 = \mu_2$, y para todos los casos fue aceptada la hipótesis nula a un nivel de significancia de 0.05. Estos datos de crecimiento llamados talla media en mm y desviación estándar son sumariados en la Tabla I.

En la Figura 3, se observa un crecimiento más acelerado a partir del día 4-12 en los organismos alimentados con la menor concentración de células/ml, (P1), seguido por P2 y P4; que al finalizar el experimento lograron mantenerse arriba de P1. Si observamos la Tabla II numéricamente al día 14 del experimento P2 y P4 tuvieron una diferencia en talla de .01 (2.88 y 2.89 respectivamente) aún así no siendo mayor que la lograda en P1 al día 12 (2.93).

Volviendo a la Figura 3, si analizamos a P3 del día 10 al finalizar el experimento, se observa que se mantuvo a -- bajo de todas las curvas. Sin embargo, no hubo un patrón -- definido en el crecimiento de Artemia alimentada con las distintas concentraciones de alimento.

Los resultados del día 14 nos muestran que al máximo

TABLA I. Valores de las tallas medias en mm y su desviación estándar (O=original y R=réplica) de Artemia alimentada con diferentes concentraciones de T. suecica en botellas de cultivo de 1 lt.

dia	O1	R1	O2	R2	O3	R3	O4	R4
2	0.78 ±.09	0.71±.13	0.74±.10	0.74±.14	0.62±.06	0.75±.13	0.70±.07	0.65±.65
4	0.78 ±.08	0.78±.07	0.82±.06	0.80±.07	0.95±.10	0.94±.10	0.97±.07	0.93±.11
6	1.30 ±.01	1.64±.00	0.96±.12	1.23±.10	1.15±.12	1.57±.30	1.17±.09	1.68±.24
8	1.21 ±.28	2.49±.27	1.30±.13	1.02±.10	1.89±.17	1.54±.28	1.47±.14	1.45±.30
10	2.70 ±.30	2.30±.09	1.48±.04	2.01±.38	1.41±.08	1.92±.20	1.70±.21	1.95±.11
12	2.91 ±.42	2.95±.36	2.05±.32	2.98±.73	1.85±.29	2.20±.18	1.90±.35	2.25±.29
14	2.45 ±.33	3.01±.20	3.56±.31	2.20±.34	2.30±.45	2.57±.47	2.84±.46	2.94±.62

TABLA II Tallas promedio (m.m.) con su intervalo de confianza en función del tiempo de Artemia alimentada con T. suecica.

CONCENTRACION DE ALIMENTO				
dia	10 000	60 000	150 000	200 000
2	0.74 $\pm$ 0.0226	0.74 $\pm$ 0.099	0.68 $\pm$ 0.080	0.67 $\pm$ 0.046
4	0.76 $\pm$ 0.063	0.81 $\pm$ 0.053	0.94 $\pm$ 0.081	0.95 $\pm$ 0.075
6	1.47 $\pm$ 0.005	1.09 $\pm$ 0.081	1.36 $\pm$ 0.180	0.42 $\pm$ 0.140
8	1.85 $\pm$ 0.220	1.16 $\pm$ 0.093	1.71 $\pm$ 0.480	1.46 $\pm$ 0.190
10	2.50 $\pm$ 0.180	1.74 $\pm$ 0.220	1.66 $\pm$ 0.120	1.82 $\pm$ 0.130
12	2.93 $\pm$ 0.310	2.51 $\pm$ 0.360	2.02 $\pm$ 0.190	2.07 $\pm$ 0.110
14	2.73 $\pm$ 0.210	2.88 $\pm$ 0.780	2.43 $\pm$ 0.370	2.89 $\pm$ 0.450

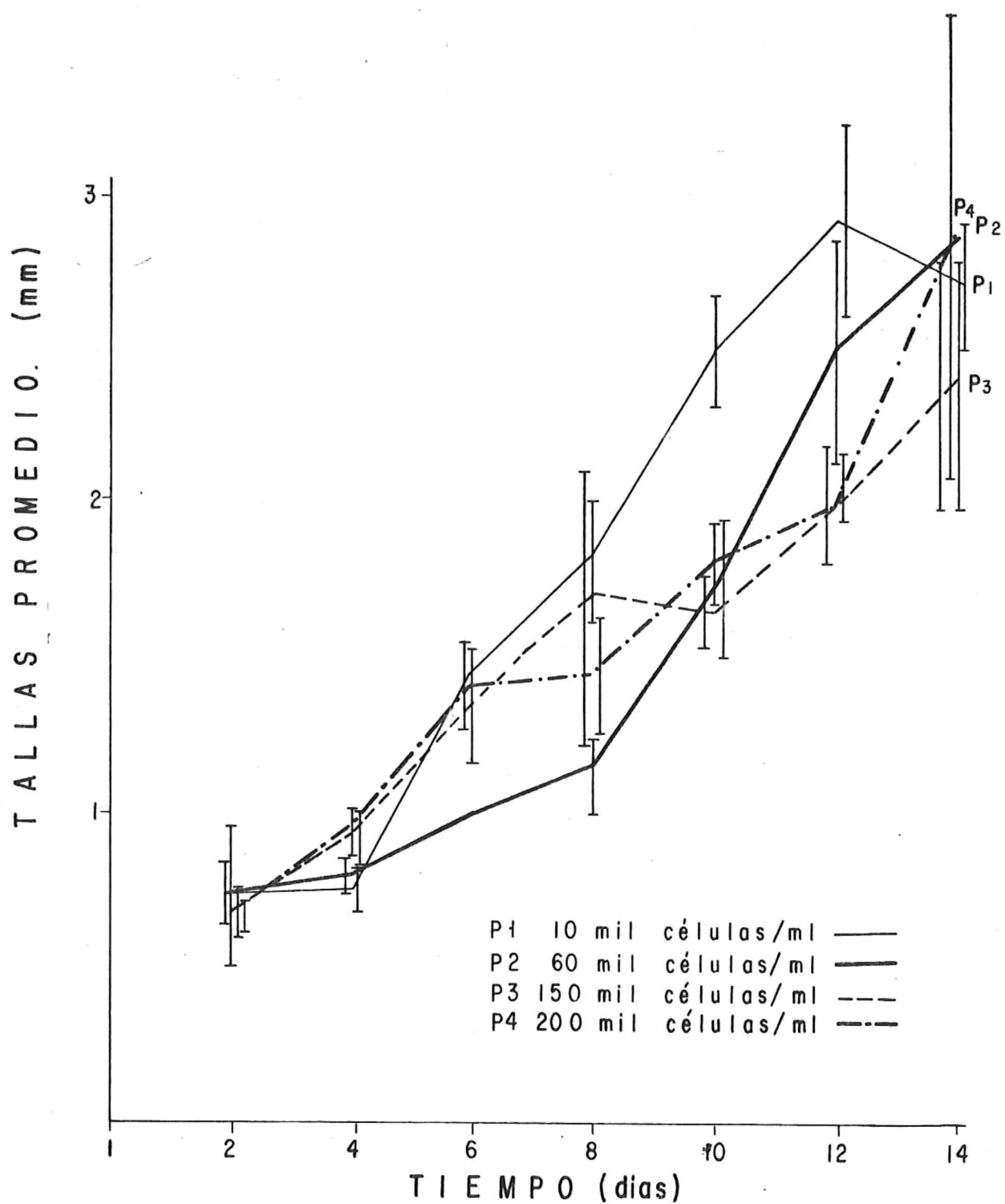


Figura.3: Curvas de crecimiento de *Artemia* cultivada en diferentes concentraciones de alimento.

crecimiento alcanzado fue con 200 mil células/ml. y el -- menor con 150 mil. Dichos valores fueron 2.89 ± 0.45 y -- 2.43 ± 0.370 respectivamente.

SOBREVIVENCIA

En la Tabla III se observa que solamente en los organismos alimentados con 150 y 200 mil células/ml se obtuvieron valores cercanos al 50% de sobrevivencia el último día del experimento, estos valores van de 4.00 a 5.30 organismos por ml. Uno de los valores, el correspondiente a los organismos alimentados con 150 mil células/ml. en el último día es de 5.3 organismos/ml. Lo curioso es que este valor es más del doble de 2.5 organismos/ml que corresponde a la medición del penúltimo día.

En la Figura 4, podemos observar como la mayor sobrevivencia se da en el original 3 y la menor en R1. Las barras menores corresponden a las menores concentraciones de alimento y las barras mayores a las de concentraciones más -- altas de alimento suministrado.

TABLA III. Valores medios de sobrevivencia para los diferentes días del experimento

(O = Original ; R = réplica).

DIA	O1	R1	O2	R2	O3	R3	O4	R4
4	1.14	0.00	7.00	5.37	6.00	5.14	8.30	6.00
8	0.18	0.09	0.63	1.18	3.54	2.27	5.54	3.81
12	0.33	0.83	1.83	1.50	2.50	2.16	3.83	3.16
14	0.70	0.50	1.80	1.90	5.30	4.00	4.70	4.60

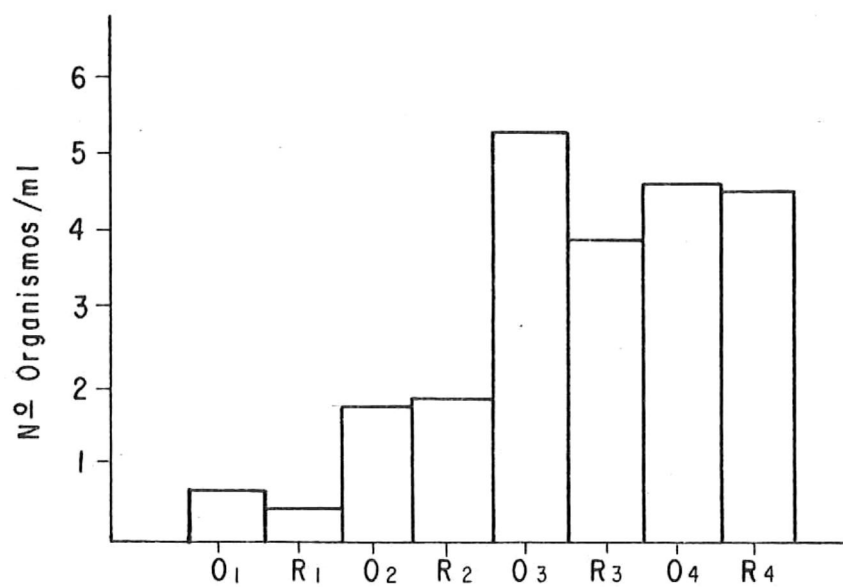


Figura.4: Histograma que muestra el número de organismos sobrevivientes al final del experimento. (O= original ; R= réplica).

DISCUSIONES

Los resultados de la prueba t de Student, aplicados - para probar la hipótesis de que no había diferencia significativas entre las medias de cada original y su réplica nos indicó que en cada par de frascos alimentados con una cantidad específica de microalgas teníamos poblaciones con la misma media con un 95% de confianza.

El hecho de que en la población alimentada con 10 mil células/ml se observan un descenso en la talla promedio nos puede indicar que el muestreo realizado fue selectivo, o - bien que en efecto la talla promedio de dicha población fue menor debido a que los organismos de tallas mayores murieron por inanición predominando entonces las artemias pequeñas. Las tallas mayores entre los organismos que fueron -- cultivados con la densidad de 8 organismos/ml se obtuvieron con la concentración de 200 mil células/ml.

Con respecto a los efectos que sobre el crecimiento tuvo la alimentación, creemos justo reconocer que el experimento realizado no es suficiente para plantear una hipótesis explicativa basada en hechos experimentales y además no contiene los elementos estructurales de diseño destinados a descubrir cuantificar los efectos de los cambios en la -- velocidad del crecimiento considerando los fenómenos bioló-

gicos de las etapas preadultas y la madurez sexual.

En la Tabla III observamos un curioso comportamiento en la sobrevivencia, que es un incremento, en la concentración de 150 mil células/ml y solo para la botella designada como original 3, quedando la explicación que debido a ---- errores de muestreo realizados en los días 12 y 14 se obtuvieron sobrevivencias mayores a las precedentes. Esta situación en la determinación de la sobrevivencia ha sido ya reportada por Tobias et al. (1979b) quienes encuentran que en el quinceavo día de cultivo la sobrevivencia fue mayor que en el quinto día, y proponen que fue debido a un error en la determinación de la sobrevivencia.

Probablemente el error nuestro no estuvo en el conteo de los organismos dentro de la pipeta, sino en el hecho de que no contabamos con un método adecuado para lograr la -- homogenización de la población dentro de cada frasco. ---- Creemos que la brusca caída en la sobrevivencia en la población alimentada con 10 mil células/ml se debió a la falta de alimento, ya que la concentración mencionada es muy baja comparada con otras utilizadas, como la reportada por ---- Sorgeloos, (1973) quien alimentó a Artemia con 100 mil -- células por individuo (Dunalliella) mientras que nosotros solo dimos 1250 células de T. suecica.

También es necesario considerar el efecto que tuvo la mortalidad en la consideración anterior, ya que al incre--

mentarse esta. Los sobrevivientes dispusieron de más alimento y así la cantidad de células por organismo fue distinta para cada momento del experimento, sin embargo, el diseño experimental no contempla lo anterior ya que el suministro de algas se hizo en forma constante a lo largo del experimento sin considerar los cambios en el número de organismos que sobrevivían en función del tiempo.

También existe la incógnita de como se incrementó la competencia por alimento en cada tratamiento y si esto provocó la muerte de los organismos menos capacitados para la sobrevivencia, y permitió el florecimiento de los organismos con una alta tasa de asimilación y crecimiento.

Posiblemente la influencia combinada de los factores anteriormente mencionados fue la responsable de haber obtenido un resultado contrario a lo esperado.

CONCLUSIONES

No alcanzamos a distinguir con claridad los efectos - que produjeron las diferentes concentraciones de alimento utilizadas sobre el crecimiento.

Encontramos una relación bastante sugestiva entre la sobrevivencia y la concentración de alimento, aunque no - podemos definir que sea debida al tratamiento.

COMENTARIOS

"Hay cinco componentes de un experimento; Hipótesis, Diseño experimental, Análisis estadístico e Interpretación". Hurlbert, 1984. El paso de una a otra de estas etapas debe ser dado después de un proceso concienzudo; antes de realizar el experimento, el diseño debe de estar bien fundamentado, muy claro antes de empezar desde como montarlo, distribución al azar de las réplicas y puestas en otro estanque distinto al de los originales y especialmente tener cuidado al determinar al número de las variables que se manejan en el experimento.

L I T E R A T U R A C I T A D A

- Aguirre, A., 1981. Estudios con un cultivo semicontinuo de Tetraselmis suecica Kylin (1935): Nutrientes, vitaminas, desinfección del medio U.V. y producción del sistema a largo plazo. Tesis. Universidad Autónoma de Baja California, Esc. Sup. de Ciencias Marinas, - Ensenada, B.C., México.
- Croghan, P. 1958. The survival of Artemia salina (L.) in various media. J. Exp. Biol. 35:213-218.
- Helfrich, P., 1973. The feasibility of brine shrimp ---- production on Christmas Islands. Sea Grant Technical Report. UNIH-TR 73-02.
- Hurbert, S., 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecological Monographs, 54 (2):187-211.
- Jahnig Ch., 1977. Artemia culture on commercial pilot scale Proc. World Maric. Soc. Vol. 8 169-172.
- Landau M., and R. Eifert, 1983. The suitability of two strains of Artemia (Phyllopoda, Anostraca) as food for developing Penaeus vannamei Boone (Decapoda; --- Natantia) Notes and News 106-110.
- Murai T., and J. Andrews, 1978. Comparison of feeds for -- larval stages of the giant prawn (Macrobrachium ---- rosebergii). European maric. Soc. 9; 189-193.

- Palmegiano G., and P. Trotta, 1983. Artemia salina as ----
 pabulum for growing penaeids under laboratory -----
 conditions. Aquaculture Engineering 2: 173-179.
- Rogers L., y R. Johnston, 1977. The culture of brine shrimp
 (Artemia salina) under semi controlled conditions Proc.
 World Maric. Soc. 8:185-194.
- Royan J.P., 1980. Laboratorye and field studies on an --
 Indian strain of the brine shrimp Artemia. Vol. 3:
 323-329. Ecology culturing use in aquaculture. -----
 Universa Press.
- Rosemark R., 1978. Growth of Homarus americanus on Artemia
salina diets with and without supplementation. -----
 European Mar. Soc. 9:251-257.
- Sokal, R. & F. Rohlf, 1969. Biometry W. H. Freeman & Company
 U.S.A., 776 pages.
- Sorgeloos, P., 1973. High density culturing of the brine -
 shrimp Artemia salina L. Aquaculture Vol. 1: 385-391.
- Soorgeloos P., 1974. The influence of algal food preparation
 on its nutritional value for Artemia salina (L.) -----
 larvae. Tharassia Yugoslavia Vol. 10:313-320.
- Sorgeloos P., and G. Persoone, 1975. Technological -----
 improvements for the cultivation of invertebrates as
 food for fishes and crustaceans II. Hatching and ----
 culturing of brine shrimp, Artemia salina L. -----
 Aquaculture 6: 303-317.

Teramoto K., and S. Kinoshita, 1961. Some informations on the culture of Artemia. Bull. of the Japanesse Society of Sc. Fisheries Vol. 27: 801-804.

Tobias W., P. Sorgeloos, E. Bossuyte, and O. Roels, 1979a. The technical fesibility of mass culturing, Artemia salina in the St. Croix "Artificial upwelling maricultor system". Proc. World Maric. Soc. Vol. 10:203-214.

Tobias, W., Sorgeloos, P., Roels, A. & B. Sharfstein, 1979b. A comparison of production data of 17 geografical ---- strains of Artemia in the Croix Artificial Upwelling Mariculture system. The brine shrimp Artemia. Vol. 3: 383-391.

Wickins J.F., 1972. The food value of brine shrimp, ----- Artemia salina to larvae of the prawn, Palemon ---- serratus I. Mar. Biol. Ass. N: S. 21: 753-768.