

MANUAL PARA LA PRODUCCIÓN DE *Artemia franciscana* COMO ALIMENTO PARA LARVAS Y JUVENILES DE PECES

MANUAL ON THE PRODUCTION OF *Artemia franciscana* AS FOOD FOR LARVAL AND JUVENILE FISH

Wilmer Gaspar Reyes
Ruth Alejos Cabrera

Alexander Niño Velásquez
Gheraldine Ynga Huamán

RESUMEN

GASPAR W, NIÑO A, ALEJOS R, YNGA G. 2021. *Manual para la producción de Artemia franciscana como alimento para larvas y juveniles de peces*. Inf Inst Mar Perú. 48(1): 35-49.- En este trabajo se describen aspectos generales y características del cultivo de *Artemia franciscana*, uno de los alimentos vivos más utilizados, en las diferentes etapas larvianas de crecimiento de peces y crustáceos de importancia comercial, que es utilizado en los centros de investigación y producción de cultivos acuícolas. Además, se describen los procesos desde la descapsulación, obtención de nauplios, enriquecimiento y sembrado para el cultivo escalonado. Se detallan los parámetros físicos y químicos, así como la determinación de tasa de filtración e ingestión obtenidas en todos los procesos.

PALABRAS CLAVE: *Artemia franciscana*, alimento vivo, nauplios

ABSTRACT

GASPAR W, NIÑO A, ALEJOS R, YNGA G. 2021. *Manual on the production of Artemia franciscana as food for larval and juvenile fish*. Inf Inst Mar Peru. 48(1): 35-49.- We describe general aspects and characteristics of the culture of *Artemia franciscana*, which is one of the most widely used live foods in the different larval stages of growth of commercially important fish and crustaceans. It is used in aquaculture research and production centers. Furthermore, we define the processes from decapsulation, harvesting of nauplii, enrichment, and seeding for step culture. We detail the physical and chemical parameters, as well as the filtration and ingestion rate obtained in all the processes.

KEYWORDS: *Artemia franciscana*, live food, nauplii

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una importante actividad en la producción de recursos hidrobiológicos comerciales, entre los que destacan peces, moluscos y crustáceos. Su alimentación en la fase larvaria es uno de los períodos más críticos, por lo que el cultivo de alimento vivo -rotíferos, copépodos, artemia- es el más utilizado (SÁNCHEZ-ESTUDILLO, 2010).

La artemia es utilizada en sus diferentes estadios, desde naupliar hasta adulto, siendo el micro crustáceo vivo más empleado para la alimentación de especies en cultivo (CASTRO *et al.*, 2003; LUNA-FIGUEROA *et al.*, 2010).

También es un filtrador no selectivo y se alimenta tanto de materia orgánica particulada como de organismos vivos de tamaño apropiado -microalgas y bacterias- (SALGADO, 2001).

Las hembras pueden reproducirse de forma ovovivípara u ovípara. Esta reproducción genera embriones en estado de gástrula que son encapsulados, dando lugar a los quistes. Sobre todo, cuando las condiciones ambientales ponen en peligro la supervivencia de la población, tales como salinidades extremas, baja concentración de oxígeno o escasez de alimento.

El uso de la *Artemia franciscana*, tanto en centros de investigación como de producción dedicados a la acuicultura, es primordial para el cultivo inicial de larvas de peces y crustáceos de importancia comercial.

Se elaboró el manual, a fin de brindar información sobre las metodologías utilizadas para la producción de estadios nauplios, juveniles y adultos de artemia, manejadas en el Laboratorio de Alimento Vivo del Instituto del Mar del Perú.

Antecedentes

El género *Artemia* es uno de los organismos más estudiados, conocido desde el Triásico. Poseen cuerpo segmentado, recubierto de una cutícula fina de quitina -la que se renueva periódicamente- permitiendo el crecimiento. Presentan apéndices torácicos en forma de hoja -denominados felpudos o toracópodos- con funciones locomotora, respiratoria y filtradora (REDÓN, 2015).

Es el organismo más abundante y clave en el funcionamiento de los ecosistemas hipersalinos. Estas especies están distribuidas por todo el planeta, con excepción del continente antártico. Se caracterizan por habitar biotopos hipersalinos, con escasa diversidad animal, vegetal y limitada presencia de predadores. La salinidad es el factor externo más importante que condiciona su desarrollo, reproducción y la dinámica de sus poblaciones. Los umbrales térmicos tanto máximo como mínimo, de supervivencia se sitúan entre 5 y 35 °C, aunque no son fijos pues varían según especie o población. Además, debe enfrentar un medio con escasa cantidad de oxígeno, con constantes situaciones de hipoxia -concentraciones <2 mL O₂L⁻¹- y anoxia (MARTÍN, GAVIL y VARÓ, 2016).

Importancia

La explotación de quistes de artemia tiene un elevado interés económico, puesto que de ella depende la producción mundial de larvas de peces -sobre todo marinas- y de crustáceos (VICIANO, 2015).

A. franciscana es una de las especies nativas del continente americano, clave en acuicultura. Sus nauplios siguen siendo un recurso insustituible en la mayoría de plantas de cultivo, utilizados -directamente o tras un proceso de enriquecimiento nutricional- como alimento para las larvas. Esto se debe a su buena digestibilidad, ausencia de respuesta de escape, coloración llamativa y buena palatabilidad. Adicionando, la óptima calidad nutricional como resultado del desarrollo de técnicas de enriquecimiento (REDÓN, 2015).

Su uso como especie de estudio en alimentación, reproducción y toxicidad en medios marinos e

hipersalinos, se debe a características favorables al adaptarse a las condiciones de laboratorio, ciclo de vida muy corto, tamaño pequeño, siendo de fácil manejo para obtener nauplios a partir de la eclosión de quistes (LIBRALATO, 2014; NUNES *et al.*, 2006).

Posee también, características que la hacen básica para la nutrición tanto de peces como crustáceos. Entre ellas se puede mencionar el alto índice nutritivo con elevados porcentajes de proteínas, lípidos y glúcidos. Su contenido proteico es elevado, los nauplios contienen de 50 a 60%, mientras los adultos de 40 a 50%. De esta forma sus quistes, tolerantes a la desecación, son capaces de activarse en cualquier momento (MOLINA, 2002).

La artemia es fuente rica de nutrientes, incluye aminoácidos esenciales al igual que ácidos grasos altamente insaturados de la serie w3 (HUFAs w3) como el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5w3) y docosahexaenoico (DHA, 22:6 w3). Estos son esenciales en el desarrollo de los nervios y la vista en estadios iniciales de larvas de peces marinos (ROBIN, 1995- SUPRAYUDI *et al.*, 2004- BRANSDENA *et al.*, 2005- MONROIG *et al.*, 2007- ZELAYA *et al.*, 2007). Así mismo, son importantes en diversas funciones metabólicas de los organismos en cultivo (MARTÍNEZ *et al.*, 2004- ZAMORA y SHPIGEL, 2006).

BIOLOGÍA Y ECOLOGÍA

La clasificación taxonómica de artemia según ASEM *et al.* (2010) es:

Phyllum: Artrópoda

Clase: Crustacea

Subclase: Branquiopoda

Orden: Anostraca

Familia: Artemiidae

Género: *Artemia* Leach, 1819

Morfología y metabolismo de quistes

Los quistes o cistos, son embriones en estado de diapausa. En este estado pueden llegar a permanecer incluso años, lo que favorece su producción y almacenaje (MOLINA, 2002).

La cáscara del quiste está formada por tres estructuras (SÁNCHEZ, 2017):

- El corion es una capa dura cuya principal función es proteger al embrión contra rupturas mecánicas y radiaciones (Fig. 1). Esta, puede ser eliminada mediante un proceso de descapsulación.
- La membrana cuticular externa, protege al embrión actuando como barrera de permeabilidad (Fig. 1).
- La cutícula embrionaria es una capa transparente, altamente elástica, separada del embrión por la membrana cuticular interna. Se transforma en membrana de eclosión durante la incubación (Fig. 1).

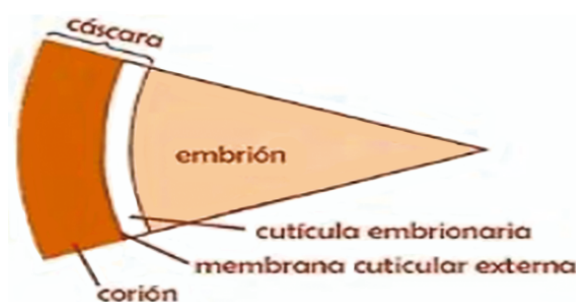


Figura 1.- Estructura de los quistes de artemia (SÁNCHEZ, 2017)

Ciclo biológico del nauplio

Después de 24 horas de incubación en agua de mar a 28 °C, el corion se rompe. El embrión aún rodeado por la membrana transparente es liberado, pero se observa su movimiento dentro de la membrana. Pocas horas después, el nauplio se desprende de la membrana y nada libremente, usando antenas modificadas para locomoción y filtración del alimento.

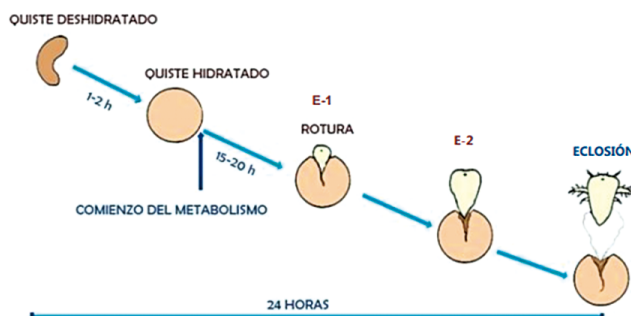


Figura 2.- Eclosión del nauplio de artemia (SÁNCHEZ, 2017)

El nauplio (Fig. 2) puede vivir en base al vitelo y reservas almacenadas hasta cinco días, disminuyendo sus reservas proteínicas y calóricas (TREECE Y YATES, 1993).

Hábitos alimenticios

La artemia, es un crustáceo filtrador, los telopoditos de los toracópodos actúan como uno, debido al batido de sus apéndices (RUIZ, 2008).

Distribución geográfica

En América se encuentran tres especies, una es *Artemia franciscana*, que vive en casi todas las aguas: continentales, salobres o hipersalinas. Es originario del Norte de América, Centro América y el Caribe (Fig. 3). Es alimento natural de especies de origen marino CASTRO (2005).

Es considerada una superespecie (BROWNE & BOWEN, 1991), ya que constituye poblaciones aisladas ecológica y fisiológicamente distintas. Algunas de ellas se encuentran reproductivamente aisladas en la naturaleza (BOWEN *et al.*, 1985).

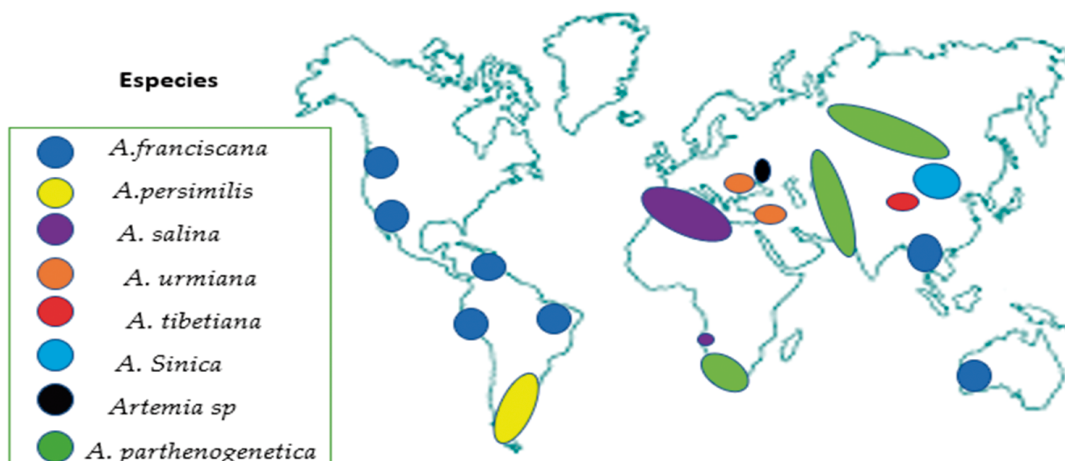


Figura 3.- Distribución de especies de Artemia a nivel global. *A. franciscana* es nuestro organismo modelo (REDÓN, 2015)

La mayoría de los biotopos que coloniza están constituidos por aguas muy someras, en ocasiones puede encontrarse en cierta profundidad y con estratificaciones físicas, químicas y biológicas importantes. Tal es el caso de algunos lagos salados como el Mono Lake en California (EE. UU.). Estas situaciones, como las derivadas de la continentalidad de los ecosistemas en los que se encuentra, permiten confirmar su gran capacidad de adaptación y tolerancia a muy diversas condiciones ecológicas.

Cabe mencionar que, estudios filogenéticos recientes están aportando datos sobre nuevos linajes partenogenéticos, por lo que diversos autores sugieren una re-evaluación taxonómica del género (Muñoz *et al.*, 2008; TIZOL-CORREA *et al.*, 2009).

TÉCNICAS Y PARÁMETROS DE ECLOSIÓN

Existen técnicas estandarizadas que funcionan en forma bastante simple cuando se trata de pequeñas cantidades a nivel de laboratorio, en las cuales se tienen en cuenta los factores abióticos que deben acompañar a la eclosión.

Sin embargo, cuando se trata de niveles mayores que son utilizados en instalaciones comerciales de larvicultura, se hace necesario ajustar parámetros a fin de asegurar mayor eficiencia en la eclosión de quistes (Tabla 1).

Temperatura: se recomienda efectuar la eclosión en 28 °C, debajo de esa temperatura la eclosión se hace lenta.

Salinidad: generalmente se utiliza agua de mar, 35ppm.

Oxígeno: para obtener una eclosión máxima, se debe mantener un nivel mínimo de oxígeno disuelto de 2 mg/L, en laboratorio se utiliza 6 mg/L.

Densidad de quistes: para el proceso de eclosión se debe emplear una densidad máxima de 5 g/L.

Iluminación: una intensidad de 1500 a 2 500 lux.

pH: debe mantenerse entre 7 y 8.

PROCESO DE OBTENCIÓN DE NAUPLIOS

La obtención de nauplios se inicia con hidratación de quistes con agua potable, luego se descapsula y siembra en tanques. Se cosechan los que se usan como alimento para los primeros estadios de vida de peces y crustáceos.

Materiales, equipos y reactivos

Bomba de Agua	Agua destilada
Espátulas	Filtros de 1,5 y 10 um
Picetas	Hipoclorito de sodio
Balanza analítica	Tiosulfato de sodio

Preparación de hipoclorito de sodio al 2,18%

El volumen final es de 2 litros de solución, para ello:

- Verter 850 mL de hipoclorito de sodio comercial al 4,9%, en una jarra de 2 L de capacidad.
- Enrasar con agua destilada a 2 L.
- Mantener la solución final de hipoclorito de sodio al 2,18% en una botella color ámbar y a temperatura ambiente (Fig. 4).

Preparación de tiosulfato de sodio al 28,1%

El volumen final de la solución es de 2 litros de solución, para ello

- Pesar 248,2 g de tiosulfato de sodio pentahidratado
- Disolver el tiosulfato de sodio pentahidratado en 1 L de agua destilada
- Mantener la solución de tiosulfato de sodio al 28,1% en refrigeración (Fig. 4).

Tabla 1.- Fuentes de los parámetros para descapsulación de artemia

Fuente	Parámetros físico-químicos
SALGADO, 2001	T 25-30 °C; pH 7-8; Salinidad 35 ups; Oxígeno disuelto 2mg/L; Densidad de quistes 5g/L; iluminación 2000 Lux; cosecha 24-48 H
MOLINA, 2002	T 25-30 °C; pH 7-8; Salinidad 35 ups; Oxígeno disuelto 2mg/L; Densidad de quistes 5g/L
MORAGA <i>et al.</i> , 2015	T 24-30 °C; pH 8; aireación e iluminación constante
OSSORIO, 2018	T 28 °C; pH 7- 8; iluminación 2000 Lux; cosecha 28 H
RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2018	T 25 °C; salinidad 34 ppt; aireación e iluminación constante; eclosión 24 H

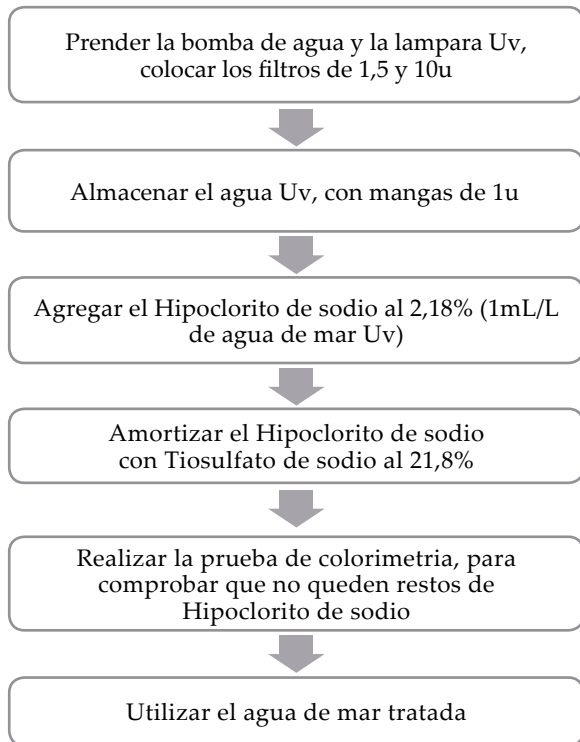


Figura 4.- Diagrama de flujo del proceso de tratamiento de agua de mar Uv. Elaboración propia

Procedimiento

Prender la bomba de agua de mar y la lámpara ultravioleta, pasando por los filtros de 10,5 y 1 u. También colocar manga de 1 u, para recolectar el agua en tanques de 210 L.

Tratar con hipoclorito de sodio al 2,18%, 1 mL por 1 L de agua de mar y dejar por 24 horas.

Tabla 2.- Fuentes, para descapsulación de artemia

Fuente	Descapsulación
SALGADO, 2001	Agregar salmuera saturada NaCl (300 g/L), por 24 H
GARCIA 2017	Modo natural, T 28 °C, pH 8, aireación constante e iluminación 1000 Lux.
MORAGE, 2015	Hipoclorito de sodio comercial y agua de mar filtración en relación 2:1
OSSORIO, 2019	331 uL de NaOH (30%v/v) y 5 mL de Hipoclorito de sodio, la reacción fue de 2 minutos.

Neutralizar con el tiosulfato de sodio al 21,8%, con 0,5 mL por 1 L de agua de mar y corroborar con el ortotoluidina (Fig. 4).

DESCAPSULACIÓN DE QUISTES

Existen varios métodos tanto para la descapsulación, como para obtención de nauplios, en la Tabla 2 se muestra a diversos autores.

Materiales, equipos y reactivos

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| Quistes de artemia | Mangueras de aire |
| Baguetas | Llaves para mangueras de aire |
| Tanques cónicos de 25 L | Tamiz de 120 u |
| Jarras de 2 L | Vaso de precipitado 500 mL |
| Baldes de 4 L | Pantallas led |
| Piedras difusoras | Termostatos |

Procedimiento

Hidratación de los quistes de artemia

Pesar la cantidad de quistes de artemia requerido. En un balde de 15 L hidratar por una 1 hora con aireación fuerte (Fig. 5).

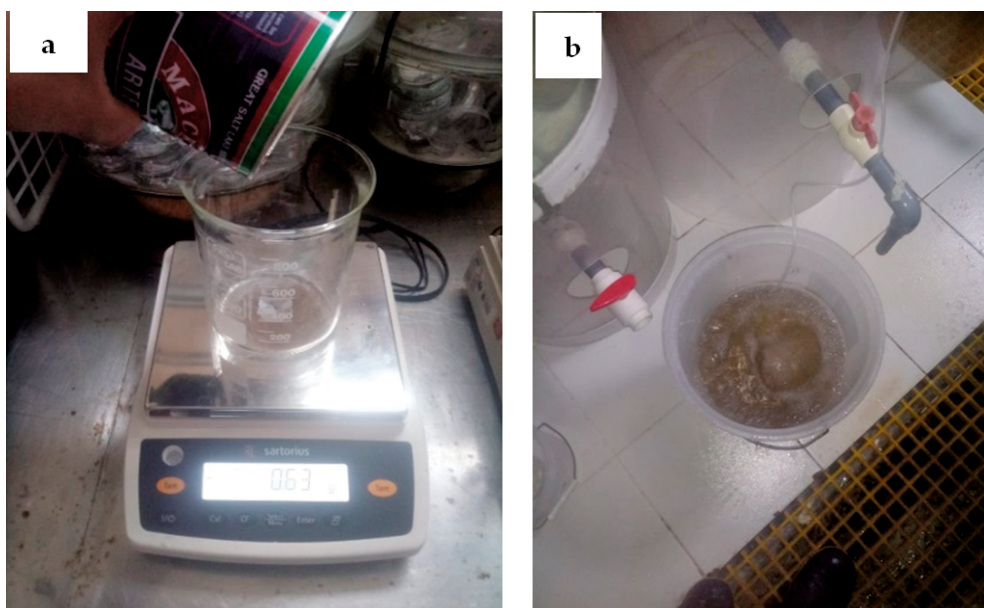


Figura 5.- Pesar (a) e hidratar (b) los quistes

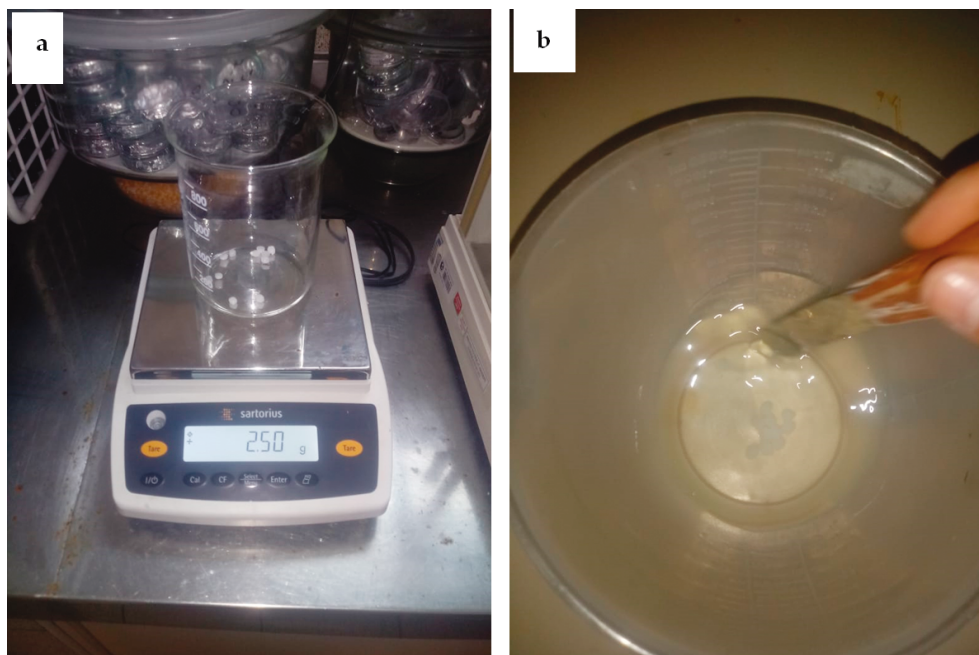


Figura 6.- Pesar hidróxido de sodio (a), homogenizar el hidróxido con el hipoclorito de sodio (b)

Preparación de la solución descapsulante

Pesar 0,15 gr de NaOH/1 gr de quiste y 12 mL NaClO/1 gr. Estos insumos se agregan en una jarra de 2 L, con una espátula se homogeniza hasta que se disuelva por completo el NaOH (Fig. 6).

Descapsulación de quistes

Verter los quistes hidratados al tamiz de 120 u, para concentrarlo en un balde de 4 L.

Se agrega la solución descapsulante en el balde y homogeniza la solución con una espátula de 3 a 5 minutos, hasta observar el cambio de color de marrón oscuro a naranja.

Verter al tamiz de 120 u y enjuagar con abundante agua dulce para retirar la solución descapsulante (Fig. 7).

Sembrado de quistes

- Sembrar en tanque de 25 L, enrasados a 20 L con agua de mar Uv tratada.
- Colocar la piedra difusora y termostato a 28 °C.
- Dejar por 16 horas con intensidad de luz de 1500 a 2500 Lux (Fig. 8).

Cosecha de nauplios

- Desconectar el termostato y retirar la piedra difusora.
- Dejar el tanque sin aireación por 15 minutos, para que los quistes no eclosionados decanten.
- Sifonear los nauplios de artemia en la superficie, con ayuda de una manguera.
- Desechar los quistes no eclosionados (Fig. 9).

CÁLCULOS PARA CUANTIFICACIÓN DE NAUPLIOS

En este proceso se determina la densidad de nauplios de artemia, contenido en un volumen. Se realiza bajo un estereoscopio, utilizando una cámara Sedgewick Rafter. Estos datos permitirán calcular la eficiencia de eclosión, así como los nauplios obtenidos para enriquecerlos y ser usados como alimento (Fig. 10).

Materiales equipos y reactivos

- Pipetas de 10 mL
- Pipetas Pasteur
- Estereoscopio
- Lugol
- Cámara de Sedgewick Rafter

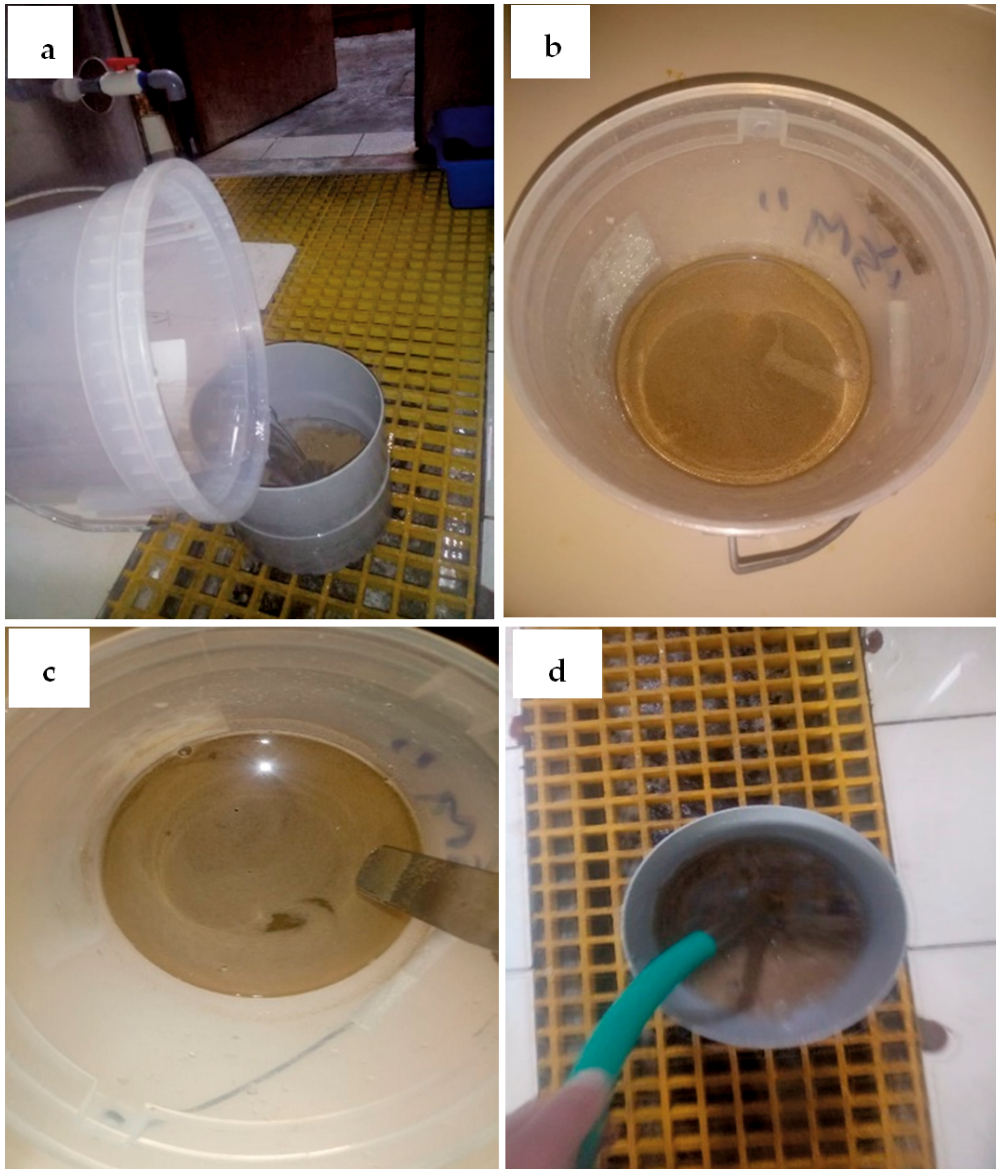


Figura 7.- Verter los quistes (a), concentración de quistes (b), descapsulación (c) y lavado de quistes (d)

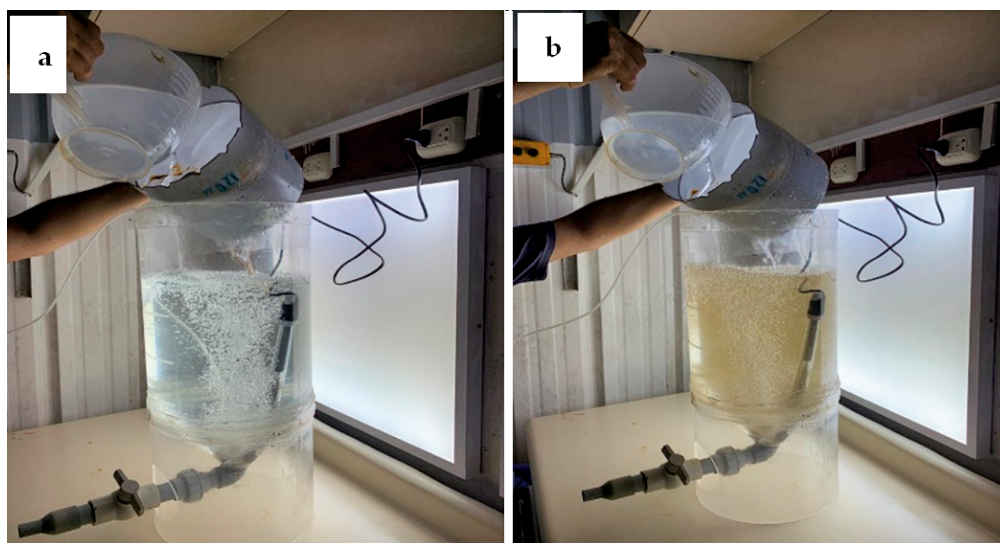


Figura 8.- Sembrar los quistes (a), sembrado total de quistes (b)

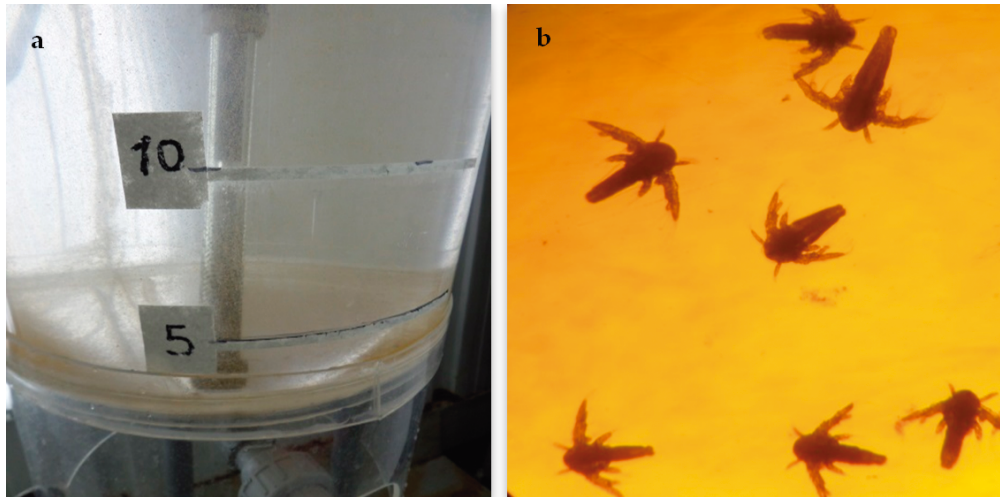


Figura 9.- Dejar decantar (a), cosecha total de nauplios (b)



Figura 10.- Llenado de la cámara de Sedgewick Rafter

Procedimientos

Eficiencia de eclosión (EE)

Son nauplios que se producen a partir de un gramo de quistes secos, cuando se les incubaba bajo condiciones estándar de eclosión: agua de mar 35%, temperatura 28 °C, mínimo de 1500 lux de iluminación y pH entre 7,5-8,0 (SORGEOLOS *et al.*, 1986).

La EE se calcula empleando la siguiente formula:

$$EE = N \cdot V / M \cdot C$$

Dónde:

EE = Número total de nauplios que puede producir un gramo de quistes secos.

N = Número nauplios presentes en 1 mL

V = Volumen de la eclosión

M = Muestra 1 mL

C = Cantidad de quistes incubados

Porcentaje de Eclosión (PE)

Los nauplios que pueden ser producidos a partir de 1 gramo de quistes hidratados, teniendo un embrión con cada uno (SORGEOLOS *et al.*, 1986)

Para estimar el PE, se utilizó la siguiente fórmula:

$$PE = (N) / (N + E)$$

Dónde:

PE = Número de nauplios que pueden ser producidos a partir de un gramo de quistes embrionados.

N = Número de nauplios presentes en 1 mL

E = Embriones no eclosionados.

CULTIVO ESCALONADO

La técnica de producción para *A. franciscana* se basa en el cultivo escalonado. Consiste en realizar trasvases en diferentes niveles de cultivo desde el balde que contiene los nauplios junto a metanauplios, hasta tanques que contendrán juveniles y adultos, los que serán alimentados con la microalga *Isochrysis galbana* durante todo su proceso.

Materiales, equipos y reactivos

Baldes de 4 L	Estereoscopio
Tanques de 25 y 210 L	Balanza analítica
Jarras de 2 L	Tamiz de 120 μ
Pipetas de 3, 5 y 10 mL	Microalgas

Procedimiento**Balde de 4 L**

- Lavar y desinfectar el balde de 4 L con Hipoclorito de sodio (1 mL/L).
- Enjuagar con agua potable y aplicar dodigen (0,5 mL/litro) para eliminar restos de cloro.
- Agregar 2 L agua de mar tratada y 1,5 L de la microalga *Isochrysis galbana* a densidad de $7,5 \times 10^4$ cel/mL.
- Sembrar los nauplios de artemia a densidad de 20 art/mL.
- Colocar aireación moderada en el cultivo
- Realizar recambios diarios del 50% del cultivo con ayuda del tamiz de 120 μ , durante los 4 días de cultivo.
- Cosechar el cultivo total para finalmente trasvasar a tanques de 25L, estado metanauplio.

Tanques de 25 L

- Lavar, desinfectar y enjuagar el tanque de cultivo como en el punto anterior.
- Agregar 18 L de agua de mar tratada, agregando 4 litros de microalga *Isochrysis galbana* a densidad de $7,5 \times 10^4$ cel/mL.
- Sembrar las artemias en fase de metanauplio a densidad de 10 art/mL.
- Colocar en el cultivo aireación moderada.
- Realizar recambios del 30% del cultivo durante los 4 días de cultivo.
- Cosechar el cultivo total y agregar a tanques masivos de 210 L, en fase juvenil.

Tanque de 210 L (Anexo 1: diagrama del proceso)

- Lavar, desinfectar y enjuagar, el tanque de cultivo como en el punto anterior.
- Agregar 170 L de agua de mar tratada, adicionando 35 litros de microalga *I. galbana* a densidad de $1,5 \times 10^4$ cel/mL.

- Sembrar las artemias en fase juvenil a densidad de 5 art/mL.
- Colocar una piedra difusora con aireación moderada, aproximadamente a 20 cm del fondo.
- Realizar recambios del 30% diario, para eliminar materia orgánica.
- Cosechar con tamices de 120 μ , a los 10 días de cultivo la población estará en su etapa adulta, en todos los procesos realizar las medidas físico químicas (Fig. 11).

Cuantificación de microalgas marinas

Este proceso determinará el consumo de la microalga en un determinado tiempo. Se aplicarán las fórmulas tanto de la tasa de filtración como de ingestión de la artemia en sus diferentes etapas de cultivo.

Materiales, equipos y reactivos

Pipetas de 10 mL	Lugol
Pipetas Pasteur	Cámara de Sedgewick Rafter
Estereoscopio	Viales

Procedimientos

- Determinar la tasa de filtración e ingestión.
- Utilizar la formula Hirayama y Ogama (1972)

Tasa de filtración (F)

$$F = \frac{\ln N_i - \ln N_f}{V(T_f - T_i)}$$

Dónde:

F = Tasa de Filtración

N_i = Densidad inicial de la microalga

N_f = Densidad final de la microalga

V = Densidad absoluta de la artemia

$T_f - T_i$ = Intervalo de tiempo durante el proceso de filtración

Tasa de Ingestión (TI)

$$TI = FN_i$$

Dónde:

I = Tasa de ingestión

F = Tasa de filtración

N_i = Densidad inicial de la microalga

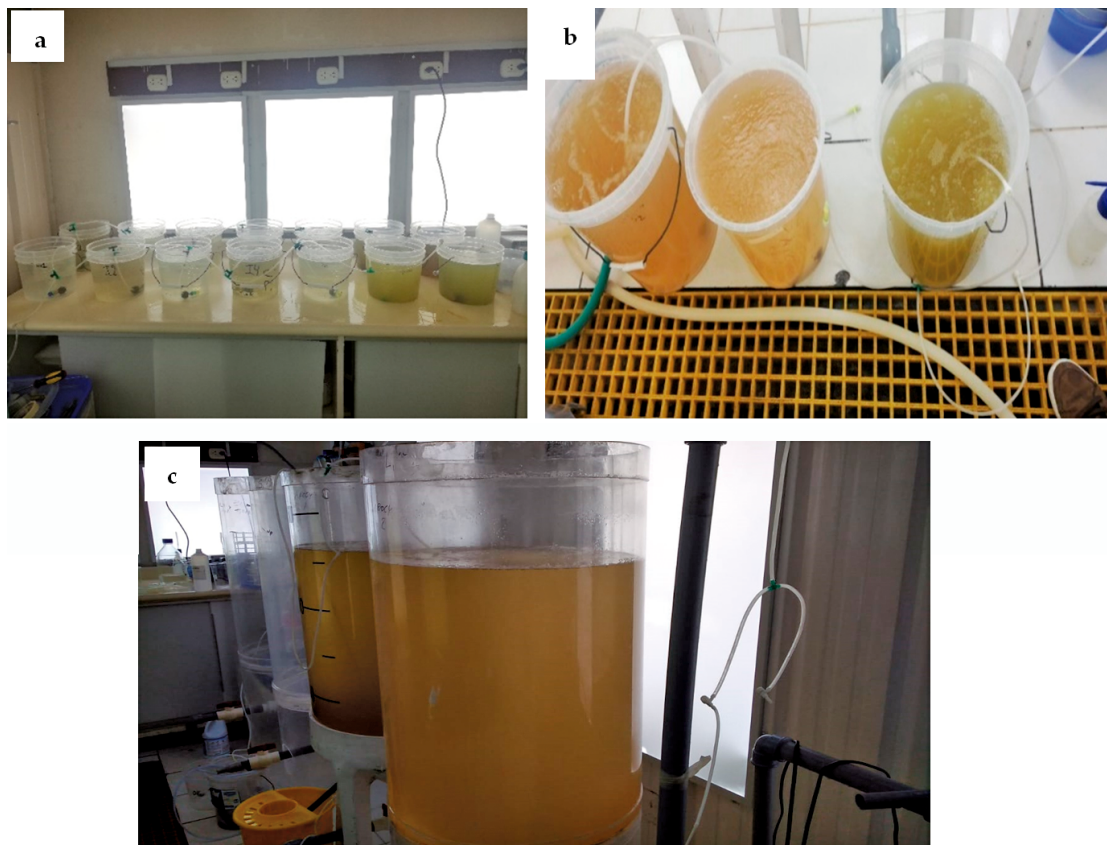


Figura 11.- Cultivo de artemia en 4 L (a), cultivo de artemia en 25 L (b) y cultivo de artemia en tanque masivo (c)

MEDICIÓN DEL CRECIMIENTO

Utilizando un estéreo con aumento 20X junto al programa de medición Leica 3.4, son medidas las artemias en mm.

Materiales equipos y reactivos

Pipetas de 3, 5 y 10 mL

Estereoscopio.

Lugol

Cámara Bogorov

Procedimiento

Medición de artemia

- Seleccionar muestras diarias de artemia
- Agregar lugol a la muestra
- Prender el estéreo y el programa de medición Leica 3.4

- Medir las muestras de artemia, con aumento 20X
- Anotar las medidas
- Realizar el análisis de crecimiento

Evaluación de los parámetros fisicoquímicos de los nauplios

Materiales (Fig. 12)

- Multiparámetro WTW (Anexo 2)
- Luxómetro
- Termómetro ambiental
- Soluciones de calibración (Buffer)
- Agua destilada

Procedimiento

Registrar los parámetros físicos -químicos antes y durante los procesos de cultivo de la artemia, desde su descapsulación hasta el cultivo escalonado, con la finalidad de controlar la producción.



Figura 12.- Multiparámetro WTW (a), Luxómetro (b), termómetro ambiental (c) y pack de buffer (d)

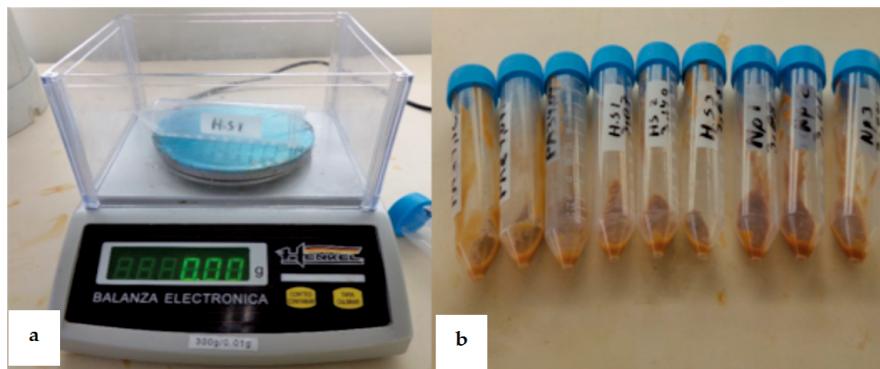


Figura 13.- Pesado del enriquecedor (a) y artemia enriquecida para análisis (b)

COSECHA, ENRIQUECIMIENTO Y LAVADO

La cosecha se realiza después del enriquecimiento para incrementar los niveles de ácidos grasos con los emulsificantes comerciales y de acuerdo a la necesidad de alimentación de las larvas.

Materiales equipos y reactivos

- Microalgas marinas
- Tanques de 210L
- Jarras de 2L
- Pipetas de 3, 5 y 10 mL

Estereoscopio

Tamiz de 120u

Cámara de Bogaron

Enriquecedor

Tubos Falcón

Procedimiento para alimentación con artemia

- Separar artemias de acuerdo a la necesidad de alimentación de las larvas, para el proceso de enriquecimiento
- Agregar la microalga *Isochrysis galbana* en el nuevo sistema de cultivo

- Pesar y diluir el enriquecedor *Selco express*, luego agregar al sistema de cultivo
- Después de 12 horas de enriquecimiento, cosechar y lavar la artemia
- Alimentar con artemia enriquecida a las larvas o colocar en tubos falcón para su posterior análisis (Fig. 13).

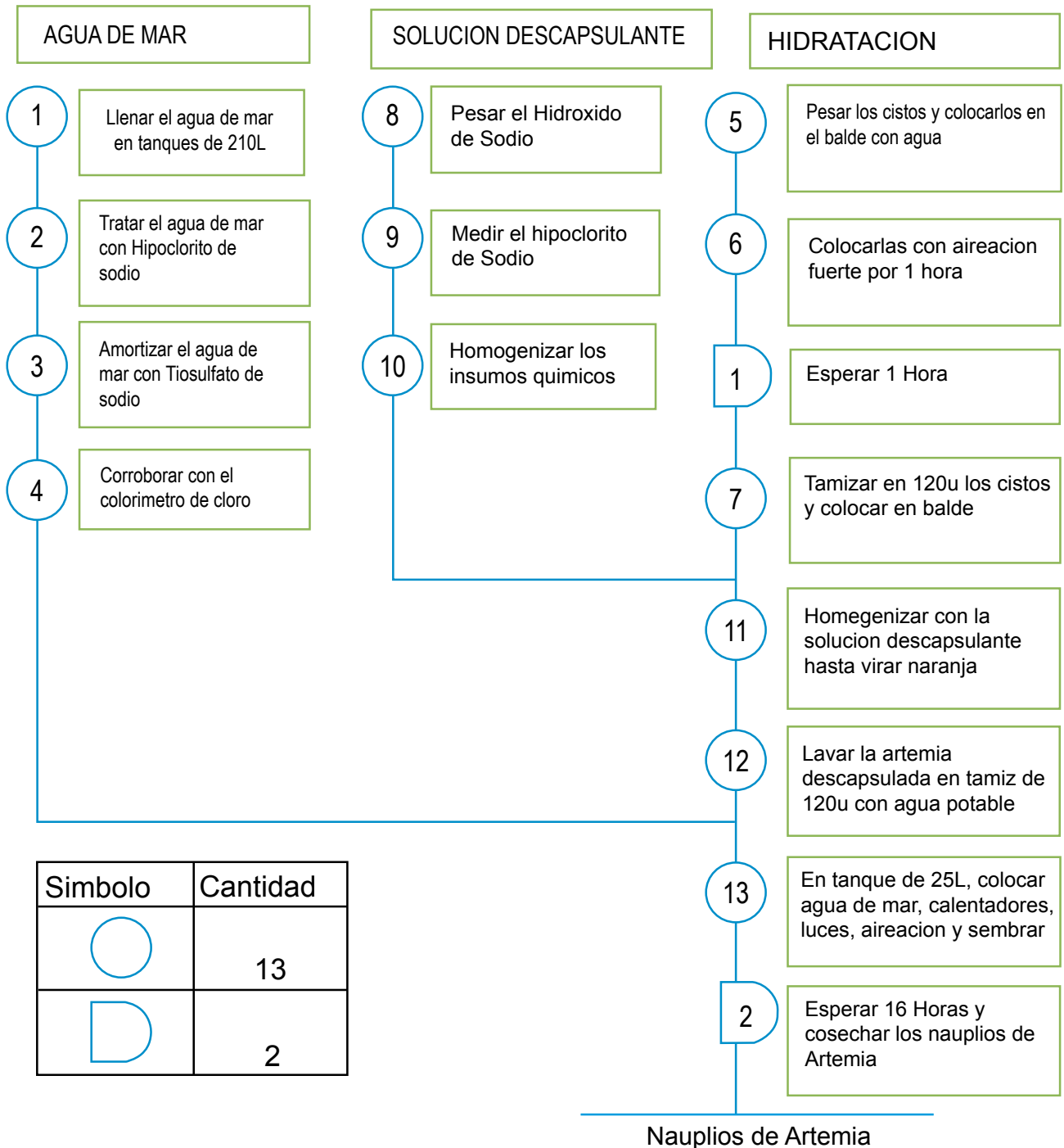
REFERENCIAS

- ASEM A, RASTEGAR-POUYANI N, DE LOS RIOS-ESCALANTE P. 2010. The genus *Artemia* Leach, 1819 (Crustacea: Branchiopoda). I. True and false taxonomical descriptions. *Latino American Journal of Aquatic Research*. 38: 501-506.
- BOWEN T, FOGARINO E, HITCHNER K, DANA G, CHOW V, BUONCRISTIANI M, CARL J. 1985. Ecological isolation in *Artemia*: population differences in tolerance of anion concentrations. *Journal of Crustacean Biology*. 5: 106-129.
- BRANSDENA M P, BATTAGLENEA S C, MOREHEADA D T, DUNSTANB G A, NICHOLS P D. 2005. Effect of dietary 22:6n-3 on growth, survival and tissue fatty acid profile of striped trumpeter (*Latris lineata*) larvae fed enriched *Artemia*. *Aquaculture*. 243: 331-344.
- BROWNE R, BOWEN T. 1991. Taxonomy and population genetics of *Artemia*. En: *Artemia Biology*. Browne R., Sorgeloos, P., Trotman, C. (eds). CRC Press, Boca Raton Ann Arbor Boston, USA. pp. 221-235.
- CASTRO G. 2005. Importancia de los pros bióticos en la acuicultura, utilizando *Artemia franciscana* como bioencapsulante. México DF. 5 pp.
- CASTRO T, DE LARA R, CASTRO G, CASTRO J, MALPICA A. 2003. Alimento vivo en la acuicultura. 48: 27-33.
- GARCIA M. 2017. Evaluación de la toxicidad crónica de nanopartículas de poliestireno en *Artemia franciscana*. Tesis de grado, Universidad Católica de Valencia.
- LIBRALATO G. 2014. The case of *Artemia* spp. in nanoecotoxicology. *Marine Environmental Research*. September. 101: 38-43.
- LUNA-FIGUEROA J, VARGAS T, FIGUEROA J. 2010. Alimento vivo en la dieta de larvas y juveniles de *Pterescalar ophyllum* (Lichtenstein, 1823). *Avances en Investigación Agropecuaria*. 14: 63-72.
- MARTÍN M, GAVIL J T, Varó I. 2016. Evaluación de la toxicidad de metilparabeno en *Artemia franciscana*: efectos sobre crecimiento, supervivencia y biomarcadores. 103-118.
- MARTÍNEZ L, CAMPAÑA A, MARTÍNEZ-PORCHAS M. 2004. Manejo de la Productividad Natural en el Cultivo del Camarón. *Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. 16-19 de noviembre. Hermosillo, Sonora, México.
- MOLINA J. 2002. Técnico en Piscifactoría: Edición Cultural S.A. España. Vol I: 130- 134.
- MONROIG O, NAVARRO J C, AMAT F, GONZÁLEZ P, HONTORIA F. 2007. Oxidative stability and changes in the particle size of liposomes used in the *Artemia* enrichment. *Aquaculture*. 266: 200-210.
- MORAGA C, AVILA P, VILAXA O. 2015. Salinidad y temperatura óptimas para reproducción ovípara y desarrollo de *Artemia franciscana*. *SciELO*. 33(1): 85-92.
- MUÑOZ J, GÓMEZ A, GREEN A J, FIGUEROLA J, AMAT F, RICO C. 2008. Phylogeography and local endemism of the native Mediterranean brine shrimp *Artemia salina* (Branchiopoda: Anostraca). *Molecular Ecology*. 17: 3160-3177.
- NUNES B, CARVALHO F, GUILHERMINO L. 2006. Effects of widely used pharmaceuticals and a detergent on oxidative stress biomarkers of the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*. 62: 581-594.
- OSSORIO R. 2018. Bioencapsulación de *Streptomyces* sp. RL,8 en nauplios de *Artemia franciscana* y estudio de su resistencia contra *Vibrio* patógeno. Santa Clara: Universidad Central "María Abreu" de las Villas.
- REDÓN S. 2015. Parasitismo por cestodos en *Artemia* spp. y su implicación en la invasión biológica de *Artemia franciscana* en la región Mediterránea.
- ROBIN J H. 1995. The importance of n-6 fatty acids in the culture of marine fish larvae. *ICES mar. Sci. Symp*. 201: 106-111.
- RODRIGUEZ C, URIBE C, ROSAS M, CHIQUETE N, HUERTA A, MUHLIA A. 2018. Alternative mitochondrial respiratory chains from two crustaceans: *Artemia franciscana* nauplii and the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. 50:143-152.
- RUIZ O. 2008. Caracterización de diversas poblaciones de *Artemia* desde el punto de vista de su composición en ácidos grasos y de sus patrones moleculares. Cataluña, España. 285 p.
- SALGADO I. 2001. La *Artemia* y su cultivo en Perú. Universidad Nacional de Piura. Facultad de Ciencias Biológicas. Piura, Perú. 133 pp.
- SÁNCHEZ A. 2017. Efecto de la temperatura sobre el tiempo y la eficiencia de descapsulación y eclosión en el crustáceo euritermo *Artemia* sp. Universidad del País Vasco.
- SÁNCHEZ-ESTUDILLO L. 2010. Alimento nutritivo, colorido y en movimiento: Los cultivos de apoyo en Acuicultura. *Ciencia y Mar*. 43: 55-60.
- SORGELOOS P, LAVENS P, LÉGER P, TACKAERT W, VERSICHELE D 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. The Belgian Administration for Development Cooperation. The Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Artemia Reference Centre*, State University of Ghent, Belgium-Faculty of Agriculture.

- SUPRAYUDI A, TAKEUCHI T, HAMASAKI K. 2004. Effects of Artemia enriched with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid on survival and occurrence of molting failure in megalop larvae of the mud crab *Scylla serrata*. Fisheries Science. 70: 650-658.
- TIZOL-CORREA R, MAEDA-MARTINEZ A, WEEKERS P H, TORRENTERA L, MURUGAN G. 2009. Biodiversity of the brine shrimp *Artemia* from tropical salterns in Southern Mexico and Cuba. Current Science. 96 (1): 81-87.
- TREECE G D, YATES M E. 1993. Manual de Laboratorio para el Cultivo de Larvas de Camaron Peneido. Marine Advisory Service, Sea Grant College Program. Texas A&M University College Station. USA. 83 pp.
- VICIANO DELIBANO E. 2015. Optimización del enriquecimiento de nauplios de *Artemia* mediante el uso de emulsiones lipídicas formuladas a partir de aceites sintéticos ricos en DHA. 2015.
- ZAMORA O, SHPIGEL M. 2006. Intensive mass production of *Artemia* in a recirculated system. Aquaculture. 255: 488-494.
- ZELAYA O, DAVIS A, ROUSE D B. 2007. The influence of Artemia and algal supplements during the nursery phase of rearing pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of the World Aquaculture Society. 38(4): 486-496.

ANEXO 1

Diagrama de flujo, del proceso de obtención de nauplios de *Artemia franciscana*.



ANEXO 2

INSTRUCCIONES DE USO DEL MULTIPARÁMETRO

Calibración de electrodos

a) Calibración del electrodo del pH

- Encender el multiparámetro.
- Ubicarse en pH desplazándose en la pantalla de inicio con los iconos ▲▼
- Presionar la tecla <CAL>
- Sumergir el electrodo en el buffer 1 (pH=7.000) y presionar <MENU/ENTER>. Esperar a que concluya la lectura.
- Enjuagar el electrodo con agua destilada y sumergirlo en el buffer 2 (pH 4.1) y presionar “continua”. Repetir el proceso con el buffer 3 (pH 10.1)
- Finalizar la calibración presionando <MENU/ENTER>.

Recomendaciones

Tener en cuenta que el sensor debe estar sumergido en la solución de mantenimiento del electrodo.

b) Calibración del electrodo del oxígeno

- Colocar el sensor en el bisel de calibración de aire OxiCal®-CX.
- Ubicar la opción O₂ en la pantalla.
- Presionar <CAL> y luego <MENU/ENTER> para el inicio de la medición.
- Una vez terminada la medición presionar nuevamente <MENU/ENTER> para aceptar la calibración.

Recomendaciones

- Mantener el electrodo dentro del módulo de calibración y almacenamiento teniendo en cuenta que la esponja del vaso debe estar siempre humedecida con agua destilada.
- Cuando en la calibración se obtiene un resultado erróneo se debe limpiar sumergiéndola en la solución de limpieza por 3 min, luego frotar suavemente el cabezal usando la lámina pulidora y rellenar el cabezal de la membrana con la solución electrolítica.

c) Calibración del electrodo de conductividad

- Seleccionar el parámetro de conductividad en la pantalla de inicio.
- Presionar <CAL> y sumergir el sensor en la solución de control estándar 0,01mol/L KCl
- Presionar <MENU/ENTER> iniciando la medición AutoRead, terminar la calibración presionando nuevamente <MENU/ENTER>.