

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA

EVALUACIÓN DE DOS DIETAS FRESCAS Y UNA
PRESERVADA PARA *ARTEMIA FRANCISCANA* KELLOGG, 1993

TESIS
MAESTRO EN CIENCIAS

VICTOR MANUEL ARRIAGA HARO

Ensenada, Baja California, México, noviembre de 1993

RESUMEN de la Tesis del Biól. Pesq. Victor Manuel Arriaga Haro presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en OCEANOLOGIA con opción en ECOLOGIA MARINA. Ensenada, B.C., México. Noviembre de 1993.

**EVALUACION DE DOS DIETAS FRESCAS Y UNA PRESERVADA PARA
Artemia franciscana Kellogg, 1906.**

Resumen aprobado por:


M. en C. Ana Denisse Re Araujo
Director de Tesis

Se llevaron a cabo cuatro experimentos nutricionales con *Artemia franciscana*, se probaron tres cepas de microalgas puras y una combinada, cultivándose dos de ellas en medio "F": *Chaetoceros* sp. y *Dunaliella* sp., (*Spirulina maxima*) seca fue utilizada como alimento.

Se utilizó también una mezcla de dos microalgas con porcentajes diferentes, la que consistió del 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp., con esta combinación se obtuvieron organismos de una talla mayor comparada con los alimentados con las otras dietas. Además se midió la talla de los organismos cada segundo día y al cambiar de estadio. Los organismos que presentaron un mejor crecimiento fueron los alimentados con *Spirulina maxima* hasta el estadio metanauplius, pero los que llegaron primero al estadio adulto fueron los alimentados con *Dunaliella* sp.

La formación de parejas y la producción de progenie con la dieta mixta y con la de *Chaetoceros* sp. presentaron diferencias, ya que con *Chaetoceros* sp., fue de 67.54 promedio del total de parejas formadas, y en la dieta mixta el porcentaje de formación de parejas no lo superó fue de 31.81 en promedio. La producción de progenie fue similar para los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. y los alimentados con la dieta mixta.

La mejor sobrevivencia de *Artemia franciscana* se obtuvo con *Chaetoceros* sp. la cual fue de 94.1% y los organismos que presentaron una menor sobrevivencia fueron los alimentados con *Spirulina maxima* (0.6%), debido tal vez a que la dosis administrada no fue la indicada. La sobrevivencia de los organismos alimentados con la dieta mixta no se pudo estimar ya que al noveno día de iniciado el experimento ocurrió una mortalidad del 100% en tres de los acuarios.

La composición bioquímica de *Artemia franciscana* fue estimada para las dietas (*Chaetoceros* sp. y *Dunaliella* sp.) y a los trece días con *Chaetoceros* sp. y 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. La única dieta que mejoró la composición bioquímica de *Artemia franciscana* fue la dieta de *Chaetoceros* sp.

El mejor alimento para *Artemia franciscana* resultó ser la microalga *Chaetoceros* sp., sin embargo, el uso de dietas combinadas constituye una alternativa viable, ya que permiten un buen crecimiento y una rápida maduración de los adultos.

Abstracts:

In an nutritional experiment with *Artemia franciscana* three strains of microalgae pure and one combined were tested. *Chaetoceros* sp. and *Dunaliella* sp. were cultivated with a "f" medium. Freeze-dried *Spirulina maxima* was used. The combined diet consisted of 90% *Spirulina maxima* (dry weight) plus 10% *Chaetoceros* sp. (wet weight).

The sized of the animals was determined every second day during 13 days. *Artemia franciscana* fed with the combined diet were significant large at the end of the experiment than *Artemia franciscana* fed with the pure microalgae. *Artemia franciscana* fed with *Spirulina maxima* grew fasted, however, only until the metanauplius stage. Organisms fed with *Dunaliella* sp. reached first the adult stage.

Artemia franciscana fed with *Chaetoceros* sp. showed a significant higher level of mating behavior. The number of *Artemia franciscana* couples fed with *Chaetoceros* sp. was significantly higher (67.54 average), than with *Artemia franciscana* fed with the mixed diet (38.81 average). Nauplii production was not significantly different.

A survival rate of 94.1% was obtained by feeding *Artemia franciscana* with *Chaetoceros* sp., fed with pure *Spirulina maxima* only 0.6% of the animals survived. Due to experimental problems the determinant of survival rate the organisms fed with the animals was performed at the comparisons the content of proteins, carbohydrates and total lipids in different organisms. *Artemia franciscana* fed with *Chaetoceros* sp. showed the highest values.

TESIS DEFENDIDA POR: VICTOR MANUEL ARRIAGA HARO
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITE:



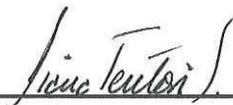
M.C. ANA DENISSE RE ARAUJO.- Director del Comité



DR. FRANCISCO CORREA SANDOVAL.- Miembro del Comité



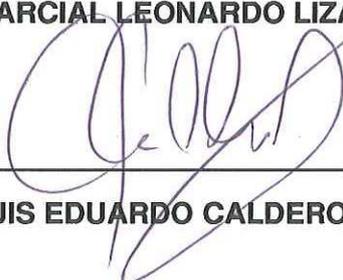
DR. FERNANDO DIAZ HERRERA.- Miembro del Comité



DRA. DIANA TENTORI SANTACRUZ.- Miembro del Comité



DR. MARCIAL LEONARDO LIZARRAGA PARTIDA.- Jefe Depto. Ecología Marina



DR. LUIS EDUARDO CALDERON AGUILERA.- Director Estudios de Posgrado

30 DE NOVIEMBRE DE 1993



**CENTRO DE INVESTIGACION CIENTIFICA Y DE EDUCACION
SUPERIOR DE ENSENADA**

**DIVISION DE OCEANOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ACUICULTURA**

**EVALUACION DE DOS DIETAS FRESCAS Y UNA PRESERVADA PARA
Artemia franciscana Kellogg, 1906.**

TESIS

**que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para
obtener el grado de MAESTRO EN CIENCIAS presenta:**

VICTOR MANUEL ARRIAGA HARO

Ensenada, B.C., Noviembre de 1993.

DEDICATORIA

A Leonor Hilda, mi esposa, a mis hijas Patricia Yolanda e Hilda Karely por su paciencia en los largos periodos de ausencia.

A mis padres y hermanos con cariño, en particular a Raúl Arriaga por su apoyo para la culminación de estos estudios.

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis la M.C. Ana Denisse Re Araujo por su constante apoyo para la realización de este estudio.

A los miembros de mi comite de tesis: Dr. Domenico Voltolina Lobina, Dr. Fernando Díaz Herrera, Dr. Francisco Correa Sandoval y Dra. Diana Tentori Santacruz por sus acertadas sugerencias del manuscrito.

A mis compañeros de laboratorio Gabriel Correa, Saúl González, Pilar Sánchez, Lourdes Trujillo y Carmen Guadalupe Paniagua por su valioso apoyo y sugerencias.

A la M.C. Carmen Guadalupe Paniagua Chávez por su constante apoyo en el cultivo de microalgas.

Al Cand. M.C. Saúl González Médina y Cand. Dr. Beatriz Cordero Esquivel por su apoyo en la determinación de los análisis bioquímicos.

Al Dr. Francisco Correa Sandoval y Cand. Dr. Beatriz Cordero Esquivel por sus acertadas sugerencias en los análisis estadísticos.

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada por permitirme realizar mis estudios de maestría.

A mis compañeros de Estudios y pasatiempos Ernesto López Uriarte y Martín Perez Peña.

A la Universidad de Guadalajara por su apoyo en la realización de este estudio y en particular al Dr. Manuel Guzmán Arroyo Director del Instituto de Limnología.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
I INTRODUCCION.	1
II OBJETIVOS	6
III MATERIALES Y METODOS	7
III.1. Microalgas: Cultivos y raciones.	7
III.1.1. Composición proximal de las microalgas.	8
III.1.2. Raciones.	8
III.2. Microalgas: Evaluación de la biomasa	9
III.3. Obtención de nauplius.	9
III.4. Control de organismos y sobrevivencia.	12
III.5. Formación de parejas y producción de progenie.	13
III.6. Análisis bioquímicos.	13
III.7. Tratamiento estadístico de los datos.	14
IV. RESULTADOS	15
IV.1. Cultivo de microalgas	15
IV.2. Cultivo de <i>Artemia franciscana</i> .	16
IV.2.1. Condiciones de cultivo.	16
IV.3. Porcentaje de sobrevivencia de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con las diferentes dietas.	17
IV.4. Crecimiento de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con las cuatro dietas.	19
IV.5. Estadios de <i>Artemia franciscana</i> .	25
IV.6. Formación de parejas y producción de progenie.	27

IV.7. Composición proximal de <i>Artemia franciscana</i> .	32
V. DISCUSION	35
V.1. Cultivos de microalgas	35
V.2. Supervivencia.	36
V.3. Crecimiento de <i>Artemia franciscana</i> .	39
V.4. Formación de parejas y producción de prole.	41
V.5. Composición bioquímica de <i>Artemia franciscana</i> .	43
VI. CONCLUSIONES.	46
VII. SUGERENCIAS.	47
LITERATURA CITADA	48

LISTA DE FIGURAS

<u>Figura</u>		<u>Página</u>
1	Crecimiento de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con las cuatro dietas a)- <i>Chaetoceros</i> sp., b)- <i>Dunaliella</i> sp., c)- <i>Spirulina maxima</i> y d)-90% <i>Spirulina maxima</i> + 10% <i>Chaetoceros</i> sp. (X=L.t. Observada, \pm =desviación estandar. Las líneas verticales indican el día de cambio de estadio y en (a) y (d) la última de éstas indica el día de primer apareamiento (N=nauplius, M=metanauplius, J=juvenil y A=adultos).	24

LISTA DE TABLAS

<u>Tabla</u>		<u>Página</u>
I	Composición bioquímica de las microalgas utilizadas en este estudio basado en revisión bibliográfica, (P=Proteínas, C=Carbohidratos, L=Lípidos, E=Cenizas.	9
II	Ración diaria en μg de peso seco orgánico por organismo de <i>Chaetoceros</i> sp., <i>Dunaliella</i> sp. y <i>Spirulina maxima</i> como dieta para <i>Artemia franciscana</i> .	11
III	Condiciones de mantenimiento de los acuarios con <i>Artemia franciscana</i> alimentada con los diferentes tipos de alimentos (D= <i>Dunaliella</i> sp., CH= <i>Chaetoceros</i> sp., SM= <i>Spirulina maxima</i>).	16
IV	Porcentaje de sobrevivencia de <i>Artemia franciscana</i> para cada dieta y acuario.	18
V	Análisis de varianza de una vía (KW: Kruskal Wallis) para la comparación de tallas desde nauplius hasta el día nueve de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp., <i>Dunaliella</i> sp. y <i>Spirulina maxima</i> (NF=nauplius final, MI=metanauplius inicial, MM=metanauplius intermedio, MF=metanauplius final, JI=juvenil inicial, JM=juvenil intermedio, JF=juvenil final, AI=adulto inicial y AM=adulto intermedio).	20
VI	Análisis de varianza para la comparación de tallas al momento del apareamiento de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp. (día 13) y 90% <i>Spirulina maxima</i> + 10% <i>Chaetoceros</i> sp. (día 12).	22
VII	Análisis de intervalo múltiple para la comparación de tallas al momento del apareamiento de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con CH= <i>Chaetoceros</i> sp. (día 13) y con 90% <i>Spirulina maxima</i> + 10% <i>Chaetoceros</i> sp. (día 12).	22
VIII	Duración de los estadios de <i>Artemia franciscana</i> (días) alimentada con las diferentes dietas (*) significa que se dió por terminado el experimento.	26
IX	Formación diaria de parejas de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp. (en paréntesis, el porcentaje de la población total a esa fecha); TOTAL: número de organismos y % que representa al total de la población.	29

X	Formación diaria de parejas de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con el 90% de <i>Spirulina maxima</i> + 10% de <i>Chaetoceros</i> sp. (en paréntesis, el porcentaje de la población total a esa fecha); TOTAL: número de organismos y % que representa al total de la población..	29
XI	Producción de nauplius durante 72 horas por pareja de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con <i>Chaetoceros</i> sp. Con edad, se entiende la edad de las parejas al día de primera aparición de nauplius, en paréntesis, el día de apareamiento.	30
XII	Producción de nauplius durante 72 horas por pareja de <i>Artemia franciscana</i> alimentada con el 90% de <i>Spirulina maxima</i> + 10% de <i>Chaetoceros</i> sp. con edad, se entiende la edad de las parejas al día de primera aparición de nauplius, en paréntesis, el día de apareamiento.	31
XIII	Comparación proximal (promedio y en paréntesis, desviación estandar) de <i>Artemia franciscana</i> a los nueve días de vida alimentada con la microalga <i>Dunaliella</i> sp. (DU-X-2) (DU) y <i>Chaetoceros</i> sp. (CH-X-1) (CH) previamente congeladas. % de P.S. y % P.S.O. indican los porcentajes de peso seco y de peso seco orgánico, respectivamente.	34
XIV	Comparación proximal (promedio y en paréntesis, desviación estandar) de <i>Artemia franciscana</i> a los 13 días de vida alimentada con la microalga 90% de <i>Spirulina maxima</i> + 10% de <i>Chaetoceros</i> sp. (90% SM + 10% CH) a los 12 días previamente congeladas. % de P.S. y % P.S.O. indican los porcentajes de peso seco y de peso seco orgánico, respectivamente (* una muestra).	34

EVALUACION DE DOS DIETAS FRESCAS Y UNA PRESERVADA PARA *Artemia franciscana* Kellogg, 1906.

I. INTRODUCCION

A pesar de los diversos estudios para substituir el alimento vivo con dietas artificiales, sigue siendo de suma importancia en la Acuicultura y, entre las varias opciones posibles resaltan, el uso de microalgas y de larvas, juveniles y adultos del crustáceo branquiópodo *Artemia* spp. como los más importantes y difundidos.

Las microalgas han sido estudiadas para conocer su ciclo de vida, sus procesos fisiológicos, y también para cuantificar la producción primaria y los procesos y factores que la modifican. Entre otros aspectos, las microalgas se han estudiado por su importancia real y potencial como materia prima para la industria farmacéutica y agrícola (productos bioactivos, fertilizantes, estabilizadores de suelos), y sobre todo como alimento o como aditivos alimenticios para el hombre y para los organismos cultivados (Bonotto, 1988).

Frecuentemente, la cadena alimenticia en un sistema acuicultural se inicia con la producción del fitoplancton, que al igual que en el medio natural, constituye el primer alimento de moluscos bivalvos, crustáceos y peces (Johnson, 1976). Por este motivo se debe de contar con métodos eficientes de producción que garanticen la cantidad y la calidad de las microalgas. Además, estos y el sistema debieran poder ser utilizados para la producción de varias especies, ya sea para que sirvan para alimentación de los diferentes estadios del organismo o porque la combinación de dos o más microalgas resulta en un mejor alimento (Okauchi, 1991).

El tipo y las concentraciones de microalgas, además de la posibilidad de usar otros alimentos artificiales de costo reducido, son problemas de importancia primaria en Acuicultura y por esto las investigaciones en este sentido son todavía de gran actualidad. En general, se busca obtener a través del suministro de una dieta específica la máxima tasa de crecimiento posible, con lo cual se consigue una optimización espacial de las instalaciones, del tiempo de cultivo y de la biomasa obtenida por unidad de volumen y de tiempo, que dan como resultado una reducción de los costos de producción (Sommer *et al.*, 1990).

Hasta el momento ninguna de las formulaciones alternativas de alimento inerte que se han sugerido para mejorar la calidad nutricional proporcionada por alimento vivo garantiza niveles comparables de sobrevivencia y de crecimiento como los que se pueden obtener con microalgas frescas. Iolr (1982-1983) establece que el uso de las microalgas frescas en los cultivos de animales marinos hacen de estos proyectos exitosos, porque se garantiza la buena calidad del alimento. Es por esto que se sigue investigando sobre el valor alimenticio de estos microorganismos y sobre posibles mejoras a las técnicas de cultivo (Whyte, 1987). Debido a este interés, la literatura sobre el cultivo de microalgas es extensa y en continuo aumento (Benemann *et al.*, 1987).

Muchas de las investigaciones sobre la calidad dietética de las microalgas se han dedicado a la evaluación de dietas basadas en microalgas preservadas, debido al alto costo y a los riesgos involucrados en el mantenimiento de cultivos masivos para su uso en fresco.

Sommer *et al.* (1990) hacen una revisión del papel que juegan las microalgas preservadas como fuente de alimento para los organismos en la acuicultura, tales como *Brachionus plicatilis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Mercenaria mercenaria*, *Haliotis rufescens*, *Artemia* spp., *Penaeus monodon*, *Penaeus japonicus*, *Cyprinus carpio*, *Ctenopharyngodon idella* y *Tilapia nilotica*. Específicamente utilizaron microalgas como *Spirulina* sp., *Chlorella* sp.,

Scenedesmus sp. y otras algas producidas en forma masiva, e indicaron que las microalgas pueden ser un componente dietético efectivo, siempre y cuando su procesamiento permita la producción de una dieta que obedezca a los requerimientos de presentación y de formulación para los organismos antes mencionados. Además, las microalgas procesadas pueden ser utilizadas para corregir las deficiencias dietéticas de las dietas artificiales. Después de una primera fase fitófaga, muchos organismos requieren de otro tipo de alimento, ya que pasan de una fase de consumidores primarios (filtradores) a consumidores secundarios (depredadores, zooplanctófagos).

La popularidad de *Artemia* spp. como alimento para consumidores secundarios se fundamenta en el amplio intervalo de tamaño que tienen los diferentes estadios que caracterizan su desarrollo y sobre todo por el hecho que este organismo se reproduce, en situaciones de estrés, formando embriones protegidos por una membrana espesa (corión), que representa una forma de resistencia conocida como quiste. La factibilidad de almacenar los quistes es muy importante, ya que permite obtener alimento vivo y de buena calidad en el momento que se necesita. La producción relativamente simple de adultos a nivel masivo (Amat, 1985a; Leger *et al.*, 1986) haría también posible la obtención de quistes de laboratorio, amén de ser los adultos mismos de alto valor comercial, por su popularidad como alimento en acuariología. De hecho, en varios trabajos se ha investigado la calidad nutritiva de *Artemia* en cuanto a su contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos, y se ha encontrado que *Artemia* es una buena fuente de alimento que ya proporciona los requerimientos nutricionales de una gran cantidad de organismos, como crustáceos y peces (Tamaru *et al.*, 1991).

La filtración es el proceso con el cual se alimentan muchos moluscos y crustáceos. Para varios de ellos, la tasa de filtración es dependiente de la densidad del alimento. En el caso de *Artemia* la tasa de filtración es aparentemente independiente de la concentración de las

partículas por lo menos dentro de un amplio intervalo de valores, por lo cual la cantidad del alimento ingerido por unidad de tiempo depende de la densidad de las microalgas. Por otro lado, se ha observado en experimentos de laboratorio que cuando la cantidad de microalgas es muy alta, las diferentes especies de *Artemia* ingieren mucho alimento pero que, al no variar la tasa de filtración, éste es eliminado rápidamente lo cual, debido al menor tiempo de retención en el tracto digestivo, resulta en una baja eficiencia de asimilación, hasta el punto que los organismos no digieren la cantidad necesaria para cubrir sus requerimientos nutricionales. Es por ésto que es importante tomar en cuenta la ración de microalgas que se suministra a un cultivo y el volumen de agua donde se cultiva este crustáceo, que debe ser proporcional al número de organismos ya que este factor tiene un efecto importante sobre la disponibilidad de alimento, a tal grado que si la ración de alimento aumenta o disminuye entonces este organismo no asimila la cantidad necesaria para cubrir sus requisitos nutricionales (Cushing, 1959).

Artemia es un organismo filtrador no selectivo, que utiliza los apéndices torácicos para su respiración y para concentrar partículas de alimento y llevarlas a la boca; para ser ingeridas por un nauplius, las partículas deben ser menores de 25 a 30 μm y para un adulto menores de 50 μm (Dobbeleir *et al.*, 1980). El alimento consumido por *Artemia* en la naturaleza está constituido por porcentajes variables de material inerte de origen orgánico (detritus orgánico) y de organismos vivos como bacterias, levaduras y microalgas (Persoone y Sorgeloos, 1980).

Una vez que el alimento es digerido, su eficiencia dietética variará según su composición y los requerimientos del organismo que lo consume. Obviamente, sólo cuando la composición y los requerimientos coinciden se registrará un mayor crecimiento (Sommer *et al.*, 1990).

El alimento más abundante en el medio natural para *Artemia* son las especies de microalgas halotolerantes como *Dunaliella*, que probablemente constituyen su dieta principal.

Otras microalgas que cumplen con sus requisitos nutricionales son *Pavlova lutheri*, *Tetraselmis maculata*, *Isochrysis galbana* y *Rhodomonas* sp., entre otras (Provasoli *et al.*, 1970).

Considerando todo lo anterior, se decidió comparar la efectividad dietética de una microalga preservada y de costo relativamente bajo, con dos microalgas frescas de la colección del Departamento de Acuicultura del CICESE. Una de éstas (*Dunaliella* sp.) se aisló de un cuerpo de agua hipersalino en donde presumiblemente constituía la dieta principal de *Artemia* (Montaño, 1991) y las otras dos se seleccionaron por los motivos siguientes:

Para *Chaetoceros* sp., se consideraron los resultados obtenidos en el laboratorio de Acuicultura del C.I.C.E.S.E., que la señalan como una dieta de buena calidad para varias cepas de *Artemia franciscana* en todos sus estadios de desarrollo (Correa-Sandoval, 1991; Caro-Caro, 1991; Olivares-González, 1992).

Spirulina maxima es una microalga que se cultiva comercialmente con éxito en México y es considerada como un alimento barato a nivel comercial y nutricionalmente adecuado para la acuicultura (Richmond, 1988).

II. OBJETIVOS

Evaluar el valor alimenticio para *Artemia franciscana* de las microalgas *Chaetoceros* sp., *Dunaliella* sp. y *Spirulina maxima*, utilizando como criterios de evaluación los siguientes puntos:

- 1.- La sobrevivencia desde la fase de nauplius hasta el estado adulto.
- 2.- La tasa de crecimiento.
- 3.- La duración de los estadios de nauplius, metanauplius y juvenil, y tiempo total entre la eclosión y la primera cópula.
- 4.- La producción de progenie.

III. MATERIALES Y METODOS

III.1. Microalgas: Cultivos y raciones

Las microalgas que se utilizaron como dieta para *Artemia franciscana* fueron: *Spirulina maxima* proveniente de SPIRULINA MEXICANA S. A. de C. V., que se administró seca; *Chaetoceros* sp. (Cepa CH-X-1), una diatomea aislada de la Bahía de Todos Santos, B.C., cuyas características morfológicas son: células aisladas y dimensiones de 4-6 x 6-8 μm y la clorofícea *Dunaliella* sp. (Cepa DU-X-2), que fue aislada de la Laguna Salada, ubicada al Noreste de Baja California. Ambas proceden de la colección de microalgas del C.I.C.E.S.E. (Trujillo-Valle, 1993) y se cultivaron, desde los cultivos primarios hasta el nivel productivo deseado (garrafones de 18 l con 10 l de cultivo), en medio "f" (Guillard y Ryther, 1962). En el caso de *Chaetoceros* sp. el medio fue enriquecido con el doble de la cantidad de silicatos sugerida en la formulación original.

Las técnicas de cultivo fueron las tradicionales, utilizando cultivos terminales de dimensiones progresivamente crecientes hasta los de nivel productivo, que se mantuvieron con la técnica semicontinua, con tasas de dilución diaria del 50% para *Chaetoceros* sp. y del 30% para *Dunaliella* sp.

El medio se preparó con agua de mar de salinidad de 30 a 330‰ filtrada a través de un filtro rápido de arena y uno de diatomita, con capacidad nominal de retención de entre 1 y 2 μm , y tratada con U.V. Las demás condiciones de cultivo fueron: temperatura de 20 ± 1 °C e iluminación constante con una mezcla de tubos de neón de luz blanca fría y luz de día que proporcionaron una concentración de aproximadamente 0.11 a 0.15×10^{17} cuanta $\text{cm}^{-2} \text{s}^{-1}$,

medida en el centro de la pared del carboy expuesta a la luz.

Las raciones diarias de alimento para *Artemia* fueron las indicadas por Correa-Sandoval y Bückle-Ramírez (1993) en el caso de *Chaetoceros* sp., y por Paniagua-Chavez (1993) para *Dunaliella* sp., *Spirulina maxima* se suministró en una cantidad de peso seco orgánico equivalente a la ración diaria de *Dunaliella* sp. dividida en dos raciones, ya que observaciones preliminares revelaron que la calidad del agua se veía afectada al agregar el alimento en una sola ración.

III.1.1 Composición proximal de las microalgas.

La calidad de la biomasa se obtuvo de información generada en el laboratorio de microalgas del Departamento de Acuicultura del CICESE. En el caso de *Chaetoceros* sp. se usaron los datos de López-Elías y Voltolina-Lobina (1993) cultivada en medio "f" y Cordero-Esquivel *et al.* (1993) también en medio "f" y para *Dunaliella* sp. los de Paniagua-Chávez (1993) en medio "f". En el caso de *Spirulina maxima*, los datos fueron proporcionados por la compañía SPIRULINA MEXICANA S.A. de C.V., que la produce y comercializa (Tabla I).

III.1.2 Raciones.

Se llevaron a cabo cuatro experimentos de alimentación de *Artemia franciscana* utilizando microalgas puras en los primeros tres y una combinación de dos de ellas (90% de la ración propuesta de *Spirulina maxima* y 10% de *Chaetoceros* sp.) en el cuarto (Tabla II).

Tabla I. Composición bioquímica de las microalgas utilizadas en este estudio basadas en revisión bibliográfica, (P=Proteínas, C=Carbohidratos, L=Lípidos, E=Cenizas).

ESPECIE	P	C	L	E	AUTOR
<i>Chaetoceros</i>	35.90	9.50	14.10	18.60	López-Elías y Voltolina-Lobina 1993.
<i>Dunaliella</i>	32.50	17.90	24.60	4.00	Paniagua-Chávez, 1993.
<i>Spirulina</i>	71.00	16.50	7.00	9.00	Spirulina Mexicana S.A. de C.V.

III.2. Microalgas: Evaluación de la biomasa

La biomasa de los cultivos se estimó por medio de la densidad óptica del cultivo y de conteos diarios al microscopio. La primera se midió diariamente como absorbancia con un espectrofotómetro HACH DR-2000, a una longitud de onda de 550 nm para evitar los picos de absorción de clorofila. El número de cél.ml⁻¹ se determinó con recuentos diarios con un hematocitómetro de 0.1 mm de profundidad con rejilla Neubauer empleando un microscopio Olympus modelo BH-2.

III.3. Obtención de nauplius.

Se utilizaron quistes de *Artemia franciscana* Kellogg (1906) de San Francisco Bay Brand Inc. (Lote No. 3457), que se descapsularon con la técnica del hipoclorito de sodio modificada por Correa-Sandoval (1991) y se incubaron en agua de mar a 20°C durante 36 horas. Después de que eclosionaron, los nauplius se colectaron durante las ocho horas

horas. Después de que eclosionaron, los nauplius se colectaron durante las ocho horas subsecuentes a la primera eclosión, de tal forma que fueran organismos de la misma cohorte. Para cada tipo de alimento se utilizaron 8000 nauplius, divididos en partes iguales en cuatro acuarios cónicos de 2.5 litros de capacidad y con un volumen útil de 2 litros.

Tabla II. Ración diaria en μg de peso seco orgánico por organismo de *Chaetoceros* sp., *Dunaliella* sp y *Spirulina maxima* como dieta para *Artemia franciscana*.

Edad (días)	<i>Chaetoceros</i>	<i>Dunaliella</i>	<i>Spirulina maxima</i>
1	5.88	20.25	22.70
2	11.76	40.50	40.45
3	11.76	40.50	39.94
4	11.76	40.50	40.46
5	17.64	50.32	50.30
6	17.64	50.32	50.31
7	23.52	81.00	80.99
8	29.40	86.55	86.54
9	43.90	126.82	126.80
10-11	44.68	130.87	130.86
12-13	70.56	221.55	221.51
14-15	84.67	247.65	247.63
16-17	98.78	291.97	291.92
Días	107.80	312.07	312.06
subs.			

III.4. Control de organismos y sobrevivencia

Los tres primeros acuarios se utilizaron para observar el crecimiento de los organismos, el número de parejas formadas y la producción de progenie y el cuarto con el fin de obtener muestras para llevar a cabo los análisis bioquímicos y la sobrevivencia. La densidad inicial de nauplius en cada acuario fue de 1 organismo.ml⁻¹ (2000 organismos por acuario). Los organismos se empezaron a alimentar al segundo día después de la eclosión, ya que durante su primer día de vida los nauplius de *Artemia* son todavía lecitotróficos. El alimento se suministró en concentraciones progresivamente crecientes según la edad de los organismos. Las demás condiciones de cultivo fueron: temperatura 21±1 °C, salinidad 32-33 ‰ y aeración constante. Diariamente se midieron la temperatura, con un termómetro de mercurio, la salinidad con un refractómetro, y el pH y la concentración de oxígeno, el primero con un potenciómetro Orion Modelo SA 230 y el segundo con un oxigenómetro YSI Modelo 57, antes de efectuar un cambio total de agua.

A partir del primer día y cada segundo día se tomaron muestras de 30 organismos mediante sifoneo de cada uno de los tres primeros acuarios, con la finalidad de medir su longitud total y determinar el crecimiento por estadio. Las muestras se fijaron con la solución descrita por Correa-Sandoval y Bückle-Ramírez (1993), para su observación posterior.

Los organismos del acuario 4, de cada experimento, se cosecharon en el día en que se observó la primera formación de parejas; se evaluó la sobrevivencia y los organismos fueron posteriormente lavados con agua destilada y preservados mediante congelación a -30°C, para la determinación de su composición proximal.

III.5. Formación de parejas y producción de progenie.

La evaluación de formación de parejas en los tres primeros acuarios se hizo de la siguiente forma: cada 24 horas las parejas de cada acuario eran separadas y transferidas a recipientes diferentes, hasta cuando se notó que el número de parejas, después de alcanzar su máximo número, disminuyó. La producción de crías se contabilizó en cada recipiente, 72 horas después de la primera aparición de progenie, con la finalidad de evaluar la producción diaria por pareja.

III.6. Análisis bioquímicos.

La composición bioquímica de *Artemia franciscana* se determinó usando las siguientes metodologías:

Peso seco total y orgánico: Primeramente se concentró una cantidad de 0.1 mg de organismos, lavados en agua destilada, en un filtro de fibra de vidrio Whatman GF-C precalcinado y de peso conocido. Los filtros se secaron en una estufa a 60 °C hasta alcanzar peso constante, y después se calcinaron en una mufla a 470 °C, para obtener el contenido de cenizas. El peso orgánico se obtuvo por diferencia entre los pesos así obtenidos.

La metodología elegida para los análisis bioquímicos fue la siguiente: Para las Proteínas se siguió el método de Lowry *et al.* (1951) modificado por Farber-Lorda (1986) y la extracción fue con NaOH 1 N a 100 °C durante 30 minutos (Cordero-Esquivel, com.pers.).

Para la extracción de los Carbohidratos totales se usó la técnica de Whyte (1987) y para la cuantificación el método de Dubois *et al.* (1956) descrito por Malara y Charra (1972). Para la determinación de los Lípidos se siguió la técnica de Pande *et al.* (1963), después de la extracción y separación de los lípidos con el método descrito por Bligh y Dyer (1959), mencionado en Chiaverini (1972).

III.7. Tratamiento estadístico de los datos.

Se aplicaron las pruebas de Bartlett y de Kolmogorov-Smirnov (Sokal y Rohlf, 1979), a todos los datos obtenidos, tanto de variables físicoquímicas como biológicas, con el fin de comprobar su normalidad y homoscedasticidad.

Unicamente los datos obtenidos en el momento del apareamiento con las dietas de *Chaetoceros* sp. (13 días) y 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. (12 días), se les aplicó una prueba paramétrica. Los datos de los días anteriores que no fueron normales ni homocedásticos se contrastaron utilizando las técnicas de análisis estadístico no paramétrico, con límite de aceptación o rechazo de $\alpha = 0.05$, para lo que se utilizaron las pruebas de Kruskal-Wallis de una vía y la prueba a posteriori de comparación múltiple con el método de Dunn para número de datos desiguales.

IV. RESULTADOS

IV.1. Cultivo de microalgas.

Los cultivos de *Chaetoceros* sp. se mantuvieron relativamente estables durante el período que duró el experimento, con una concentración promedio de $5 \pm 1 \times 10^6$ células ml^{-1} . La estabilidad de la concentración de biomasa con respecto al tiempo se comprobó mediante una prueba de correlación entre estas variables, que no resultó significativa ($r=0.36$, g.l.=17 y $p>0.05$) indicando que la concentración celular no aumenta o disminuye con el tiempo y que por lo tanto los cultivos pueden considerarse estables.

En el caso de *Dunaliella* sp. los cultivos se mantuvieron estables solamente durante cuatro días. Después de esto, la concentración celular disminuyó en forma significativa, motivo por el cual fue necesario concentrar los cultivos por centrifugación.

Al no poder recuperar los cultivos se optó por interrumpir este experimento al noveno día, debido también a las altas mortalidades de *Artemia franciscana* observadas en los primeros días cuando los cultivos de *Dunaliella* sp. estaban todavía en buenas condiciones. Esta observación coincide con lo encontrado con las mismas cepas de *Artemia franciscana* y de *Dunaliella* sp. por Paniagua-Chávez y Voltolina-Lobina (en preparación).

IV.2. Cultivos de *Artemia franciscana*.

IV.2.1 Condiciones de cultivo.

Las condiciones físicas y químicas durante los experimentos fueron relativamente constantes; la temperatura se mantuvo a 21 ± 1 °C, el oxígeno disuelto fluctuó de 6.0 a 6.4 ± 1 mg.l⁻¹, la salinidad en 33 ± 1 ‰, y el pH se mantuvo entre 7.60 ± 0.27 y 7.85 ± 0.17 (Tabla III).

Tabla III. Condiciones de mantenimiento de los acuarios con *Artemia franciscana* alimentadas con los diferentes tipos de alimentos (D=*Dunaliella* sp., CH=*Chaetoceros* sp, SM=*Spirulina maxima*.)

PARAMETRO	<i>D</i>	<i>CH</i>	<i>SM</i>	90% <i>SM</i> + 10% <i>CH</i>
Temperatura (°C)	21 ± 1	21 ± 1	21 ± 1	21 ± 1
O ₂ disuelto (mg.l ⁻¹)	6.3 ± 1	6.4 ± 1	6.0 ± 1	6.4 ± 1
Salinidad (‰)	33 ± 1	33 ± 1	33 ± 1	33 ± 1
pH	7.77 ± 0.19	7.60 ± 0.27	7.80 ± 0.21	7.85 ± 0.17

IV.3. Porcentaje de sobrevivencia de *Artemia franciscana* alimentada con las diferentes dietas.

La sobrevivencia de *Artemia franciscana* alimentada con las tres dietas monoalgales varió ampliamente, entre 0.6% (*Spirulina maxima*) y 94.1% (*Chaetoceros* sp.), y se notó también una amplia variabilidad entre acuarios con la misma dieta (Tabla IV). No se reportan los datos del experimento con dieta mixta (90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp.), debido a que al noveno día ocurrió una mortalidad del 100% en tres acuarios, mientras que en el cuarto los organismos sobrevivieron normalmente. Por lo tanto, se contaron los organismos de este acuario y se redistribuyeron en los cuatro acuarios, sumando un total de 237 organismos por acuario (1 org/8.4 ml) ya que el nivel de agua se disminuyó a 1 litro y se continuó el experimento hasta la producción de nauplius. Se midió la concentración de amonio con el método Nessler (Hach, 1991) en uno de los acuarios donde ocurrió la mortalidad y se encontró que era 7.2 mg.l⁻¹ de amonio (NH₄⁺) mientras que en el acuario donde los organismos sobrevivieron la concentración de amonio resultó ser de 6.36 mg.l⁻¹.

Como se puede notar en la tabla IV, la sobrevivencia con *Dunaliella* sp. y más aún con *Spirulina maxima* no fue satisfactoria, y fue notablemente inferior con la segunda de estas dietas.

En el caso de la dieta mixta, después del episodio importante de mortalidad ya mencionado, la sobrevivencia no se vió afectada considerablemente hasta el final del experimento, cuando se observó la formación de parejas y producción de progenie.

Tabla IV. Porcentaje de sobrevivencia de *Artemia franciscana* para cada dieta y acuario.

	ACUARIO I	ACUARIO II	ACUARIO III	ACUARIO IV
<i>Chaetoceros</i>	37.4%	53.1%	38.6%	94.1%
<i>Dunaliella</i>	5.6%	2.1%	18.7%	17.7%
<i>Spirulina maxima</i>	3.4%	0.6%	1.7%	0.6%

IV.4. Crecimiento de *Artemia franciscana* alimentada con las cuatro dietas.

El crecimiento de *Artemia franciscana* alimentada con las dietas de *Chaetoceros* sp., *Dunaliella* sp. y *Spirulina maxima* durante los primeros nueve días de vida se muestra mediante un análisis de varianza no paramétrico en la tabla V, donde se observa que al día uno (nauplius) no hay diferencia en el crecimiento de los organismos alimentados con las diferentes dietas. Al día dos los organismos que tuvieron un crecimiento mayor son los alimentados con *Spirulina maxima* con 1.07 mm, presentando diferencias con respecto a los organismos alimentados con las otras dietas en los cuales no hay diferencias significativas y que resultaron en un crecimiento menor.

Al tercer día hay diferencias en el crecimiento de los organismos con las tres dietas, donde se observa de nuevo que los que presentan un mayor crecimiento son los alimentados con *Spirulina maxima* (1.51 mm) y los de menor crecimiento los alimentados con *Chaetoceros* sp. (1.04 mm), pero a partir del día cinco hasta el día nueve los que presentaron un mayor crecimiento fueron los alimentados con *Dunaliella* sp. (de 2.24 mm al día cinco hasta 5.24 mm al día nueve siendo significativa esta diferencia) y los de menor talla siguen siendo los alimentados con *Chaetoceros* sp. hasta el día ocho y a partir del día nueve estos empiezan a incrementar su crecimiento.

Al momento del apareamiento, la talla de los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. (día 13) resultó significativamente menor que los alimentados con la mezcla de 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. (día 12) que además se aparearon un día antes (Tablas VI y VII).

Tabla V Análisis de varianza de una vía (Prueba de Kruskal Wallis) y prueba de comparación múltiple (Método de Dunn) para la comparación de tallas desde nauplius hasta el día nueve de *Artemia franciscana* alimentada con (*CH*)=*Chaetoceros* sp., (*DU*)=*Dunaliella* sp. y (*SM*)=*Spirulina maxima* (NF=nauplio final, MI=metanauplio inicial, MM=metanauplio intermedio, MF=metanauplio final, JI=juvenil inicial, JM=juvenil intermedio, JF=juvenil final, AI=adulto inicial y AM=adulto intermedio).

DIETA	DIA (ESTADIO)	DATOS	MEDIANA	GRUPOS HOMOGENEOS
DU	1 (NF)	90	0.537(0.049)	*
SM	1 (NF)	90	0.537(0.049)	*
CH	1 (NF)	90	0.573(0.097)	*
DU	2 (MI)	90	0.830(0.048)	*
CH	2 (MI)	90	0.878(0.049)	*
SM	2 (MI)	90	1.074(0.048)	*
CH	3 (MM)	90	1.049(0.025)	*
DU	3 (JI)	90	1.318(0.146)	*
SM	3 (MF)	90	1.513(0.097)	*
CH	5 (MF)	90	1.610(0.098)	*
SM	5 (JI)	90	2.147(0.147)	*
DU	5 (AI)	30	2.245(0.005)	*

TABLA V: Continuación.

CH	7 (JI)	90	2.739(0.140)	*
SM	7 (JM)	90	3.050(0.268)	*
DU	7 (AM)	30	4.392(0.683)	*
SM	9 (JF)	90	3.514(0.390)	*
CH	9 (JF)	90	3.611(0.244)	*
DU	9 (AM)	30	5.246(0.512)	*

Tabla VI Análisis de varianza para la comparación de tallas al momento del apareamiento de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. (día 13) y 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. (día 12).

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	G.L.	CUADRADOS MEDIOS	RAZON F	NIVEL DE SIG.
ENTRE GRUPOS	3.163	1	3.163	5.591	< 0.02
DENTRO DE GRUPOS	66.736	118	0.565		
TOTAL	137.685	119			

Tabla VII. Análisis de intervalo múltiple para la comparación de tallas al momento del apareamiento de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. (día 13) y 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. (día 12).

DIETA	NUMERO DE DATOS	PROMEDIO	HOMOGENEIDAD DE LOS GRUPOS
<i>CH</i>	90	5.966(0.724)	*
90% <i>Sm</i> +10% <i>CH</i>	90	6.341(0.807)	*

El crecimiento de los organismos alimentados con las diferentes dietas en relación al tiempo, así como las fechas de cambio de estadio y los de apareamiento se representan en la figura 1, en la cual resaltan las diferencias hasta aquí mencionadas. Es evidente el rápido crecimiento y la corta duración de los intervalos de tiempo entre los diferentes estadios de desarrollo, de los organismos que recibieron *Dunaliella* sp. (Fig. 1b). En cuanto a las demás dietas, es notorio el cambio de la velocidad de crecimiento de *Artemia franciscana* alimentada con *Spirulina maxima* sola, a partir del día cinco (Fig. 1c); para las otras dos dietas, cabe destacar las diferencias entre los crecimientos de *Artemia franciscana* alimentadas con *Chaetoceros* sp. y la que recibió la dieta mixta, después de la fecha de apareamiento. La posible explicación de esta diferencia es una mayor mortalidad de hembras con la segunda dieta, ya que la diferencia de tallas entre machos (pequeños) y hembras (de talla mayor), es una de las características sexuales secundarias en *Artemia franciscana* (Paniagua-Chávez, 1993).

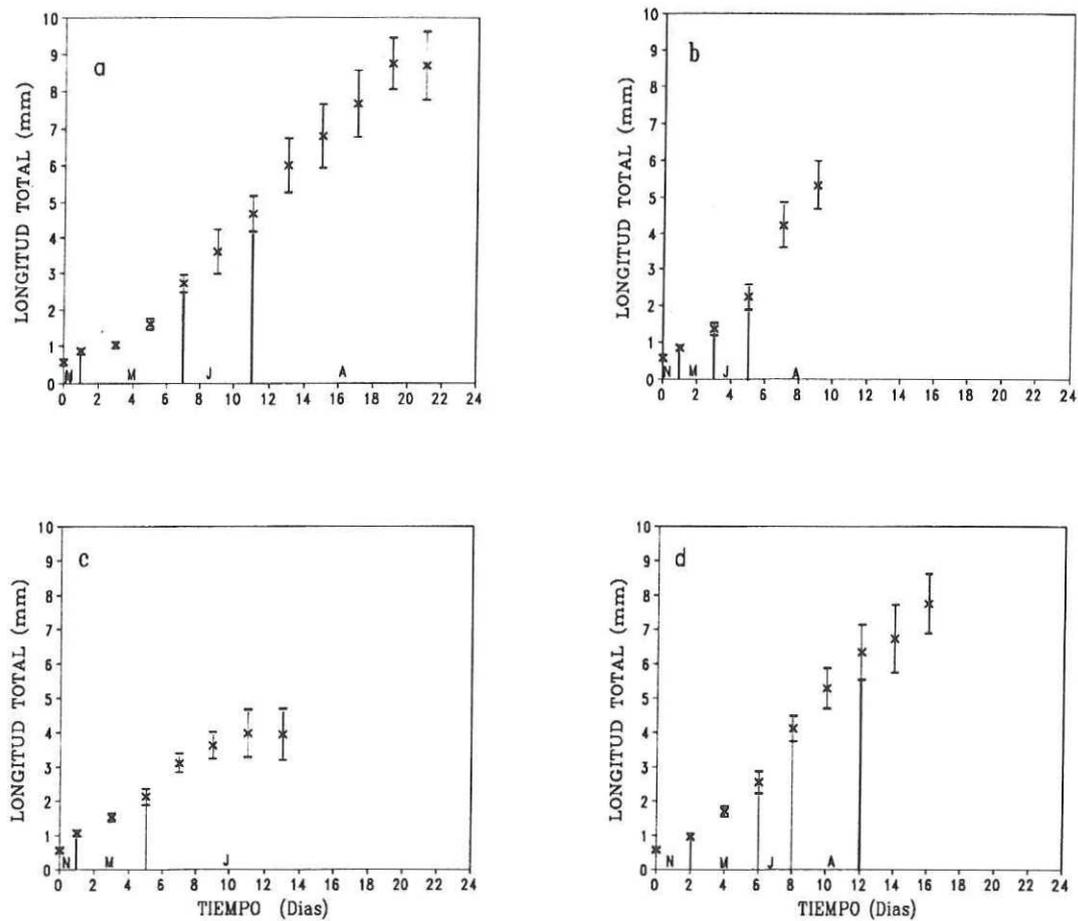


Figura 1. Crecimiento de *Artemia franciscana* alimentada con las cuatro dietas a)-*Chaetoceros* sp., b)-*Dunaliella* sp., c)-*Spirulina maxima* y d)-90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp. (X=L.t. observada, \pm =desviación estandar. Las líneas verticales indican el día de cambio de estadio y en (a) y (d) la última de éstas indica el día de primer apareamiento (N=nauplius, M=metanauplius, J=juvenil y A=adultos).

IV.5. Estadios de *Artemia franciscana*.

Se observaron diferencias importantes en la duración de los estadios de los organismos que recibieron las diferentes dietas (Tabla VIII), y ésto se reflejó en diferencias significativas en las tallas iniciales en todos los casos. La duración del estadio nauplius fue de dos días en todos los casos, pero las tallas iniciales del estadio sucesivo (metanauplius) resultaron todas diferentes.

Los metanauplius alimentados con las dietas de *Chaetoceros* sp. y 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. fueron los que tardaron más en cambiar al próximo estadio (siete y seis días respectivamente para pasar a juvenil), mientras que los organismos alimentados con *Spirulina maxima* y *Dunaliella* sp. que mudaron en fechas anteriores resultaron, como era de esperar, significativamente más pequeños.

También hubo diferencias significativas entre las dietas en la duración de la etapa juvenil. En el caso de los organismos alimentados con *Spirulina maxima* sola, hasta el día 13 cuando finalizó el experimento, no se notó la presencia de adultos.

Artemia franciscana alimentada con *Dunaliella* sp. inició su etapa adulta con una talla significativamente mayor de la alcanzada con las otras dos dietas (*Chaetoceros* sp. y 90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp.) con las cuales se obtuvo este cambio de estadio.

Tabla VIII. Duración de los estadios de *Artemia franciscana* (días) alimentada con las diferentes dietas; (*) significa que se dió por terminado el experimento.

Estadio	CH	D	S	90%SM+10%CH
Nauplios	2	2	2	2
Metanauplios	3-7	3	3-5	3-6
Juveniles	8-11	4-5	6-13*	7-8
Adultos	12	6		9

IV.6. Formación de parejas y producción de progenie.

La formación de parejas sólo se presentó en los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. (día 13) y al día 12 para los de la dieta con el 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. Los organismos se empezaron a aparear siguiendo un patrón de incremento paulatino en la formación de parejas y llegando a un máximo entre el segundo y el cuarto día (Tablas IX y X). Específicamente con la dieta de *Chaetoceros* sp. el número máximo de parejas en los acuarios 1 y 3 (71 y 86 parejas respectivamente) se observó durante el segundo y tercer día desde el inicio, y el número disminuyó en las fechas sucesivas. Los organismos del acuario dos iniciaron la formación de parejas un día más tarde, y alcanzó el valor más alto (112) al cuarto día después de esa fecha.

El porcentaje de la población total que formó parejas fue diferente entre los acuarios para la dieta de *Chaetoceros* sp., observándose en el acuario 1 y 3 un porcentaje similar (51.46 y 53.59 %) respectivamente, mientras que en el acuario 2 la formación de parejas alcanzó valores cercanos al 100% (97.57%). En el caso de los organismos alimentados con el 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. el porcentaje de la población que formó parejas fue más bajo y no muy diferente para los tres acuarios (38.82, 31.22 y 46.41%).

La producción de nauplius por pareja (total de nauplius calculados divididos por el número inicial de parejas) de los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. se muestra en la tabla XI y para la dieta del 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. se muestra en la tabla XII.

La producción de nauplius inició seis días después de la fecha de apareamiento en el caso de la dieta mixta, mientras que los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. tardaron dos días más. No se notaron tendencias bien definidas en la producción de progenie, en dependencia de la edad de los progenitores y tampoco se vieron diferencias importantes de producción, que considerando globalmente los acuarios, varió entre 32.2 y 37 nauplius producidos por cada pareja en el caso de la dieta con *Chaetoceros* sp., y entre 31.5 y 49.5 para la dieta mixta.

Tabla IX. Formación diaria de parejas de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. (en paréntesis, el porcentaje de la población total a esa fecha); TOTAL: número de organismos y % que representa al total de la población.

Edad	Acuario I	Acuario II	Acuario III
Día 13	29 (5.45%)	-	15 (2.87%)
Día 14	67 (13.31%)	14 (3.57%)	86 (16.94%)
Día 15	71 (16.42%)	34 (9.00%)	74 (17.56%)
Día 16	60 (16.11%)	76 (22.12%)	57 (16.40%)
Día 17	47 (14.44%)	112 (41.86%)	48 (16.52%)
Día 18	-	105 (67.52%)	-
Día 19	-	41 (81.19%)	-
TOTAL	548 (51.46%)	764 (97.57%)	560 (53.59%)

Tabla X. Formación diaria de parejas de *Artemia franciscana* alimentadas con el 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. (en paréntesis el porcentaje de la población total a esa fecha); TOTAL: número de organismos y % que representa al total de la población..

Edad	Acuario I	Acuario II	Acuario III
Día 12	3 (2.53%)	5 (4.22%)	6 (5.06%)
Día 13	5 (4.33%)	6 (5.29%)	10 (8.89%)
Día 14	11 (9.95%)	7 (6.51%)	15 (14.63%)
Día 15	15 (15.07%)	6 (5.97%)	7 (8.00%)
Día 16	5 (5.92%)	6 (6.35%)	13 (9.94%)
Día 17	7 (8.80%)	7 (7.91%)	4 (5.92%)
TOTAL	92 (38.82%)	74 (31.22%)	110 (46.41%)

Tabla XI. Producción de nauplius durante 72 horas por pareja de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. Con edad, se entiende la edad de las parejas al día de primera aparición de nauplius, en paréntesis, el día de apareamiento.

Día apar.	Edad	Acuario I	Acuario II	Acuario III
(13)	Día 21	39	-	30
(14)	Día 22	26	36	24
(15)	Día 23	17	13	14
(16)	Día 24	34	15	43
(17)	Día 25	45	39	50
(18)	Día 26	-	61	-
(19)	Día 27	-	59	-
PROMEDIO		32.2	37	32.2

Tabla XII. Producción de nauplius durante 72 horas por pareja de *Artemia franciscana* alimentada con el 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. con edad se entiende la edad de las parejas al día de primera aparición de nauplius, en paréntesis, el día de apareamiento.

Día apar.	Edad	Acuario I	Acuario II	Acuario III
(12)	Día 18	18	25	46
(13)	Día 19	50	29	51
(14)	Día 20	41	31	43
(15)	Día 21	42	38	78
(16)	Día 22	42	44	25
(17)	Día 23	28	22	54
PROMEDIO		36	31.5	49.5

IV.7. Composición proximal de *Artemia franciscana*.

Al noveno día cuando se discontinuó el ensayo con *Dunaliella* sp. y los pocos organismos restantes fueron usados para la determinación de su peso y composición bioquímica, se tomaron muestras de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. para fines comparativos.

Las mismas determinaciones se llevaron a cabo en el caso de los ensayos con las dietas (*Chaetoceros* sp. y *Spirulina maxima* enriquecida con el 10% de la misma diatomea) que permitieron el desarrollo normal de los organismos hasta el apareamiento (días 13 y 12 respectivamente), fechas en las cuales se tomaron las muestras correspondientes para poder comparar el peso y la composición de organismos en el mismo estadio de vida.

Como se mencionó en el apartado relativo a la metodología utilizada para este trabajo, todas las muestras fueron preservadas por congelación a -30°C pero, contrariamente a lo encontrado en pruebas anteriores (Paniagua-Chávez, 1993) o paralelas (Cordero-Esquivel, com. pers.) llevadas a cabo en nuestro laboratorio, se encontró que este tratamiento, o la descongelación sucesiva, causó pérdidas importantes de biomasa ya que en promedio (sin considerar diferencia de dietas) el peso seco de un organismo de nueve días de edad fue de 0.01 mg y de 0.03 mg, estos a la fecha de su primer apareamiento, aproximadamente un orden de magnitud inferior a los pesos secos por organismo encontrados en los ensayos ya mencionados.

Por este motivo, los datos de composición proximal de las tablas XIII y XIV tienen que considerarse con precaución y se reportan solamente a título informativo. Cabe mencionar que la hipótesis de pérdida de biomasa parecen ser confirmados por los bajos porcentajes de sustancia orgánica explicada por los resultados de los análisis. Por otro lado, además tales diferencias son también probablemente debidas al hecho que las técnicas analíticas empleadas no detectan la quitina, que es el componente principal del exoesqueleto de todos los crustáceos.

A los nueve días de edad, los datos obtenidos no indicaron diferencias importantes de composición entre *Artemia franciscana* alimentada con *Dunaliella* sp. y con *Chaetoceros* sp. (Tabla XIII), mientras que a la fecha de primer apareamiento es probable que las diferencias, evidentes en la tabla XIV entre los organismos que que recibieron la dieta de *Chaetoceros* sp. y los alimentados con la dieta mixta (Tabla XIV), reflejaron una diferencia real entre dietas.

Tabla XIII. Composición proximal en base al P.S.T. y P.S.O. promedio de *Artemia franciscana* a los nueve días de vida alimentada con la microalga *Dunaliella* sp. (DU-X-2) (DU) y *Chaetoceros* sp. (CH-X-1) (CH) previamente congeladas, en paréntesis se da la desviación estándar.

	<i>DU</i>		<i>CH</i>	
	% P.S.	% P.S.O.	% P.S.	% P.S.O.
Proteínas(%)	11.46(0.72)	12.55(0.85)	8.90(0.60)	10.53(0.85)
Carbohidratos(%)	2.48(0.03)	2.92(0.05)	2.95(0.31)	3.49(0.51)
Lípidos(%)	6.19 (2.2)	7.24 (2.5)	9.48(0.49)	7.24(2.5)
Cenizas(%)	0.21		0.21	
% explicado	20.34	22.71	21.18	21.26

Tabla XIV. Composición proximal en base al P.S.T. y P.S.O. promedio de *Artemia franciscana* a los 13 días de vida alimentada con la microalga *Chaetoceros* sp. (CH-X-1) (CH) y 90% de *Spirulina maxima* + 10% de *Chaetoceros* sp. (90% SM + 10% CH) a los 12 días previamente congeladas, en paréntesis se da la desviación estándar (* una muestra).

	<i>CH</i>		90% SM + 10% CH	
	% P.S.	% P.S.O.	% P.S.	% P.S.O.
Proteínas(%)	28.88(0.66)	33.84(0.92)	9.07(0.76)	10.53(0.85)
Carbohidratos(%)	18.27(0.86)	21.41(1.00)	3.72*	4.36*
Lípidos(%)	32.06(0.39)	37.62(0.45)	8.19*	9.59*
Cenizas(%)	0.21		0.21	
% explicado	79.42	92.87	21.19	24.48

V. DISCUSION

V.1. Cultivos de microalgas.

El control de las variables ambientales hizo posible el mantener estables los cultivos de *Chaetoceros* sp. para obtener una producción constante de la biomasa necesaria para los fines del ensayo de alimentación.

En el caso de *Dunaliella* sp., a pesar de haber mantenido las condiciones de cultivo dentro de los intervalos físico-químicos sugeridos por Paniagua-Chávez (1993) para esta cepa, no se pudo establecer el cultivo. Esto confirma de hecho los resultados del autor mencionado, quien encontró que esta cepa es difícil de mantener en cultivos de laboratorio, sobre todo debido a su tendencia a adherirse a las paredes y al fondo de los recipientes de cultivo y a formar agregados multicelulares, que obligan a cambios frecuentes de los recipientes de cultivo.

Desde el punto de vista de la producción para fines acuiculturales, esta microalga no ofrece por lo tanto buenas perspectivas, debido a que esta práctica elevaría la demanda de mano de obra, sin garantizar de hecho la continua disponibilidad de alimento.

Por otro lado, se piensa que la calidad de su biomasa no se haya visto perjudicada aún en las últimas fases del cultivo, debido a los datos de crecimiento y de la composición de los organismos que se alimentaron con esta microalga.

V.2. Supervivencia.

La supervivencia de *Artemia franciscana* alimentada con las diferentes dietas varió ampliamente. El mejor porcentaje de supervivencia (94.1%) se obtuvo con la dieta de *Chaetoceros* sp. cultivado con luz blanca. Otros estudios indican que esta microalga es un buen alimento para los diferentes estadios de *Artemia franciscana*. Sakamoto *et al.* (1982) reportaron una mejor supervivencia con *Chaetoceros curvisetus* (48%) que con otras fuentes de ácidos grasos poliinsaturados de dietas microencapsuladas. Correa-Reyes (1993) utilizó *Chaetoceros* sp. cultivado con tres diferentes tipos de luz (blanca, azul y azul mezclada) para alimentar a *Artemia franciscana*, y obtuvo una supervivencia de 89.80% con luz azul y 81.22% con luz azul mezclada, aunque con luz blanca el porcentaje de supervivencia fue de 30.41% inferior al que se obtuvo en este trabajo. Sanchez-Saavedra (*com. pers.*) también utilizó los mismos tipos de luz y la misma microalga reportando porcentajes de supervivencia superiores al 80 con luz azul y hasta del 90% con luz mezclada.

Históricamente durante varios siglos *Spirulina* sp. fue utilizada para mejorar la dieta de los aborígenes mexicanos así como algunas tribus de África Central. Las especies utilizadas en América y África son *Spirulina maxima* y *Spirulina platensis* respectivamente (Bonotto, 1988), y en la actualidad se están utilizando también para mejorar la calidad nutricional de algunos crustáceos y en particular de *Artemia*.

Sin embargo, las dosis elegidas para este trabajo no fueron efectivas, ya que la sobrevivencia fue muy baja (0.6%). Castro *et al.*, 1987 utilizaron tres diferentes dietas para *Artemia* sp. salvado de arroz, *Spirulina* fresca y algas crecidas con estiercol de gallina como fertilizante, encontraron que la dieta más eficiente fue *Spirulina* fresca con un porcentaje de 70 a 80% de sobrevivencia en un período de 30 días, pero el sistema experimental se llevo a cabo al aire libre en tanques de cemento de 1 m³. Viera (1987) probó también alimentos inertes como salvado de arroz y *Ulva*, una macroalga verde deshidratada, y las sobrevivencias finales fueron de 60 y 70 % respectivamente. La discrepancia tan grande con este trabajo pudiera deberse a que aparte de las condiciones experimentales disímiles, *Spirulina maxima* deshidratada se adhiere a los toracópodos de los organismos, impidiendo su natación y originando de esta forma un incremento en la mortalidad.

Otro aspecto que pudo haber repercutido en la sobrevivencia es el hecho que esta microalga al entrar en contacto con el agua inicia el proceso de descomposición, causando un deterioro de la calidad del agua. Aún cuando se trató de minimizar este problema, administrando el alimento en dos raciones, y evitando la formación de espuma, ésto no redujo la cantidad de sustancias orgánicas presentes, y por lo tanto, causó un incremento en la concentración de amonio y propiciando condiciones anaeróbicas locales, como lo reportado por Castro y Gallardo (1985).

Los organismos alimentados con *Dunaliella* sp. presentaron también una baja sobrevivencia (2.1%), observándose una alta mortalidad durante los primeros estadios de vida, lo cual es similar a los resultados encontrados por Paniagua-Chávez y Voltolina-Lobina (en preparación). Estos resultados no son totalmente desalentadores y de hecho no se sugiere que se desheche la posibilidad de usar esta microalga, ya que aún con tan baja sobrevivencia la anamorfosis fue más rápida que con *Chaetoceros* sp. Una alternativa pudiera ser su uso pero en forma combinada o alterna, eligiendo a *Chaetoceros* sp. para los primeros días y utilizando posteriormente *Dunaliella* sp. sola, o en forma combinada.

La sobrevivencia de los organismos alimentados con la dieta mixta no se pudo evaluar de una forma eficiente, ya que al noveno día de iniciado el experimento ocurrió una mortalidad del 100% en tres de los acuarios debido a la alta cantidad de amonio presente originada por el alimento en descomposición, o que la dosis de *Spirulina maxima* ya rebasaba la capacidad de ingestión de *Artemia*.

Los organismos en el acuario restante mostraron un porcentaje menor de mortalidad. El episodio de mortalidad indica que esta dieta debe ser utilizada con reserva, posiblemente suministrándola en dos o más raciones o aumentando la aeración $\%$ el porcentaje de alimento vivo que, cabe mencionarlo, puede contribuir a mantener dentro de valores aceptables las concentraciones de oxígeno y de amonio, a través de su fotosíntesis y asimilación de compuestos nitrogenados.

V.3. Crecimiento de *Artemia franciscana*

El crecimiento de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. y con la dieta mixta fue bueno, en comparación con los organismos alimentados con *Spirulina maxima* y *Dunaliella* sp. La utilización de las dos primeras dietas permitió llegar hasta la etapa de formación de parejas y a la producción de progenie. Sin embargo, el crecimiento con las tres dietas fue de 0.573 mm al día uno en la etapa de nauplius, los datos reportados por Correa-Reyes (1993) y Sánchez-Saavedra (*com. pers.*) que utilizaron *Chaetoceros* sp. como dieta única, donde utilizaron diferentes tipos de luz (luz blanca, azul y azul mezclada) y reportaron tallas de entre 1.02 mm con luz blanca y 0.97 mm con luz azul mezclada respectivamente, pero al día dos.

Para el caso de metanauplius la mejor dieta fue la de *Chaetoceros* sp. con 1.61 mm de longitud total, comparado con el intervalo de entre 1.67 mm y 1.83 mm con luz blanca y luz azul encontrados por los autores antes mencionados.

Para el estadio juvenil la dieta de *Chaetoceros* sp. mostró un incremento en el crecimiento de *Artemia franciscana* que fue evidentemente mayor que con las otras dietas (4.65 mm) e intermedio entre las tallas reportadas por Sánchez-Saavedra (*com. pers.*) 4.15 mm con luz azul y el valor obtenido por Correa-Reyes (1993) (4.86 mm con luz blanca). Castro *et al.* (1987) reportan un crecimiento de 4.12 mm al treceavo día en *Artemia* alimentada con *Spirulina* fresca y en este estudio para el mismo día 4.0 mm con *Spirulina maxima* deshidratada.

Considerando la fecha de primer apareamiento (treceavo día) la dieta de *Chaetoceros* sp. resultó en una talla de 6.00 mm, cercano a la reportada por Correa Reyes (*op. cit.*), de 5.94 mm con luz azul y superior a lo encontrado por Sanchez-Saavedra (en proceso.) (4.85 mm) con el mismo tipo de luz. Sumitra-Vijayarahavan *et al.* (1987) reportan los resultados de un experimento de alimentación con cuatro dietas (salvado de arroz, *Phorphira vietnamensis*, *Enteromorpha intestinalis* y *Ulva fasciata*). El mejor crecimiento fue obtenido con salvado de arroz, con una longitud al día 13 de 5.65 mm. Para el estadio adulto Correa-Sandoval (1993), usando *Chaetoceros* sp. como dieta, reporta una talla de 6.22 mm a los 30 días, mientras que Sakamoto *et al.* (1982) a los 18 días de cultivo obtuvieron organismos con una talla promedio de 6.92 mm cuando los alimentaron con aceite de la almeja *Tapes*, aunque con un bajo porcentaje de sobrevivencia (28.5%). La longitud promedio fue sólo de 4.17 mm con *Chaetoceros curvisetus*. Viera (1987) reportó tallas de *Artemia* de 11.1 mm y 8.4 mm a los 18 días alimentada con una macroalga seca *Ulva* y con salvado de arroz respectivamente. En este estudio la dieta de *Chaetoceros* sp. permitió un crecimiento en *Artemia franciscana* de 8.8 mm a los 19 días de iniciado el experimento.

La dieta de *Dunaliella* sp. propició un mayor crecimiento a partir del quinto día y hasta el noveno lo cual sugiere que esta dieta es superior a las demás por lo que se refiere al crecimiento, y que probablemente los organismos hubieran alcanzado la fase de formación de parejas antes que con las otras dietas, como lo reporta Paniagua-Chávez (1993) quien encontró formación de parejas al decimo día.

Con lo anterior se refuerza la opinión acerca de la posibilidad de usar esta microalga para el cultivo de *Artemia* sp. evitando su utilización durante los primeros días, cuando no es evidentemente adecuada como dieta, causando de hecho altas mortalidades de nauplius y metanauplius.

Es importante hacer notar que en general, la literatura acerca del crecimiento de *Artemia* spp. considera solamente las tallas y no los cambios de estadios sucesivos. Esto probablemente se debe al hecho que estos cambios son anamórficos, motivo por el cual se tuvo que seleccionar un criterio arbitrario (día en el cual más del 50% de los organismos pertenecían claramente al nuevo estadio) para establecer la fecha de cada cambio.

Debido a que este criterio es común a los trabajos llevados a cabo, estos datos pueden solamente compararse con los que se generaron y se están generando en el laboratorio de Acuicultura del C.I.C.E.S.E. Con la salvedad de la corta duración de la fase metanauplius con *Dunaliella* sp., las fechas de cambio de estadio resultaron aproximadamente similares a los reportados por Correa-Reyes (*op. cit.*) y Sánchez-Saavedra (*com. pers.*).

V.4. Formación de parejas y producción de progenie.

Las diferencias entre las dos dietas utilizadas que permitieron en *Artemia franciscana* la formación de parejas fueron notorias. Con *Chaetoceros* sp., el número de adultos que formaron parejas fue superior al 50% del total en solamente seis días para dos de los acuarios, y representó prácticamente el total de la población en el tercero. Además, con la excepción del primer día, este porcentaje fue constantemente cercano o superior al 10% en los dos primeros acuarios, y fue aumentando constantemente en el tercero.

En el caso de la dieta mixta, esta tendencia no se notó y el porcentaje de adultos que copularon fue, en seis días, inferior al 50% del total. Correa-Reyes (1993) encontró también un incremento paulatino en la formación de parejas, con un máximo al tercer día, de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. y tres diferentes tipos de luz. Castro *et al.*, 1987 reportaron porcentajes de formación de parejas de 32% y de 63.6% en *Artemia* alimentada con salvado de arroz y *Spirulina* fresca a los 25 y a los 28 días respectivamente.

La producción de progenie fue similar (34 y 39 en promedio) para *Chaetoceros* sp. y para la dieta mixta e inició a los 21 días con *Chaetoceros* sp. y a los 18 días con la dieta mixta, que indicaría, una mejor calidad de la segunda dieta, por lo menor por lo que se refiere a este criterio de evaluación.

Este promedio es comparable con los resultados obtenidos por Correa-Reyes (*op. cit.*), que reporta producción de nauplius a los 15 días en los organismos alimentados con tres dietas diferentes obtenidas cambiando las condiciones de cultivo de *Chaetoceros* sp., con una producción promedio de 34.32 nauplius con una de las dietas y mantenidos con luz azul mezclada, y con las otras dos una producción algo más baja, pero no significativamente diferente, de nauplius y quistes, en tiempos más largos mantenidos con luz azul. Amat (1985b) indica que *Artemia* en la primera puesta produce de 10 a 30 nauplius o huevos císticos dependiendo de la cepa y de las condiciones del medio ambiente considerando esto en este trabajo se obtuvieron valores superiores que reflejan que las condiciones fueron favorables para *Artemia franciscana*.

V.5. Composición bioquímica de *Artemia franciscana*.

El contenido bioquímico de *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp. con respecto a proteínas, lípidos y carbohidratos coincide con lo reportado por Correa-Reyes (1993) a excepción del contenido de cenizas, el cual fue de 0.21% para este experimento y en el otro de 11.37%.

Comparando estos resultados con los reportados por Correa-Sandoval (1991) resalta el alto contenido de proteínas (50.84%) obtenido de los organismos alimentados con *Chaetoceros muelleri*, pero cultivados en medio f/2, que, a pesar de la diferencia de especies y medio de cultivo, se considera que esta gran diferencia pudo deberse principalmente a la preservación de las muestras, más que a la calidad de las microalgas. Gozalbo et al. (1987) reportan la utilización de seis microalgas (*Synechococcus elongatus*, *Tetraselmis* sp., *Chlorella* sp., *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella tertiolecta* y *Asteromonas gracilis*) y una dieta de salvado de arroz como alimento para *Artemia*. Aunque todas las microalgas probadas modificaron la calidad nutricional de *Artemia*, estos autores no establecen una dieta óptima; específicamente *Dunaliella tertiolecta* con un alto contenido de proteínas 63.30 ± 1.91 modificó la constitución protéica de este branquiópodo en un $58.39\% \pm 3.03$. En este estudio el porcentaje de proteína de *Artemia* fue muy bajo (11.46 ± 0.72 P.S.) considerando que la microalga aportó 32.50 % de proteínas.

Paniagua-Chávez (1993) utilizó *Dunaliella* sp. frescas y congeladas cultivada en medio "f" como dieta para *Artemia franciscana*, donde la microalga utilizada presentó el 32.50% de proteínas, 17.90% de carbohidratos y 24.60% de lípidos, que fue la misma cepa, el mismo medio de cultivo y los mismos porcentajes utilizados en este estudio; este autor obtuvo en *Artemia franciscana* un 12.7%(4.8) y 9.3%(2.2) de proteínas, 7.7%(2.7) y 2.9%(1.4) en carbohidratos y 29.1%(0.03) y 2.5%(0.23) de lípidos en frescas y congeladas, y en este estudio el contenido de proteínas fue de 11.46%(0.72), 2.48%(0.03) de carbohidratos y 6.19%(2.2) de lípidos, que al hacer una comparación de la composición bioquímica de las microalgas con la cantidad asimilada por los organismos el porcentaje de asimilación es bastante bajo, específicamente en lípidos y carbohidratos.

El alto porcentaje de sobrevivencia, así como la obtención de organismos de tallas grandes refleja la calidad del alimento, particularmente en los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp., donde se demuestra en base a los resultados obtenidos en este estudio y en otros, tales como los de Correa-Sandoval (1991), Correa-Reyes (1993), Cordero-Esquivel (1993) y Sanchez-Saavedra (en proceso) que esta dieta reúne los requerimientos nutricionales para *Artemia franciscana*.

Este efecto se evidenció cuando en tan sólo cuatro días (del noveno al treceavo) el porcentaje aumentó significativamente en tan corto tiempo de 8.90%(0.60) de proteínas, 2.95%(0.31) de carbohidratos y 9.48%(0.49) de lípidos, hasta 28.88%(0.66) de proteínas, 18.27%(0.86) de carbohidratos y 32.06%(0.39) de lípidos.

Por otra parte, *Artemia franciscana* alimentada con *Chaetoceros* sp., además de la alta sobrevivencia y de su buen crecimiento, logró llegar a formar parejas y por consiguiente la producción de nauplius fue de 32.2 a 37 respectivamente, la cual fue más elevada que la reportada por Amat (1985b) en donde la producción de nauplius en la primera puesta varía de 10 a 30 nauplius o huevos císticos. Por lo tanto quedó demostrado en este estudio que los organismos alimentados con *Chaetoceros* sp. mejoran su condición nutricional.

Los organismos alimentados con la microalga *Dunaliella* sp. tardaron solamente cinco días para llegar al estadio adulto, y lograron una talla promedio de 5.24(0.51) mm en tan solo nueve días que fue mayor que los organismos alimentados con las otras dietas, lo cual es un índice del valor nutricional del alimento, sin embargo, esta microalga ocasiona altas mortalidades en *Artemia franciscana* durante los primeros días, presumiblemente porque no es ingerida o no es asimilada.

Posteriormente, si la calidad de esta microalga no se hubiera deteriorado durante el experimento, se habría logrado la formación de parejas, tal y como lo reporta Paniagua-Chávez (1993) donde encontró formación de parejas al día 10 con la misma cepa de *Artemia franciscana* y la misma cepa de *Dunaliella* sp., y por consiguiente la producción de nauplius.

En el caso de la dieta mixta (90% *Spirulina maxima* + 10% *Chaetoceros* sp.) parece que *Artemia franciscana* dirigió su energía en el crecimiento (7.84 mm), en la formación de parejas y en la producción de progenie, ya que para el día 13 sus reservas estaban evidentemente disminuidas y la dieta no logró cubrir sus necesidades energéticas.

Por último, *Artemia franciscana* alimentada con *Spirulina maxima* no alcanzó las tallas logradas con las otras dietas y la mortalidad fue más elevada, en este caso la calidad de la microalga es adecuada sin embargo, *Artemia franciscana* no logra asimilarla tal vez, debido a la forma, al tamaño o a que la cantidad administrada no fue la correcta.

VI. CONCLUSIONES

La microalga *Chaetoceros* sp. fresca (CH-X-1) presenta ventajas con respecto a las otras dietas utilizadas en este estudio por lo menos por lo que se refiere a su cultivo, ya que no se adhiere a las paredes del recipiente y tolera cambios de pH y de temperatura. Además, por tratarse de alimento vivo, no causa problemas de calidad del agua como fue el caso de la dieta inerte y pudiera de hecho ayudar a mantenerla en límites aceptables, si fuera usada en dietas mixtas.

En comparación con *Chaetoceros* sp., *Dunaliella* sp. (DU-X-2) presentó problemas en cuanto a su cultivo, que no se pudo mantener por más de nueve días. Además propició una alta mortalidad durante los primeros estadios de vida de *Artemia franciscana*, aunque el crecimiento y la sobrevivencia después de los primeros días fueron satisfactorios.

A pesar de los problemas de calidad de agua, el uso de *Spirulina maxima* constituye una alternativa viable, sobre todo durante los primeros estadios de vida de *Artemia franciscana*, cuando promueve un crecimiento mayor que las otras dietas y cuando además se proporciona en cantidades inferiores.

El uso de *Spirulina maxima* con otras dietas resultó en un buen crecimiento y una rápida maduración de los adultos, y probablemente se obtendrían aún mejores aumentando el porcentaje de alimento vivo.

VII SUGERENCIAS

Se sugiere que los próximos estudios de alimentación de *Artemia franciscana* tienen que dirigirse a estudiar los efectos de una dieta basada en el uso *Spirulina maxima* combinada con porcentajes de *Chaetoceros* sp. superiores a las utilizadas en este estudio, posiblemente en dosis pequeñas y con una frecuencia mayor para hacer más eficiente su utilización y eliminar con esto los problemas de calidad del agua.

El mismo estudio podría repetirse para la combinación *Spirulina maxima-Dunaliella* sp. y *Chaetoceros-Dunaliella* sp., iniciando con un régimen alimenticio en el que la última especie se administre solamente después de cuatro o cinco días de cultivo.

LITERATURA CITADA

- Amat, F. 1985a. Utilización de *Artemia* en Acuicultura. Inf. Técn. Inst. Inv. Pesq. 128-129: 3-7.
- Amat, F. 1985b. Biología de *Artemia*. Inf. Técn. Inst. Inv. Pesq. 126-127: 3-59.
- Anónimo 1988. Tips on cyst decapsulation. 2 pp. San Francisco Bay Brand, Inc.
- Bligh, E.G. y W.J. Dyer. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37: 911-917.
- Bonotto, S. 1988. Food Chemicals from microalgae. Prog. Oceanog. 21: 207-215.
- Benemann, J.R., D.M. Tillett y J.C. Weissman. 1987. Microalgae Biotechnology. Trends in Biotechnology, Vol.5 (2): 47-53.
- Caro-Caro, C. 1991 El efecto del hierro en la oviparidad de una población de *Artemia franciscana*, Kellogg, 1906. Tesis Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (C.I.C.E.S.E.) 88 p.
- Castro, T y C. Gallardo 1985. *Artemia* sp. Cuadernos 2 CBS. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. 43pp.
- Castro, T y G. Castro y R. De Lara 1987. Experimental production of an introduced *Artemia* strain in alkaline waters in the State of Mexico. p.319-325. In.: *Artemia* Research and its Applications. Vol.3 P. P. Sorgeloos *et al.* (eds.).Universa Press, Wetteren, Belgium. 556 p .
- Chiaverini, J. 1972. Techniques d'extraction et d'analyse des lipides. Université de Paris. Station Zoologique Villefranche-Sur-Mer. Notes de travail No. 12. 12 pp.
- Cordero-Esquivel B., D. Voltolina y F. Correa-Sandoval 1993. The biochemical composition of two diatoms after different preservation techniques. Com. Biochem. Physiol. 105B: 369-373.

- Correa-Reyes, J.G., 1993. Alimentación de *Artemia franciscana* con microalgas cultivadas bajo diferentes tipos de luz. Facultad de Ciencias Marinas. U.A.B.C. Tesis de Licenciatura. 55 pp.
- Correa-Sandoval, F. 1991. Caracterización biológica y bioquímica de algunas poblaciones de *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (C.I.C.E.S.E), Ensenada, México, Tesis de Doctorado en Ciencias. 126 pp.
- Correa-Sandoval, F. y L.F. Bückle-Ramírez 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca : Artemiidae). Revista de Biología Tropical 41(1): 103-110.
- Correa-Sandoval, F. B. Cordero-Esquivel, E. Valenzuela-Espinoza y R. Escobar-Fernández Biochemical composition laboratory-cultured adults of *Artemia franciscana* Kellogg, 1906 Comp. Biochem. and Physiol. (en revisión)
- Cushing, D. H. 1959. On the nature of production in the sea. Fish. Invest. Lond. Ser. 2, 22:1-40.
- Coutteau, P. y P. Sorgeloos 1992. The use of algal substitutes and requirement for live algae in the hatchery and nursery rearing of bivalve molluscs: An International Survey. J. Shellf. Res. 11:2, 467-476.
- Dobbeleir, J., A. Noel, E. Bossuyt, E. Bruggeman y P. Sorgeloos. 1980. New aspects of the use of inert diets for high density culturing of brine shrimp. p. 165-174. In: The Brine Shrimp *Artemia*. Vol. 3 Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. G. Persoone *et al.*, (eds.). Universa Press, Wetteren, Belgium.
- Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers y F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28: 350-356.

- Farber-Lorda, J. 1986. Etudes biologiques, energetiques et biochemiques du Krill antarctique *Euphasia superba* et *Thysanoessa macrura* recolte au cours de la campagne Fibex. Université de Aix-Marseille. These de Doctorat. 214 pp.
- Guillard, R.R.L. y J.H. Ryther. 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve). Can. J. Microbiol., 8:229-239.
- Gozalbo, A., Amat F., Hontoria F., Navarro J. y Varo I. 1987. Composición bioquímica de *Artemia* alimentada con diferentes dietas. En: Larvicultura de camarones peneidos Vol.I. Editado por CYTED-D pp. 217-221.
- Iolr, 1982-1983. Israel oceanographic and limnological research. Biennial Report 1982-1983, Tel Shikmona, Haifa, Israel, pp.1-74.
- Johnson, H. W. 1976. The biological and economic importance of algae. Part.4: The industrial culturing of algae. Tuatara 22, 1-114.
- Léger, P., D. Bengtson, Simpson, K. y P. Sorgeloos. 1986. The use and nutritional value of *Artemia* as a food source. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev. 24: 521-623.
- López, E.J. 1990. Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con medios simplificados; evaluación de técnicas analíticas y de producción. Tesis Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. (C.I.C.E.S.E.) 163 p.
- López, E. J. y D. Voltolina 1993. Cultivos semicontinuos de cuatro especies de microalgas con un medio no convencional. Ciencias Marinas, 19(2): 169-180.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr y R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-273.

- Malara, G. y R. Charra. 1972. Dosage des glucides particulaires de phytoplancton selon la méthode de Dubois. Université de Paris. Station Zoologique. Villefranche-Sur-Mer. Notes de Travail. No. 6, 12 pp.
- Marin, V., M. E. Huntley y B. Frost. 1986. Measuring feeding rates of pelagic herbivores: analysis of experimental design and methods. *Mar. Biol.*, 93: 49-58.
- Montaño, G. 1991. Dinámica de la población de *Artemia* sp. en el médano de San José, Baja California, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Acuicultura. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México.
- Okauchi M. 1991. The status of phytoplankton production in Japan. Rotifer and Microalgae Culture System. Proceeding of a U.S.- Asia Workshop. *Argent Chem.* 247-256.
- Olivares-Gonzalez, E. 1992. Balance energético de los adultos de *Artemia franciscana* Kellogg, 1906, bajo diferentes condiciones de temperatura. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. (C.I.C.E.S.E.) 72 p.
- Pande, S.V., R.P. Khan y T.A. Venkitasubramanian. 1963. Microdetermination of lipids and serum total fatty acid. *Analyt. Biochem.*, 6: 415-423.
- Paniagua-Chávez, C.G. 1993. Viabilidad, composición proximal y valor alimenticio de *Dunaliella* sp. preservada por congelamiento. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. (C.I.C.E.S.E.) 76 p.
- Paniagua-Chávez, C.G. y D. Voltolina. Fresh and frozen *Dunaliella* sp. (Chlorophyceae) as feed for *Artemia franciscana* Kellogg (Crustacea: Branchiopoda) (en prep.)
- Persoone, G. y P. Sorgeloos. 1980. General aspects of the ecology and biogeography of *Artemia*. p. 3-24. In: *The Aquaculture*. G. Persoone *et al.*, (Eds). Universa Press, Wetteren, Belgium.

- Provasoli, L., D.E. Conklin y A. D'Agostino, 1970. Factors inducing fertility in aseptic crustacea. *Helgolander Wiss. Meeresunters.* 20: 443-454.
- Richmond, A. 1988. *Spirulina*. In: *Micro-Algal Biotechnology*. eds. Borowitzka, M.A. y Borowitzka, L.J. 1988. Cambridge University Press. 4, 85-121.
- Sánchez-Saavedra, M. P. Efecto de la luz azul sobre el crecimiento y la composición bioquímica de *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) Tesis Doctoral C.I.C.E.S.E. (en prep.)
- Sakamoto, M.; D. L. Holland y D.A. Jones 1982. Modification of the nutritional composition of *Artemia* by incorporation of polyunsaturated fatty acid using microencapsulated diets. *Aquaculture*, 28: 311-320
- Sorgeloos, P. 1980. The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture p. 25-46. In: *The brine Shrimp Artemia*. Vol. 3 Ecology, Culturing, Use in Aquaculture. G. Persoone *et al.*, (eds.) Universa Press, Wetteren, Belgium.
- Sokal, R. y J. Rohlf. 1979. *Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica*. Trad. M. Lahoz. H. Blume Ediciones. 832 p.
- Sommer, T.R., W.T. Potts y N.M. Morrissy. 1990. Recent progress in the use of processed microalgae in aquaculture. *Hydrobiología*. 204/205: 435-443.
- Sumitra-Vijayaraghavan, L. K. y J. P. Proyan 1987. Evaluation of diferents feeds for optimal growth & Survival of parthenogenetic brine shrimp, *Artemia*. *Indian J. of Mar. Sc.* Vol. 16: 253-255.

- Tamaru, C.S. y L. Cheng-Sheng. 1991. Improving the larval rearing of striped mullet (*Mugil cephalus*) by manipulating quantity and quality of the rotifer, *Brachionus plicatilis*. In. Rotifer and microalgae culture systems Proceedings of a U.S.-Asia Workshop. Argent Chemical W. Fulks, F. y K.Main. (eds) 1991. Proceedings of a U.S.-Asia Workshop, 89-104.
- Trujillo-Valle, L. 1993. La colección de microalgas del C.I.C.E.S.E. Informe técnico Comunicaciones Académicas, Serie Acuicultura, CICESE 103 pp., CICT9301.
- Underwood, A.J. 1981. Techniques of analysis of variance in experimental marine biology and ecology. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 19: 513-605.
- Vieira Natividade, 1987. Culture of *Artemia* from Aveiro (Portugal) fed with wheat bran and seaweed. p.327-329. In.: *Artemia* Research and its Applications. Vol.3 P. P. Sorgeloos *et al.* (eds.).Universa Press, Wetteren, Belgium. 556 p
- White, J. 1987. Biochemical composition and energy content of six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. Aquaculture. 60:231-241.