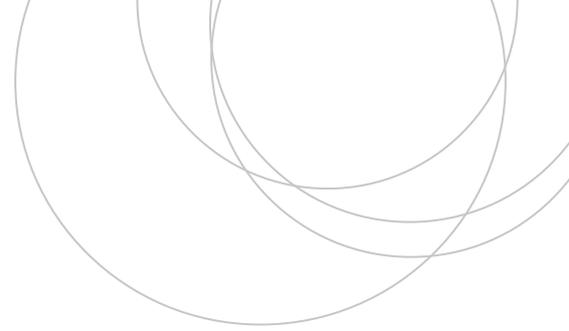




Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea

ZIENTZIA  
ETA TEKNOLOGIA  
FAKULTATEA  
FACULTAD  
DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA



Trabajo Fin de Grado

Grado en Biología

# Efecto de la temperatura sobre el tiempo y la eficiencia de descapsulación y eclosión en el crustáceo euritermo *Artemia sp.*

Autora:

Ana Sánchez Romero

Director:

Iñaki Urrutxurtu

Leioa, 27 de Junio de 2017

## **ÍNDICE**

1. Resumen.....	3
2. Introducción.....	4
3. Materiales y métodos.....	9
4. Resultados.....	12
1. Descapsulación	
2. Eclosión	
5. Discusión.....	16
6. Conclusiones.....	18
7. Bibliografía.....	18

## **RESUMEN**

*Artemia* es un crustáceo eurihalino que posee uno de los mejores sistemas de osmorregulación, lo que le permite vivir en un gran rango de salinidades. Además también se encuentra adaptado a un amplio rango de temperaturas desde 6°C a 35°C. Estas características facilitan el hecho de poder encontrar a este género repartido por todo el mundo. En este trabajo se estudió el efecto que la temperatura tiene sobre los procesos de descapsulación y eclosión, exponiendo los quistes a tres temperaturas diferentes: 12°C, 20°C y 28°C.

Los resultados que se obtuvieron muestran como en cuanto a la eficiencia de descapsulación y eclosión, disminuyen cuando la temperatura de exposición es de 28°C. Y también se hallaron diferencias en cuanto al tiempo que tardan los individuos en descapsular y eclosionar, ya que éste aumenta en la temperatura más baja 12°C, respecto a las otras dos condiciones.

## **ABSTRACT**

*Artemia* is an euryhaline crustacean that possesses one of the best osmoregulatory systems, allowing it to live in a large range of salinities. In addition it is also adapted to a wide range of temperatures from 6°C to 35°C. These characteristics make it easy to find this genre spread all over the world. In this work, the effect of temperature on decapsulation and hatching processes was studied, exposing the cysts to three different temperatures: 12°C, 20°C and 28°C.

The results obtained show that as for the efficiency of decapsulation and hatching, they decrease when the exposure temperature is 28°C. And differences were also found in the time individuals takes to decapsulate and hatch, since it increases at the lowest temperature 12 ° C, with respect to the other two conditions.

## INTRODUCCIÓN

La *Artemia* (Leach 1819) es un crustáceo branquiópodo del orden Anostraca. Carece de caparazón rígido, su cuerpo es delgado y alargado y su longitud puede variar en función de las condiciones ambientales y del sexo, llegando a alcanzar 10-15 mm en etapa adulta. Morfológicamente consta de tres partes: la cabeza, el tórax y el abdomen. Además presenta dimorfismo sexual (Figura 1), el macho posee el segundo par de antenas, situado en la cabeza muy desarrollado. En la hembra en cambio estas antenas son mucho más pequeñas.



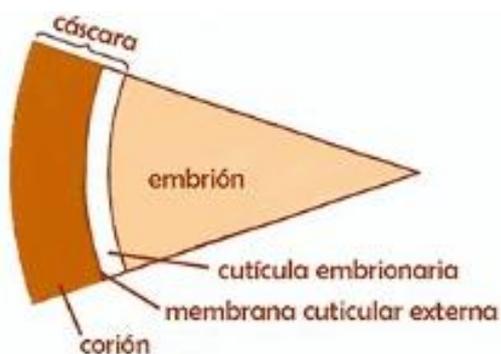
**Figura 1:** Imagen de una hembra y un macho de *Artemia*.

Debido a su fácil cultivo, esta especie es de especial interés para la industria de la acuicultura, utilizándola principalmente como alimento de otras especies. Pero por otra parte, puede ser utilizada para en el mantenimiento de estanques y para mejorar los sistemas de producción de sal ya que controla las poblaciones de algas y además proporciona metabolitos esenciales para la proliferación de *Halobacterium* que es muy importante en la producción de sal, según mencionan Dhont y Sorgeloos (2002).

*Artemia* presenta la capacidad de producir quistes cuando las condiciones ambientales ponen en peligro la supervivencia de la población, tales como salinidades extremas, baja concentración de oxígeno o escasez de alimento. Todas las hembras poseen la habilidad de poder reproducirse de forma ovovivípara u ovípara. La reproducción ovípara genera embriones en estado de gástrula que son encapsulados, dando lugar a lo que se conoce como quiste. Esta capacidad de reproducción es una de las principales causas de la distribución mundial de *Artemia*, siendo el viento y las aves los vectores principales para su dispersión, aunque el hombre cada vez está tomando más importancia en este ámbito. Estos diminutos quistes poseen una gran capacidad de

resistencia a temperaturas extremas, siendo viables aun al haber sido expuestos a temperaturas, inferiores al punto de congelación o incluso hasta el punto de ebullición durante periodos de exposición cortos. Pero además resisten eficazmente la deshidratación gracias a una un disacárido llamado trehalosa que poseen los quistes (en un 15% de su peso seco) y que se encarga de proteger las membranas y proteínas frente a la desecación (Clegg y Conte, 1980; Clegg, 2001).

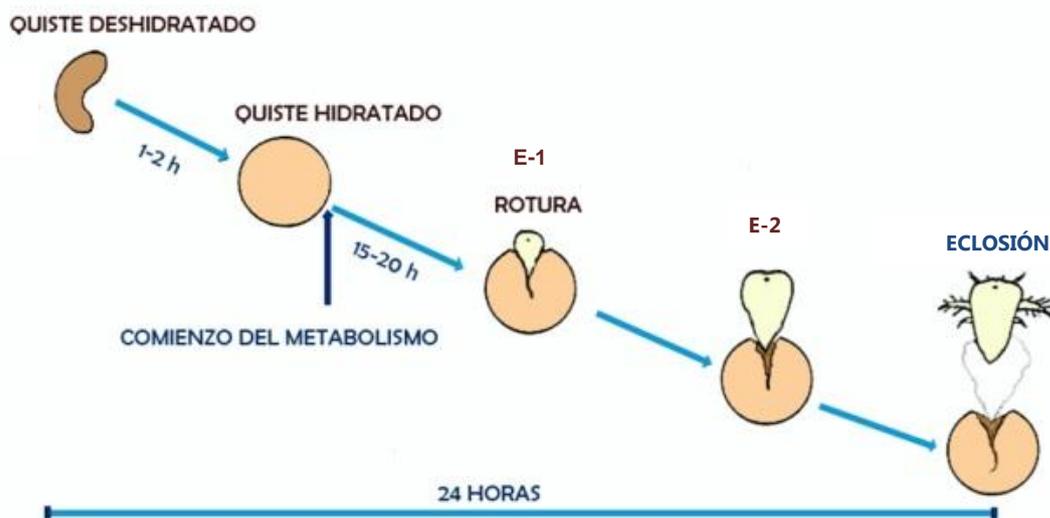
La cáscara del quiste está formada por tres estructuras (Figura 2): **El corion** que es una capa dura cuya principal función es proporcionar una protección al embrión contra rupturas mecánicas y radiaciones. Esta capa puede ser completamente eliminada si se desea mediante un proceso de descapsulación; **La membrana cuticular externa** que protege al embrión actuando como barrera de permeabilidad; y **la cutícula embrionaria** es una capa transparente y altamente elástica que queda separada del embrión por la membrana cuticular interna que se transforma en membrana de eclosión durante el proceso de incubación.



**Figura 2:** Ultraestructura del quiste de *Artemia*

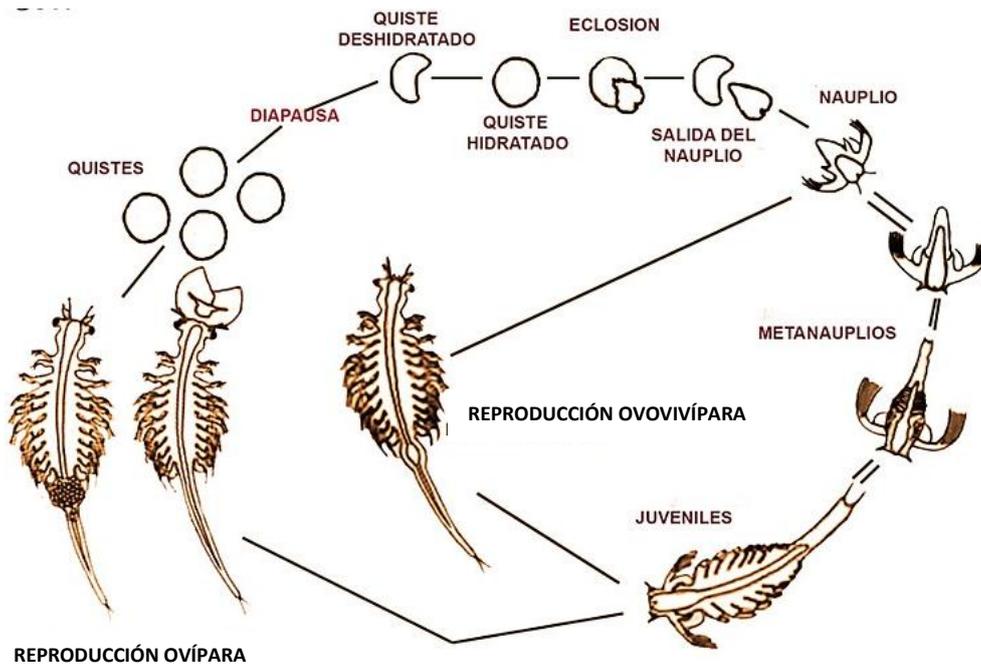
El ciclo de vida de *Artemia* consta de 3 fases, el quiste, la larva (nauplio, metanauplio y juvenil) y el adulto (Sorgeloos et al, 1986). Cuando se dan condiciones de temperatura, salinidad y oxigenación del agua adecuados, el metabolismo de los embriones encapsulados se reactiva (Clegg y Conte, 1980). Primero, los quistes bicóncavos se hidratan pasando a tener una forma esférica, permitiendo que el metabolismo del embrión se reactive, es lo que se conoce como quiste activado o quiste hidratado (Figura 3), empieza la respiración, la síntesis de RNA y proteínas, la degradación del vitelo... Tras unas 24 horas la membrana externa de los quistes se rompe (E-1), (descapsulación) obteniendo al embrión rodeado de una membrana de eclosión.

Empieza la síntesis de DNA y la división celular, además el hecho de que se rompa la membrana cuticular externa hace que pierda la barrera de permeabilidad induciéndose de este modo la síntesis de  $Na^+/K^+$  ATPasas y otras enzimas. Durante las horas siguientes, el embrión se encuentra colgando de la cáscara vacía a la cual permanece unido (estado de “umbrella” o E-2). Dentro de la membrana de eclosión se completa el desarrollo del nauplio y en un breve periodo de tiempo la membrana de eclosión se rasga emergiendo el nauplio que nada libremente. (Browne et al, 1990).



**Figura 3:** Representación de las distintas etapas durante la eclosión de *Artemia*

El ciclo de vida de *Artemia* (Figura 4) continua con el primer estado de nauplio que se caracteriza por medir entre 400-500 micras de longitud, posee tres pares de antenas, color anaranjado debido a las reservas de vitelo de las que se alimenta ya que todavía no posee un aparato digestivo funcional y posee un ocelo rojo situado en la región frontal entre las primeras antenas. Tras la siguiente muda se forma el metanauplio, se desarrolla completamente el aparato digestivo de manera que su alimentación se ve modificada, basándose principalmente en algas microscópicas que encuentran en su hábitat. Posteriormente para el paso a adulto se dan una sucesión de 15 mudas, llegando a adquirir las características propias de adulto, como apéndices lobulares pares en la región torácica, que se diferenciarán posteriormente en toracópodos y ojos complejos laterales a ambos lados del ojo naupliar.



**Figura 4:** El ciclo de vida de *Artemia* y los distintos tipos de reproducción que presenta.

*Artemia* presenta uno de los mejores sistemas de osmorregulación observado en animales (Croghan, 1958 y Holliday et al, 1990), lo que le permite vivir en un amplio rango de salinidades desde agua dulce con salinidades inferiores a 5‰ hasta aguas hipersalinas superiores a 200‰. Estos organismos eurihalinos carecen de cualquier tipo de defensa física frente a depredadores por lo que han desarrollado una defensa fisiológica, esto les permite vivir a altas salinidades evitando a sus depredadores naturales (peces, crustáceos o insectos) o competidores ya que la mayoría de ellos no pueden sobrevivir a salinidades por encima de 80-100‰. Además *Artemia* puede soportar aguas en las que la relación de los aniones y cationes principales puede ser totalmente diferente de la del agua de mar (Van Stappen, 2002). Sin embargo, su óptimo de crecimiento y supervivencia se da a concentraciones de salinidad más bajas, entre 15-40‰, como demuestran los resultados obtenidos por Jabbour et al, (2014). Junto a esta gran capacidad osmorreguladora, también son capaces de sintetizar eficazmente pigmentos respiratorios (hemoglobina) y de este modo poder hacer frente a los bajos niveles de oxígeno disuelto que existen en los ambientes hipersalinos (Gilchrist, 1954). El hecho de presentar estos mecanismos permite a esta especie distribuirse mundialmente en más de 500 lagos salinos naturales o salinas de construcción artificial, como indica Triantaphyllidis et al, (1998).

Aun así, no todas las masas de agua, ni siquiera las hipersalinas, cuentan con la presencia de este género, ya que igualmente depende de otros factores como la temperatura, siendo el rango de tolerancia térmica de 6°C a 35°C para la mayoría de las cepas de *Artemia*, y el óptimo suele situarse entre 20-25°C, como indica el estudio de Vanhaecke et al, 1984. A pesar de ello, hay algunas cepas adaptadas perfectamente a sus hábitats, como es el caso de *A. tibetiana*, en el Tíbet, que sobrevive a una fluctuación anual de temperaturas de -26°C a 24°C (Zheng, 1997), u otras adaptadas a sobrevivir periodos a una temperatura de 40°C (Clegg et al, 2001). En un estudio posterior también de Vanhaecke, y Sorgeloos en 1989, se estudian cepas de diferentes orígenes y se estudian los óptimos para cada una de ellas teniendo en cuenta la producción de biomasa, la supervivencia de las larvas y la descapsulación de los quistes, mostrando la gran variedad que presentan las distintas cepas de *Artemia* en cuanto al óptimo térmico. Las diferentes adaptaciones que presentan las poblaciones de *Artemia* en cuanto a la temperatura pueden ser explicadas por la presencia y cantidad de proteínas de choque térmico que poseen tanto los quistes como los adultos (Clegg et al, 2001). Estudios como los de Sorgeloos en 1980 demuestran como la temperatura afecta tanto al tiempo como a la eficiencia de descapsulación o eclosión ya que a medida que aumenta ésta, hasta un máximo de 30°C aumentan las tasas de eficiencia y disminuye el tiempo, y de manera contraria si la temperatura disminuye, hasta un límite de 0°C-4°C.

Otros factores importantes son la intensidad lumínica o la presencia de productores primarios, ya que *Artemia* es un filtrador no selectivo (Reeve, 1963) y se alimenta tanto de materia orgánica particulada (detritos biológicos) como de organismos vivos de tamaño apropiado (microalgas y bacterias).

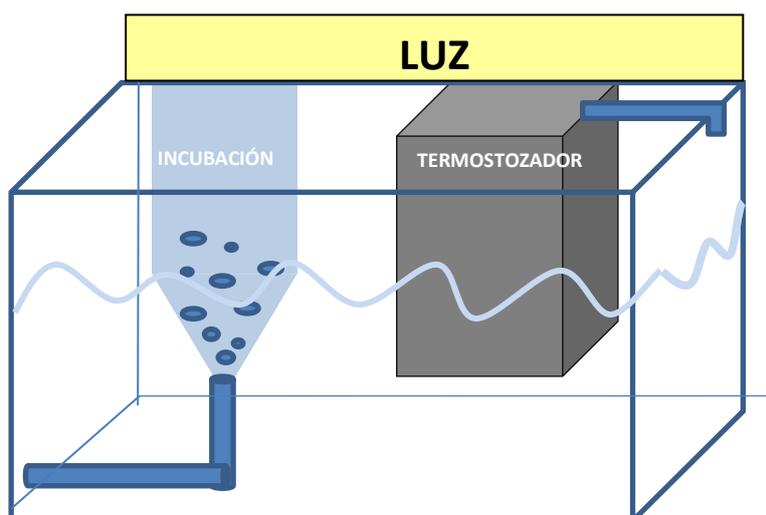
El objetivo del trabajo es determinar el efecto que la temperatura ejerce sobre los procesos de descapsulación y eclosión. Para ello se ha cuantificado la eficiencia así como los tiempos de descapsulación y eclosión a 3 temperaturas: 12°C, 20°C y 28°C. La hipótesis desde la que se parte es que a mayor temperatura mayor será la eficiencia de descapsulación y eclosión, mientras que, disminuirán los tiempos de descapsulación y eclosión.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para la realización de este experimento se emplearon botellas diferentes en la eclosión y la descapsulación. En total 6, divididas en 3 grupos según las temperaturas de exposición: 12°C, 20°C y 28°C. Dado que lo que se desea es comprobar los efectos de la temperatura, se seleccionaron temperaturas dentro de los límites de tolerancia térmica. La incubación se llevó a cabo bajo una salinidad de 35‰ (agua de mar) y un volumen de 1L para cada botella.

Para mantener las botellas a temperatura constante se introdujeron en contenedores de 20-25 L con agua. Para cada temperatura de exposición se utilizaron mecanismos de regulación térmica. En el caso de 28°C se empleó un calentador y en el de 12°C un enfriador. Para 20°C se mantuvo a temperatura ambiente sin necesidad de ningún aparato térmico pero controlando que fuera constante gracias a un termómetro.

Con el fin de lograr una eclosión máxima, se recomienda mantener unos niveles de oxígeno alto de manera constante. Para ello, se emplearon aireadores que se conectaron en la parte de abajo de las botellas (Figura 5), lo que, además de mantener la concentración de oxígeno en valores elevados permite mantener los quistes en suspensión. Esto puede ser sumamente importante ya que cuando los quistes se desprenden del corion tienden a sedimentar. (Sorgeloos et al, 1977).



**Figura 5:** Representación de la disposición de los elementos necesarios para la incubación y el mantenimiento de las condiciones de incubación.

Durante la incubación y los días posteriores se necesita luz. La iluminación de los quistes, al menos durante las primeras horas tras su hidratación, es esencial para lograr una eclosión adecuada. (Vanhaecke et al, 1981).

Para organizar los tiempos de toma de muestras se realizaron experimentos previos permitiendo acotar un rango aproximado de tiempos de eclosión y descapsulación para cada temperatura. Durante este periodo de tiempo se recogieron muestras cada 3 horas a lo largo del día, proceso que se prolongó durante cuatro días.

Para la eclosión es necesario quitar el corion de los quistes. Primero es necesario hidratar los quistes en agua marina con ayuda de un aireador. Así conseguimos que los quistes adquieran una forma esférica y permitan a la solución descapsuladora actuar sobre toda la superficie. Para retirar los quistes del agua se emplea una malla de 125  $\mu\text{m}$ , cuando se tienen los quistes hidratados, en esta red, se introducen en una solución descapsuladora. Por cada gramo de quistes se necesitan 14 mL de solución descapsuladora formada por: 6,5 mL de hipoclorito de sodio, 0,15 g NaOH y 7,5 mL agua (Sorgeloos, 1986). En este medio deben permanecer entre 7-15 minutos, removiendo cada cierto tiempo para asegurarse de la correcta actuación. Se aprecia el cambio de color de los quistes pasando a ser anaranjados lo que nos indica que el corion ha desaparecido. Acto seguido se pasan a agua para lavarlos, este paso es muy importante ya que los quistes deben quedar perfectamente limpios de la solución descapsuladora, evitando así los efectos que pudiera tener sobre el proceso de la eclosión y sobre todo sobre las larvas eclosionadas. Para ello se cambia el agua de lavado repetidamente, unas 6-8 veces. Una vez finalizada la descapsulación se agruparon todos los quistes en un volumen determinado (75 mL), se homogenizó para poder dividirlo en 3 subvolúmenes iguales para cada botella de incubación.

Para la descapsulación, los quistes de *Artemia* no necesitan ninguna modificación pues deben realizar todo el proceso natural, así que pueden ser incorporados a las botellas de incubación directamente.

Una vez los nauplios han eclosionado, sobreviven durante las primeras horas de vida gracias a las reservas en forma de vitelo que tienen. Una vez las agotan deben buscar fuentes de alimento externa, por ello el primer día de eclosión se les aporó la microalga *Isochrysis galbana* como alimento.

Para el recuento de *Artemia* se utilizaron placas Petri en las que se vertían 7mL cogidos de las botellas de incubación tras remover activamente para conseguir una mezcla homogénea del contenido de la botella. Para facilitar el recuento es importante fijar la muestra, para ello se utilizó lugol a una concentración final de 2%. Para la identificación y recuento se utilizó una lupa.

Durante el recuento los individuos se dividen en dos grupos:

En los pertenecientes a la descapsulación se debe diferenciar entre los quistes sin descapsular e individuos descapsulados ya fueran huevos (E1), prenauplios (E2) o nauplios. Con estos datos se realizó el cálculo de la eficiencia de descapsulación (%).

$$\frac{\textit{individuos descapsulados}}{\textit{individuos totales}} \times 100$$

En la eclosión se anotaban el número de huevos no eclosionados y por otro lado el de individuos eclosionados (prenauplios y nauplios). Pudiendo así calcular la eficiencia de eclosión (%).

$$\frac{\textit{individuos eclosionados}}{\textit{individuos totales}} \times 100$$

También se calcularon los parámetros T10, T90 y T5 (h) tanto para la descapsulación como para la eclosión (Sorgeloos, 1986):

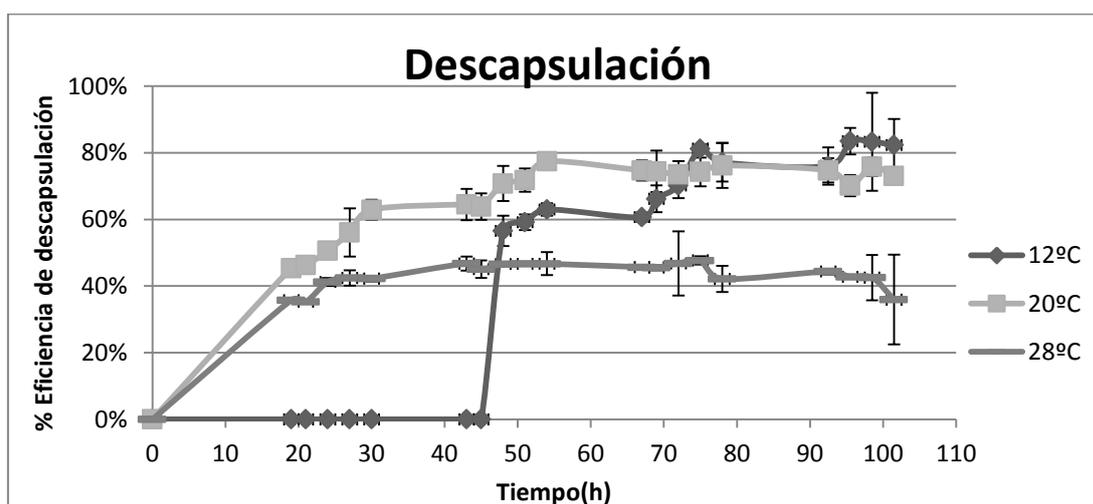
- T10 (h): tiempo de incubación en el que aparecen el 10% de los nauplios.
- T90 (h): tiempo de incubación hasta que aparece el 90% del total de los nauplios.
- T5 (h): la diferencia entre el T90 y el T10, que nos da una idea de la sincronía de la eclosión.

Para el análisis estadístico de los datos se empleó el paquete estadístico IBM SPSS Statistic 24. Se comprobaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de la varianza y en los casos en los que no se cumplían, se utilizó el test no paramétrico Kruskal Wallis.

## **RESULTADOS**

### **1. Descapsulación:**

En la Figura 6 se muestran los resultados obtenidos en la descapsulación para las tres temperaturas. En cuanto a los % de eficiencia vemos como los valores más altos se encuentran en torno al 80%, siendo los quistes expuestos a 12°C los que mayor eficiencia de descapsulación muestran, alcanzándola en dos etapas: una primera que llega hasta el 60% y la segunda hasta valores cercanos al 80%. Las otras dos temperaturas siguen un aumento del % de la eficiencia más continuo. La temperatura de 20°C también presenta un % de eficiencia alto, cercano al 80%, pero menor que la de 12°C y finalmente la de 28°C entre el 40-50%. Los resultados obtenidos tras el análisis estadístico muestran diferencias significativas (\*p <0,05) en la eficiencia de descapsulación, obteniendo una disminución de esta a la temperatura de 28°C respecto a las otras dos temperaturas (Tabla 2).



**Figura 6:** Representación de la eficiencia de descapsulación para cada temperatura. Se muestran los % de descapsulación medios para cada tiempo y sus respectivas desviaciones estándar.

En los tiempos de descapsulación en cambio se sigue un orden inverso pues los individuos expuestos a 20°C y 28°C son los primeros en decapsular, a las 19 horas. En la temperatura más fría se aprecia cómo hasta pasados 48 horas no se produjo la descapsulación. Los análisis estadísticos muestran que hay diferencias significativas, en este caso en el tiempo de descapsulación, aumentando cuando la temperatura de exposición es de 12°C (Tabla 2).

En la Tabla 1 se puede observar cómo ha sido mayor la eficiencia de descapsulación a la temperatura de 12°C, seguido de la de 20°C y por último 28°C. Además, se han calculado el T10, T90 y T5, la mayor sincronía se da a 28°C y aumenta al disminuir la Tº, llegando a valores cercanos a las 30h para 12°C y 20°C.

**Tabla 1:** Parámetros de descapsulación calculados para las 3 temperaturas de exposición del estudio.

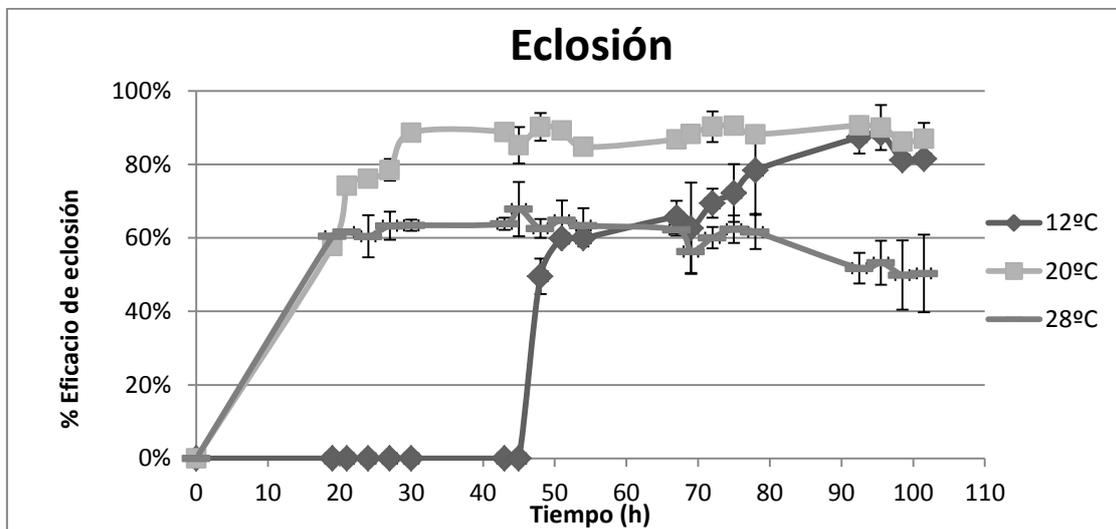
	Tº DE EXPOSICIÓN		
	12°C	20°C	28°C
Descapsulación máxima	83,49	77,44	47,69
T10 (h)	48	19	19
T90 (h)	75	48-54 (51)	30-43 (36,5)
T5 (h)	27	32	17,5

**Tabla 2:** Resultados obtenidos tras los análisis estadísticos, comparando por temperaturas en la descapsulación.

DESCAPSULACION						
	12°C-28°C		20°C-28°C		12°C-20°C	
	Estadístico	P-valor	Estadístico	P-valor	Estadístico	P-valor
<b>Eficiencia</b>	21,889	0,004*	31,862	0,000*	-9,973	0,384
<b>Tiempo</b>	19,389	0,000*	3,937	1,000	15,452	0,000*

## 2. Eclosión:

Tal y como se aprecia en el Figura 7, los % de eclosión alcanzan el máximo cercano al 90% con la temperatura de 20°C, seguido de la temperatura de 12°C, en la cual se da un lento progreso diferenciado en dos fases, al igual que se observó en la eficiencia de descapsulación y finalmente la de 28°C que ronda el 60%. Se observa como en poco tiempo las temperaturas de 20°C y 28°C alcanzan sus valores cercanos al máximo, estabilizándose. Estadísticamente se muestran diferencias significativas en la eficiencia de eclosión siendo la temperatura de 28°C la que muestra una disminución en la eficiencia con respecto a las otras dos temperaturas (Tabla 4).



**Figura 7:** Representación de la eficiencia de eclosión para cada temperatura obteniendo los % de eclosión medios para cada tiempo y sus respectivas desviaciones estándar.

Los individuos empiezan a eclosionar sobre las 19 horas tanto para los expuestos a 20°C como para los de 28°C pero al observar las muestras de 28°C, algunos de los individuos ya se encontraban en fase nauplio. Una vez los nauplios eclosionan no poseen movilidad, pasado un corto periodo de tiempo empiezan a moverse, por lo que se puede suponer que la eclosión fue antes de las 19 horas en los individuos expuestos a 28°C. En los individuos expuestos a 12°C el tiempo de inicio de la eclosión es similar que el de la descapsulación, sobre las 43-48 horas. Estadísticamente en cuanto al tiempo de eclosión, existen diferencias significativas, siendo el tiempo de eclosión mayor en la temperatura más baja 12°C (Tabla 4).

Estadísticamente en cuanto al tiempo de eclosión, como ya se ha mencionado, es la temperatura de 12°C la que muestra diferencias significativas con las otras dos condiciones (Tabla 4).

En los individuos expuestos a 28°C se aprecia como en las últimas medidas los datos tienden a descender ligeramente.

A partir de las 45 horas aproximadamente, todos los nauplios expuestos a 28°C están en movimiento. En los individuos expuestos a 20°C esto se produce a las 67 horas y en 12°C a partir de las 95 horas.

Al comparar la descapsulación y la eclosión (tabla 1 y 3) se puede observar como la diferencia entre T10 y T90 ha disminuido para todas las temperaturas excepto para la temperatura más baja que se mantiene similar. De manera inversa se puede ver como el porcentaje de descapsulación máximo ha aumentado con respecto al de eclosión, siendo más notable en las temperaturas 28°C y 20°C.

**Tabla 3:** Parámetros de eclosión calculados para las 3 temperaturas de exposición del estudio.

	T° DE EXPOSICIÓN		
	12°C	20°C	28°C
Eclosión máxima	88,49	90,6	67,86
T10 (h)	48	19	<19
T90 (h)	78	30	21-27(24)
T5 (h)	30	11	5

**Tabla 4:** resultados obtenidos tras los análisis estadísticos, comparando por temperaturas en la eclosión.

ECLOSION						
	12°C-28°C		20°C-28°C		12°C-20°C	
	Estadístico	P-valor	Estadístico	P-valor	Estadístico	P-valor
<b>Eficiencia</b>	21,889	0,004*	31,862	0,000*	-9,973	0,384
<b>Tiempo</b>	12,750	0,037*	1,667	1,000	11,083	0,002*

## **DISCUSIÓN**

Tras el análisis de los resultados, se puede observar una influencia clara de la temperatura en la eclosión y descapsulación ya sea afectando a su eficiencia y/o al tiempo.

Se encontraron diferencias significativas en la eficiencia de descapsulación y eclosión en función de la temperatura, disminuyendo cuando las condiciones de exposición eran 28°C.

En el trabajo de Hentig (1971) los individuos expuestos a 30°C muestran % de eficiencia de descapsulación bastante altos, en torno al 70%, muy cercano al máximo en algunos casos. En el estudio de Vanheacke y Sorgeloos (1989), se analiza el % de eficiencia de eclosión y la tendencia es parecida al trabajo de Hentig (1971) pero hay algunas cepas que muestran una diferencia significativa en cuanto al % de eficiencia de eclosión, presentando en la temperatura de exposición de 30°C una menor eficiencia que la de 20°C. Esto es debido a que las cepas de quistes seleccionados para sus experimentos son de localizaciones geográficas con temperaturas diferentes, lo que hace que esos quistes ya se encuentren aclimatados a unas determinadas condiciones de temperatura. En estos estudios a pesar de que el óptimo de descapsulación y eclosión se da a 20°C, se obtiene, en lo que respecta a las condiciones de temperatura alta como en este caso es 28°C, una eficiencia alta de descapsulación y eclosión, lo cual no concuerda con los resultados obtenidos en este estudio. Los resultados de Hentig (1971) y Vanheacke y Sorgeloos (1989), siguen lo expuesto por Sorgeloos (1980), que sugiere que a medida que aumenta la temperatura de exposición la descapsulación y eclosión serán más eficientes y se producirá en menor tiempo. En experimentos hechos con cepas de *Artemia* que habitan a altas latitudes y por lo tanto a bajas temperaturas (Van Stappen et al, 2003), se aprecia como en algunas de estas cepas se obtienen resultados similares a los de este trabajo, con una eficiencia de eclosión más baja a temperaturas más altas, 28°C, y una eficiencia mayor para las temperaturas de exposición más bajas (10°C, 16°C y 21°C). En cambio en la cepa de San Francisco se obtienen resultados similares a los observados por Vanheacke y Sorgeloos (1989), con un aumento en la eficiencia a medida que se incrementa la temperatura.

La temperatura no solo afecta a la eficiencia de descapsulación y eclosión, sino que también se han detectado diferencias significativas en el tiempo de descapsulación y eclosión. Los individuos que fueron expuestos a 12°C tardaban aproximadamente un día más en empezar a descapsular y eclosionar que los expuestos a las otras dos temperaturas, es decir hasta las 48h no descapsulaban o eclosionaban. En el experimento de Van Stappen et al (2003) todas las cepas expuestas a 10°C descapsularon a las 48h y el resto de temperaturas (16°C, 21°C y 28°C) eclosionan en torno a las 24h, lo que concuerda con los resultados obtenidos. Lo mismo se observó en el experimento de Hentig (1971) en el que los quistes no descapsulan hasta las 48 h, a una temperatura de 15°C.

Es bien sabido como la temperatura afecta al metabolismo (Hill et al, 2006), cuando aumenta la temperatura el metabolismo también aumenta, explicando así el por qué cuando las condiciones de exposición han sido de 28°C el tiempo tanto de eclosión como de descapsulación se ha reducido y en cambio cuando la temperatura de exposición era de 12°C pasaba lo contrario.

Tanto en la descapsulación como en la eclosión (Figuras 6 y 7), se aprecia como para la temperatura 28°C los últimos datos tienen una tendencia a descender el % de eficiencia. Se debe al aumento de la mortalidad de los nauplios. Esto puede explicarse por el hecho de que el calor puede estar empeorando las condiciones de vida de los individuos como se aprecia en los resultados obtenidos por Abatzopoulos et al, 2003 en el que se muestran diferencias significativas en cuanto a la supervivencia, reduciéndose a medida que la temperatura aumenta. En el trabajo de Browne y Wanigasekera, 2000, tras 21 días de exposición a 30°C la mayoría de los individuos han muerto. O simplemente puede deberse por un agotamiento del alimento debido a su rápido desarrollo, posiblemente fomentado por el aumento de la tasa metabólica como consecuencia de la temperatura.

En cuanto al grupo de quistes que poseían corion y realizaban la descapsulación completa, la tendencia general muestra como hay una reducción en la eficiencia de descapsulación en comparación con la eficiencia de eclosión. Tanto la descapsulación como la eclosión se consiguen por un aumento de la concentración de glicerol hasta

llega a lisar el corion y la membrana cuticular externa en el caso de la descapsulación o solo la membrana cuticular externa para la eclosión. Estos resultados se explican por el hecho de que la resistencia y la fuerza de la membrana cuticular externa se reducen mediante la eliminación del corión. Por lo que, la eclosión necesita una menor cantidad de glicerol lo que hace posible que sea más eficaz la eclosión que la descapsulación (Bruggeman et al, 1980). Además se observa un aumento en el tiempo de sincronía de descapsulación (T5) en comparación con el de eclosión. Lo cual se explica porque se necesita un mayor tiempo para alcanzar la cantidad necesaria de glicerol para conseguir la descapsulación y posterior eclosión.

### **CONCLUSIONES**

En conclusión se observa que tanto la eficiencia de descapsulación como la de eclosión disminuye en las temperaturas más altas (28°C). Mientras que el tiempo de descapsulación y eclosión aumenta al disminuir la temperatura, siendo la temperatura de 12°C la que presenta un mayor tiempo de descapsulación y eclosión.

### **BIBLIOGRAFÍA**

Abatzopoulos, T. J., El-Bermawi, N., Vasdekis, C., Baxevanis, A. D., & Sorgeloos, P. (2003). Effects of salinity and temperature on reproductive and life span characteristics of clonal Artemia. (International Study on Artemia. LXVI). *Hydrobiologia*, 492(1), 191-199.

Browne, R. A., & Wanigasekera, G. (2000). Combined effects of salinity and temperature on survival and reproduction of five species of Artemia. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 244(1), 29-44.

Browne, R. A., Sorgeloos, P., & Trotman, C. N. (1990). *Artemia biology*. CRC press.

Bruggeman, E., Sorgeloos, P., & Vanhaecke, P. (1980). Improvements in the decapsulation technique of Artemia cysts.

Clegg, J. S. (2001). Cryptobiosis—a peculiar state of biological organization. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 128(4), 613-624.

Clegg, J. S., & Conte, F. P. (1980). A review of the cellular and developmental biology of Artemia. *The brine shrimp Artemia*, 2, 11-54.

- Clegg, J. S., Van Hoa, N., & Sorgeloos, P. (2001). Thermal tolerance and heat shock proteins in encysted embryos of *Artemia* from widely different thermal habitats. In: *Saline Lakes* (221-229). Springer Netherlands.
- Croghan, P. C. (1958). The osmotic and ionic regulation of *Artemia salina* (L.). *Journal of Experimental Biology*, 35(1), 219-233.
- Dhont, J., & Sorgeloos, P. (2002). Applications of *Artemia*. In: Abatzopoulos, T. J., Beardmore, J., Clegg, J. S., & Sorgeloos, P. *Artemia: Basic and Applied Biology*. (Vol. 1). Kluwer Academic Publishers.
- Gilchrist, B. M. (1954). Haemoglobin in *Artemia*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 143(910), 136-146.
- Hentig, R. V. (1971). Influence of salinity and temperature on development, growth, reproduction and energy budget of *Artemia-salina*. *Marine Biology*, 9(2), 145.
- Hill, R. W., Wyse, G. A., & Anderson, M. (2006). *Fisiología animal*. Ed. Médica Panamericana.
- Holliday, C. W., Roye, D. B., & Roer, R. D. (1990). Salinity-induced changes in branchial Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase activity and transepithelial potential difference in the brine shrimp *Artemia salina*. *Journal of Experimental Biology*, 151(1), 279-296.
- Jabbour, A. E., Durgham, H., & Mansour, C. R. (2014). Effects of Different Salinities on Pre-reproductive, Reproductive and Lifespan Characteristics of a Bisexual Population of *Artemia franciscana*. *International Journal of Oceans and Oceanography*, 8(2), 87-94.
- Reeve, M. R. (1963). The filter-feeding of *Artemia*. *Journal of Experimental Biology*, 40(1), 195-205.
- Sorgeloos, P. (1980). The use of the brine shrimp *Artemia* in aquaculture. *The brine shrimp Artemia*, 3, 25-46.
- Sorgeloos, P. (1986). Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture, 1986.
- Sorgeloos, P., Bossuyt, E., Laviña, E., Baeza-Mesa, M., & Persoone, G. (1977). Decapsulation of *Artemia* cysts: a simple technique for the improvement of the use of brine shrimp in aquaculture. *Aquaculture*, 12(4), 311-315.

- Triantaphyllidis, G., Abatzopoulos, T., & Sorgeloos, P. (1998). Review of the biogeography of the genus *Artemia* (Crustacea, Anostraca). *Journal of biogeography*, 25(2), 213-226.
- Van Stappen, G. (2002). Zoogeography. In: Abatzopoulos, T. J., Beardmore, J., Clegg, J. S., & Sorgeloos, P. (2002). *Artemia: Basic and Applied Biology*. (Vol. 1). Kluwer Academic Publishers.
- Van Stappen, G., Sui, L., Xin, N., & Sorgeloos, P. (2003). Characterisation of high-altitude *Artemia* populations from the Qinghai-Tibet Plateau, PR China. *Hydrobiologia*, 500(1-3), 179-192.
- Vanhaecke, P., & Sorgeloos, P. (1989). International Study on *Artemia*. XLVII. The effect of temperature on cyst hatching, larval survival and biomass production for different geographical strains of brine shrimp *Artemia* spp. *Ann. Soc. r. zool. Belg*, 119(1), 7-23.
- Vanhaecke, P., Cooreman, A., & Sorgeloos, P. (1981). International study on *Artemia*. XV. Effect of light intensity on hatching rate of *Artemia* cysts from different geographical origin. *Marine Ecology Progress Series*, 111-114.
- Vanhaecke, P., Siddall, S. E., & Sorgeloos, P. (1984). International study on *Artemia*. XXXII. Combined effects of temperature and salinity on the survival of *Artemia* of various geographical origin. *Journal of experimental marine Biology and Ecology*, 80(3), 259-275.
- Zheng, M. (1997). *An introduction to saline Lakes on the Qinghai—Tibet plateau* (Vol. 76). Springer Science & Business Media.