

**Supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae*
(Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae) alimentado
con un cultivo mixto de microalgas**

Diagnora Brito^{1*}, Renato Brito² y Guido Pereira³

¹Universidad de Oriente (UDO), Nucleo Monagas, Campo los Guaritos, Maturín estado Monagas, Venezuela.

*Correo electrónico: diagnorajb@yahoo.es.

²Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez (UNESR), Baruta, Caracas, Venezuela.

³Universidad Central de Venezuela (UCV), Facultad de Ciencias, Caracas, Venezuela.

RESUMEN

En la alimentación del zooplancton se han utilizado varias especies de microalgas seleccionadas por su tamaño, digestibilidad de la pared celular y valor nutricional, los cuales influyen en la supervivencia, crecimiento y metamorfosis de larvas de crustáceos. El objetivo de esta investigación fue determinar la supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae* de 1-6 y de 6-32 días de edad en diferentes condiciones de cultivo y alimentado a una concentración de 5×10^5 células/ml. Se evaluó la supervivencia de larvas de *D. spartaenovae* de 1-6 días de vida considerando la edad y densidad poblacional. La supervivencia de los organismos de 6-32 días de vida, se midió en relación a la edad, densidad poblacional y condición sexual. La supervivencia de larvas de *D. spartaenovae* disminuyó con la edad, alcanzando una supervivencia de 78,33% a los 6 días de vida. La menor mortalidad de larvas registrada fue para las densidades poblacionales de 10 y 20 individuos/100 ml con porcentajes de 93,75% y 94,79%, respectivamente. En los anostráceos de 6-32 días de vida la supervivencia disminuyó con la edad del individuo, hallándose la menor supervivencia a los 32 días con 46,53%. En cuanto a la densidad poblacional los valores más altos de supervivencia en adultos fueron de 80,79% y 83,33% obtenidos en las densidades de 4 y 10 individuos/l, respectivamente. Las hembras mostraron mayor supervivencia que los machos con promedios de 87,5% y 72,94%, respectivamente.

Palabras clave: Supervivencia, anostráceos, microalgas.

**Survival of *Dendrocephalus spartaenovae*
(Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae)
fed with a microalgae mixed culture**

ABSTRACT

In the nourishment of the zooplankton several species of microalgae have been in used selected by their size, digestibility of the cellular wall and nutritional value since they influence the survival, growth and metamorphosis of crustaceans larvae. The purpose of this research was to determine the survival of *Dendrocephalus spartaenovae* from 1 to 6 and from 6 of 32 days of age in different conditions of culturing and fed to a concentration of 5×10^5 cells/ml. The survival of larvae was evaluated of *D. spartaenovae* from 1 to 6 days of life considering the age and population density. The survival of the organisms from 6 to 32 days of life, it measured up in relation to the age, population density and sexual condition. The survival of larvae of *D. spartaenovae* diminished with the age, reaching a survival of 78,33 % to 6 days of life. The minor mortality of larvae registered was for the

population densities from 10 to 20 individuals/100 ml with percentages of 93,75% and 94,79%, respectively. In the anostraceos from 6 to 32 days of life; the survival diminished according to the age of individuals, the lowest rate of survival was found at 32 days with 46,53%. Concerning to the population density, higher values of survival in adults population was 80,79% and 83,33% obtained in densities of 4 and 10 individuals/L, respectively. Females showed higher survival rates than the males with averages of 87,5% and 72,94%, respectively.

Keywords: survival, anostraceos, microalgae.

INTRODUCCIÓN

El éxito de los cultivos de zooplancton depende de la calidad de las microalgas, y su éxito como alimento de su calidad nutricional. Muchas investigaciones, se han orientado para sustituir a los alimentos vivos por alimentos particulados, sin embargo, sigue siendo el alimento vivo, principalmente algas y algunas especies de zooplancton con alto valor nutricional y costos razonables, los más utilizados en las primeras fases de desarrollo de muchas especies acuáticas, para que sobrepasen con éxito la etapa larvaria (Korstad *et al.*, 1995; Voltolina *et al.*, 1998).

En la actualidad una gran cantidad de información está disponible sobre los efectos del medio de cultivo y el alimento en el crecimiento, supervivencia y producción de quistes en varias especies de zooplancton (Anaya-Soto *et al.*, 2003). En lo referente al cultivo de anostráceos se han utilizado principalmente como alimento algas (Leal, 1998).

En la alimentación del zooplancton la combinación de microalgas de distintos contenidos nutricionales, forma y tamaño mejoran la percepción del organismo, contribuyendo al incremento de la capacidad filtrante y al consumo de alimento. Al respecto, D'Abramo (1979), encontró que la mezcla de microalgas clorofitas produjo valores más altos en las tasas de ingestión, asimilación, supervivencia y reproducción.

Algunos trabajos de investigación utilizan la mezcla de microalgas de alta calidad nutricional suministrándoselas a los organismos herbívoros para aumentar sus atributos nutricionales como alimento (Abu-Rezg y James 1989). La finalidad de esta investigación fue determinar la supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae* en distintos grupos de edades (1-6 y 6-32 días de vida), alimentados con un cultivo mixto de microalgas clorofitas a una concentración de $5 \cdot 10^5$ células/ml en diferentes condiciones de cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Captura y recolección de los animales en el campo

Se utilizaron quistes deshidratados de *D. spartaenovae*, obtenidos de hembras ovadas colectada de charcas temporales en la localidad de Tenería (10° 08' 34" N y 69° 33' 05" W) Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. Para la recolección de hembras se utilizó una red de mano de 0,5 mm de luz de malla; las cuales fueron transportadas hasta el laboratorio dentro de una cava isotérmica con aireación continua mediante un compresor portátil. Una vez en el laboratorio, se colocaron en acuarios con agua del ambiente de origen, proporcionándoles aireación continua y alimento a base de algas hasta que liberaran los quistes. Estos se mantuvieron allí por una semana, luego se cosecharon los quistes haciéndolos pasar por diferentes tamices (con diámetros de poros de 627, 390, 315 y 117 μm) y lavándolos con agua de grifo, después se filtraron en un filtro de fibra de vidrio (47 μm) y se llevaron a la estufa con temperatura de 28,0°C por una semana. Una vez transcurrido este tiempo, se colocaron en viales al vacío y conservados en un desecador hasta su utilización en los experimentos.

Eclosión de huevos de *D. spartaenovae*

El material inicial fueron los quistes de *D. spartaenovae*, desecados y almacenados al vacío; éstos se hidrataron por 1 hora con agua destilada en cápsulas de Petri antes de su incubación. Para la incubación, se colocaron los quistes hidratados en un recipiente con agua dulce aireada, los cuales se mantuvieron a temperatura ambiente de $25,0 \pm 2^\circ\text{C}$, aireación continua e iluminación de aproximadamente 4000 lux para acelerar el proceso de eclosión (Murugan y Dumont 1995). Después de la eclosión, se colectaron los nauplios durante la fase de máxima eclosión (24 – 28 h de incubación), para usar

nauplios de la misma edad (1 ó 6 días de nacidos) en los experimentos.

Cultivo de microalgas

Para la alimentación de los anostráceos se estableció un cultivo mixto de algas (*Pseudokirchneriella subcapitata* y *Chlorella vulgaris*), siguiendo las técnicas utilizadas para algas de agua dulce (Stein, 1973). Se utilizó como medio de crecimiento el denominado Woods Hole MBL de pH 7,2 desarrollado por Guillard 1972. Para montar el cultivo se emplearon recipientes de vidrio, iniciando en tubos de ensayos, luego en matríz de Erlermeyer de 250 ml, hasta cultivarlos finalmente en envases de 1 y de 4 L inoculándolos con 5×10^4 células/ml de cada una de las especies de algas empleadas. Estos recipientes fueron colocados sobre repisas de un estante metálico, en cuyo borde superior se colocó una fuente de luz que consistió de una lámpara fluorescente de 4 tubos. La repisa estuvo cubierta con papel de aluminio, así como los bordes superiores y laterales del nivel. Además, se le suministró al cultivo aireación continua con un compresor de aire (TL6-04-93), manteniendo así las algas en suspensión. El cultivo se cosechó en su fase de crecimiento exponencial (entre 4 a 7 días), luego se centrifugaron y se almacenaron las microalgas en botellas de vidrio en el refrigerador, para su posterior utilización, dentro de un período máximo de 2 semanas.

Supervivencia de larvas

Experimento 1: Supervivencia de las larvas de *D. spartaenovae* a partir de 1 hasta 6 días de edad

Para este experimento se usaron nauplios de 24 horas de nacidos. Los mismos fueron colocados 4 densidades (10, 20 y 40 nauplios/100 ml), en recipientes de vidrio con capacidad de 200 ml y un volumen funcional de 100 ml de agua dulce aireada, mantenidos en baño a temperatura controlada a 28,0 °C, con aireación ± 3 burbujas/segundo e iluminación constante. La concentración utilizada de microalgas fue 5×10^5 células/ml, valor para el cual se obtuvieron las máximas tasas de ingestión (previo ensayo). El experimento se realizó con cuatro réplicas, con una disposición aleatoria de los recipientes y la cuantificación de las larvas sobrevivientes se contó diariamente hasta los 6 días de edad. El recambio total del medio de crecimiento se hizo diariamente. Para el análisis estadístico se utilizó un análisis de varianza

de dos vías para detectar el efecto de la edad y la densidad animal sobre la supervivencia de juveniles de *D. spartaenovae*. En caso de existir diferencias en el análisis de varianza de los factores simples, se les aplicó una prueba de Duncan $\sigma 0,05$ para determinar diferencias entre los promedios.

Experimento 2: Supervivencia a partir de juveniles de *D. spartaenovae* de 6 hasta 32 días de edad.

Este experimento se inició empleando juveniles de *D. spartaenovae* de 6 días de edad. Se midió la supervivencia hasta los 32 días de vida. Los envases experimentales fueron beakers de vidrio con capacidad de 1 L y volumen funcional de 1 L de agua de grifo aireada. Los individuos juveniles fueron seleccionados aleatoriamente al igual que la disposición de los envases de experimentación. Los envases se mantuvieron con aireación continua, temperatura ambiente y luz constante. El medio fue renovado diariamente y se mantuvo una concentración constante de algas de 5×10^5 células/ml. En cuanto a la densidad poblacional, se utilizó 4, 10 y 30 animales/L. El volumen del medio de cultivo fue ajustado solamente por mortalidad y la proporción sexual utilizada fue 1:1. La supervivencia se midió diariamente a través de la cuantificación del número de animales vivos. Se utilizó un análisis de varianza para detectar el efecto de las variables edad, densidad animal y sexo en la variable de respuesta supervivencia; después se aplicó una prueba de Duncan $\sigma 0,05$ para determinar diferencias entre los promedios.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1

Efecto de la edad sobre la supervivencia de *D. spartaenovae*

En la medida que avanzó la edad del animal la supervivencia disminuyó (Cuadro 1), observándose los mayores porcentajes de supervivencia, 100 y 96,88%, en las edades comprendidas entre 1-2 días y los menores porcentajes, 80,63 y 78,33%, para juveniles de 5 y 6 días de edad respectivamente, mostrando diferencias estadísticas entre los promedios (Duncan $\sigma 0,05$). El análisis de varianza detectó un efecto significativo ($P < 0,0001$), de la edad sobre la supervivencia de larvas de *D. spartaenovae*.

Cuadro 1. Supervivencia de larvas *Dendrocephalus spartaenovae* con respecto a la edad en el cultivo mixto de microalgas.

Edad (Días)	N	Supervivencia (%)	DS
1	12	100,00a	±0,00
2	12	96,88a	±6,14
3	12	93,75ab	±7,94
4	12	88,33b	±12,26
5	12	80,63c	±13,86
6	12	78,33c	±15,09

Medias con iguales letras no difieren estadísticamente entre sí. Duncan α 0,05.
N = número de observaciones.

La disminución de la supervivencia de larvas de camarones duende en función de la edad, probablemente sea producto de la mortalidad natural de las poblaciones de *D. spartaenovae* durante esta etapa de desarrollo (1-6 días de vida), asociado a las continuas mudas con metamorfosis en los apéndices cefálicos de las larvas, que tienen lugar durante este período y quizás se produzcan cambios en el aparato filtrador de alimento como es citado para la especie *Artemia salina* entre los 3-6 días de desarrollo (Mason, 1963). Otras posibles causas de esas mortalidades son: el poco desarrollo de sus órganos sensoriales y locomotrices, la capacidad genética y fisiológica de adaptación de la especie a las condiciones ambientales. Este resultado concuerda con los hallados por Urabe (1991), en un estudio experimental con *Bosmina logirostris* (Cladocera) señala que las tasas de supervivencia disminuye con el tiempo.

Al respecto, Zarattini y Mura (2004) hacen la misma acotación para el anostráceo *Chirocephalus ruffoi*; ellos encontraron tasas de supervivencia de, aproximadamente, 58, 47 y 38%, con diferentes dietas, en los 8 primeros días de vida de las larvas. Por su parte, Godínez *et al.* (2003), encontraron una disminución gradual en la supervivencia de larvas de camarón azul *Litopenaeus stylirostris* en la medida que los organismos se desarrollan a estadios larvales más avanzados.

Efecto de la densidad poblacional sobre la supervivencia de larvas *D. spartaenovae*

En el Cuadro 2, se observa que los mayores porcentajes de supervivencia de 93,75 y 94,74%, corresponden a las densidades poblacionales de 10 y 20 individuos/100ml, respectivamente. Notándose diferencias significativas en relación a la densidad de 40 individuos/100ml con un promedio de 80,42% (Duncan σ 0,05). El análisis de varianza determinó que la densidad poblacional afectó significativamente ($P < 0,0001$) a la variable supervivencia.

El efecto negativo de la densidad poblacional en la supervivencia de larvas de *D. spartaenovae* hasta los 6 días de edad, sugiere utilizar densidades poblacionales de 10 y 20 individuos/100ml en condiciones similares de cultivo. Es de esperarse que al aumentar el número de organismo por L, disminuya la disponibilidad de alimento, espacio, calidad de agua y exista mayor competencia en la obtención de alimento, lo que conlleva al incremento de mortalidad de anostráceos.

Por su parte, Abreu-Grobois *et al.* (1991) en cultivos de *Artemia franciscana* bajo un régimen de cultivo estático, indicaron que la supervivencia final fue de 87% \pm 2 en densidades de 16 individuos/ml. Rodríguez-Almaraz *et al.* (2006), en un estudio de poblaciones naturales de *Artemia* determinaron que la densidad poblacional fluctúa entre 6-55 especímenes por L.

Cuadro 2. Supervivencia de larvas *Dendrocephalus spartaenovae* con respecto a la densidad poblacional en el cultivo mixto de microalgas.

Densidad (Individuos/100ml)	N	Supervivencia (%) promedios	DS
10	24	93,75a	±10,13
20	24	94,79a	±5,61
40	24	80,71b	±15,96

Medias con iguales letras no difieren estadísticamente entre si. Duncan α 0,05.

N= número de observaciones.

Experimento 2

Efecto de la edad en la supervivencia de *D. spartaenovae*

La edad mostró un efecto significativo ($P < 0,0001$) en la supervivencia de *D. spartaenovae*. En la Figura se observa que a medida que los camarones duendes envejecen el porcentaje de supervivencia decrece. Los porcentajes más altos se ubicaron entre las edades de 6-19 días con promedios que oscilaban entre 100-86,11% y el promedio más bajo fue obtenido a los 32 días de vida con valor de 46,53%. En este ensayo se demuestra que la edad del individuo, es un factor que repercute directamente en la supervivencia de la especie.

Esta respuesta es la esperada; porque en la medida que cualquier individuo envejece las posibilidades de muerte aumentan, debido a varias causas: disminución de las actividades fisiológicas, condición genética, problemas en la adaptación a las condiciones ambientales, enfermedades y otros. Al respecto, López (1998), encontró resultados similares en la especie de *Thamnocephalus venezuelensis* llegando a valores entre 88 y 20% de supervivencia a los 27 días de desarrollo. De igual forma, García (1997) reportó el mismo comportamiento en la supervivencia de *Dendrocephalus geayi* con 76,7-63,3% en edades comprendidas entre 8-16 días de vida, respectivamente.

Efecto de la densidad poblacional en la supervivencia de *D. spartaenovae*

En el Cuadro 3 se observa que el menor porcentaje de supervivencia en adultos fue para la densidad de 30 individuos/L con un promedio 76,54%, y los valores más altos de 80,79 y 83,33 % se encontraron en las menores densidades poblacionales de 4 y 10 individuos/L respectivamente.

El análisis de variancia detectó diferencias significativas ($P < 0,0060$) de la densidad poblacional en la supervivencia de *D. spartaenovae* de 6-32 días de desarrollo. La supervivencia en *D. spartaenovae*, disminuyó en la medida en que se incrementó la densidad poblacional. Este aumento en el número de organismos muertos, quizás sea el producto de los cambios conductuales estresantes de los organismos ante la disminución del espacio físico, disminución de la cantidad de alimento, deterioro de la calidad del alimento y aumento de metabolitos en el medio. En poblaciones naturales de *Dendrocephalus geayi*, se han reportado densidades poblacionales de 0,4- 6 individuos/L (García, 1997). La abundancia poblacional expresada en individuos/L en dos especies de anostráceos del estado Lara, las cuales comparten el mismo hábitat fue entre 0,006-0,097 y 2-4 individuos/L para las especies de *Thamnocephalus venezuelensis* y *D. spartaenovae*, respectivamente (López, 1998).

Efecto del sexo en la supervivencia de *D. spartaenovae*

Las hembras mostraron mayor supervivencia a las condiciones ambientales expuestas con 87,5%±20,83 que los machos con promedio de 72,92%±34,35. La variable sexo tuvo un efecto significativo ($P < 0,0001$), en la supervivencia de los anostráceos. Los resultados observados en la Cuadro 4, muestran que los machos de *D. spartaenovae* son más susceptibles a las condiciones ambientales expuestas que las hembras, por lo tanto presentaron los menores porcentajes de supervivencia. Esto quizás refleje una condición genética de los machos a una mayor predisposición a la muerte y nos da información para ser considerada en condiciones de cultivo, tal y como aumentar la proporción de machos para evitar el detrimento en la producción de quistes.

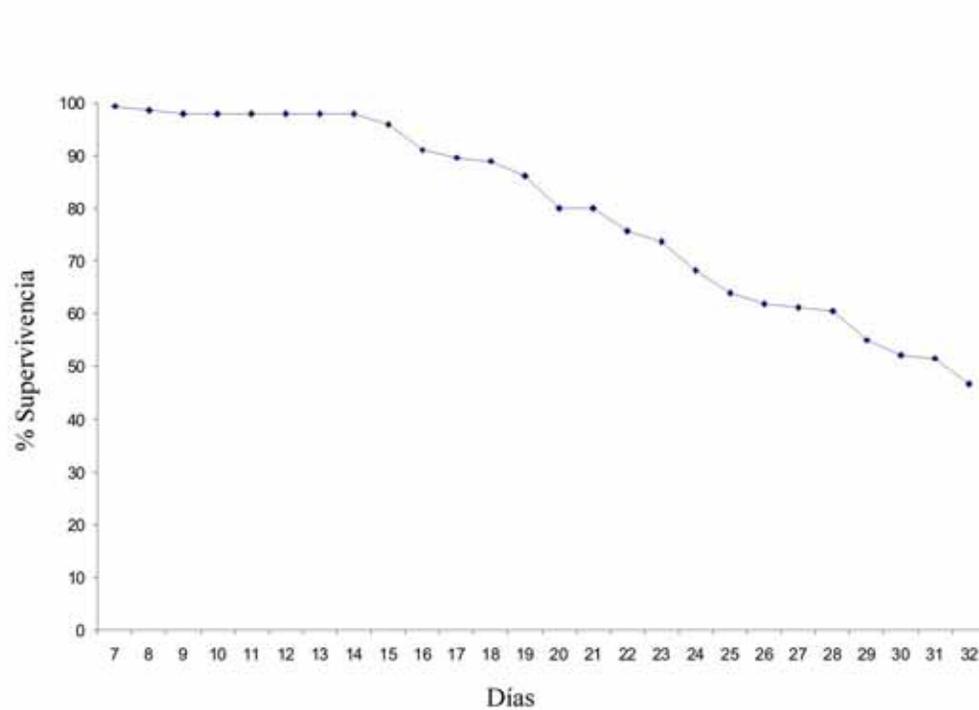


Figura. Efecto de la edad en la supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae*, alimentado con el cultivo mixto (*Pseudokirchneriella subcapitata* y *Chlorella vulgaris*) a una concentración de $5 \cdot 10^5$ células/ml.

Cuadro 3. Supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae* con respecto a la densidad poblacional en un cultivo mixto.

Densidad (Individuos/L)	N	Supervivencia (%) promedios	Desviación típica
4	216	80,79a	±33,95
10	216	83,33a	±27,70
30	216	76,54b	±25,32

Medias con iguales letras no difieren estadísticamente entre sí. Duncan α 0,05.

N = número de observaciones.

Cuadro 4. Supervivencia de *Dendrocephalus spartaenovae* con respecto al sexo en el cultivo mixto (500.000 cel/ml).

Sexo	N	Supervivencia (%) promedios	Desviación típica
Hembras	324	87,5 a	±20,83
Machos	324	72,94 b	±34,35

Medias con iguales letras no difieren estadísticamente entre sí. Duncan α 0,05.

N = número de observaciones.

Esto por supuesto es una hipótesis que debe ser corroborada bajo condiciones experimentales, porque no se sabe con exactitud si las hembras copulan una o varias veces en su ciclo de vida, si lo hacen con uno o varios machos. López (1998), encontró en condiciones naturales proporciones de machos: hembras de *Dendrocephalus spartaenovae* de 1-3:1-2.

CONCLUSIONES

La supervivencia de larvas y adultos de *Dendrocephalus spartaenovae* fue influenciada por los factores edad y densidad poblacional. En condiciones similares de cultivo, se recomienda densidades poblacionales de 100 a 200 y de 4 a 10 individuos/L en organismo de 1-6 y de 6-32 días de edad, respectivamente. Sin embargo, se hace necesario evaluar crecimiento y producción de quistes en similares condiciones experimentales, para tomar la mejor decisión en el cultivo de esta especie. En relación al género, los machos presentaron mayor predisposición a la muerte que las hembras con promedios de supervivencias de 72,94%, mientras que en hembras fue de 87,5%.

LITERATURA CITADA

- Abreu-Grobois F. A., R. Briceño-Dueñas, M. A. Herrera and M. L. Malagón. 1991. A model for growth of *Artemia franciscana* cultures based food ration-dependent gross efficiencies. *Hydrobiol.*, 212: 27-37.
- Abu-Rezq T. S. and C. M. James. 1989. Evaluation of microbial SCP, microencapsulate diets and microalgae (*Nannochloropsis*) for producing the rotifer *Brachionus plicatilis* (L- Type) for aquaculture. *J Aquacult Trop.*, 4: 97-109.
- Anaya-Soto A., S. S. Sarma and S. Nandini. 2003. Longevity of the freshwater anostracan *Streptocephalus maikini* (Crustacean: Anostraca) in relation to food (*Chlorella vulgaris*) concentration. *Freshwat Biol.*, 48:432-439.
- D'Abramo R. L. 1979. Dietary fatty acid and temperature effects on the productivity of the cladoceran *Moina macrocopa*. *Biol Bull.*, 157: 234-248.
- García J. V. 1997. Aspectos del cultivo y producción de biomasa en la especie *Dendrocephalus geayi* (Anostraca, Thamnocephalidae). Tesis de *M. Sc.* UCV FC, Caracas, Venezuela. p. 129
- Godínez S. D. E., A. Hernández, J. Orozco y S. E. M. Godínez. 2003. Valorización entre la tasa de ingestión y supervivencia de larvas de camarón azul *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1871) nutridas con diferentes concentraciones de *Chaetoceros calcitrans* (Paulsen). *Zoot Trop.*, 21(2): 133-147.
- Korstad J., A. Neyts., T. Danielsen., I. Overrein and Y. Olsen. 1995. Use of swimming speed and egg ratio as predictors of the status of use rotifer cultures in aquaculture. *Hydrobiol.*, 313/314: 395-398.
- Leal L. 1998. Microalgas para la acuicultura. *Avances en el cultivo de microalgas y cianobacterias*. Maracaibo, Venezuela. pp. 26 - 55.
- López B. 1998. Algunos aspectos de las poblaciones de *Thamnocephalus venezuelensis* (Crustacea: Anostraca: Thamnocephalidae) en condiciones naturales y de cultivo en condiciones del laboratorio. Tesis de *M. Sc.* UCV FC, Caracas, Venezuela. p. 118.
- Mason D.T. 1963. The growth response of *Artemia salina* (L.) to various feeding regimes. *Crustac (Leiden)*; 5:138-150.
- Murugan G, and H.J. Dumont. 1995. Influence of light, DMSO and glycerol, on the hatchability of *Thamnocephalus platyurus* Packard cysts. *Hidrobiol.*, 298: 175 - 181.
- Rodríguez-Almaraz G. A., C. Zavala., R. Mendoza and A. M. Maeda-Martínez. 2006. Ecological and biological notes on the brine shrimp *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca) from Carme Island, Baja California Sur, México. *Hidrobio.*, 560:417-423.
- Stein J.R. 1973. Growth media-freshwater. **In:** Stein J.R. (Ed.). *Handbook of Psychological Methods*, Cambridge University press, New York, pp. 3-23.
- Urabe J. 1991. Efecto food concentration on growth, reproduction and survivorship of *Bosmina longirostris* (Cladocera): an experimental study. *Freshwat Biol.*, 25: 1-8.

Voltolina D, M. Nieves y P. Piña. 1998. *Calidad de las microalgas para la acuicultura*. IV Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. La Paz, B.C.S México. pp. 1-8.

Yúfera M. and L. MLubián. 1990. Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. **In:** Akatsuka I. (Ed).

Introduction to Applied Phycology. SPB. The Academic Publishing, The Hague, pp. 233-254.

Zarattini P. and G. Mura. 2004. The effects of food type on length-weight growth, sexual differentiation, and survival in *Chirocephalus ruffoi* (Anostraca) cultured under standard conditions. *J. of Crustac. Biol.*, 24: 225-231.