

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Escuela Superior de Ciencias Marinas



MEMORIA DEL PRIMER CURSO DE TITULACION

METODOS DE CULTIVO DE LARVAS DE PECES MARINOS

Trabajos de Investigacion

Presentados por:

CARLOS ENRIQUE CHAIN CASTRO

HERON ANTONIO SILVA LOERA

JOSE PEDRO DURAZO FIMBRES

PORFIRIO GARCIA SAIZA

ENSENADA, B. C., JUNIO DE 1983.

Contenido

	Página
Primer Experimento	
Introducción	1
Antecedentes	2
Objetivos	3
Materiales y Método	4
Resultados	7
Discusiones	14
Conclusiones	17
Recomendaciones	17
Literatura Citada	18
Segundo Experimento	
Introducción	21
Antecedentes	22
Objetivo	23
Materiales y Método	24
Resultados	27
Discusiones	35
Conclusiones	37
Recomendaciones	37
Literatura Citada	38

METODOLOGIA DE CULTIVO EN LABORATORIO Y DETERMINACION
DEL PUNTO DE "INANICION IRREVERSIBLE" DE LARVAS DE -
CURVINA BLANCA (Atractoscion nobilis).

Introducción.

Las investigaciones de huevos y larvas de peces marinos, -- realizadas hasta la actualidad, nos permiten tener un mejor conocimiento sobre los huevos y larvas "per se", de los ecosistemas marinos y de las poblaciones de peces. Así mismo, el conocimiento de -- técnicas en el manejo de éstos recursos para disponer de ellos con fines acuiculturales.

/ Se ha determinado que la alimentación es uno de los principales factores en el medio que influyen en las primeras etapas del desarrollo de la vida de los peces (Hjort, 1914). Esto, porque la larva al terminar de reabsorber el saco vitelino requiere de alimentación exógena. A éste nivel de desarrollo la localización del alimento debe suceder en un lapso de tiempo durante el cual el organismo tenga suficiente energía para poder asimilarlo, ya que de no ser así, el gasto energético sería tal que ya no podría aprovechar lo ingerido; a ésta condición se le conoce como inanición irreversible o punto de "no retorno", concepto introducido en 1963 por Blaxter y Hempel (Blaxter, 1969).

Antecedentes.

Los estudios de huevos y larvas de peces marinos se iniciaron a fines del siglo XIX, con las investigaciones realizadas por los franceses Fabre-Demergue y E. Biéatrix en el año de 1897; sin embargo, fué hasta principios del siglo XX, cuando éstos trabajos comenzaron a tomar importancia a nivel científico.

Hjort (1914), propuso una serie de ideas basadas en que las fluctuaciones en la abundancia de peces con estadíos larvales planctónicos están estrechamente relacionados con la disponibilidad del alimento adecuado en las primeras etapas de su desarrollo ontogénico. Hasta la actualidad un gran número de investigadores han revisado estas propuestas obteniendo como resultado, que la alimentación es factor importante en el crecimiento y la sobrevivencia en los primeros estadíos larvales de los peces marinos (Marr, 1956; Mikhman, 1969; May, 1974; Vladimirov, 1975; Lasker, 1981).

Los peces marinos al eclosionar, poseen un saco vitelino del cual obtienen los requerimientos alimenticios en las primeras etapas de su desarrollo. La duración de éste período prolarval (Hubbs, 1943), es variada tanto a nivel interespecífico como a infraespecífico por efecto de factores ambientales (Vladimirov, op. cit.). La poca duración del período prolarval conduce a un desarrollo acelerado de las estructuras de percepción y captura, así como las de asimilación, -- permitiendo en muchas ocasiones iniciar la alimentación exógena, antes de haber consumido el saco vitelino (Shelbourne, 1957; Hunter y Thomas, 1974).

La falta de alimento en el medio después de haber consumido-

el vitelo, afecta principalmente a la larva en su sistema digestivo, páncreas e hígado (O' Connell y Raymond, 1970; Theilacker y McMaster, 1971). En el año de 1976 Herlick y otros investigadores utilizaron el factor W/L^3 (donde W , es el peso del organismo y L^3 la longitud elevada a la tercera potencia), como índice de daño por inanición en Clupea harengus encontrando que la larva comienza a perder grasa y flotabilidad conjuntamente con la deformación de su cuerpo.

Por otra parte, se ha demostrado que existe un efecto diferencial en el período larval debido a la carencia de alimento, esto es, que las larvas que van a iniciar su alimentación exógena son mayormente afectadas que las de edad más avanzada (Riley, 1966; Rosental y Hempel, 1970; Hunter, op. cit.). Es evidente que la disponibilidad de alimento en el rango de tamaño y densidad adecuada es crítico para evitar la muerte por inanición en larvas jóvenes.

Los objetivos del presente trabajo son: Aprender la metodología básica para cultivar larvas de peces marinos y observar el efecto del retraso de la alimentación en el crecimiento y la sobrevivencia en larvas de curvina blanca (Atractoscion nobilis).

Materiales y método.

El experimento se realizó con huevos de curvina blanca ----- (Atractoscion nobilis), donado por National Marine Fisheries Services, La Jolla, California (E.U.A.). Estos fueron transportados al -- laboratorio de acuicultura de la Escuela Superior de Ciencias Mari-- nas, Ensenada, B.C. (México) en recipientes térmicos con agua de mar a una temperatura entre 16 y 17 grados centígrados.

Se utilizaron nueve recipientes circulares de plástico, ocho de color azul y uno negro, conteniendo cada uno un volúmen de 10 litros de agua de mar filtrada y tratada con luz ultravioleta que a su vez fué inoculada con microalgas (Tetraselmis sp) a una concentra-- ción de $3-5 \times 10^3$ cel/ml.

El sistema de cultivo utilizado fué del tipo semi-estático, sin aereación. En cada uno de los recipientes se depositaron 200 hue-- vos extraídos de los recipientes térmicos. El porcentaje de eclosión inicialmente fué determinado colocando en nueve cajas de petri con -- agua de mar, diez huevecillos por cada una.

Para fines de llegar a los objetivos planteados en el presen-- te experimento, los nueve recipientes fueron separados en cinco gru-- pos, consistiendo cada uno en original y réplica.

Se utilizó como alimento rotíferos (Brachionus sp.) a una -- concentración de 3-4 organismos por milímetro, excepto el control de inanición (sin réplica), administrándose en diferentes intervalos de tiempo para cada uno de los grupos:

- Grupo I .- El día de la absorción del saco vitelino.
- Grupo II.- Dos días después de la absorción del saco vite-- lino.

Grupo III.- Tres días después de la absorción del saco vitelino.

Grupo IV.- Cuatro días después de la absorción del saco vitelino.

Grupo V. - Control, no se le proporcionó alimento.

En el transcurso del experimento se realizaron observaciones a las larvas (desarrollo morfológico), monitoreos diarios (mañana y tarde) de las concentraciones de microalgas y rotíferos a fin de mantenerlas constantes, ambas concentraciones eran determinadas mediante conteos, directos de organismos en alicuotas tomadas aleatoriamente de los recipientes, diluyendo o concentrando según fuera el caso. Para determinar la concentración deseada de microalgas se emplearon las siguientes fórmulas:

$$X = \frac{C_d - C_a}{C_f} \times 10^4$$

Cuando la concentración de microalgas en el acuario es menor y

$$X = \frac{C_a - C_d}{C_a} \times 10^4$$

Cuando la concentración en el acuario es mayor, Donde X, es la cantidad que se debe añadir o sustraer del recipiente; C_d , la concentración deseada; C_a , la concentración en el acuario y C_f , la concentración del stock de microalgas.

Para obtener los datos de crecimiento se extrajeron cinco larvas por recipiente el día de la eclosión, repitiéndose lo anterior - los días séptimos, noveno, décimo, décimo primero y décimo segundo - posteriores a la eclosión. Los organismos extraídos fueron preservados en una solución de formol al 5%, posteriormente se realizaron --

mediciones de longitud estándar (desde la mandíbula hasta la parte-terminal del notocordio), utilizando un microscópio estereoscópico-con micrómetro ocular.

Las larvas extraídas diariamente de los recipientes se contaron para determinar el porcentaje de sobrevivencia, empleando la fórmula descrita por O'Connell y Raymond (1970).

$$S_n = \frac{P - \sum_{k=1}^n m_k}{P} \times 100$$

Donde S_n , es la sobrevivencia expresada en por ciento; P ; la población inicial y m , la mortalidad diaria.

Para obtener la tasa diaria de crecimiento de las larvas se calculó la ecuación de la recta de regresión ($y = a + bx$), cuya pendiente (b) es dicha tasa.

Para comprobar si los datos de sobrevivencia entre original y réplica de cada grupo eran significativamente diferentes se realizó la prueba de rango para dos muestras de Wilcoxon ó Mann y Whitney, dicha prueba se consideró como la más adecuada para procesar los datos, ya que no presentaban una distribución normal y el tamaño de la muestra no era lo suficientemente grande como para desarrollar un análisis de varianza o cualquier otra prueba paramétrica. El uso de éstas pruebas, en casos semejantes, reducen la probabilidad de significación y la sensibilidad de la misma para un resultado -- significativo queda alterado, por lo que es recomendable no utilizar pruebas paramétricas (Snedecor y Cochran, 1977; Hasylett, 1979).

Resultados

Los datos obtenidos, se resumen en la tabla I. Las cantidades de salinidad, temperatura y concentración de alimento que se encuentran expresados, son promedios determinados de las observaciones realizadas a lo largo del experimento.

La temperatura varió de 18.6 ± 0.6 °C y la salinidad de $32.87 \pm 0,327$ ppm.

La fluctuación en la concentración del alimento (rotíferos) fue de 0.0 en el control hasta 4.76 org./ml. en los demás grupos. -- Así mismo, en esta tabla, se muestra la mortalidad natural diaria de las larvas, mortalidad total por pesca y el número total de larvas muertas.

El porcentaje de eclosión que se indica se obtuvo tomando -- en cuenta la suma resultante de larvas vivas, más el número total de larvas muertas tanto diariamente como por pesca en relación con las 200 larvas, que supuestamente fueron depositadas en los recipientes de cada grupo; no considerando de ésta forma el porcentaje de eclosión descrito en la metodología.

La tabla II, nos indica la longitud promedio y las tasas de crecimiento por grupos, relacionadas cada una con su desviación estándar; en la figura 1, se muestra gráficamente la longitud promedio por grupo.

En la figura 2, se observan las rectas de regresión obtenidas para cada grupo (original y réplica) donde se muestra que las tasas de crecimiento (b) variaron de 0.047 a 0.114 mm/día para los originales y las réplicas de 0.056 a 0.145 mm/día.

TABLA I.- DATOS OBTENIDOS EN EL EXPERIMENTO, PARA DETERMINAR EL PUNTO DE "NO RETORNO"
DE LA ESPECIE CURVINA BLANCA (*Atractoscion nobilis*)

Grupo	% Eclosion	N° de larvas iniciales	(1) indicador	Dias de experimentación												N° total de mor- talidad natural	N° total mortal- idad por pesca	N° to- tal de larvas muertas	% to- tal de sobrevi- vencia	t (°C) v S %/oo	conc. Te- trasele- nis sp. 10 ³ c/ml	conc. rotife- ros (org/ml)	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11								12
I A	82.5	165	N° de larvas muertas	0	8	10	2	0	0	0	2	9	21	0	3	5	60	25	85	48.9	18.02	5.5	4.76
			crec. (mm)	2.23						3.29		3.47	3.56	3.82	3.32								
I B	86.5	173	N° de larvas muertas	10	7	5	4	1	1	0	5	2	2	1	11	12	61	25	86	50.5	18.5	4.5	4.0
			crec. (mm)	2.09						2.75		3.40	3.49	3.54	3.69								
II A	91.5	183	N° de larvas muertas	23	5	1	1	5	0	0	6	26	15	7	5	6	100	25	125	31.7	18.0	6.5	3.4
			crec. (mm)	2.65						3.15		3.20	3.21	3.39	3.52								
II B	88.5	177	N° de larvas muertas	2	2	3	10	2	3	5	13	7	16	37	11	7	118	25	143	19.21	19.2	6.9	3.0
			crec. (mm)	2.0						3.02		3.02	3.37	3.38	3.4								
III A	92.0	184	N° de larvas muertas	0	7	61	8	4	5	0	5	43	13	2	2	4	154	25	179	2.72	18.05	4.8	2.9
			crec. (mm)	2.53						2.96		3.0	3.50	3.57	3.14								
III B	85.0	170	N° de larvas muertas	0	0	7	2	16	1	1	16	65	12	2	0	2	124	25	149	12.36	18.0	3.0	2.5
			crec. (mm)	2.49						3.13		3.41	3.41	3.40	3.28								
IV A	85.0	170	N° de larvas muertas	0	5	1	1	0	5	5	14	110	24	0	0	0	165	5	170	0.0	18.2	5.53	4.0
			crec. (mm)	2.57						2.90		-	-	-	-	-							
IV B	88.0	176	N° de larvas muertas	0	4	3	2	3	0	1	25	117	15	0	0	0	170	6	176	0.0	18.1	5.56	4.0
			crec. (mm)	2.60						3.12													
V	95.5	191	N° de larvas muertas	0	20	2	2	6	4	9	46	91	6	0	0	0	186	5	191	0.0	18.3	6.3	0.0
			crec. (mm)	2.66						3.13													

(1) En el N° de larvas muertas diariamente no se incluye la mortalidad por pesca.

La tabla III, expresa los porcentajes de sobrevivencia diaria estimados utilizando la ecuación de O'Connell y Reymond (1970). Además, a los datos de sobrevivencia se les aplicó un análisis comparativo para determinar si ambos casos resultaron significativamente semejantes o no; éste análisis se presenta en la tabla IV, - en la que se observa que en efecto no existe diferencia significativa entre los resultados de los recipientes de cada grupo.

El efecto del retraso de la primera alimentación en la sobrevivencia de curvina blanca, se refleja en la figura 3.

Tabla II.- Medias de los parámetros del crecimiento observado en las larvas de curvina blanca (Atractoscion nobilis).

Grupos	Longitud (mm).	Desv. estandar (S_x).	Tasa de crecimiento (mm/día)	Desv. estandar (S_y).
I	3.24	0.571	0.129	0.252
II	3.09	0.441	0.091	0.202
III	3.12	0.360	0.071	0.226
IV	2.81	0.261	0.052	0.211

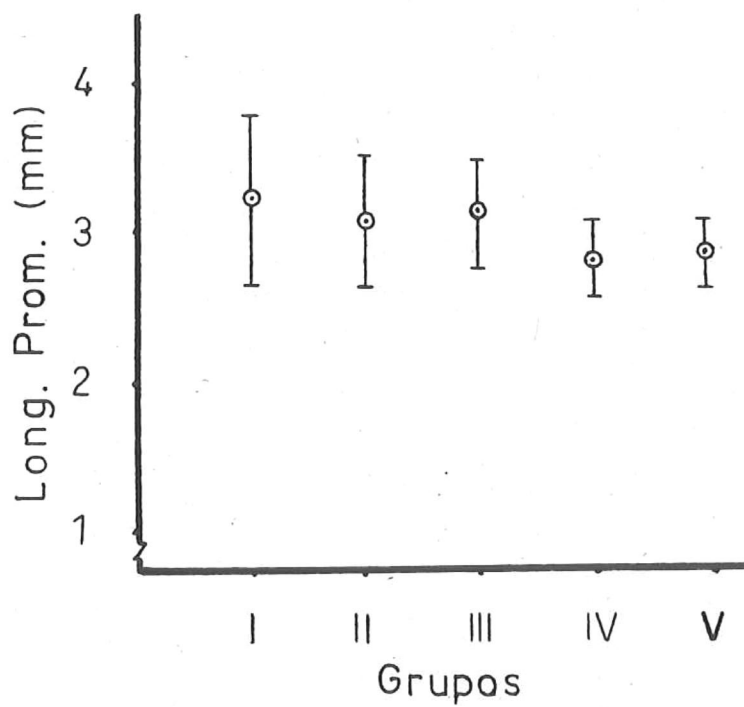


Figura 1.- Longitud promedio del crecimiento y su desviación estándar (S_x) para cada grupo.

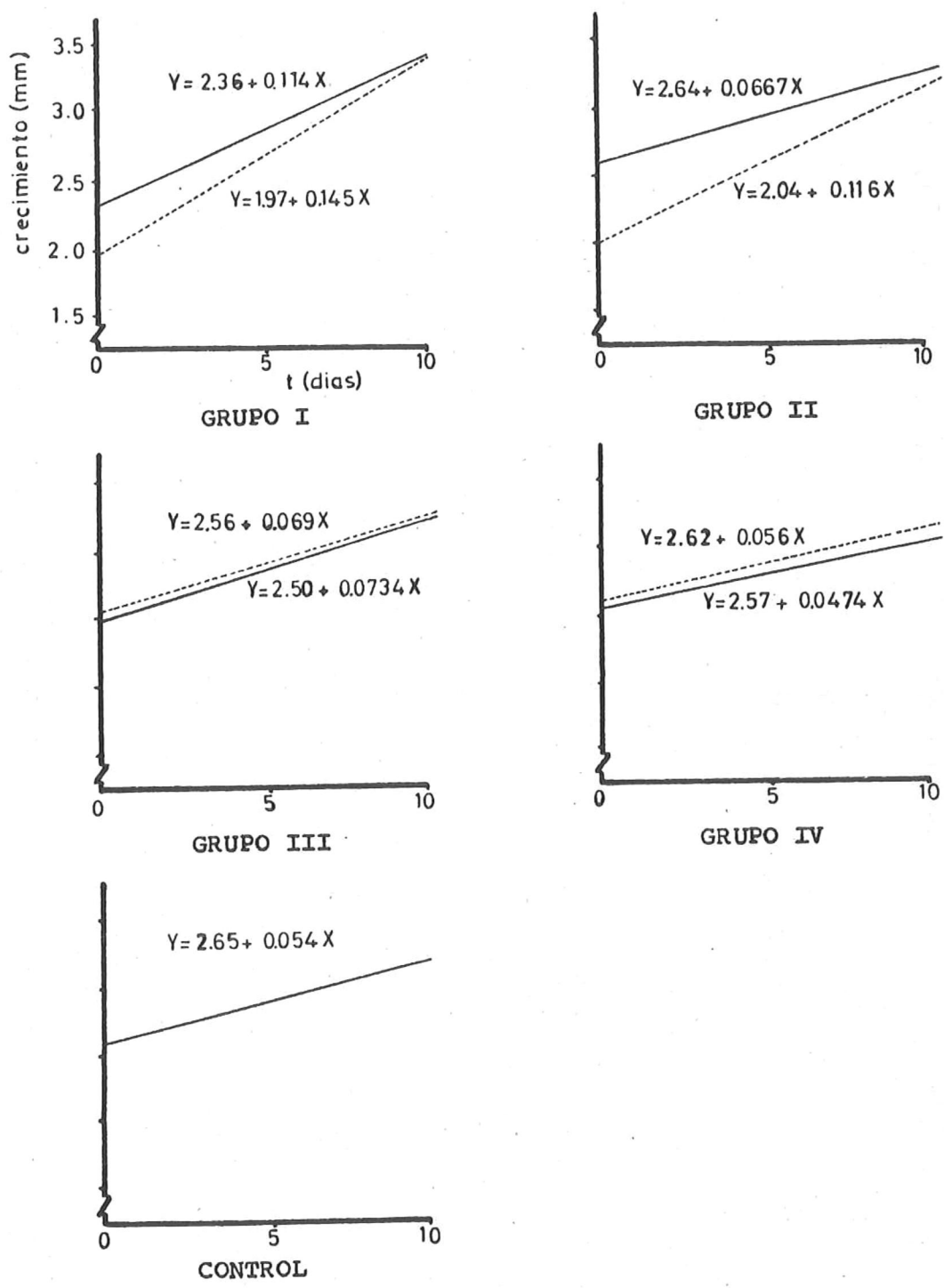


Figura 2.- Efecto del retraso de la primera alimentación en el crecimiento de la curvina blanca (*A. nobilis*).

— Original
- - - Réplica

Tabla III.- Porcientos de sobrevivencia diaria estimada utilizando la ecuación de O'Connell y Raymond.-

días	Grupos (original y réplica)								
	I A	I B	II A	II B	III A	III B	IV A	IV B	V
0	100.0	91.9	84.3	98.6	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	93.1	86.1	80.9	97.3	95.6	100.0	97.0	97.6	89.2
2	84.5	82.1	80.2	95.2	57.0	95.1	96.4	95.9	88.2
3	82.8	78.8	79.5	88.4	52.0	93.6	95.8	94.7	87.1
4	82.8	78.0	76.5	87.0	49.5	82.3	95.8	92.9	83.9
5	82.8	77.2	76.1	84.9	46.3	81.6	92.7	92.9	81.7
6	82.8	77.2	76.1	81.5	46.3	80.9	89.7	92.4	76.9
7	81.1	73.1	72.0	72.6	43.1	69.6	81.2	77.6	52.1
8	73.4	71.5	54.2	67.8	16.0	23.7	14.5	8.8	3.2
9	55.4	69.8	44.0	56.9	7.8	15.2	0.0	0.0	0.0
10	55.4	69.0	39.2	31.5	6.5	13.8	0.0	0.0	0.0
11	52.8	60.1	35.8	24.0	5.2	13.8	0.0	0.0	0.0
12	48.5	50.3	31.7	19.2	2.7	12.4	0.0	0.0	0.0

Tabla IV.- Análisis comparativo de original y réplica de cada grupo, utilizando la prueba de rango para dos muestras de Wilcoxon.

Grupos	prueba de hipótesis	T_c	$T_{0.05}$
IA -IB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	187	160
IIA-IIB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	224	160
III A - III B	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	185	160
IVA-IVB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	201	160

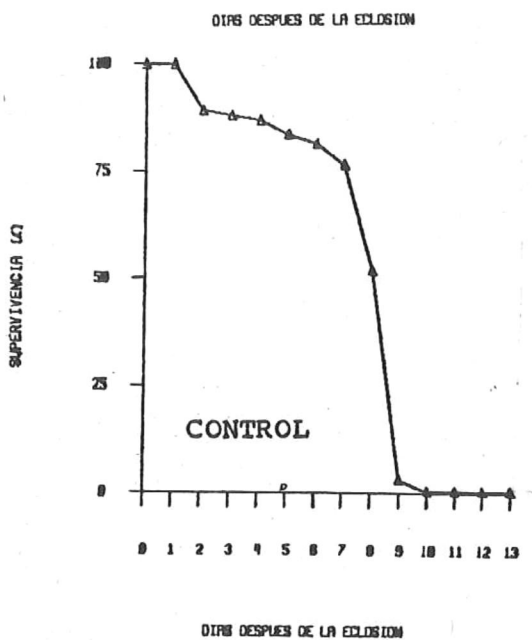
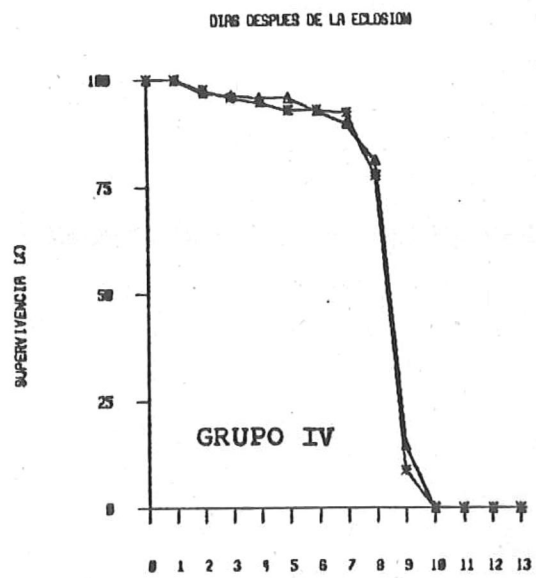
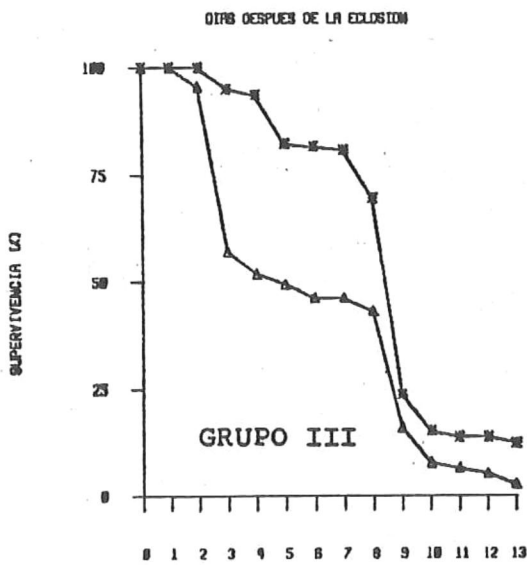
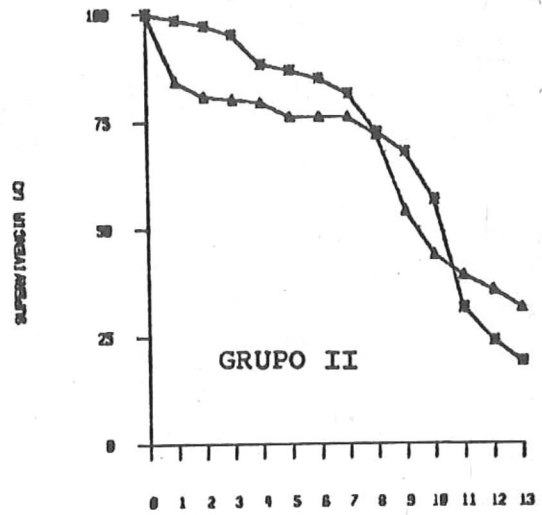
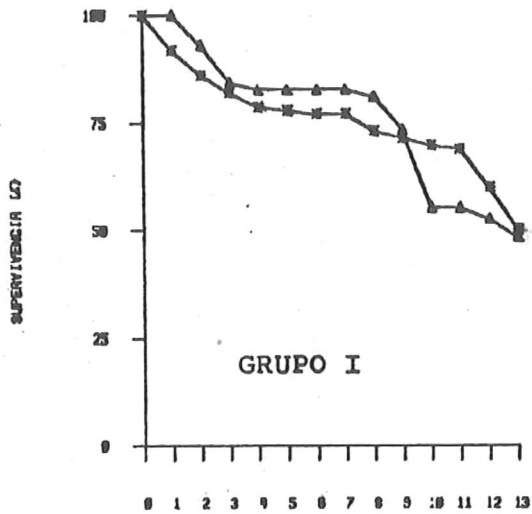


Figura 3.- Efecto del retraso de la primera alimentación en la sobrevivencia de A. nobilis.

-Δ-Δ-Δ-Δ-Δ- Original
 -*-*-*-*-* Réplica

Discusiones

En relación a las variaciones de temperatura y salinidad observadas (tabla I), es difícil determinar de forma objetiva si estas tuvieron algún efecto sobre la sobrevivencia y crecimiento de las -- larvas de Atractoscion nobilis, debido a la falta de información sobre esta especie. En trabajos realizados (May, 1971; Houde, 1973), - se ha visto que la temperatura puede afectar el éxito de un cultivo-- principalmente de dos formas: primero, el mantener una temperatura - fuera de los límites de una especie en particular puede producir la muerte total de las larvas, y segundo, la temperatura es determinante en el crecimiento de las larvas. La salinidad del medio, no ha si-- do considerada como un factor crítico en el cultivo de larvas de peces marinos, esto porque se ha demostrado que la mayoría de las larvas tienen amplio rango de tolerancia a la salinidad (May, 1971).

Los microflagelados (Tetraselmis sp.), en el presente experi-- mento fueron utilizados como alimento de Brachionus sp. y para enri-- quecer el medio ambiente de cultivo (com.pers. Carrillo y Solis).

Los rotíferos (Brachionus sp.), ya han sido utilizados en -- trabajos anteriores como alimento, específicamente en la alimenta-- ción de Engraulis mordax (Theilacker y McMaster, 1971; Hunter, 1972;- 1975), sugiriéndose la importancia de Brachionus sp. como fuente de-- alimento para el cultivo de larvas de peces marinos. Las concentra-- ciones utilizadas en este trabajo variaron de 0.0 organismos/ml. en el recipiente control a 4.76 organismos/ml. en los demás grupos (ta-- bla I). Estas cantidades fueron sugeridas por Carrillo y Solis (com. per.) quienes han tenido éxito alimentando E. mordax con rotíferos - a concentraciones de 2 a 5 organismos/ml. Esta concentración también

es similar a la observada en la corriente de California, cuyas condiciones son de 2 a 4 nauplios de copépodos/ml., (Lasker, 1981).

El crecimiento de las larvas, fué afectado por la falta de alimento disponible en el medio despues de la absorción del saco vitelino, lo anterior, se observa en la figura no. 2, donde la tasa de crecimiento es mayor en el grupo I, disminuyendo gradualmente -- hasta el control. La longitud promedio calculada por cada grupo se presenta en la figura I.

Blaxter y Hempel (1966), notaron que las larvas de arenque mantenidas sin alimento en acuarios, se vuelven progresivamente débiles y gradualmente alcanzan un punto donde no muestran comportamiento alimenticio aún cuando el alimento esté disponible; Refiriéndose a éste como el punto de no retorno. El arenque encuentra su -- punto de inanición irreversible a los 5 días después de haber absorvido el saco vitelino y a una temperatura de 12 °C. (Blaxter y Hempel, op. cit.). En larvas de anchoveta nortea (E. mordax) la alimentación puede ser retardada día y medio posterior a la absorción del vitelo sin incremento en la mortalidad, pero un retardo mayor -- al tiempo mencionado puede resultar fatal (Lasker, 1970). May, en 1971, investigó los efectos de retraso en la alimentación inicial -- en larvas de Leuresthes tenuis encontrando que estas fueron capaces de sobrevivir y crecer hasta el final de los 20 días del experimento, sin haberles suministrado alimento alguno. En el presente -- trabajo, las larvas de curvina blanca al parecer dejaron de asimilar alimento a partir, aproximadamente, del cuarto día después de -- absorvido el saco Vitelino; éste se observa en la figura 3, donde --

el grupo IV presenta una mortalidad considerable al cuarto día después de absorvido el vitelo, no obstante que se le proporcionó alimento; éste comportamiento también lo presenta la población de larvas contenida dentro del control de inanición. Los demás grupos presentan una posibilidad de recuperación.

Es de importancia señalar que el manipuleo al que se someten las larvas con motivo de los monitoreos de concentraciones, -- puede producirles "stress", pudiendo registrarse un incremento de mortalidad después de cada observación por lo que ésto debe efectuarse teniendo los cuidados necesarios.

Conclusiones

El retraso de la primera alimentación produce diferencias -- significativas en el crecimiento de las larvas, ya que la tasa de -- crecimiento diario observada es mayor en los organismos que recibie- ron alimento el día de la absorción del saco vitelino que los que -- fueron alimentados posteriormente. Esto es observado en la figura 2.

El punto de inanición irreversible se encontró al cuarto -- día de absorbido el saco vitelino (séptimo día después de la eclo- sión), la población de larvas a éste tiempo se colapsa bruscamente -- aún cuando se le suministró alimento (figura 3).

Recomendaciones

En base a la experiencia obtenida en este experimento, se su giere que antes de realizar cultivos de larvas de peces de especies- no experimentadas anteriormente, como en el caso de curvina blanca, -- se realicen investigaciones preliminares sobre la biología, ecología y comportamiento de la especie.

Este tipo de experimento debe ser realizado por no más de -- dos personas, las cuales se considera deberan tener el cuidado debi- do para el monitoreo de los datos y éstos sean confiables.

Literatura citada

- Blaxter, J.H.S. y G. Hempel, 1966. Utilization of yolk by herring larvae. *Mar. Biol.* 46:219-234.
- Blaxter, J.H.S., 1969. Experimental rearing of pilchard larvae, Sardina pilchardus. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 49:557-575.
- Hayslett, H.T. Jr., 1979. Estadística simplificada. 3a. edición. Ediciones Minerva. México, D.F. 212 pp.
- Hjort, J., 1914. Fluctuations in the great fisheries of Northern Europe viewed in the light of biological research Rapp. P-v. Réun. Cons. Int. Explor. Mer. 20:1-228.
- Hoar, S. William, 1978. Fisiología general y comparada. Ediciones Omega, S.A., Barcelona, España. 855 pp.
- Houde, E.D., 1973. Some recent advances and unsolved problems in the culture of marine fish larvae. *Proc. World. Maricult. Soc.* 3: 83-112.
- Hubbs, C.L., 1943. Terminology of early stages of fishes. *Copeia* 4: 260.
- Hunter, J.R., 1972. Swimming and feeding behavior of larvae anchovy - Engraulis mordax. NOAA, Fish Bull. 70: 821-838.
- Hunter, J.R. y G.L. Thomas, 1974. Effect of prey distribution and density on the searching and feeding behavior of larval anchovy, Engraulis mordax Girard. : 559-574. In the early life history of fish((J.H.S. Blaxter ed.) Springer Verlag, Berlin. 765 pp.
- Lasker, R. ed., 1981. Marine fish larvae: Morphology Ecology, and relation to fisheries. Univ. Washington, Press. Seattle. 131pp.

- Laurence, G.C., 1973. Influence of temperature on energy utilization of embryonic and prolarval tautog, Tautoga onotis. J. Fish. Res. Bd. Can. 30:435-442.
- Marr, J.C., 1956. The "Critical Period" in the early life history of marine fishes. Jour. Cons. Intern. Explor. Mer. 21: 160-170.
- May, R.C., 1974. Larval mortality in marine fishes and the critical period concept. p.3-19 In: The early life history of fish (J.H.S. Blaxter, ed.) Springer-Verlag, Berlin. 765 pp.
- Mikhman, A.S., 1969. Some new data on the larval feeding of the Azov Tyluka (Clupeonella delicatula)(Nordm.) and on the role of nutritional factor in fluctuations in its abundance. Prob. Ichthyol. 9:666-673.
- O'Connell 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.
- Riley, J.D., 1966. Marine fish culture in Britain. VII plaice (Pleuronectes platessa) part larval feeding on Artemia salina, L. nauplii and the effects of varying feeding levels. J. Cons. Int. Explor. Mer. 30: 204-221.
- Rosental, H. y G. Hempel, 1970. Experimental studies in feeding and food requirements of herring larvae (Clupea harengus) p. 344-364. In: Marine food chains (J.H. Steele ed.) Univ. Calif. Press. Berkeley. 562 pp.
- Shelbourne, J.E., 1957. The Feeding and conditions of plaice larvae in good and bad plancton patches. Jour. Mar. Biol. Ass. - U.K. 36:539-552.

Snedecor, G.W. y W.G. Cochran, 1977. Métodos Estadísticos. Cia. Ed. Continental, S.A. México, D.F. 703 pp.

Theilacker, G.H. y M.F. McMaster, 1971. Mass culture of rotifer --- (Brachionus plicatilis) and its evaluations as food larval for larval anchovies. Mar. Biol. 10:183.188.

Vladimirov, V.I., 1975. Critical periods on the development of --- fishes. Jour. Ichtiol. 15:851-868 (Traslation from Vopr. Ikthiol.)

UTILIZACION DE MICROFLAGELADOS (Tetraselmis sp.) COMO
ALIMENTO Y EL EFECTO DE LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES
EN EL CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE LA CURVINA BLAN-
CA (Atractoscion nobilis).

Introducción

El suministro adecuado de alimento durante los primeros estadíos larvales de peces marinos es útil para la sobrevivencia de éstas, por lo tanto los resultados de una deficiente alimentación originan una alta mortalidad que afecta el tamaño de la población; aunado a esto, existen ciertos parámetros físico-químicos del agua de mar que deben mantenerse en los intervalos característicos de la especie en cultivo (Houde, 1973). Siendo parte de las consideraciones anteriores a lo que Hjort en 1914 se refirió como "período crítico". Por causa de éste, el tamaño de una clase anual está determinado por la disponibilidad de alimento planctónico lo más brevemente posible después de la absorción del saco vitelino.

Sin embargo, no sólo la disponibilidad de alimento es determinante para una buena sobrevivencia larval, sino también la densidad, tamaño y calidad del alimento (Lasker et al., 1970; Scura y Jerde, 1977; Houde y Skecter, 1981). Respecto al tamaño de las partículas alimenticias, se sabe que oscila entre las 45 micras y lo que el tamaño de la boca de la larva le permita ingerir (Lasker, op. cit.; 1975; Scura y Jerde, op. cit.; Hunter, 1972). Sin embargo, Moffat (1981) observa que Engraulis mordax ingirió cantidades considerables de Chlorella sp. cuyo tamaño es menor (10 micras) que el requerido por las larvas de peces. Carrillo y Solis (comp. per.) encuentran que las larvas de E. mordax, efectivamente se alimentan de partículas pequeñas logrando buen porcentaje de sobrevivencia al alimentar las larvas con Tetraselmis sp.

Antecedentes

Varios investigadores, en experimentos de laboratorio han demostrado que gran número de larvas perecen de inanición al no encontrar alimento después de absorber el saco vitelino (Hjort, 1914; - Marr, 1956; May, 1974). Así mismo se han realizado estudios para determinar las concentraciones mínimas de alimento para la supervivencia de las larvas de peces marinos; por ejemplo, la anchoveta Engraulis mordax en sus primeras etapas de desarrollo requiere de una densidad mínima de alimento, de 1000 nauplios de copépodos por litro o de aproximadamente 105 rotíferos por litro; para otras especies, como Melanogrammus aeglefinus se han encontrado que se requieren densidades de 300 - 500 nauplios de copépodos por litro (O'Connell y Raymond, 1970; Hunter, 1972; Laurence, 1974). Sin embargo, se sabe que en el océano las concentraciones de alimento están muy por debajo de los requerimientos mínimos de la mayoría de las especies estudiadas (Houde, 1973).

Por otra parte, también se han realizado investigaciones respecto al tamaño del alimento, encontrándose que los rangos de éstos van desde 45 micras hasta lo que el tamaño de la boca le permita ingerir (Lasker et al., 1970, 1975; Scura y Jerde, 1977).

Se ha encontrado que E. mordax utiliza dentro de su dieta microflagelados (Gymnodinium sp.) y fitoplancton, esto ha sido investigado por Houde (1973), quien a sus cultivos experimentales agrega fitoplancton hasta dar al agua un color ligeramente verde (concepto de "agua verde").

En resumen, podemos decir que los métodos de cultivos experi--

mentales en larvas de peces marinos han progresado significativamente durante estos últimos setenta años encontrándose entre los más recientes, trabajos principalmente orientados al tamaño y concentración del alimento (Moffat, 1981; Rodríguez Murillo, 1983; Carrillo y Solís, com.per.).

En este trabajo se plantea como objetivo, determinar si son -- utilizados microflagelados (Tetraselmis sp.) como alimento por larvas de Atractoscion nobilis; así como el efecto de diferentes concentraciones de alimento en la sobrevivencia y crecimiento de las larvas.

Materiales y método.

El experimento se realizó con larvas de peces de la especie - llamada curvina blanca (Atractoscion nobilis) donadas por la Institución National Marine Fisheries Services, La Jolla, California (E. U.A.). Estas fueron transportadas al laboratorio de acuicultura de la Escuela Superior de Ciencias Marinas, Ensenada, B.C. (México) en recipientes térmicos con agua de mar a una temperatura aproximada - de 16 a 17 grados centígrados.

El sistema de cultivo fué del tipo semiestático sin aereación, consistente en diez recipientes circulares de plástico azules conteniendo un volúmen de diez litros de agua de mar filtrada (Lasker, et al., 1970) y tratada con luz ultravioleta, a una temperatura promedio de 19.29 ± 1.05 grados centígrados.

Se colocaron 200 larvas en cada uno de los recipientes y se -- mantuvieron a cuatro diferentes concentraciones de Tetraselmis sp. y un control de inanición. Para cada tratamiento se hizo una réplica, así como para el control. Las concentraciones de Tetraselmis sp fueron de: 1, 2.5, 5 y 10×10^4 células por mililitro para los grupos II, III, IV y V respectivamente. Se efectuaron conteos dos veces al día (mañana y tarde) a fin de mantener las concentraciones - constantes, utilizando las siguientes fórmulas:

- 1.- Cuando la concentración de alimento en el acuario es menor que la concentración deseada.

$$X_1 = \frac{C_d - C_a}{C_f} \times 10^4$$

2.- Cuando la concentración de alimento en el acuario es mayor que la concentración deseada.

$$X_2 = \frac{Ca - Cd}{Ca} \times 10^4$$

Donde X_1 , es el volúmen que se debe añadir al recipiente; X_2 , es el volúmen que se debe sustraer del recipiente; Cd , la concentración deseada; Ca , la concentración en el acuario y Cf , la concentración del stock de Tetraselmis sp.

Conjuntamente con observaciones diarias de las larvas, se realizaron dos veces al día, mediciones de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y Ph. Los análisis de las muestras se efectuaron utilizando un termómetro, un salinómetro-refractómetro, un oxígeno--metro y un potenciómetro de campo.

Las medidas del crecimiento se obtuvieron por medio de muestras de diez larvas el día en que se inició el experimento y cinco -- los días séptimo y noveno, después de iniciado, las cuales se preservaron en una solución de formol al 5%. Las mediciones de longitud se hicieron desde la mandíbula hasta la parte terminal del notocordio (longitud estándar) utilizando un microscópio estereoscópico con micrómetro ocular.

Las larvas muertas extraídas diariamente de los recipientes se contaron a fin de determinar el porcentaje de sobrevivencia, empleando la fórmula descrita por O'Connell y Raymond (1970):

$$S_n = \frac{P - \sum_{k=1}^n m_k}{P} \times 100$$

Donde S_n , es la sobrevivencia expresada en porcentaje; P , la población inicial y m , la mortalidad diaria.

Por otra parte, con el fin de obtener la tasa diaria de crecimiento de las larvas se calculó la ecuación de la recta de regresión ($Y = a + bX$), cuya pendiente (b) es dicha tasa.

Así mismo, se realizó la prueba de rango para dos muestras de Wilcoxon o Mann y Whitney entre los recipientes de cada grupo para comprobar si los datos de sobrevivencia entre original y réplica de los grupos eran significativamente diferentes (Snedecor y Cochran, 1977).

Resultados

Los datos monitoreados del experimento se exhiben en la tabla I, en donde comparativamente se contempla la concentración de Tetra selmis sp. en los originales y réplicas, larvas iniciales y finales así como las medidas de longitud.

En la tabla II se indican los parámetros físico-químicos (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y Ph) obtenidos en el experimento por cada grupo, observándose que no existe una tendencia definida para Ph y sí un leve incremento en el oxígeno disuelto, salinidad y temperatura de los grupos III y IV.

La ecuación de la recta de regresión calculada para cada tratamiento se expresa gráficamente en la figura 1. La longitud promedio de los organismos en cada grupo y las tasas de crecimiento determinadas (medias) con sus respectivas desviaciones estándar están expresadas en la tabla III, en donde se observa que la longitud promedio no es notablemente distinta entre los grupos y la tasa de crecimiento se muestra con un comportamiento no definido. En la figura 2 se contempla el efecto de la concentración sobre el crecimiento promedio en las larvas de cada tratamiento y su desviación estándar de la cual se puede decir que no se presenta una diferencia entre grupos, a excepción del grupo II (concentración 1×10^4 cel/ml) que muestra una disminución de la longitud en relación al resto de los grupos.

Con los datos de mortalidad diaria se calcularon los porcentajes de sobrevivencia para cada grupo lo cual se expresa en la tabla IV, sirviendo esta información para elaborar las curvas de sobrevivencia que se muestran en la figura 3.

En la tabla V se tienen los resultados de la prueba estadística no -
paramétrica aplicada al experimento, donde se observa que no existe-
diferencia significativa entre las poblaciones de original y réplica
de cada grupo, aceptándose la hipótesis nula (H_0) a una $P \leq 0.05$ de -
confianza.

Tabla I.- Datos obtenidos en el experimento, para determinar si son utilizados microflagelados (*Tetraselmis* sp.) como alimento por larvas de curvina blanca (*Atractoscion nobilis*).

GRUPOS	conc. de <i>Tetraselmis</i> sp. cel/ml ¹⁰ ⁴	No. de larvas inicial	indicador. (1)	DIAS DE EXPERIMENTACION										No. Total larvas muertas diariamente. (M)	No. Total de larvas muertas por pesca.	No. total larvas muertas
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9			
I A (control)	0.0	216	larvas muertas	0	2	11	33	9	2	1	5	24	121	208	8	216
			crec. (mm)	2.37							3.36		3.07			
I B (control)	0.0	169	larvas muertas	0	0	12	6	2	0	1	6	24	110	161	8	169
			crec. (mm)	2.37							3.33		2.80			
II A	1.0	201	larvas muertas	0	3	6	2	4	20	32	39	88	--	194	7	201
			crec. (mm)	2.37								3.00	3.14			
II B			larvas muertas	0	89	17	0	35	12	5	4	16	4	182	12	194
			crec. (mm)	2.37						2.89	2.93		3.20			
III A	2.5	171	larvas muertas	0	7	12	5	2	2	5	52	56	20	161	10	171
			crec. (mm)	2.37								3.32				
III B	2.5	198	larvas muertas	0	35	1	4	8	11	26	8	79	21	193	5	198
			crec. (mm)	2.37								3.28				
IV A	5.0	192	larvas muertas	0	0	104	9	8	8	10	23	10	11	183	9	192
			crec. (mm)	2.37								3.15	3.31			
IV B	5.0	195	larvas muertas	0	62	7	1	0	4	0	27	65	24	190	5	195
			crec. (mm)	2.37								3.33				
V A	10.0	179	larvas muertas	0	0	0	1	4	15	70	63	19	1	173	6	179
			crec. (mm)	2.37								3.29				
V B	10.0	181	larvas muertas	0	27	7	0	1	3	22	19	95	--	174	7	181
			crec. (mm)	2.37								3.06	2.90			

Tabla II.- Promedio de los parámetros físico-químicos registrados en cada uno de los recipientes.

indica- dador	Grupos (original y réplica)									
	I A	I B	II A	II B	III A	III B	IV A	IV B	V A	V B
T°C	17.62	17.72	17.91	17.87	17.80	17.80	17.80	18.00	18.26	18.47
S°/‰	31.75	31.78	32.73	32.90	33.25	33.14	33.00	33.20	33.25	33.16
O ₂ (d)	6.60	6.93	6.80	7.10	7.10	7.31	7.23	7.30	7.40	7.33
Ph	8.00	8.00	7.90	7.41	7.83	7.93	7.80	7.81	7.90	8.00

Tabla III.- Medias de los parámetros del crecimiento observado en las larvas de curvina blanca (Atractoscion nobilis).

Grupo	Longitud (mm.)	desviación estandar ($S_{\bar{X}}$).	tasa de crecimiento (mm/día).	desviación estandar ($S_{\bar{Y}}$).
I (control)	2.88	0.408	0.084	0.496
II	2.83	0.342	0.088	0.419
III	2.79	0.427	0.094	0.571
IV	2.90	0.443	0.122	0.593
V	2.90	0.395	0.094	0.461

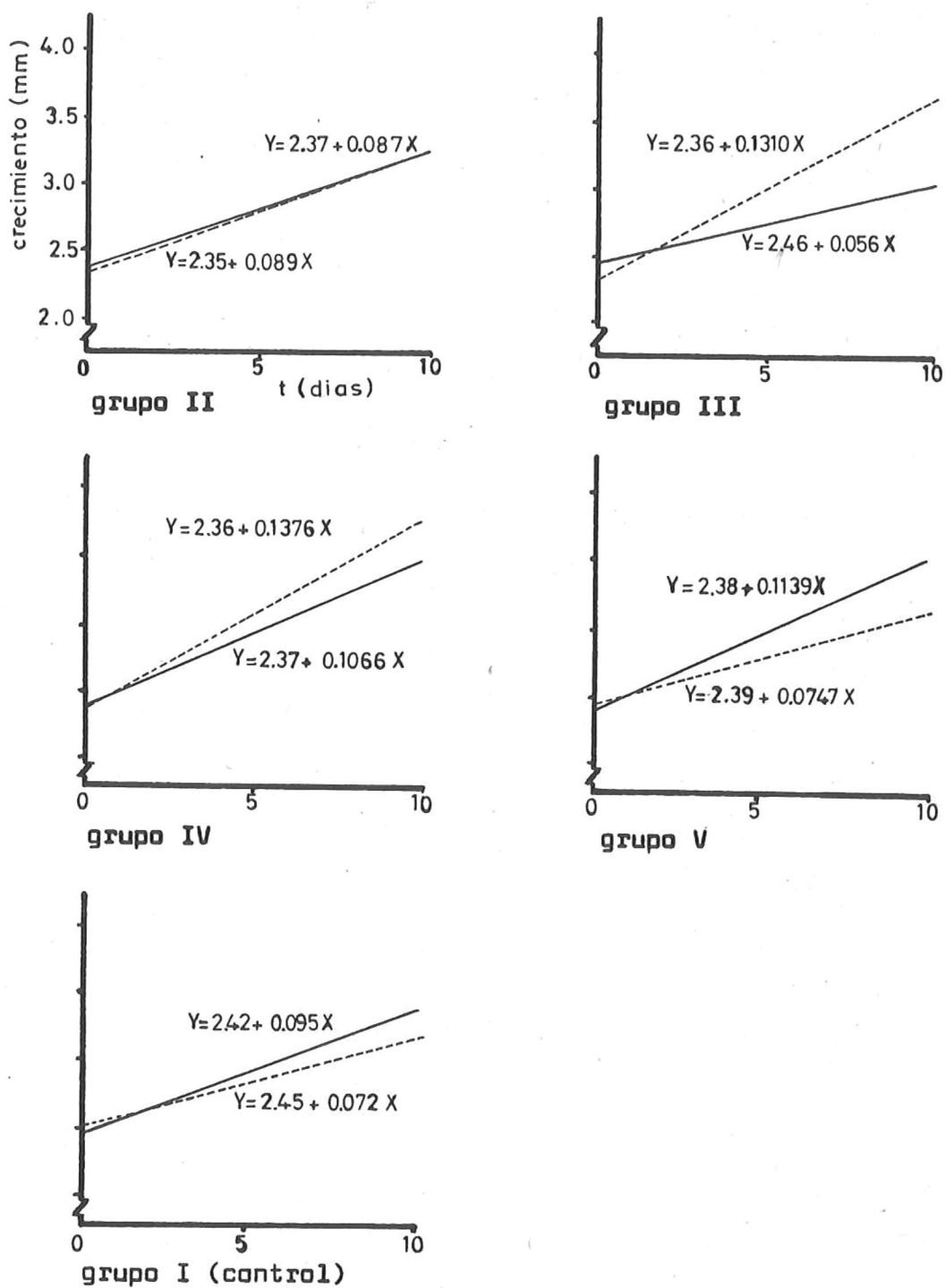


Figura 1.- Efecto de la concentración de *Tetraselmis* sp. en el crecimiento de la curvina blanca (*A. nobilis*).

— original
 - - - - réplica

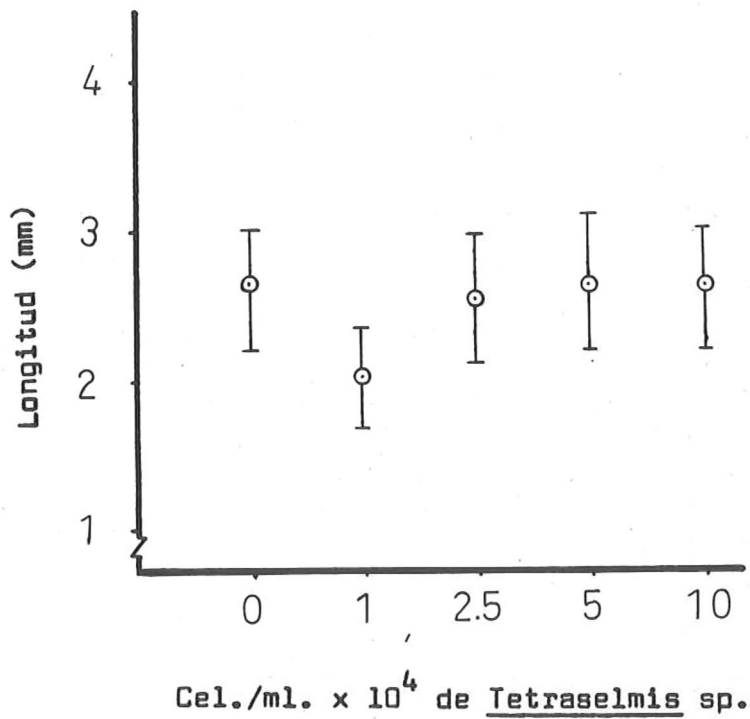


Figura 2.- Longitud promedio del crecimiento y su desviación estándar (S_x) para cada concentración de Tetraselmis sp.

Tabla IV.- Porcientos de sobrevivencia diaria estimada utilizando la ecuación de O'Connell y Raymond (1970), por cada tratamiento.

día	Grupos (original y réplica)									
	I A	I B	II A	II B	III A	III B	IV A	IV B	V A	V B
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	99.1	100.0	98.5	52.1	95.7	82.0	43.2	67.4	100.0	84.5
2	93.8	92.7	95.4	43.0	88.2	81.5	38.3	63.7	100.0	80.5
3	78.2	89.0	94.3	43.0	85.1	79.5	33.9	63.2	99.4	80.5
4	73.9	87.8	92.3	24.1	83.9	75.4	29.5	63.2	97.1	79.9
5	73.0	87.8	82.0	17.7	82.6	69.7	24.0	61.1	88.4	78.2
6	72.5	87.2	75.5	15.0	79.5	56.4	11.5	61.1	48.0	65.5
7	70.1	83.5	45.4	12.8	47.2	52.3	6.0	46.8	11.6	54.6
8	58.8	68.9	0.0	4.2	12.4	11.8	0.0	12.6	0.6	0.0
9	1.4	1.8	0.0	2.1	0.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Tabla V.- Análisis comparativo de original y réplica de cada grupo, utilizando la prueba de rango para dos muestras de Wilcoxon o Mann y Whitney.

Grupos	Prueba de hipótesis	Tc	To.05
control IA - IB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	119	78
IIA-IIB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	127	78
IIIA - IIIB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	120	78
IVA-IVB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	133	78
VA-VB	Ho: se acepta con una $P \leq 0.05$	117	78

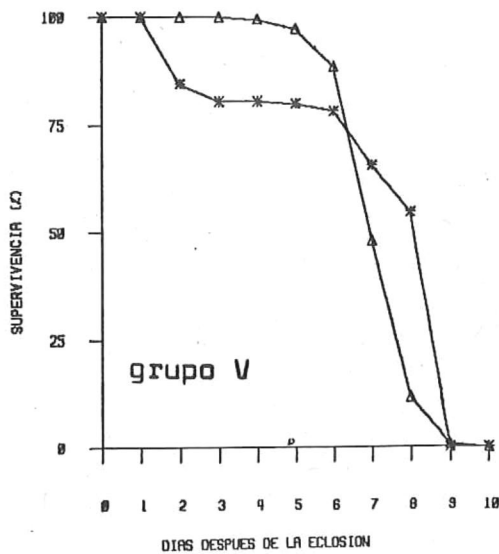
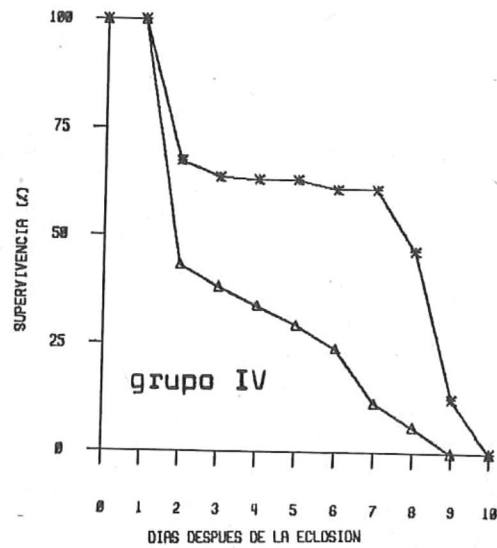
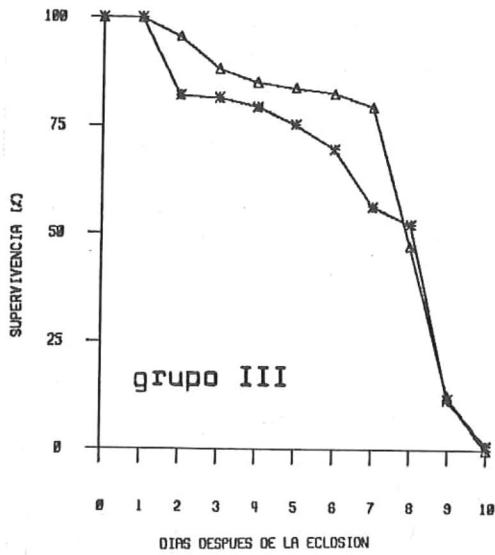
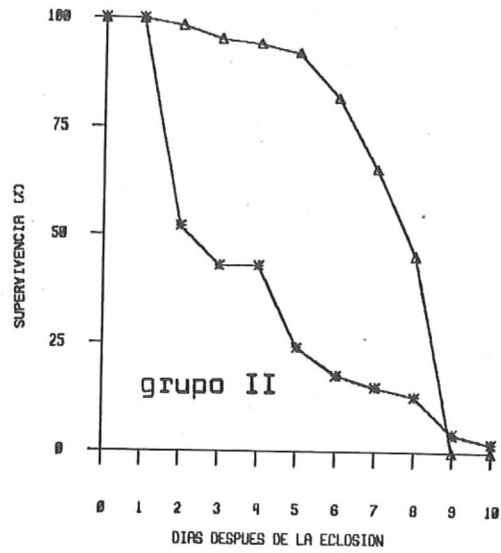
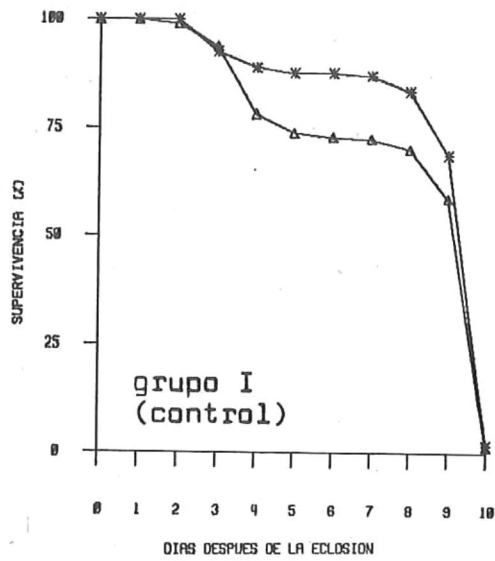


Figura 3.- Efecto de la concentración de Tetraselmis sp. en la sobrevivencia de curvina blanca (A. nobilis).

Δ-Δ-Δ original
--* réplica

Discusiones

La población de larvas iniciales en el experimento fluctuó de 169 a 216 organismos entre los grupos; ésta variación se debió a -- errores en el conteo inicial y de las larvas muertas extraídas diariamente (tabla I).

La temperatura es un factor a considerar en los cultivos de - larvas de peces marinos ya que los rangos de tolerancia son específicos de cada especie, dentro de los cuales existe un desarrollo óptimo (Houde, 1973). Cambios drásticos y variaciones de temperatura fuera - de los rangos óptimos afectarían el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas. Por otra parte, el efecto de la variación de la salinidad en el desarrollo de las larvas es menor, ya que la mayoría de éstas - tienen amplio rango de tolerancia (May, 1971). La variación observada en temperatura y salinidad es probable se haya debido al manipuleo, - ya que en los estanques en que se efectuaron intercambios de agua para ajustar las concentraciones de Tetraselmis sp. se utilizó agua de mar filtrada que se mantenía en recirculación mediante una bomba, lo cual pudo ser la causa de elevar la temperatura produciéndose la evaporación suficiente para aumentar la salinidad, en el grupo I no se - observó esta fluctuación de parámetros (tabla II).

Respecto al oxígeno disuelto y Ph, se observan variaciones de incremento del primero a partir del control (grupo I) hacia los gru-- pos en que se añadió Tetraselmis sp. a mayor concentración, lo cual - es posiblemente causado por la actividad fotosintética de éste microflagelado ya que los estanques se mantuvieron iluminados constantemente. El mantener iluminación continua en los tanques de cultivo no da-

ña las larvas, en cambio es favorable para mantener el crecimiento del fitoplancton, que es utilizado en muchos de los sistemas de cultivo de larvas de peces marinos (Houde, 1973). El Ph, se mantuvo casi constante entre los grupos.

No se ha llegado a conclusiones exactas de concentraciones de alimento necesarias para el cultivo de larvas de peces marinos (Houde, op.cit.), sin embargo, se ha encontrado que a mayor concentración de alimento, los intentos de alimentación de las larvas son más frecuentes, y por ende, mayor el éxito en la captura de alimento (lasker, 1975). Moffat (1981), cultiva larvas de Engraulis mordax utilizando microflagelados como alimento (Chlorella sp.) en concentraciones de 19×10^3 cel./ml., siendo que en la naturaleza se encuentran concentraciones de 7 a 8×10^3 cel./ml. Considerando lo anterior en éste experimento es difícil establecer un punto de comparación entre los resultados de sobrevivencia de los grupos a los que se les administró distintas concentraciones de Tetraselmis sp. debido a que las curvas de sobrevivencia resultantes tienen un comportamiento inferior a la curva del control. Por otra parte, el crecimiento de las larvas de los grupos (II al V) fué muy similar al observado en el grupo I (control); por lo tanto, se puede asumir que Tetraselmis sp. no fué utilizado por A. nobilis como alimento. Reflejándose ésto en el crecimiento y la sobrevivencia de las larvas en cada uno de los grupos.

Conclusiones

No se observó ningún efecto de las distintas concentraciones de Tetraselmis sp. sobre el crecimiento y la sobrevivencia de las -- larvas de Atractoscion nobilis. Por lo que se considera que éste microflagelado no es utilizado como alimento por éstas larvas en particular. Los resultados obtenidos en éste experimento no están de -- acuerdo con los de otras investigaciones, como las de Moffat (1981), Rodríguez Murillo (1983) y Carrillo y Solís (Com. pers.) quienes -- han concluido que larvas de peces marinos, como Engraulis mordax, sí utilizan microflagelados como alimento.

Recomendaciones

De la experiencia obtenida en éste trabajo se sugiere lo siguiente:

- 1.- Establecer un diseño experimental apropiado y objetivo.
- 2.- Tratar de obtener información disponible, referente a la especie que se piensa cultivar.
- 3.- Los monitoreos de los parámetros físico-químicos y concentraciones de alimento deben realizarse con cuidado y un máximo de dos personas.
- 4.- Contar con un lugar apropiado y exclusivo para este tipo de experimentos.

Literatura citada

- Hjort, J., 1914. Fluctuations in the great fisheries of Northern - Europe viewed in the light of biological research. Rapp. V.-Réun. Cons. Int. Explor. Mer. 20: 1 -228.
- Houde, C.D., 1973. Some recent advances and insolved problems, in - the culture of marine fish larvae. Proc. Worl Mar. Soc. 3: 83 - 112.
- Houde, E.D. y R.C. Schekter. 1981. Growth rates, rations on cohort- consumption of marine fish larvae in relation to prey concen- trations. Rapp. P.-V. Réun. Cons. int. Explor. Mer. 178: 441 - 453.
- Hunter, J.R., 1972. Swimming and feeding behavior of larvae anchovy, Engraulis mordax. NOAA, Fish Bull. 70: 821 - 838.
- Lasker, R., H.M. Feder, G.H. Theilacker y R.C. May. 1970. Feeding, - growth and survival of Engraulis mordax reared in the labora- tory. Mar. Biol. 5: 345 - 353.
- Lasker, R. 1975. Field criteria for survival of anchovy: the rela- tion betwen inshore chlorophyll maximum layers and success- - ful first feeding. Fish. Bull. 73: 453 - 462.
- Laurence, G.C. 1974. Growth and survival of haddock (Melanogramus - aeglefinus) larvae in relation to planktonic prey concentra- tion. J. Fish. Res. Bd. Canada 31: 1415 - 1419.
- Marr, J.C. 1956. The "critical period" in the early life history of marine fishes. Jour. Cons. Intern. Explor. Mer. 21: 160 -170.

- May, R.C. 1974. Larval mortality in marine fishes and the critical period concept. p. 3-19 In: The early history of fish (J.H. S. Blaxter, ed) Springer-Verlag., Berlin 765 pp.
- Moffat, N.M. 1981. Survival and growth of Northern anchovy larvae - on low zooplankton densities as effect by the presence of - a Chorella bloom. Rapp. p. -v. Réun. Cons. Int. 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. - Jour. Explor. Mar. Biol. Ecol. 5: 187 - 197.
- Rodríguez Murillo, J.A. 1983. Efecto de bajas densidades de alimento y concentraciones variables de Tetraselmis sp. en el crecimiento y supervivencia de estadios larvales de la anchoveta E. mordax Girard. Tesis Maestría en Ciencias. Centro de - Investigación Científica y de Educación Superior, Ensenada, - B.C. (México) 80 pp.
- Scura, E.C. y C.W. Jerde. 1977. Various species of Phytoplankton as food larval anchovy, Engraulis mordax, and relative nutritigonal value of the dinoflagellates Gymnodinium splendens and - Gonyaulax polyaedra. Fish. Bull. 75: 577-583.
- Snedecor, G.W. y W.G. Cochran, 1977. Métodos Estadísticos. Cía. Ed. Continental, S.A. México, D.F. 703 pp.