

Efecto del tamaño de las microalgas sobre la tasa de ingestión en larvas de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906)

Arnulfo H. Díaz¹, Alejandro Ramírez Ayvar², Daniel Godínez Siordia^{1*} y Carmen Gallo García³

RESUMEN

Se valoró el efecto que representa el tamaño de las microalgas *Chaetoceros muelleri* y *Tetraselmis suecica* sobre la tasa de ingestión de larvas de *Artemia franciscana*. Desde el inicio del ensayo se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en todos los estadios de desarrollo y los tratamientos evaluados. En todos los estadios larvales se presentó un incremento de la tasa de ingestión en relación la concentración de *Chaetoceros muelleri*. En la etapa de transición de metanauplio IV a postmetanauplio II, *Artemia franciscana* alcanzó a ingerir 3,5 veces más la diatomea que la microalga fitoflagelada. Este comportamiento desapareció hacia el final de la etapa de postmetanauplio IV, cuando fue similar la tasa de ingestión de ambas especies de microalgas.

Palabras clave: Tasa de ingestión, *Artemia franciscana*, microalgas.

¹ Departamento de Estudios para el Desarrollo Sustentable de Zonas Costeras. Universidad de Guadalajara. Gómez Farías N° 82; Código postal N° 48980; San Patricio - Melaque, Jalisco, México. *Correo electrónico: dangos@costera.melaque.udg.mx

² Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara. Carretera a Nogales Km 15.5, Las Agujas, Zapopan, Jalisco, México.

³ Laboratorio de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Guadalajara. Miguel López de Legaspi N° 235, Código postal N° 48981, Barra de Navidad, Jalisco, México.

Recibido: 07/11/06 Aceptado: 15/03/06

**Effect of microalgae size on the ingestion rate on larvae
of *Artemia franciscana* (Kellog, 1906)**

SUMMARY

The effect of the size of the microalgae *Chaetoceros muelleri* and *Tetraselmis suecica* on the ingestion rate of larvae of *Artemia franciscana* was evaluated. From the beginning of the experiment significant differences were observed ($P < 0.05$) at all stages of development among the treatments. In all stages of the larvae there was observed an increase in the rate of ingestion relative to the concentration of *C. muelleri*. In the transition stage from metanauplii IV to postmetanauplii II, *A. franciscana* managed to ingest 3.5 times more diatom than the phytoflagellate algae; behavior that disappeared at the end of the postmetanauplii IV stage when they have in a equal relationship of 1 to 1.

Keywords: Ingestion rate, *Artemia franciscana*, microalgae.

INTRODUCCIÓN

Artemia es sin duda una de las especies forrajeras más versátiles empleadas en acuicultura, ya que sirve como alimento en todas sus etapas de vida y presenta la ventaja que al ser enriquecida sirve como vector de nutrientes, medicamentos y hormonas para nutrir peces y crustáceos en sus primeros estadios (Gelabert y De La Cruz, 1990). En laboratorios donde se persigue la obtención de biomasa de *Artemia* es necesario conocer el comportamiento alimenticio de estos organismos para así lograr un aprovechamiento más racional y sólo suministrar el alimento requerido (Leger y Sorgeloos, 1992).

Muchas especies de microalgas han sido utilizadas como un alimento para *Artemia* debido a que con ellas se obtiene un adecuado crecimiento y supervivencia (Neagel, 1999; Arriaga y Re, 1997; Pendoley, 1988; Tinh *et al.*, 1999). Debido a la variabilidad en formas y tamaños de las microalgas empleadas como alimento, así como la biomasa que pueden aportar, es necesario establecer la cantidad de alimento ingerido a fin de ajustar la ración alimenticia y establecer esquemas de alimentación que satisfagan los requerimientos de los organismos así como las demandas de los acuicultores. Las herramientas útiles empleadas con este fin son las tasas de filtración e ingestión, las cuales son utilizadas para conocer la cantidad de

alimento ingerido y poder dosificar adecuadamente la cantidad de alimento a suministrar. La carencia o exceso de alimento en el medio pueden limitar el crecimiento y desarrollo (Dierckens *et al.*, 1997). Teniendo en cuenta estos argumentos se consideró determinar el efecto que presenta el tamaño de la microalga sobre la tasa de ingestión de *Artemia* a lo largo de su desarrollo larvario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Microalgas

Las microalgas utilizadas como alimento fueron *Chaetoceros muelleri* (Clave CH-M-1), la cual se presenta como célula aislada de dimensiones de 4 a 9 μ y *Tetraselmis suecica* (Clave TE-S-1), que es una microalga de color verde brillante, comprimida, elipsoidal con cuatro flagelos, con dimensiones de 7 a 9 μ de diámetro y de 10 a 16 μ de largo (Trujillo Valle, 1993). Ambas especies fueron obtenidas de colección de microalgas del Centro de Investigaciones Científicas y de Educación Superior de Ensenada (CICESE); Ensenada, Baja California Norte, México. Las dos cepas fueron cultivadas de manera semicontinua (Ukeles, 1973), partiendo de cultivos puros con el medio f/2 (Guillard y Ryther, 1962), en garrafrones de 19 L de capacidad.

Condiciones del cultivo de *Artemia franciscana*

Los quistes de *A. franciscana* (grado A) fueron decapsulados e incubados siguiendo la técnica propuesta por Sorgeloos *et al.* (1986). Una vez que los nauplios eclosionaron, se procedió a realizar su conteo para manejar una densidad de 3 nauplios ml^{-1} en cada uno de los 5 tanques de plástico de 10 L de capacidad; los cuales conformaron el modulo del cultivo.

La alimentación se inició a partir de las 10 h de la eclosión y se continuó suministrando dos veces al día, manteniendo una concentración constante de 250.000 cél. ml^{-1} en cada uno de los tanques. El ajuste de alimento se realizó teniendo en cuenta las concentraciones de algas residuales en los recipientes de cultivo y la concentración del alimento a suministrar empleando la formula de SEAFDEC-Aquaculture Department (1984) modificada por De La Cruz (Alfonso *et al.*, 1988):

$$V_a = V_r (C_d - C_r) / C_a - C_r$$

Donde:

Va: Volumen de alimento añadir

Vr: Volumen del recipiente de cultivo

Cd: Concentraciones deseadas del alimento

Cr: Concentración residual de alimento

Ca: Concentración de alimento

Cada tanque del cultivo constituyó un tratamiento alimenticio compuesto por una sola especie de microalga o la combinación de estas en diferentes proporciones (Cuadro 1). Diariamente se registró la temperatura, oxígeno disuelto, salinidad, pH, amonio y nitritos mediante las técnicas convencionales, utilizando el equipo Hach modelo DRL5. Para mantener las condiciones de calidad de agua se realizó el 100% de recambio diario en cada uno de los recipientes experimentales (Sorgeloos *et al.*, 1986). El agua salada empleada, fue sujeta a un proceso de filtración mecánica de hasta 1 μ y esterilizada por medio de un sistema compuesto por 8 lámparas de luz ultravioleta.

Cuadro 1. Tratamientos y densidades alimenticias utilizadas para evaluar la tasa de ingestión de *A. franciscana*

Tratamiento	Proporción		Concentración	
	<i>C. muelleri</i>	<i>T. suecica</i>	<i>C. muelleri</i>	<i>T. suecica</i>
	----- % -----		----- cél ml ⁻¹ -----	
C100	100	0	250 000	-
T100	0	100	-	250 000
C50 -T50	50	50	125 000	125 000
C75 -T25	75	25	187 500	62 500
C25 -T75	25	75	62 500	187 500

El experimento culminó a los diez días, cuando *Artemia* alcanzó el final de la etapa postmetanaupliar que marca el final del desarrollo larvario (Schrehardt, 1987).

Evaluación de la tasa de ingestión

Este ensayo se realizó en una sala semi oscura y a la misma temperatura a la cual se mantuvo el cultivo. Se diseñó un módulo experimental el cual consistió en una gradilla de metal con espacio para 25 tubos de ensayo de 40 ml (cada tratamiento por quintuplicado). Para realizar

los experimentos de ingestión, diariamente se extrajeron 600 organismos de cada tanque de cultivo para distribuirse a una densidad de 3 organismos ml⁻¹ en cada tubo. En el transcurso de las pruebas, los tubos fueron invertidos suavemente cada 5 minutos para mantener las microalgas en suspensión y evitar sedimentación. Este proceso se realizó con sumo cuidado para evitar estrés y la perturbación del proceso de filtración e ingestión de los organismos (Spittler, 1988). El tiempo para la evaluación de la tasa de ingestión fue de 120 min; al cabo del tiempo establecido, las microalgas no consumidas fueron fijadas adicionando unas gotas de formalina al 10% para posteriormente llevar a cabo el conteo celular por quintuplicado, con la ayuda de un microscopio compuesto y un hematocitómetro con 0,1 mm de profundidad. En los tratamientos mixtos donde se ofreció la combinación de microalgas, el conteo de residuos alimenticios dentro de una misma muestra fue realizado teniendo en cuenta la cantidad de cada una de las dos especies presentes con la finalidad de determinar la preferencia por el alimento y con ello inferir la influencia del tamaño de la microalga sobre la tasa de ingestión.

Parámetro de evaluación

La tasa de ingestión es definida como el número de células consumidas por un solo organismo en un intervalo de tiempo específico (Ferrando *et al.*, 1993). Para el cálculo de la tasa de ingestión se empleó la fórmula propuesta por Hayward y Gallup (1976).

$$TI = v (C_o - C_f) / n t$$

Donde:

TI = Tasa de ingestión (cél ind⁻¹ h⁻¹)

v = Volumen de tubo (ml)

C_o = Concentración inicial de alimento (cél ml⁻¹)

C_f = Concentración final de alimento (cél ml⁻¹)

n = Número de organismos en el tubo

t = Tiempo (h)

Análisis estadístico

Los datos de la tasa de ingestión fueron sometidos a las pruebas de normalidad de Lilliefors y de homogeneidad de varianzas de Bartlett (Conover, 1980; Zar, 1974). Una vez identificada la normalidad y homoscedasticidad de los datos, los datos correspondientes a la tasa de ingestión en los diferentes tratamientos, se contrastaron con un análisis de

varianza. En los tratamientos que mostraron diferencias significativas, los valores medios fueron comparados con la prueba de rangos múltiples de Tukey (Zar, 1974). Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el paquete estadístico Sigma Stat (Ver. 2.0); con un nivel de significación de $\alpha=0.05$

RESULTADOS

Los resultados de la tasa de ingestión se muestran en el Cuadro 2, donde se encontraron diferencias significativas ($P<0,05$) entre los tratamientos desde el primer día de ensayo. Se observó en todos los estadios larvales de *A. franciscana* un incremento de la ingestión a medida que aumentaba la concentración de *C. muelleri*.

Cuadro 2. Tasa de ingestión promedio \pm desviación estándar de *A. franciscana* a lo largo de su desarrollo larvario. Los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples se presentan por estadio y por cada especie de microalga en las diferentes proporciones ensayadas.

Estadio	C100	T100	cél. ind ⁻¹ h ⁻¹		
			C75 T25	C50 T50	C25 T75
Metanauplio I	23,1 \pm 5,4b	24,0 \pm 3,6b	18,9 \pm 5,8c 17,5 \pm 3,2c	34,2 \pm 4,9a 16,4 \pm 2,2c	24,9 \pm 2,1b 12,4 \pm 3,5d
Metanauplio II	38,6 \pm 6,6a	26,8 \pm 2,9b	22,3 \pm 3,3c 19,4 \pm 7,2d	30,2 \pm 6,7a 10,7 \pm 5,2d	26,6 \pm 8,4b 15,1 \pm 5,6d
Metanauplio III	46,0 \pm 2,6a	29,8 \pm 4,7bc	30,7 \pm 3,9b 16,5 \pm 2,4d	27,6 \pm 7,2c 18,7 \pm 2,8d	28,5 \pm 9,2bc 15,0 \pm 5,4d
Metanauplio IV - Postmetanauplio I	114,6 \pm 4,4a	64,3 \pm 5,1c	82,7 \pm 2,3b 24,0 \pm 5,4d	26,5 \pm 6,7d 29,7 \pm 5,2d	37,9 \pm 2,2d 38,9 \pm 8,5d
Postmetanauplio II	83,6 \pm 6,5a	26,8 \pm 13,1d	74,4 \pm 11,2b 24,4 \pm 6,9d	80,9 \pm 8,7a 23,4 \pm 4,3d	64,5 \pm 6,9c 34,8 \pm 2,2d
Postmetanauplio III	80,0 \pm 2,9a	71,6 \pm 5,3b	68,9 \pm 4,2b 28,6 \pm 1,3d	78,9 \pm 4,5a 32,0 \pm 2,7c	79,9 \pm 7,9a 26,5 \pm 5,7d
Postmetanauplio IV	90,7 \pm 6,5a	90,9 \pm 6,8a	27,0 \pm 4,5d 28,0 \pm 6,5d	69,1 \pm 5,8b 24,2 \pm 5,6d	56,8 \pm 5,6c 23,2 \pm 4,3d
Postmetanauplio V	92,4 \pm 8,8b	101,3 \pm 9,8a	88,1 \pm 6,9c 78,9 \pm 5,7d	79,1 \pm 7,5d 73,2 \pm 6,6d	76,1 \pm 4,2d 78,1 \pm 12,3d
Postmetanauplio VI	126,8 \pm 6,6a	96,1 \pm 7,2b	73,9 \pm 5,7d 70,5 \pm 5,6d	80,0 \pm 5,6c 68,2 \pm 2,2d	72,6 \pm 5,5d 71,1 \pm 2,1d
Postmetanauplio VII	94,2 \pm 7,9a	96,3 \pm 6,1a	50,3 \pm 2,2b 55,9 \pm 3,7b	53,9 \pm 4,6b 50,3 \pm 2,3b	50,7 \pm 2,4b 56,6 \pm 3,7b

Valores con la misma letra no presentan diferencias significativas ($\alpha=0,05$).

La relación de células ingeridas *Chaetoceros:Tetraselmis* fue máxima (3,5:1) en el estadio de metanauplio IV a postmetanauplio II (Figura 1), lo que representó la mayor proporción, pero solo se observó este resultado en los tratamientos mayores o iguales al 50% de *C. muelleri*. A partir de la etapa de postmetanauplio V y hasta el final de su desarrollo larval, el consumo algal disminuyó en todos los tratamientos hasta alcanzar la relación de 1:1.

Los parámetros fisicoquímicos registrados en los tanques de cultivo a lo largo del ensayo se encontraron dentro del rango óptimo para esta especie (Sorgeloos *et al.*, 1986). La temperatura del agua se mantuvo a $25\pm 1^\circ\text{C}$, el pH en $7,9\pm 1,2$, el oxígeno disuelto en $7,1\pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$, la salinidad permaneció siempre en 33 g L^{-1} , el amonio fue siempre menor a $0,09 \text{ mg L}^{-1}$ y la concentración de nitrito menor a $0,9 \text{ mg L}^{-1}$.

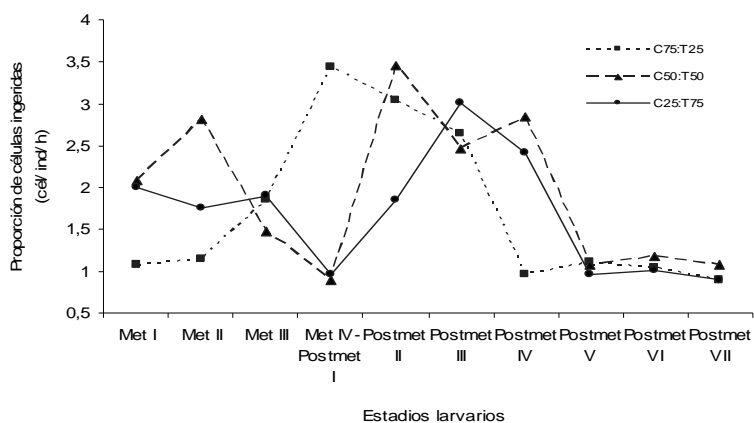


Figura 1. Proporción de células ingeridas en el desarrollo larvario de *A. franciscana* en los tratamientos alimenticios formados por *C. muelleri* y *T. suecica*.

DISCUSIÓN

Es importante hacer notar que los valores de ingestión presentados en este trabajo son consecuencia de la baja eficiencia en la actividad filtradora alimenticia de las larvas de *Artemia*, la cual no resulta tan efectiva como lo presenta en la etapa adulta, que es ya cuando los toracópodos se encuentran mucho mejor desarrollados y son más funcionales (Sorgeloos *et al.*, 1986; Makridis y Vadstein, 1999). Así mismo, es importante mencionar que la tasa de ingestión en los tratamientos donde se proporcionaron ambas microalgas en muchos casos fue superior a aquellos donde sólo se suministró una especie (tratamientos C-100 y T-100). Respecto a esta situación, Yúfera y Lubián (1990) mencionaron que el valor nutricional de una mezcla de microalgas es mayor que una dieta monoalgal donde los organismos alimentados con estas últimas mostraron alta sensibilidad a las variaciones en las condiciones de cultivo, afectando no sólo el crecimiento, sino también su tasa de filtración e ingestión.

Por otra parte, los cultivos bialgales son más equilibrados y las interacciones entre las especies de microalgas son de tipo sinérgico, compensando las deficiencias unas de otras. La mayor parte de la literatura especializada refiere que *Artemia* es un organismo filtrador continuo, no selectivo, que se alimenta de partículas menores a 50 μ (Browne *et al.*, 1991). Esta aseveración coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que se encontró, que el efecto del tamaño de la microalga influye significativamente sobre la tasa de ingestión de larvas de *A. franciscana*, marcando una mayor afinidad por *C. muelleri*; lo que podría ser justificado ya que según Makridis y Vadstein (1999), se presenta una discriminación en el consumo de ciertas microalgas, lo cual puede deberse al tamaño de la partícula, constitución y dureza de esta, además de su contenido. Tomando en consideración que las células de *C. muelleri* son 3 o 4 veces más pequeñas que *T. suecica*, las primeras entran al tracto digestivo con mayor facilidad causando menor fricción y facilitando su digestión (Yúfera y Lubián, 1990). Gelabert y Solís (1990) sugirieron con base a sus resultados que desde el inicio de su alimentación hasta adulto, *Artemia* realiza una selección de las partículas alimenticias de acuerdo con el tamaño de las mismas y que a medida que crece, aumenta ligeramente el tamaño de partículas que ingiere.

Es importante resaltar que los resultados obtenidos en el presente documento señalan que *Artemia* a través de su desarrollo larvario ingiere con mayor facilidad partículas alimenticias menores a 16 μ y que conforme avanza en su desarrollo a adulto esta condición se ve atenuada

CONCLUSIONES

Las larvas de *A. franciscana* en sus estadios de transición de metanauplio IV a postmetanauplio II ingieren más células de *C. muelleri* que de *T. suecica* en una relación de 3,5:1. Esta situación se ve influenciada directamente por el tamaño de la microalga y dicha tendencia se mantiene hasta el final de la etapa de postmetanauplio IV.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso E., L. Martínez, R. Gelabert y S. Leal. 1988. alimentación de larvas del camarón *Penaeus schmitti* I. Diatomeas y flagelados. Rev. Inv. Marinas, 9(1): 47-58.
- Arriaga H.V. y A.A. Re. 1997. Uso de microalgas vivas e inertes como alimento para *Artemia franciscana* (Anostraca:Artemiidae). Rev. Biol. Trop., 45(2): 803-811.
- Browne R.A., P. Sorgeloos y C.N Trotman. 1991. *Artemia* Biology. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA.
- Conover W.J. 1980. Practical Nonparametric Statistics. 2^{da} Ed. John Wiley & Sons. New York. 495 pp.
- Coutteau P. 1992. Baker`s yeast as substitute for microalgae in the culture of filter-feeding organisms. Ph.D. Thesis, University of Ghent, Bélgica. 408 pp.
- Dierckens K.R., L. Beladjal, J. Vandenberghe, J. Swings y J Mertens.1997. Filter-feeding shrimp (Anostraca) grazing on bacteria. J. Crustacean Biol., 17(2): 264-268.
- Ferrando M.D., C.R. Jansen, E. Andreau y G. Persoone. 1993. Ecotoxicological studies with the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. Ecotox. Environ. Safety, 26: 1-9.
- Gelabert R. y A. De la Cruz. 1990. La selección del tamaño de partículas alimenticias por *Artemia* (Branchiopoda). Rev. Inv. Marinas, 11(1): 63-69.

- Gelabert R. y L. Solís. 1994. La selección del tamaño de partículas alimenticias por *Artemia* de Guantánamo, Cuba. *Rev. Inv. Marinas*, 15(2): 141-144.
- Guillard R. y J.H. Ryther. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *cyclotella nana* Husted and *Detonula confervacea* (Cleve). *Can. J. Microbiol.*, 8: 229-239.
- Hayward R.S. y D.N. Gallup. 1976. Feeding, filtering and assimilation in *Daphnia schoedleri* Sars as affected by environmental conditions. *Archiv für Hydrobiologie*, 77: 139-163.
- Leger P. y P. Sorgeloos. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. *En* Fast A.W. y L.J. Lester (Eds.) *Marine Shrimp Culture: Principles and Practices*. Elsevier, Netherlands. pp. 225-245.
- Makridis P. y O. Vadstein. 1999. Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages. *J. Plankton Res.*, 21(11): 2191-2201.
- Naegel L. 1999. Controlled production of *Artemia* biomass using an inert commercial diet, compared with the microalgae *Chaetoceros*. *Aquacultural Eng.*, 21: 49-59.
- Pendoley P. D. 1988. The nutritional value of microalgae: Some current perspectives. *Proc. First Australian Shellfish Aquaculture Conference*. World Aquaculture Society. Sydney, Australia. p.115.
- Schrehardt A. 1987. Scanning electron microscopic study of the post-embryonic development of *Artemia*. *En* Sorgeloos P., D.A. Bengtson, W. Declair y E. Jasper (Eds.) *Artemia Research and its Applications*. Vol. 1. Universa Press, Wetteren, Bélgica. pp. 122-138.
- Sorgeloos P., P. Lavens, P. Leger, W. Tackeart y D. Versichele. 1986. *Manual of the culture and use of the brine shrimp Artemia in aquaculture*. State University of Ghent, Bélgica.
- Spittler P. 1988. La selección del tamaño de las partículas alimenticias por *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Rev. Inv. Mar.*, 9(3): 91-96.

- Thinh L.V., S.M. Renaud y D.L. Parry. 1999. Evaluation of recently isolated Australian tropical microalgae for the enrichment of the dietary value of brine shrimp, *Artemia nauplii*. *Aquaculture*, 170: 161-173.
- Trujillo-Valle M.L. 1993. La colección de microalgas del CICESE. Comunicaciones Académicas, Serie Acuicultura. CIACT9301. Centro de Investigaciones Científicas y Educación Superior de Ensenada. Ensenada, Baja California Sur. México. p. 38.
- Ukeles R. 1973. Continuous culture: A method for the production of unicellular algal foods. *En* Stein J. (Ed) *Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press. Londres, UK. pp. 233-254.
- Yúfera M y L.M Lubián. 1990. Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. *En* Akatsuka I. (Ed) *Introduction to Applied Phycology*. SPB The Academic Publishing, The Hague. pp. 209-227.
- Zar J.H. 1974. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ. USA.