



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Producción de biomasa del crustáceo *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906)  
alimentadas con dietas a base de diatomeas y chlorophytas.**

**CUEVA GUARANDA ANTONIO RAFAEL  
INGENIERO ACUICOLA**

**ZAMBRANO MALDONADO DIANA ESTEFANIA  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**Producción de biomasa del crustáceo *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) alimentadas con dietas a base de diatomeas y chlorophytas.**

**CUEVA GUARANDA ANTONIO RAFAEL  
INGENIERO ACUICOLA**

**ZAMBRANO MALDONADO DIANA ESTEFANIA  
INGENIERA ACUICOLA**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE ACUICULTURA**

**PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN**

**Producción de biomasa del crustáceo *Artemia franciscana*  
(Kellogg, 1906) alimentadas con dietas a base de diatomeas y  
chlorophytas.**

**CUEVA GUARANDA ANTONIO RAFAEL  
INGENIERO ACUICOLA**

**ZAMBRANO MALDONADO DIANA ESTEFANIA  
INGENIERA ACUICOLA**

**ECHEVERRIA ESPINOZA EDISON MODESTO**

**MACHALA  
2023**

# Tesis Cueva y Zambrano Final

*por* Diana Zambrano Maldonado

---

**Fecha de entrega:** 03-oct-2023 12:30p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2184567163

**Nombre del archivo:** TURNITIN\_TESIS\_CUEVA\_ZAMBRANO\_final.docx (130.12K)

**Total de palabras:** 9466

**Total de caracteres:** 50306

# Tesis Cueva y Zambrano Final

## INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>1</b> %	<b>0</b> %	<b>1</b> %	<b>1</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	"Migración intrametropolitana y movilidad social : reproducción de clases sociales, capital simbólico y procesos de segregación en la producción del espacio en el Gran Concepción", Pontificia Universidad Catolica de Chile, 2020 Publicación	<b>1</b> %
<b>2</b>	Submitted to University of Greenwich Trabajo del estudiante	<b>&lt;1</b> %
<b>3</b>	Submitted to University of Sussex Trabajo del estudiante	<b>&lt;1</b> %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 25 words

Excluir bibliografía

Apagado

## **CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL**

Los que suscriben, CUEVA GUARANDA ANTONIO RAFAEL y ZAMBRANO MALDONADO DIANA ESTEFANIA, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Producción de biomasa del crustáceo Artemia franciscana (Kellogg, 1906) alimentadas con dietas a base de diatomeas y chlorophytas., otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.



CUEVA GUARANDA ANTONIO RAFAEL

0750418550



ZAMBRANO MALDONADO DIANA ESTEFANIA

0750629701

## **AGRADECIMIENTOS**

A nuestros padres, quienes nos han respaldado en cada etapa de nuestra vida desde nuestros primeros pasos, queremos expresar nuestra profunda gratitud por el amor y el compromiso que nos han brindado a lo largo de nuestra trayectoria universitaria. Es esencial destacar su papel fundamental en la consecución de nuestras metas.

Extendemos nuestro agradecimiento al Ing. Acuac. Edison Modesto Echeverría Espinoza, Mgs., por su valioso tiempo y orientación como nuestro principal mentor en esta investigación. Su profundo conocimiento y pasión por esta carrera nos han inspirado a profundizar nuestros conocimientos en diversas especies relevantes para la acuicultura.

También deseamos reconocer la invaluable contribución del Ing. Acuac. Fernando Bustos y su apreciada esposa, Ing. Acuac. Maritza Carpio, del laboratorio de larvas California. Su conocimiento y participación activa fueron fundamentales para el avance de nuestra investigación.

Nuestro agradecimiento se extiende al Econ. Víctor Garzón, Mgs., Ing. Acuac. Wilmer Moreira, Dr. Roberto Santacruz, Phd., Dr. Patricio Rentería, Phd., y a la Ing. Com. Eveligh Prado, PhD., por su colaboración constante y orientación. Siempre estuvieron dispuestos a aclarar nuestras dudas y a brindarnos su valioso apoyo.

A nuestros amigos más cercanos, quienes ahora se han convertido en colegas con los que hemos compartido esta increíble etapa, les agradecemos profundamente por su apoyo invaluable, su paciencia y su amor a lo largo de estos años.

*Antonio & Diana*

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de investigación es dedicado a mis padres (Antonio Cueva y Jenny Guaranda), que gracias a ellos me han dado siempre la mejor educación para mí, haciendo sacrificios en sus vidas para que yo pueda lograr mis metas, como la que estoy cumpliendo ahora. Muchas gracias por todo lo que han hecho por mí, espero tener mucho éxito en mi vida laboral y poder compensarlos, al igual que se sientan orgullosos de lo que han logrado.

De igual forma, agradezco a toda mi familia y mis hermanas que siempre estuvieron ahí para mí a lo largo de estos años. También quiero dedicar esta investigación a mi tío (Elio Guaranda) y a mi abuelito (Medardo Guaranda) que siempre me decían que me enfoque en los estudios y que no vaya por los malos pasos, finalmente lo voy a conseguir y me hubiera gustado que estén presentes para que vean que por fin lo pude lograr.

*Antonio Cueva Guaranda*

Todo mi esfuerzo puesto en este trabajo y a lo largo de mi vida académica quiero dedicársela a mis padres, María Emilia Maldonado Madero y Luis Zambrano Zambrano, gracias por estar guiando siempre mis pasos desde que aprendí a caminar, por siempre confiar en que aprovecharía cada oportunidad que me brindaban e impulsarme a seguir creciendo.

A las dos mujeres más importantes en mi vida, mi hermana Emilia Zambrano y mi Tita Laura Madero. A mi abuelo, Winston Maldonado (+), que siempre fue mi ejemplo a seguir y mi razón de ser hoy en día.

Cada nueva meta que consiga a partir de ahora y para siempre será para ustedes.

*Diana Zambrano Maldonado*



## RESUMEN

La *Artemia sp.* ha adquirido una gran importancia como la principal fuente de alimento en especies acuáticas de valor comercial debido a su facilidad de ingestión, excelente capacidad de digestión y su alto valor nutricional. Se busca llevar a estos organismos a la etapa adulta para utilizarlos como alimento en organismos acuáticos destinados a la reproducción. Por lo tanto, es fundamental proporcionar las condiciones adecuadas en su cultivo para asegurar una producción suficiente y el enriquecimiento necesario.

En esta presente investigación se evalúa el efecto de diferentes dietas a base de diatomeas y chlorophytas en la producción de biomasa de *Artemia franciscana*. Con esta finalidad, se implementaron tres diferentes dietas a base de microalgas (100% *Tetraselmis sp.*, 100% *Thalassiosira sp.* y 50% *Tetraselmis sp.* – 50% *Thalassiosira sp.*) para evaluar los resultados obtenidos en relación a crecimiento, sobrevivencia y biomasa final.

Estadísticamente se puede concluir que al analizar los datos a través de pruebas de normalidad, homogeneidad de varianza y ANOVA, se verifica que el p-valor obtenido fue mayor que el nivel de significancia alfa. Por consecuencia, no hay una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos.

La alimentación basada en *Thalassiosira sp.* ha demostrado ser una opción favorable para lograr un mayor índice de crecimiento, alcanzando una media de 5.38 mm. Por otro lado, en el caso de *Tetraselmis sp.*, se observaron tasas de sobrevivencia alrededor de 95.47% en promedio. En términos de biomasa en gramos, la dieta mixta se destaca como una propuesta sólida, generando un resultado de 1.16 gramos en peso seco, en comparación con los otros tratamientos.

**Palabras clave:** *Artemia franciscana*, microalgas, biomasa, sobrevivencia, crecimiento.

## ABSTRACT

The *Artemia sp* has acquired great importance as the main source of food for aquatic species of commercial value because it is eased to ingest, its excellent digestion capacity and the high nutritional value. The objective of this work is to cultivate the *Artemia* until the adult stage and to use them as food in shrimp broodstock. Therefore, it is essential to provide adequate conditions during the cultivation of *Artemia* to ensure the nutritional value and biomass.

To evaluate the effect of different phytoplankton diets on the biomass production of *Artemia franciscana*, three different diets based on microalgae (100% *Tetraselmis sp.*, 100% *Thalassiosira sp.* and 50% *Tetraselmis sp* – 50% *Thalassiosira sp.*) were provided. The biomass was measured in relation to growth, survival, and weight at harvest.

The statistical analysis of variance  $p>0.05$  for the diets provided determined that there was no significant difference between the different treatments. The higher growth rate with a mean of 5.38 mm was obtained with the diet based on *Thalassiosira sp.* The diet with *Tetraselmis sp.* resulted in around 95.47% of survival rate. The mixed diet provided a biomass of 1.16 grams in dry weight, which was the highest compared to other treatments.

**Keywords:** *Artemia franciscana*, phytoplankton, biomass, survival, growth.

# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	I
<b>DEDICATORIA</b> .....	II
<b>RESUMEN</b> .....	III
<b>ABSTRACT</b> .....	IV
<b>CAPITULO I</b> .....	- 1 -
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	- 1 -
<b>2. PROBLEMÁTICA</b> .....	- 3 -
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	- 4 -
<b>4. OBJETIVOS</b> .....	- 5 -
<b>4.1. Objetivo general</b> .....	- 5 -
<b>4.2. Objetivos específicos</b> .....	- 5 -
<b>4.3. Hipótesis de investigación</b> .....	- 5 -
<b>CAPITULO II</b> .....	- 6 -
<b>5. MARCO TEÓRICO</b> .....	- 6 -
<b>5.1 Artemia sp.</b> .....	- 6 -
<b>5.1.1. Taxonomía</b> .....	- 6 -
<b>5.1.2. Hábitat</b> .....	- 7 -
<b>5.1.3. Morfología</b> .....	- 7 -
<b>5.1.4. Ciclo de vida</b> .....	- 8 -
<b>5.1.6. Nutrición</b> .....	- 11 -
<b>5.1.7. Contenido nutricional</b> .....	- 12 -

5.2. Microalgas.....	- 13 -
5.2.1. Diatomeas ( <i>Bacillariophyceae</i> ).....	- 13 -
5.2.2. Clorofita ( <i>Chlorophytas</i> ).....	- 15 -
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>- 17 -</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>- 17 -</b>
<b>6.1 Materiales y Equipos.....</b>	<b>- 17 -</b>
6.1.1 Área de estudio .....	- 17 -
6.1.2 Equipos.....	- 17 -
6.1.3 Materiales.....	- 18 -
6.1.4 Material de laboratorio .....	- 19 -
6.1.5 Insumos químicos .....	- 19 -
6.1.6 Material biológico.....	- 20 -
6.1.7 Material de oficina.....	- 20 -
<b>6.2 Metodología .....</b>	<b>- 20 -</b>
6.2.1 Construcción del sistema de aireación .....	- 20 -
6.2.2 Cultivo de microalgas.....	- 20 -
6.2.3 Eclosión de Artemia .....	- 21 -
6.2.4 Preparación de unidades experimentales .....	- 21 -
6.2.5 Alimentación.....	- 22 -
6.2.6 Variables a medir .....	- 22 -
6.2.7 Diseño experimental.....	- 23 -
6.2.8 Análisis estadístico.....	- 25 -
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>- 26 -</b>

<b>7. RESULTADOS</b> .....	- 26 -
<b>7.1 Parámetros del agua</b> .....	- 26 -
<b>7.2 Incremento de biomasa</b> .....	- 27 -
<b>7.3 Crecimiento</b> .....	- 29 -
<b>7.4 Porcentaje de sobrevivencia</b> .....	- 33 -
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	- 37 -
<b>CAPÍTULO V</b> .....	- 41 -
<b>9. CONCLUSIÓN</b> .....	- 41 -
<b>10. RECOMENDACIONES</b> .....	- 43 -
<b>CAPÍTULO VI</b> .....	- 44 -
<b>11. BIBLIOGRAFIA</b> .....	- 44 -
<b>12. ANEXOS</b> .....	- 50 -

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1: A) Morfología de Artemia macho. B) Morfología de Artemia hembra. - 8 -	
Ilustración 2: Ciclo de la Artemia sp. ....- 9 -	
Ilustración 3: Cubierta del quiste de Artemia sp. Cl: Capa cuticular. Al: Capa alveolar. OCM: Membrana cuticular extrema. FL: Capa fibrosa. ICM: Capa cuticular interna. - 10 -	
Ilustración 4: Ubicación de la investigación.....- 17 -	
Ilustración 5: Distribución de tratamientos.....- 24 -	
Ilustración 6: Biomasa en gramos de las unidades experimentales.....- 28 -	
Ilustración 7: Diagrama de cajas o box plot de las medias del crecimiento en milímetros. .....- 31 -	
Ilustración 8: Crecimiento de la Artemia.....- 33 -	
Ilustración 9: Diagrama de cajas o box plot de las medias de sobrevivencia.....- 35 -	

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Según Leach (1819) La clasificación taxonómica de la Artemia sp. es la siguiente:.....	- 6 -
Tabla 2: Composición química (en % del peso seco total) de diferentes microalgas diatomeas marinas.....	- 15 -
Tabla 3: Composición química (en % del peso seco total) de diferentes microalgas chlorophytas.....	- 16 -
Tabla 4: Parámetros físicos-químicos ( $\pm$ intervalo de confianza) registrados durante el cultivo de Artemia franciscana. ....	- 26 -
Tabla 5: Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para la comparación de tratamientos en biomasa. ....	- 27 -
Tabla 6: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media en biomasa. ....	- 28 -
Tabla 7: ANOVA de un factor intergrupos para la comparación de biomasa en gramos entre las unidades experimentales.....	- 29 -
Tabla 8: Prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) para la comparación de tratamientos en el crecimiento. ....	- 30 -
Tabla 9: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media del crecimiento.....	- 30 -
Tabla 10: ANOVA de efectos inter-sujetos (días y tratamiento) entre las unidades experimentales. ....	- 32 -
Tabla 11: Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para la comparación de tratamientos en la sobrevivencia en Arcoseno. ....	- 34 -
Tabla 12: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media del porcentaje de sobrevivencia en Arcoseno.....	- 34 -

Tabla 13: ANOVA de un factor intergrupos para la comparación de supervivencia entre las unidades experimentales.....	- 36 -
Tabla 14: Análisis estadístico de comparaciones múltiples.....	- 54 -



## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Cultivo de microalgas para la alimentación .....	- 50 -
Anexo B: Ubicación de las unidades experimentales .....	- 50 -
Anexo C: Medición de oxígeno .....	- 51 -
Anexo D: Medición de pH.....	- 51 -
Anexo E: Medición de artemias.....	- 52 -
Anexo F: Ubicación de artemias para medición en microscopio. ....	- 52 -
Anexo G: Conteo de microalgas en cámara de Neubauer .....	- 53 -
Anexo H: Medición del peso en gramos de las réplicas. ....	- 53 -

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

La *Artemia sp.* en 1930 fue considerada como una especie con potencial económico en el mercado acuícola, por lo que empezó a comercializarse a partir de 1950. El Gran Lago Salado de Utah (EE. UU.) fue uno de los primeros hábitats disponible encontrados naturalmente para abarcar *Artemia sp.*, sin embargo, la creciente demanda en el mercado ha llevado a cabo la elaboración de lagos artificiales salados como en China, sur de Siberia, Kazajstán, entre otros (Azra *et al.*, 2022).

La *Artemia sp.* ha alcanzado gran relevancia como fuente principal de alimento vivo en especies acuáticas de interés comercial debido a su fácil consumo y alta digestibilidad, además alto valor nutricional. La *Artemia* contiene ácidos grasos esenciales altamente insaturados (HUFA 3w) como el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 3w) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 3w), al igual que aminoácidos esenciales lo que beneficia al crecimiento y desarrollo de los organismos. (Ordóñez *et al.*, 2021)

El suministro de *Artemia sp.* está limitada a la creciente demanda como alimento vivo para diferentes estadios dependiendo de la especie a la que se la vaya a provisionar. Grandes productores de camarón y peces marinos a nivel mundial se han visto afectados los últimos años por la elevación de los precios y escasez de los quistes (huevos de *Artemia sp.*) debido a que su cosecha depende estrictamente de las condiciones fluctuantes de factores ambientales de lagos salinos donde son recolectadas (Seychelles *et al.*, 2017).

La alimentación del zooplancton también es de suma importancia para los piscicultores y acuicultores si se busca llevarlos a una etapa de adultez para posteriormente implementarlo como alimento en organismos acuáticos especiales para reproducción, es por eso, que se deben presentar las correctas condiciones en su cultivo que garanticen su producción y enriquecimiento necesario. Para asegurar que la producción de *Artemia sp.* contenga los ácidos grasos necesarios para posterior implementación como alimento vivo, a estas se la puede enriquecer con dietas a base de microalgas que contengan los nutrientes que las complementan (Pacheco *et al.*, 2015).

Para conseguir valores nutricionales necesarios en la alimentación de reproductores como peces y camarones, es necesario que la cadena de alimentación sea eficiente, es por eso que las diversas variedades de microalgas que pueden ser suministradas para consumo de *Artemia* deban cumplir con las características nutricionales y morfológicas que faciliten su aprovechamiento. Algunas microalgas suelen contener mayor porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), carotenoides y vitaminas antioxidantes de manera natural que superan a las fuentes comerciales comúnmente utilizadas para la nutrición y desarrollo de *Artemia* hasta la etapa adulta (Pacheco *et al.*, 2015).

Debido a lo anteriormente mencionado, el siguiente trabajo será guiado a la producción de biomasa de *Artemia franciscana* probando diferentes dietas a base de microalgas (Chlorophytas y diatomeas), que permita medir su eficiencia sobre el crecimiento de *Artemia* como alimento vivo en etapa adulta, diferenciar las tallas alcanzadas, porcentaje de sobrevivencia obtenido, dieta que proporcione una mayor cantidad de biomasa y la comparación de contenido nutricional de las mismas (Elaborada por autores).

## **2. PROBLEMÁTICA**

A lo largo de los años se ha visto un aumento en la demanda de biomasa de *Artemia sp.* adulta para alimentar e incentivar la maduración de reproductores de camarones y peces en sistemas controlados, por lo tanto, se busca diferentes alternativas de alimentación para que su crecimiento y desarrollo sea en el menor periodo, lo que permitirá obtener una mayor producción de biomasa de estos crustáceos y en menor tiempo, que servirán de alimento de otros organismos de interés comercial.

El alimento vivo es la base indispensable para todos los estadíos larvarios de los organismos acuáticos como: peces, crustáceos y moluscos producidos a nivel de laboratorio, así como parte de la dieta alimenticia de diversas especies marinas silvestres.

En cultivos de *Artemia sp.* una deficiencia en la dosificación o nutrición a base de microalgas retrasa su desarrollo y aumenta el tiempo para alcanzar la madurez sexual, lo que incrementa los costos de producción y mantenimiento.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se ha impulsado el uso de organismos vivos cultivados como parte de alimentación, hacia la maduración de reproductores o para etapas jóvenes de peces y crustáceos. Uno de ellos es la demanda de biomasa de *Artemia sp.* que ha incrementado exponencialmente debido a su valor nutricional y su posicionamiento por toda la columna de agua que facilita el consumo por parte de los organismos superiores, además que este alimento vivo no afectará la calidad del agua debido a que no habrá deterioro del organismo (Browdy *et al.*, 2017).

El ecosistema en el que se recolectan los quistes (huevos en hibernación) de la *Artemia sp.* ha sido explotado con fines comerciales como insumo alimenticio acuícola con la que se pretende obtener los mayores beneficios en organismos de interés comercial, de igual forma, el valor que ha presentado desde el año 1950 sigue en incremento constante, dando como resultado la necesidad de metodología de eficiencia en eclosión y desarrollo para aprovechamiento de la misma (Belovsky & Perschon, 2019).

Una correcta dosificación de microalgas para la producción de biomasa de *Artemia sp.* mejora su calidad y valor nutricional, de esta manera se obtendrá un mejor desarrollo en un corto plazo. El alimento de este crustáceo al ser dependiente de las microalgas que se les suministre para su normal desarrollo, al basarse en una dieta eficiente nos asegura resultados óptimos, pero se hace necesario innovaciones en dosificaciones de microalgas que faciliten su crecimiento y como consecuencia, obtener un buen perfil nutricional para que puedan ser empleadas como alimentos a organismos superiores en los procesos de maduración sexual (Cisneros & Vinatea, 2009).

Para lograr un buen perfil nutricional se debe suministrar microalgas con un alto contenido de ácidos grasos como: ácidos grasos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), para que las artemias adquieran las mismas características nutricionales de las microalgas suministradas y pueda transmitir hacia la cadena trófica los mismos nutrientes para mejorar los rendimientos del cultivo (Pacheco *et al.*, 2015).

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de diferentes dietas a base de diatomeas y chlorophytas en la producción de biomasa de *Artemia franciscana*.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Evaluar cuál de las dietas promueve un mayor incremento de biomasa.
- Determinar el crecimiento en relación al tiempo de alcanzar su madurez sexual diferenciando las tallas obtenidas al finalizar el experimento.
- Evaluar la influencia de las diferentes dietas de microalgas sobre el porcentaje de sobrevivencia.

### **4.3. Hipótesis de investigación**

Partiendo del conocimiento de que las chlorophytas y las diatomeas tienen un alto contenido nutricional, se estima que, con una buena dosificación en el medio de cultivo, se obtenga mayores cantidades de biomasa de *Artemia sp.*

## CAPITULO II

### 5. MARCO TEÓRICO

#### 5.1 *Artemia* sp.

La *Artemia* sp. o también conocida como “camarón de salmuera” es un pequeño crustáceo perteneciente a la clase Branchiopoda. Tiene la posibilidad de sintetizar pigmentos respiratorios eficientemente para soportar niveles bajos de oxígeno en altas salinidades (Islam *et al.*, 2019). Su cuerpo es caracterizado por poseer segmentos recubiertos de quitina. Pueden habitar ecosistemas hipersalinos, siendo los más abundantes en este medio. Esta especie habita alrededor del mundo a excepción del continente de la Antártica (Reyes *et al.*, 2021).

Una vez alcanzada su madurez sexual presentan un dimorfismo morfológico notorio, por lo tanto, tienen una reproducción sexual (puede ser ovovivípara y ovípara) y asexual (por partenogénesis debido a la herencia genética o ausencia de machos) (Huylmans *et al.*, 2021; Lenormand *et al.*, 2017). Debido a la creciente demanda de la especie, ha sido introducida en diferentes zonas costeras del mundo, desplazando a las especies nativas. En la actualidad resaltan 5 especies reconocidas por su alta comercialización, que son: *A. monica*, *A. urmiana*, *A. sinica*, *A. salina* y la *A. franciscana* (Escudero *et al.*, 2022).

##### 5.1.1. Taxonomía

Tabla 1: Según Leach (1819) La clasificación taxonómica de la *Artemia* sp. es la siguiente:

Reino	Metazoa
Sub Reino	Eumetazoa
Phylum	Arthropoda
Sub Phylum	Mandibulata
Clase	Crustacea
Sub Clase	Branchiopoda
Infraclase	Sarcostraca

Orden	Anostraca
Familia	Artemiidae
Género	<i>Artemia</i> (Leach, 1819)
Especie	<i>Artemia franciscana</i> (Kellog, 1906)

**Fuente:** (Loayza, 2017)

### 5.1.2. Hábitat

Las artemias tienen una gran capacidad osmorreguladora para soportar ambientes hipersalinos, resistiendo diferentes composiciones iónicas como: carbono, cloro, potasio, sulfato, entre otros. Además, se ha observado que pueden adaptarse a temperaturas que oscilan entre 5-35 °C y niveles de oxígeno alrededor de 1 mg/l. Cuando se encuentran a niveles críticos de oxígeno, toman una coloración rojiza debido al aumento de hemoglobina en la hemolinfa para mejorar la captación de oxígeno disuelto (Gualotuña, 2020).

Son organismos eurihalinos lo que significa que son capaces de sobrevivir en aguas con un alto rango de salinidad (5 a 200 ppt), esto le permite encontrarse en lagos con altas salinidades donde no habitan sus depredadores, logrando mayores sobrevivencias (Islam *et al.*, 2019). Según Dhont and Lavens (1996, como se citó en Maldonado-Montiel & Rodríguez-Canché, 2005) los parámetros óptimos para su producción deben mantenerse dentro de los siguientes rangos: salinidad (32-65 ppt), oxígeno (mayor a 2 mg/l), temperatura (19-25 °C) y un pH (oscila entre 6,5-8), sin embargo, en condiciones silvestres pueden tolerar mayores rangos y mejor adaptabilidad.

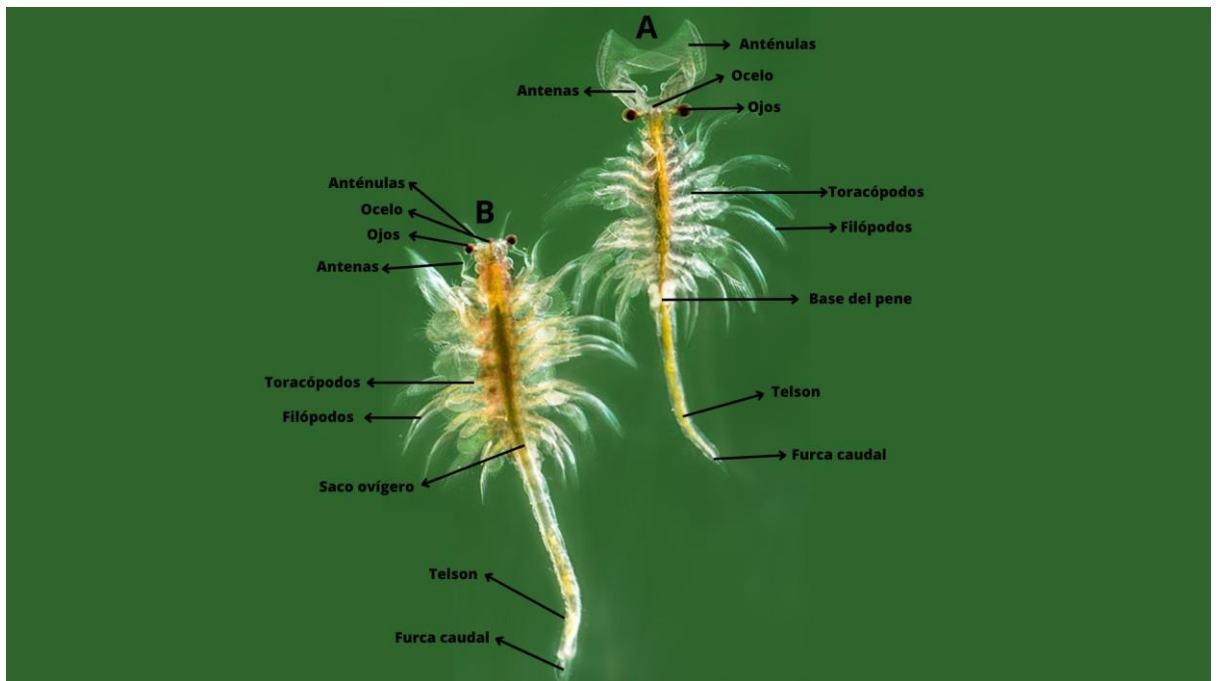
### 5.1.3. Morfología

Su cuerpo está dividido en cabeza, tórax y abdomen. Por lo general su tamaño varía de acuerdo al sexo, el macho puede medir de 8-10 mm y la hembra es de mayor tamaño con 10-12 mm (Stappen, 2012). Los machos presentan 2 penes retractiles y unas antenas más desarrolladas de mayor tamaño para sujetarse de la hembra mientras están en un proceso cópula, la hembra por otro lado, presenta antenas de menor tamaño y un ovisaco donde retiene los huevos fecundados hasta desovar (Lomas *et al.*, 2015).



La cabeza está compuesta por un ojo naupliar y los ojos compuestos, las antenas, anténulas, un par de mandíbulas y las maxílulas (Lomas *et al.*, 2015). El tórax presenta once segmentos o somitos adheridos con toracópodos. El abdomen está constituido por 8 segmentos, los 2 primeros contienen los órganos reproductores y los otros 6 carecen de toracópodos y genitales (Ruiz Pérez, 2008). Al finalizar el abdomen podemos encontrar el telson constituido por la furca caudal (Gualotuña, 2020).

Ilustración 1: A) Morfología de Artemia macho. B) Morfología de Artemia hembra.



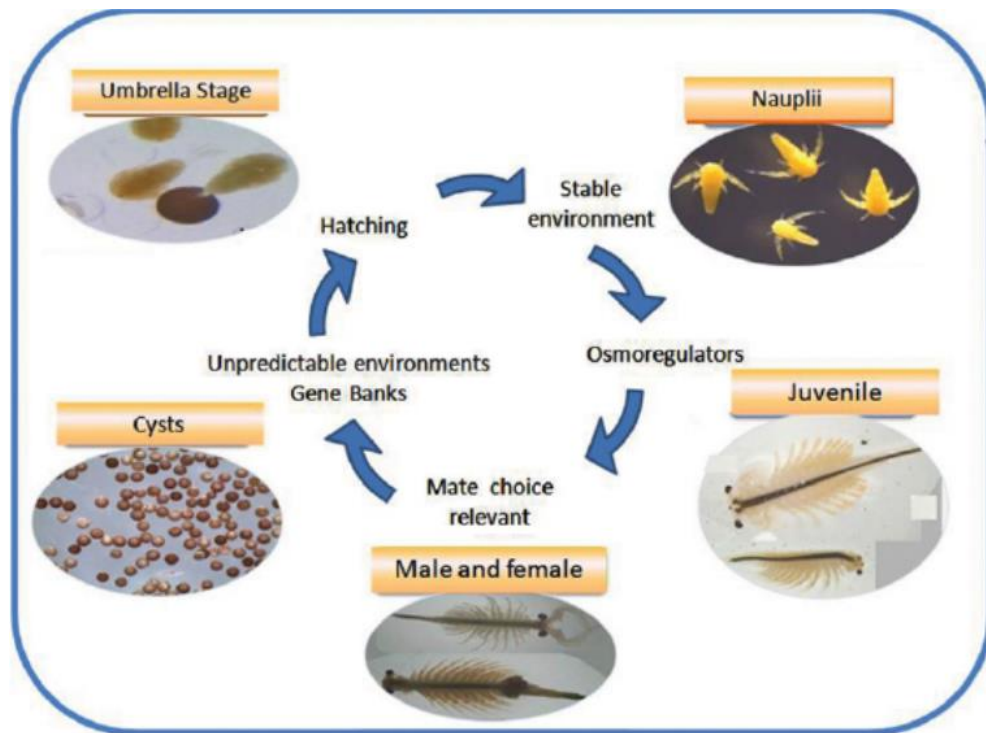
Fuente: Gualotuña (2020)

Elaboración: Adaptación de autores

#### 5.1.4. Ciclo de vida

Su ciclo de vida está conformado por 5 etapas empezando de orden ascendente: cistos, nauplio, metanauplio, juvenil o pre-adulto y adulto (Yockteng, 2017, como se citó en Gualotuña, 2020).

Ilustración 2: Ciclo de la Artemia sp.

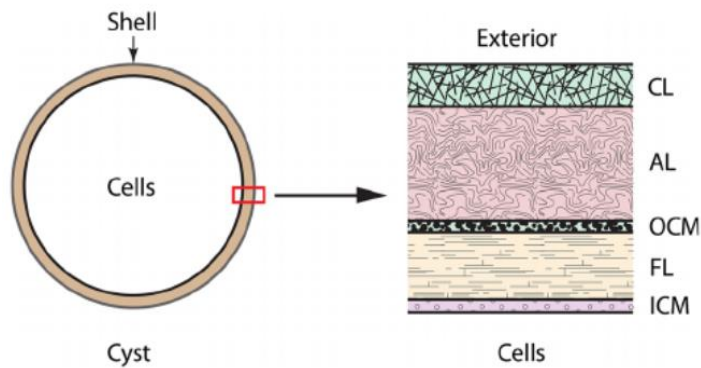


Fuente: (Hordijk & Steel, 2018).

**Cistos:** Los cistos o también conocidos como quistes o huevos de *Artemia sp.* una vez fecundados pueden o no desarrollarse dentro del ovisaco dependiendo de las condiciones del medio, en el caso que sean adversas los embriones estarán rodeados de una corteza de quitina rígida, entrando a un estado de diapausa (un estado de detención del desarrollo y tolerancia al estrés) que les ayudará a la sobrevivencia en los diferentes parámetros críticos del medio (MacRae, 2016).

Los quistes pueden medir de 0,2 - 0,3 mm con un peso promedio de 3,5 microgramos. Como se mencionó anteriormente pueden soportar condiciones extremas, falta de oxígeno, sequedad excesiva, líquidos tóxicos, entre otros. Son capaces de tolerar altas temperaturas hasta los 80 °C, sin embargo, una vez hidratadas a temperaturas menores a 0 °C y mayores a 40 °C puede ser letal (Dumitrascu, 2011). Generalmente un gramo de quistes varía de 200.000 - 320.000 cistos/g, la cantidad y calidad va a depender de la especie y la marca comercial (Kumar & BABU, 2015).

Ilustración 3: Cubierta del quiste de *Artemia* sp. Cl: Capa cuticular. Al: Capa alveolar. OCM: Membrana cuticular extrema. FL: Capa fibrosa. ICM: Capa cuticular interna.



Fuente: (MacRae, 2016).

**Nauplio:** Una vez que eclosiona el quiste, obtenemos el nauplio, el cual se caracteriza por tener una coloración naranja y por no poseer los segmentos completos (Gualotuña, 2020). Poseen un ojo naupliar, con fototropismo positivo, presenta 3 pares de apéndices: antenas (para moverse en la columna de agua), anténulas y las mandíbulas (Ruiz Pérez, 2008).

Según Vikas *et al.*, (2021) se puede observar longitudes de nauplios recién eclosionados de 0,4 - 0,57 mm el cuál dependerá de las cepas o la genética de la *Artemia* sp. 8 a 12 horas después de la primera muda, el nauplio pasa a su siguiente estadio (metanauplio) el cual ya poseerá un sistema digestivo completo (Smirnov *et al.*, 2019).

**Metanauplio:** Debido a que ya tiene un sistema digestivo funcional, podrá alimentarse de microorganismos como algas o bacterias de 1-40  $\mu\text{m}$  de tamaño (Smirnov *et al.*, 2019). Este estadio puede durar entre 15 - 20 horas, por lo general se lo puede observar después de las 48 horas de eclosión. Se distingue de la fase anterior, debido a que empiezan a desarrollar los toracópodos (González, 2018). La FAO (1988, como se citó en López *et al.*, 2021) afirma que su tamaño puede variar de 0,9 - 2,6 mm.

**Juvenil:** La etapa juvenil o también llamada pre-adultos, se caracteriza por la similitud al estadio adulto, sus toracópodos están totalmente desarrollados y ya pueden utilizarlos para nadar, reemplazando la función de las antenas. En este estadio empieza la aparición del dimorfismo sexual, presentando la formación de una protuberancia en el

segmento inferior, que posteriormente se convertirá en el ovisaco en las hembras y en los machos empezará a desarrollar sus antenas en forma de pinzas, que más adelante servirá para aferrarse a la hembra durante la cópula (González, 2018). La FAO (1988, como se citó en López *et al.*, 2021) afirma que su tamaño puede variar de 2,7 - 5 mm.

**Adulto:** Etapa en que puede distinguir las 3 partes del cuerpo (cabeza, tórax y abdomen), se diferencia claramente su sexualidad, las antenas de las hembras son más reducidas y la de los machos robustas como pinzas (González, 2018). El ritmo de crecimiento de la *Artemia sp.* hasta alcanzar su etapa adulta, va a variar de acuerdo a las condiciones del agua, considerando parámetros como: oxígeno, temperatura, alimentación, salinidad, densidad, entre otros. Si las condiciones no son favorables puede tardar semanas hasta alcanzar la fase adulta (Gualotuña, 2020).

Su tasa de fecundidad es alta, debido a que puede llegar a alcanzar hasta 250 embriones por desove, dependiendo de las condiciones fisicoquímicas del hábitat, disponibilidad y calidad de alimento y de la especie. Considerando todas estas variables la *Artemia sp.* puede desovar hasta 20 veces en toda su vida (Camara, 2020).

#### **5.1.6. Nutrición**

La alimentación de la *Artemia sp.* va a depender del estadio y la selección del tamaño de alimento. Debido a que es un organismo filtrador, el alimento deberá encajar en las mandíbulas del organismo. Como se encuentra en mares y lagos con alta salinidad, son pocas las especies de productividad primaria (microalgas y bacterias) que puedan soportar este ambiente hipersalino y funcionar como alimento, por ejemplo, se ha encontrado especies de *Dunaliella sp.* (8 - 12  $\mu\text{m}$ ), *Chlamydomonas sp.* (4 - 7  $\mu\text{m}$ ), cianobacterias (1 - 2  $\mu\text{m}$ ), diatomeas (20 - 40  $\mu\text{m}$ ) (Makridis & Vadstein, 1999).

**Nauplio:** Una vez eclosionado del cisto o expulsado del útero de la hembra, este no tiene la capacidad de alimentarse, por no poseer un sistema digestivo desarrollado, no obstante, tiene una gran reserva vitelina que le proporcionará todos los nutrientes necesarios hasta desarrollar todo su sistema digestivo y alcanzar su siguiente estadio (Gualotuña, 2020).

**Metanauplio:** En un estudio realizado por Makridis & Vadstein, (1999) determinaron que el rango de partículas de alimentación para metanauplios de *Artemia franciscana* de 0,88 y 2,61 mm de tamaño fue entre 3 - 8  $\mu\text{m}$  de preferencia, mientras que partículas entre 0,5 y 1  $\mu\text{m}$  se observaron una tasa de eliminación alta por no estar correlacionada al tamaño del organismo. Sin embargo, en otros estudios determinan que este estadio prefiere células menores a 16  $\mu\text{m}$  (Pacheco *et al.*, 2015).

**Adulto:** Puede alimentarse de diferentes dietas, ya sea por microalgas, bacterias, protozoarios o micropartículas de detritus. Según diferentes autores la *Artemia* adulta tiene la capacidad de alimentarse de partículas menores a 50  $\mu\text{m}$ , sin embargo, tiene una preferencia por tamaños menores a 30  $\mu\text{m}$ , obteniendo mejores resultados y asimilación del alimento con una baja tasa de eliminación (Nevejan *et al.*, 2016).

### 5.1.7. Contenido nutricional

La *Artemia sp.* utiliza materiales orgánicos intracelulares para la regulación osmótica, la cual se regula durante el proceso de síntesis y degradación de los aminoácidos. Consecuentemente a mayores salinidades incrementa las concentraciones intracelulares mediante la liberación de aminoácidos, aumento del catabolismo proteico y la hidrólisis de las proteínas para aumentar aminoácidos (Zadehmohseni *et al.*, 2020).

Con base en los resultados obtenidos de Zadehmohseni *et al.* (2020) los principales aminoácidos a considerar tenemos: Aminoácidos esenciales (Arginina, histidina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, isoleucina, valina) y los aminoácidos no esenciales (Ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, glicina, prolina, tirosina, serina, cisteína), recalcando como los más importantes de la *Artemia sp.* frente al estrés ambiental y como regulador osmótico: la arginina, leucina, lisina, tirosina, prolina y ácido glutámico.

Teniendo en cuenta a Zadehmohseni *et al.* (2020) y a Manickam *et al.*, (2017) su contenido nutricional dependerá de: la especie, latitud, alimentación, etapa de desarrollo, ciclo de vida y niveles de salinidad.

**Cistos:** Como expresa Mana *et al.*, (2015) el contenido de proteína de un quiste de *Artemia sp.* puede variar en un rango de 49,7% - 58,6%, alrededor de 18,6% de lípidos,

y alrededor de 80,43% de ácidos grasos con niveles de n-3 PUFA que pueden variar 2,58% - 9,26% y n-3 HUFA 0,64% - 8,79%.

**Nauplio:** El contenido de proteína de un nauplio de *Artemia sp.* puede variar alrededor de 59,23 % con un nivel de aminoácidos totales de 83,67% y ácidos grasos del 72,46% con niveles de EPA y DHA del 2,8% y 0,91% respectivamente. De igual forma, Mana *et al.*, (2015) expresa que los niveles de n-3 PUFA pueden variar 3,13% - 22,18% y n-3 HUFA 0,88% - 16,40% (Manickam *et al.*, 2017).

**Adulto:** Las cantidades de contenido nutricional de una *Artemia* adulta dependerá de la composición nutricional del alimento empleado al organismo y de la especie. En su estudio obtuvieron cantidades de proteína que varió desde 43,33% - 62,41% con los niveles más altos de PUFA (29,91%) y HUFA (4,93%), al igual que los niveles de EPA Y DHA fueron de 4,93% - 6,69% y 0,9% respectivamente (Herawati *et al.*, 2014).

## 5.2. Microalgas

A lo largo de los años se ha implementado el uso de las algas para diversas áreas de interés, las microalgas dentro de la acuicultura han generado gran impacto como fuente alimenticia de organismos de interés comercial en sus primeros estadios debido a su gran aporte nutricional (Dawes, 1986).

Como se da a conocer en Rendón *et al.*, (2015) cuantitativamente el componente más importante dentro de la composición nutricional de la biomasa microalgal son las proteínas, representando aproximadamente el 50% encontrado en el peso seco total, llegando a un 90% al sumarse los carbohidratos y lípidos, el 10% restante corresponde a componentes menores, minerales, pigmentos y ácidos nucleicos. El valor proteico encontrado en las microalgas depende de la fuente de nitrógeno que se es suministrada, es por esto que la cantidad de proteína disminuye sí desciende el nitrógeno en el medio (Abalde *et al.*, 1995).

### 5.2.1. Diatomeas (*Bacillariophyceae*)

Field *et al.*, (1998, como se citó en Díaz *et al.*, 2021) describe a las diatomeas como los organismos microscópicos de más abundancia del fitoplancton con capacidad de desarrollarse en ambientes acuáticos que les favorezca a la realización de la

fotosíntesis, lo que a su vez aporta a la producción primaria terrestre total aproximadamente en un 25%.

Cuerpos eucariotas que pueden presentarse, dependiendo la especie, de diferentes formas y tamaños con rangos que oscilan entre 5 y 200  $\mu\text{m}$  (0.01 a 0.2 mm), aunque se han estudiado diatomeas que superan este rango, llegando a los 261 $\mu\text{m}$  según la comparación bibliográfica de (Ramírez *et al.*, 2021) en el estudio de *I. guatimalensis*.

Como lo da a conocer (Portuguez, 2020), el cual toma como referencia la simetría, las diatomeas se las puede diferenciar en dos grupos: Pennales, las cuales poseen una simetría bilateral y las diatomeas centrales que se caracterizan por poseer una simetría radial. Teniendo en cuenta su morfología, las frústulas que son las paredes de sílice características de las diatomeas, poseen ornamentaciones que realizan labores variadas y son empleadas para la diferenciación taxonómica. De igual forma, impone vías para el intercambio gaseoso, captación de nutrientes y expulsión de productos celulares.

Se llegan a encontrar mayormente en agua salada, sin embargo, se da a conocer que están en todo ambiente natural en donde exista una fuente hídrica, incluyendo aguas estancadas. Las diatomeas poseen pigmentos fotosintéticos (clorofila *a + c* y xantofilas + carotenoides) que al combinarse dan como resultado una coloración dorado - marrón, característico de estos organismos (Casa, 2020).

Muchas de las especies de estas microalgas tienen requerimientos ambientales específicos que les permite su desarrollo en ciertas fuentes hídricas, es por eso que se han utilizado como bioindicadores de calidad de agua y medio ambiente que permite monitorear los cambios de las condiciones ecológicas a largo plazo (Wehr *et al.*, 2015).

Mayormente el uso de diatomeas como *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Chaetoceros* y *Phaeodactylum* ha ido en aumento por el incremento de la demanda dentro de la acuicultura como alimento para estadio larvario de camarones, crustáceos, moluscos y artemias (Prieto, 2006) debido a esto, se menciona que las valoraciones de las mismas para ser suministradas a organismos de interés comercial deben establecerse por la composición bioquímica, tamaño, digestibilidad y forma para que pueda ser aprovechada (Roy & Pal, 2015).

### 5.2.1.1. Contenido nutricional de las Diatomeas

Como se citó en Leal *et al.*, (2013), da a conocer que el contenido nutricional de diferentes diatomeas, según las salinidades en las que se las encuentra, posee valores altos de carbohidratos, registran porcentajes de lípidos entre 4% y 7% y en proteínas de 8% y 9%, esto en el estudio de diferentes especies de diatomeas de tipo bentónico como fueron *Nitzschia sp.*, *Amphora sp.*, *Navicula Incerta* y *Proschkinia sp.* De igual manera, la investigación le pone énfasis en que los resultados más altos y beneficiosos en el análisis de lípidos y proteínas en diatomeas suelen encontrarse en especies cultivadas a bajas salinidades.

Tabla 2: Composición química (en % del peso seco total) de diferentes microalgas diatomeas marinas.

ESPECIE	PROTEÍNA	CARBOHIDRATOS	LÍPIDOS
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	33	17	10
<i>Skeletonema costatum</i>	37	21	7
<i>Phaeodactylum tricornutus</i>	33	24	10
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	29	17	10

Fuente: (Abalde *et al.*, 1995)

El contenido nutricional de las diatomeas marinas varía según la especie y las condiciones de cultivo, estas pueden tener rangos de 29% a 37% de proteínas, de 17% a 24% de carbohidratos y del 7% a 10% de lípidos (Elaborado por autores).

### 5.2.2. Clorofita (*Chlorophytas*)

Díaz & Prieto (2015) indican que las clorofitas pueden ser microalgas que se encuentran en tamaños desde las 10 micras, como las tetraselmis, hasta macroalgas de un metro como la *Ulva*. Encontradas principalmente en agua dulce, se diferencian notablemente por su clorofila *a* y *b* que les brindan el color verde característico, al igual que xantofilas y carotenoides.

Organismos que tienden a variar morfológicamente dependiendo de la especie. Se encuentran divididos en cuatro grupos que son algas móviles, algas filamentosas, algas



sifonosas y algas pluricelulares, las cuales se diferencian por su composición interna, complejidad del organismo y la longitud de su estado natural (Pérez Sánchez, 2022).

Las clorofitas de mayor uso en la acuicultura como *Chlorella sp.*, *Dunaliella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* y *Nannochloris* sirven de fuente alimenticia para organismos acuáticos en estado larvario, como lo son moluscos, cladóceros, rotíferos y artemias (Prieto, 2006).

### 5.2.2.1. Contenido nutricional de las Clorofitas

Tabla 3: Composición química (en % del peso seco total) de diferentes microalgas chlorophytas.

ESPECIES	PROTEÍNA	CARBOHIDRATOS	LÍPIDOS
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50 – 56	10 – 17	12 – 14
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	08 – 18	21 – 52	16 – 40
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51 – 58	12 – 17	14 – 22
<i>Dunaliella Salina</i>	57	32	9
<i>Tetraselmis suecica</i>	39	8	7

Fuente: (Rendón *et al.*, 2015)

El contenido nutricional de las Chlorophytas microscópicas va a depender de la especie y las condiciones de cultivo, estas pueden tener rangos de 8% a 60% de proteínas, de 10% al 55% de carbohidratos y del 7% al 40% de lípidos.

## CAPÍTULO III

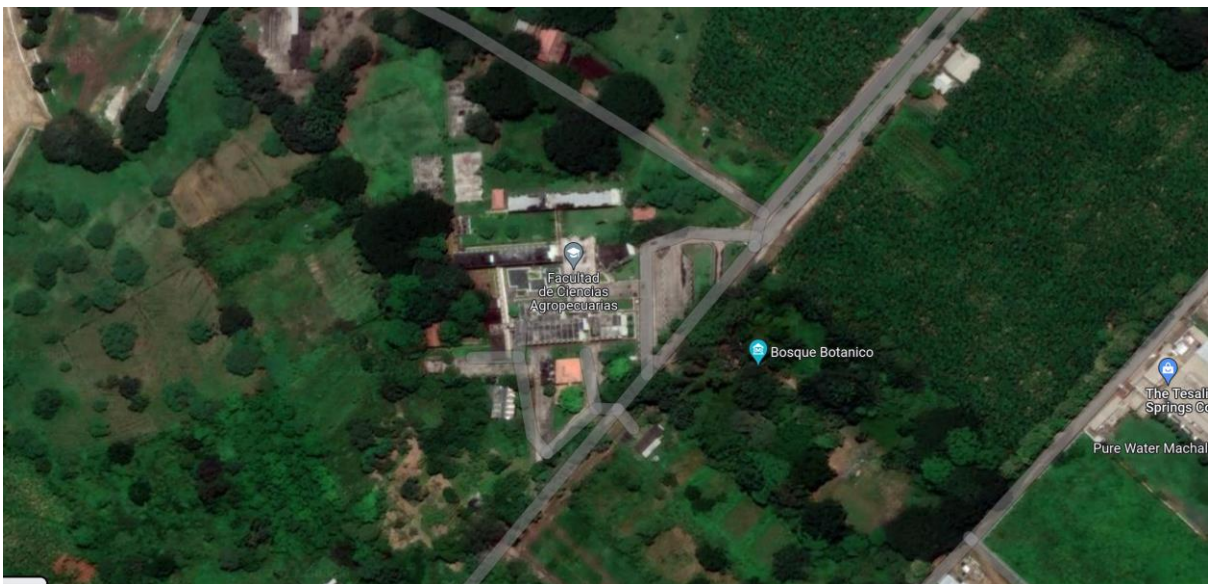
### 6. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 6.1 Materiales y Equipos

##### 6.1.1 Área de estudio

La presente investigación se realizó en las instalaciones en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, en el laboratorio de citogenética con las coordenadas 3°17'28.4"S 79°54'49.5"O, Machala, El Oro, Ecuador.

Ilustración 4: Ubicación de la investigación.



Fuente: Google Earth (2023)

##### 6.1.2 Equipos

- 2 compresores de aire 35W
- Taladro
- Refractómetro
- Medidor de pH digital
- Termómetro

- Oxigenometro
- Microscopio binocular
- Balanza analítica
- Estufa de secado
- Filtro de agua
- 3 lámparas led de 1.2 metros, 36 W

### **6.1.3 Materiales**

- 10 metros de tubo pvc de  $\frac{3}{4}$
- 4 codos de unión de  $\frac{3}{4}$
- 2 T de unión de  $\frac{3}{4}$
- 28 llaves de paso de aire
- 20 metros de manguera 3/16
- Sorbetes de plástico
- Lavacara de 3 litros
- Sal Marina en grano
- Tanque de reservorio de 30 litros
- Tanque de 20 litros
- Agua dulce filtrada
- Agua salada de laboratorio
- Agua destilada
- 12 baldes de 5 litros
- 16 botellas de 4 litros
- Bolso filtrante
- Plástico geomembrana
- Jeringas de 5ml
- Jeringas de 60ml
- 2 esponjas de lavar
- Vasos de plástico
- Pegamento de tubería
- Taza medidora
- Fundas plásticas impermeables

- Espátula
- Linterna

#### **6.1.4 Material de laboratorio**

- Cámara de Neubauer
- 1 pipeta de 1ml
- 7 pipetas de 10 ml
- Caja de tubos capilares
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Gotero
- 4 Beaker de 80 ml
- 20 cajas Petri desechables
- Eclosionador para Artemia
- Pipeteador de embolo
- Malla de 60 micras
- Ocular de microscopio con medida milimétrica
- Cubre objeto milimetrado
- Mortero
- Crisol

#### **6.1.5 Insumos químicos**

- Ortotolidina
- Vitamina C
- Alcohol potable 96°
- Cloro líquido
- Detergente en polvo
- Medios de cultivo para microalgas (F/2 Guillard)
- Lugol
- Buffer de calibración de Ph

### **6.1.6 Material biológico**

- Cepa de microalgas (*Tetraselmis sp.* Y *Thalassiosira sp.*)
- Cistos de *Artemia franciscana*

### **6.1.7 Material de oficina**

- Cuaderno
- Marcador negro
- Cinta doble cara
- Cinta para ducto
- Esferos
- Tijera
- Ligas

## **6.2 Metodología**

### **6.2.1 Construcción del sistema de aireación**

Para la construcción del sistema de aireación para la producción de *Artemia* implementado, se elaboró un sistema a base de tubos PVC  $\frac{3}{4}$  de 6.4 metros de longitud los cuales fueron divididos en dos tramos de 2.80 m y dos tramos de 0.40 m, la forma final se asimila a un rectángulo. Cada tubo PVC fue perforado para conseguir 12 agujeros que permitan la salida de aire, la cual se regulaba con llaves de paso para un mayor control a los niveles de oxigenación suministrados de acuerdo a su necesidad.

Se utilizaron mangueras de 3/16, un extremo conectado a la llave de paso y el otro extremo a sorbetes que permitían la expulsión del aire desde el fondo de los baldes. Para el ingreso de aire al sistema, se implementó un compresor de 35W, con la capacidad para abastecer de oxígeno en el sistema de producción.

### **6.2.2 Cultivo de microalgas**

Se implementó el sistema de aireación y un sistema de abastecimiento de luz las 24 horas para garantizar el proceso de fotosíntesis.

Se consiguió la cepa de *Tetraselmis sp.* y *Thalassiosira sp.* de laboratorio de larvas de camarón y se da iniciación a su proliferación 8 días antes del comienzo de eclosión de

la *Artemia* para asegurar densidad microalgal antes de emprender a alimentar con esta. El repique de las microalgas se realizó dependiendo de la concentración de células por mililitro encontrada en la cepa madre, con el uso del método F/2 Guillard. Las *Tetraselmis sp.* fueron repicadas en promedio cada ocho días y las *Thalassiosira sp.* en un lapso de tres días dependiendo de la necesidad de estas como alimento.

### **6.2.3 Eclosión de Artemia**

Se llevó a cabo la eclosión de cistos de *Artemia* comercial (cistos de *Artemia franciscana* del gran lago salado de Utah con un 70% de eclosión) utilizando un eclosionador artesanal que consiste en el uso de una botella oscura de 2 litros con un corte vertical en la base que permita sostener la boca de la botella sobre la misma.

Una vez asegurada la infraestructura del eclosionador, se le colocó litro y medio de agua tratada y desinfectada proveniente de laboratorio de larvas de camarón a una salinidad de 30ppt; se conectó la manguera de un aireador con potencia alta a un sorbete que permitió la expulsión del aire desde el fondo.

Se colocó 1g de cistos para eclosión y se cubrió completamente la botella con un plástico negro para evitar el ingreso de cualquier fuente de luz. Una vez transcurridas aproximadamente las 24 horas desde la colocación de los cistos, se suspendió la aireación y se dejan asentar los nauplios con la ayuda de una linterna que ingrese luz por la parte inferior de la botella, dejando los huevos no eclosionados en la superficie para retirarlos.

### **6.2.4 Preparación de unidades experimentales**

Para el desarrollo de la parte experimental, se dio uso de doce tachos transparentes de forma cilíndrica y su respectiva tapa, previamente lavadas y desinfectadas.

El experimento se dividió en 12 unidades experimentales, 4 unidades para el tratamiento A (100% *Tetraselmis sp.*), 4 unidades para el tratamiento B (100% *Thalassiosira sp.*) y 4 unidades para el tratamiento C (50% *Tetraselmis sp.* – 50% *Thalassiosira sp.*). Cada unidad experimental contó con una capacidad total de 5 litros y se trabajó con un volumen de 4 litros de agua tratada y desinfectada proveniente de laboratorio de larvas de camarón a una salinidad de 30ppt.

Se dio un conteo de células por mililitro de microalgas en cada cultivo y se realizaron los cálculos respectivos para enrasar a un promedio de 100.000 cel/ml de microalgas en los 4 litros de agua salada a utilizar, posteriormente se colocaron las unidades muestrales. La densidad de siembra aplicada en cada unidad experimental fue de 800 nauplios de Artemia (200 nauplios/litro) contabilizados por método volumétrico tomando como referencia 10 muestras y sacando un promedio con ayuda de una pipeta de 1ml.

### **6.2.5 Alimentación**

Para mantener una concentración abundante y suficiente para la producción, se estandarizó una densidad aproximada de 100.000 células/ml de microalgas por cada tratamiento. La alimentación se realizó cada 8 horas (06:00 am, 14:00 pm y 22:00 pm), de esta manera se realizaba el conteo microalgal adecuado de cada replica y del cultivo de microalga utilizando una cámara de Neubauer, en cada tiempo de alimentación se eliminaba el agua excedente que posteriormente se enrasaba complementándolo con las células de microalgas para alcanzar las 100.000 células/ml en el medio.

### **6.2.6 Variables a medir**

#### **6.2.6.1 Parámetros del agua**

Los parámetros de oxígeno, temperatura, pH y salinidad se midieron todos los días, empezando desde las 11:00 am hasta las 12:00 pm hasta culminar la investigación, a excepción del día de su cosecha, que fue de 8:00 am a 9:00 am. Para medir el oxígeno y la temperatura se utilizó un oxigenómetro con una décima de precisión, el pH mediante un pH-metro digital tipo pen con dos décimas de precisión y la salinidad con un refractómetro.

#### **6.2.6.2 Crecimiento**

El crecimiento en longitud de las artemias se midió utilizando un cubreobjeto milimetrado y un ocular de microscopio con medida milimétrica para mejorar la exactitud. La medición se realizó desde el ocelo hasta la furca caudal.

### 6.2.6.3 Sobrevivencia

La sobrevivencia fue medida al finalizar el experimento, recolectando todas las muestras de Artemia, utilizando jeringas y cajas Petri para facilitar el conteo manual para obtener una mayor precisión en el resultado. Una vez obtenido los datos totales de cada tratamiento se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Sup (\%)} = \frac{pf}{pi} \times 100$$

Donde:

Sup (%): Porcentaje de sobrevivencia

pf: Población final

pi: Población inicial

### 6.2.6.4 Biomasa

Para obtener la biomasa, se cosecharon las artemias con ayuda de una cernidera y se dejó escurrir durante 2 minutos cada réplica, así disminuir la cantidad de agua homogéneamente. Una vez escurrido se traspasó a un crisol previamente tarado en la balanza analítica, logrando el peso húmedo de la muestra. Para conseguir el peso seco, se transfirieron las muestras de Artemia a cajas Petri, para obtener un mejor secado. La estufa se mantuvo a 45 °C durante 7 días y posteriormente se retiró la Artemia totalmente seca. Con una pequeña espátula se empieza a separar la muestra de la caja Petri para trasladar a un mortero a fin de moler los pequeños grumos. Se obtuvo la harina, la cual se pesó en la balanza analítica para obtener el resultado del peso seco.

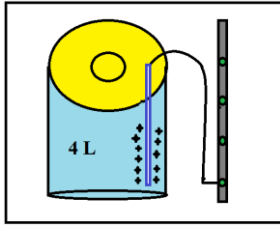
### 6.2.7 Diseño experimental

El diseño experimental se basó en un diseño completamente al azar, el cual consistió de tres tratamientos y cuatro repeticiones; el tratamiento A alimentada 100% de *Tetraselmis sp.*, tratamiento B alimentada 100% de *Thalassiosira sp.* y el tratamiento C alimentada 50% de *Tetraselmis sp.* – 50% de *Thalassiosira sp.* Para obtener datos las condiciones de cultivo fueron homogéneas.

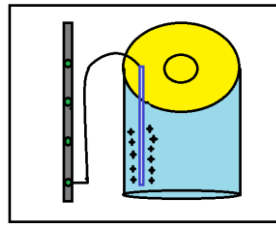


Ilustración 5: Distribución de tratamientos.

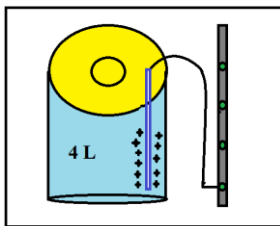
**TA2**



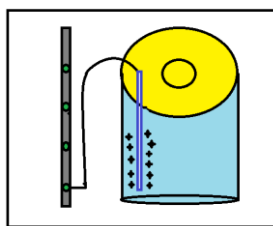
**TB2**



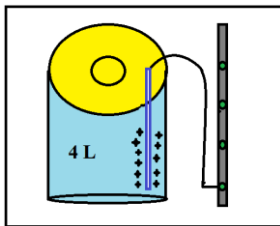
**TC1**



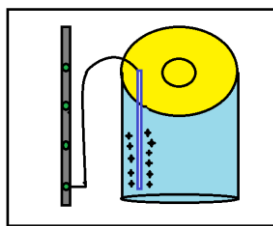
**TA3**



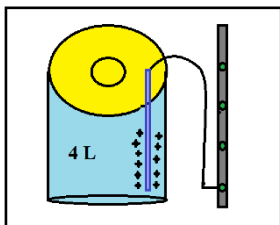
**TC2**



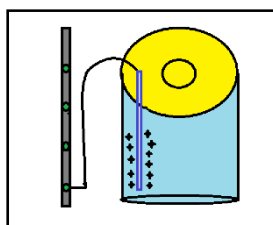
**TB4**



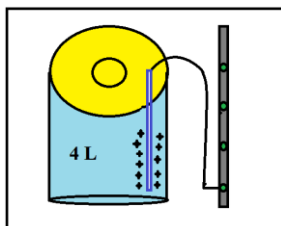
**TB1**



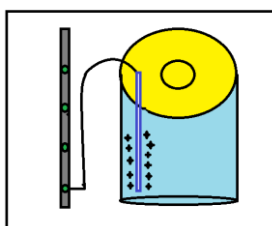
**TA1**



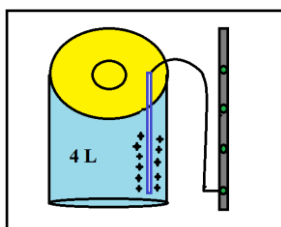
**TA4**



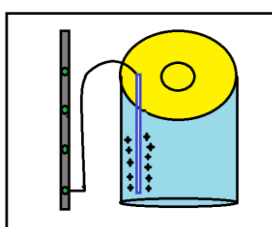
**TC4**



**TB3**



**TC3**



Fuente: Elaborado por los autores

### **6.2.8 Análisis estadístico**

Para la presente investigación se utilizó el programa IBM SPSS statistics 25, determinando el análisis estadístico ANOVA para verificar si existe alguna diferencia significativa de cada tratamiento de cada objetivo específico. También nos ayudó a determinar el intervalo de confianza, en lo que respecta los parámetros de agua (oxígeno, temperatura, pH y salinidad) utilizando la distribución de t de student. Para los gráficos de barra se utilizó Microsoft Excel LTSC 2021.

## CAPÍTULO IV

### 7. RESULTADOS

#### 7.1 Parámetros del agua

La relación a los valores de oxígeno se mantuvo entre 6.967 a 7.053 mg/l siendo mayor a la concentración de 2 mg/l mínima para obtener las óptimas condiciones de cultivo requerida como lo manifiesta Maldonado-Montiel & Rodríguez-Canché (2005), esto debido a que siempre se mantuvo una aireación constante y adecuada en todo el proceso. Respecto a la temperatura, se obtuvo valores entre 28.044 a 28.122 °C que de acuerdo a la investigación de Cisneros & Vinatea (2009) en otros cultivos en tanques, mantienen temperaturas de 25 a 28 °C por su gran rango de tolerancia.

Asimismo, los valores de pH recomendados por Maldonado-Montiel & Rodríguez-Canché (2005) son de 6.5-8, mientras que en la presente investigación se mantuvo entre 7.97 a 8.048 el cual está en el margen de las óptimas condiciones.

En el caso de la salinidad inicial del cultivo fue de 32 ppt y se obtuvieron variaciones debido a las salinidades del medio de cultivo de las microalgas, donde se bajó el nivel en cada unidad experimental para enrasar con la nueva alimentación, adquiriendo valores entre 30.639 a 32.5 ppt, no obstante, se mantienen dentro del rango de tolerancia mencionado por Islam, Kibria, & Bhuyan (2019).

Tabla 4: Parámetros físicos-químicos ( $\pm$  intervalo de confianza) registrados durante el cultivo de *Artemia franciscana*.

	TRATAMIENTO	Oxígeno mg /l	Temperatura °C	pH	‰ Salinidad
MEDIA	TA	7.053 $\pm$ 0.119	28.122 $\pm$ 0.288	7.97 $\pm$ 0.077	32.500 $\pm$ 0.937
	TB	6.994 $\pm$ 0.162	28.100 $\pm$ 0.355	8.048 $\pm$ 0.061	30.639 $\pm$ 1.730
	TC	6.967 $\pm$ 0.131	28.044 $\pm$ 0.272	8.009 $\pm$ 0.067	31.944 $\pm$ 0.853

Fuente: Elaborado por los autores

## 7.2 Incremento de biomasa

Es necesario que los datos recolectados sigan una distribución normal. Por lo tanto, aplicamos el test de normalidad de Shapiro-Wilk ya que estamos trabajando con muestras que contienen menos de 50 observaciones. Al examinar los datos de biomasa en cada uno de los tratamientos, se observó que en los tres casos los resultados son mayores que el valor de alfa ( $p > 0.05$ ). Esto nos lleva a la conclusión de que, en todos los escenarios, los datos siguen una distribución normal (Tabla 5).

Tabla 5: Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para la comparación de tratamientos en biomasa.

		Pruebas de normalidad					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Tratamientos	Estadístico	gl	p-valor	Estadístico	gl	p-valor
Peso en gr	TA	.298	4	.	.849	4	.224
	TB	.250	4	.	.945	4	.683
	TC	.250	4	.	.945	4	.683

a. Corrección de significación de Lilliefors

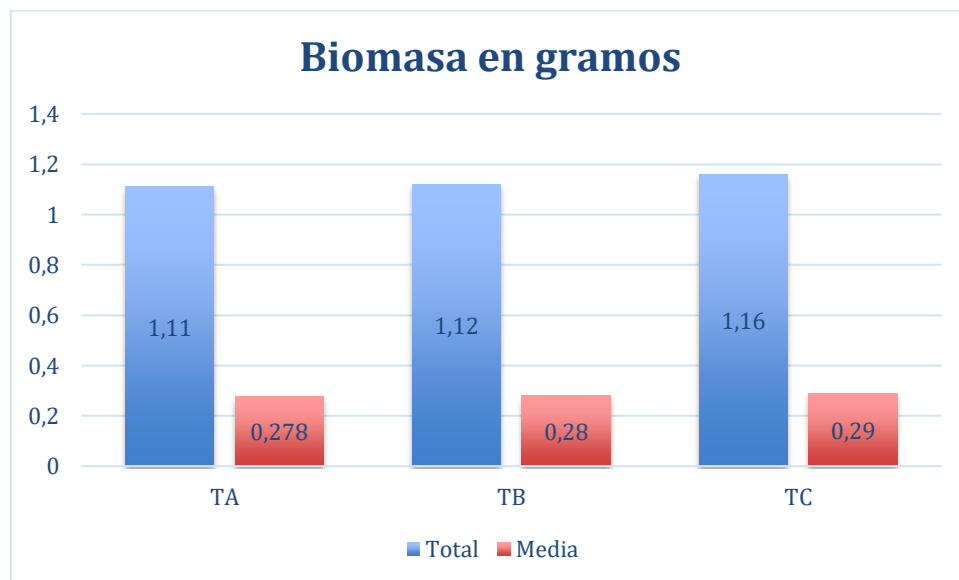
El segundo supuesto a comprobar es que cumpla la prueba de homogeneidad de varianza, la cual nos indica con un p-valor de (0.421) es mayor a alfa ( $p > 0.05$ ), lo que nos permite concluir que si existe homogeneidad de varianza entre tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media en biomasa.

		Prueba de homogeneidad de varianza			
		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	p-valor
Peso en gr	Se basa en la media	.955	2	9	.421
	Se basa en la mediana	.913	2	9	.435
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	.913	2	5.648	.453
	Se basa en la media recortada	.954	2	9	.421

Los resultados de biomasa se observan en la ilustración 6. Numéricamente se observa que el tratamiento C presenta el mayor valor entre ellos (0.29 g), mismo que fue 4.5% y 3.52% mayor para el tratamiento A y B, respectivamente.

Ilustración 6: Biomasa en gramos de las unidades experimentales.



Fuente: Elaborado por los autores

Una vez que los supuestos se han cumplido, se realiza el análisis estadístico ANOVA, el cual indica que con un p-valor (0.426) mayor a alfa ( $p > 0.05$ ) no hay diferencia significativa en las medias de biomasa entre tratamientos (Tabla 7).

Tabla 7: ANOVA de un factor intergrupos para la comparación de biomasa en gramos entre las unidades experimentales.

### ANOVA

Peso en gr

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	.000350	2	.000175	.940	.426
Dentro de grupos	.001675	9	.000186		
Total	.002025	11			

**Nota:** Se toma en cuenta el p-valor para llegar a la interpretación estadística.

### 7.3 Crecimiento

Aplicamos la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, ya que estamos trabajando con muestras que contienen más de 50 observaciones. Al examinar el p-valor de crecimiento en cada uno de los tratamientos, observamos que los tres resultados son inferiores al valor de alfa ( $p < 0.05$ ), lo que nos permite concluir que no siguen una distribución normal (Tabla 8).

Tabla 8: Prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) para la comparación de tratamientos en el crecimiento.

		<b>Pruebas de normalidad</b>					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Tratamiento	Estadístico	gl	p-valor	Estadístico	gl	p-valor
	Crecimiento	TA	.133	72	.003	.916	72
TB		.166	72	.000	.883	72	.000
TC		.149	72	.000	.892	72	.000

a. Corrección de significación de Lilliefors

Con el propósito de fortalecer la validación inicial de la normalidad, llevamos a cabo la evaluación de homocedasticidad. Los resultados revelan un p-valor de (0.224), superando el nivel de significancia alfa ( $p > 0.05$ ). Por lo tanto, podemos afirmar que existe homogeneidad en las variabilidades entre los distintos tratamientos. (Tabla 9).

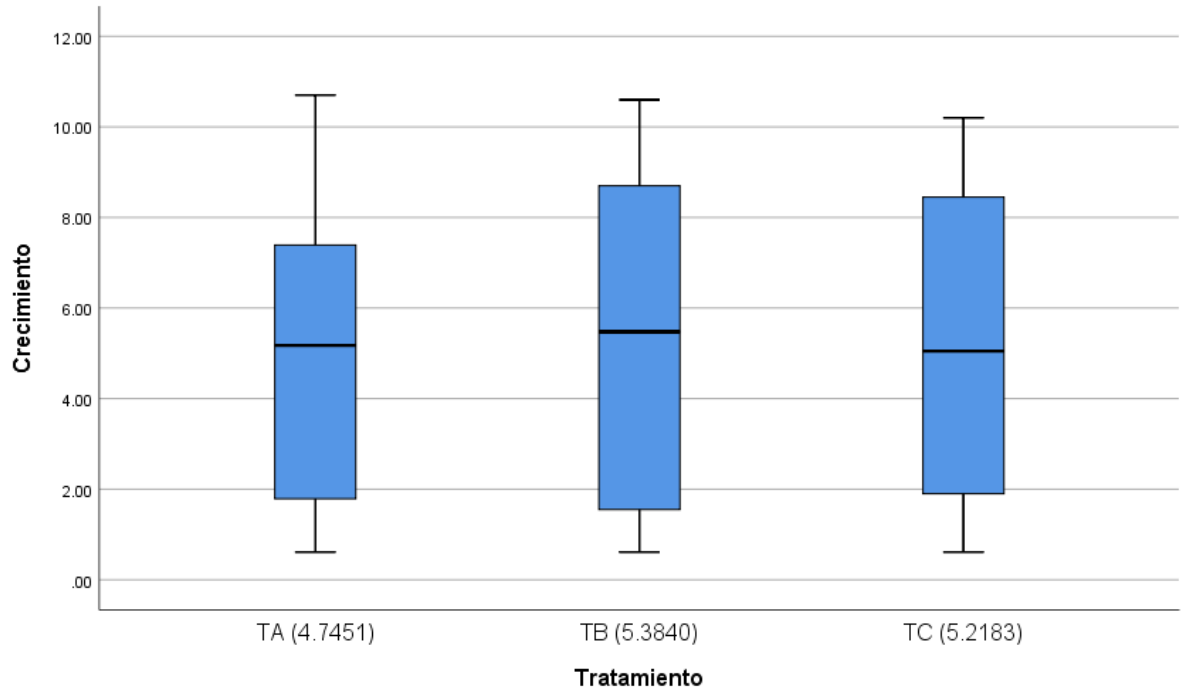
Tabla 9: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media del crecimiento.

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	p-valor
Crecimiento	Se basa en la media	1.508	2	213	.224
	Se basa en la mediana	1.517	2	213	.222
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.517	2	212.964	.222
	Se basa en la media recortada	1.493	2	213	.227

La imagen 7 muestra los valores medios de longitud obtenidos. Al examinar los datos, se observa que el tratamiento B exhibe la cifra promedio más alta (5.38 mm), representando

un incremento del 11.86% con respecto al tratamiento A y un 3.07% en comparación con el tratamiento C.

Ilustración 7: Diagrama de cajas o box plot de las medias del crecimiento en milímetros.



Fuente: Elaborado por los autores

Con el fin de consolidar las conclusiones obtenidas de los supuestos anteriores, se empleó el análisis estadístico ANOVA. Los resultados nos muestran que con un p-valor de (0.198) mayor a alfa ( $p > 0.05$ ), indican que no existe una diferencia significativa en las medias de longitud entre los diversos tratamientos (Tabla 10).



Tabla 10: ANOVA de efectos inter-sujetos (días y tratamiento) entre las unidades experimentales.

Variable dependiente: Crecimiento					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Modelo corregido	2173.559 <sup>a</sup>	26	83.598	134.599	.000
Intersección	5653.098	1	5653.098	9101.843	.000
Días	2144.776	8	268.097	431.653	.000
Tratamiento	15.829	2	7.915	12.743	.000
Días * Tratamiento	12.953	16	.810	1.303	.198
Error	117.387	189	.621		
Total	7944.043	216			
Total corregido	2290.945	215			

a. R al cuadrado = .949 (R al cuadrado ajustada = .942)

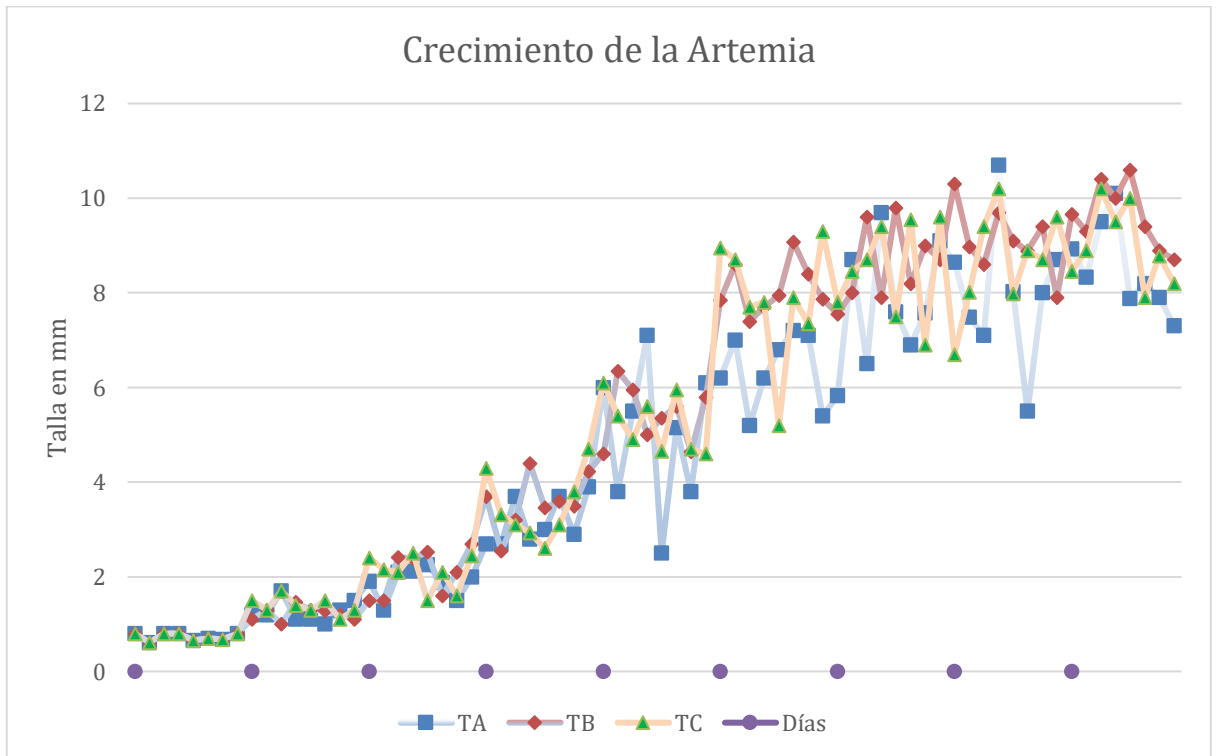
**Nota:** Se toma en cuenta el p-valor para llegar a la interpretación estadística.

En la ilustración 8, se puede observar el crecimiento continuo de las Artemia hasta el séptimo día, debido que a partir del sexto día se observaron las primeras artemias en alcanzar su madurez sexual (TA: 15:53 pm – 18:00 pm, TB: 10:00 am – 11:05 am, TC: 11:36 am – 12:50 pm), por lo tanto, una vez que llegan a su etapa adulta dejan de crecer y empiezan a reproducirse, lo que mantiene una similitud de tallas entre tratamientos los últimos días. El trabajo se paralizó cuando se encontró alrededor de 80% de cópula de las artemias dentro de los tratamientos.

De acuerdo con los resultados que se observan en la tabla 14 de anexos. El análisis estadístico de comparaciones múltiples según el crecimiento dado por días en los diversos tratamientos se observa que hay diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre D2 y D6. Se observan datos donde no existe diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en D1 – D2 debido a que se encuentran en la fase naupliar donde aún se alimentan de sus reservas vitelinas sin

mayor influencia del alimento, al igual que a partir del D6 por su cercanía a la talla de madurez sexual (etapa adulta).

Ilustración 8: Crecimiento de la Artemia.



Fuente: Elaborado por los autores

#### 7.4 Porcentaje de sobrevivencia

Se utilizó la transformación arcoseno en los porcentajes de sobrevivencia para estabilizar la varianza y aproximarse a una distribución normal y no afectar la validez de las pruebas estadísticas. Una vez realizadas las pruebas de normalidad de la variable sobrevivencia en cada uno de los tratamientos, podemos encontrar que los 3 resultados son superiores a alfa ( $p > 0.05$ ), lo que nos permite concluir que en todos los casos los datos se distribuyen normalmente (Tabla 11).

Tabla 11: Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk) para la comparación de tratamientos en la sobrevivencia en Arcoseno.

		<b>Pruebas de normalidad</b>					
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
Tratamientos		Estadístico	gl	p-valor	Estadístico	gl	p-valor
Porcentaje de sobrevivencia en Arcoseno	TA	.212	4	.	.976	4	.878
	TB	.207	4	.	.966	4	.814
	TC	.201	4	.	.953	4	.732

a. Corrección de significación de Lilliefors

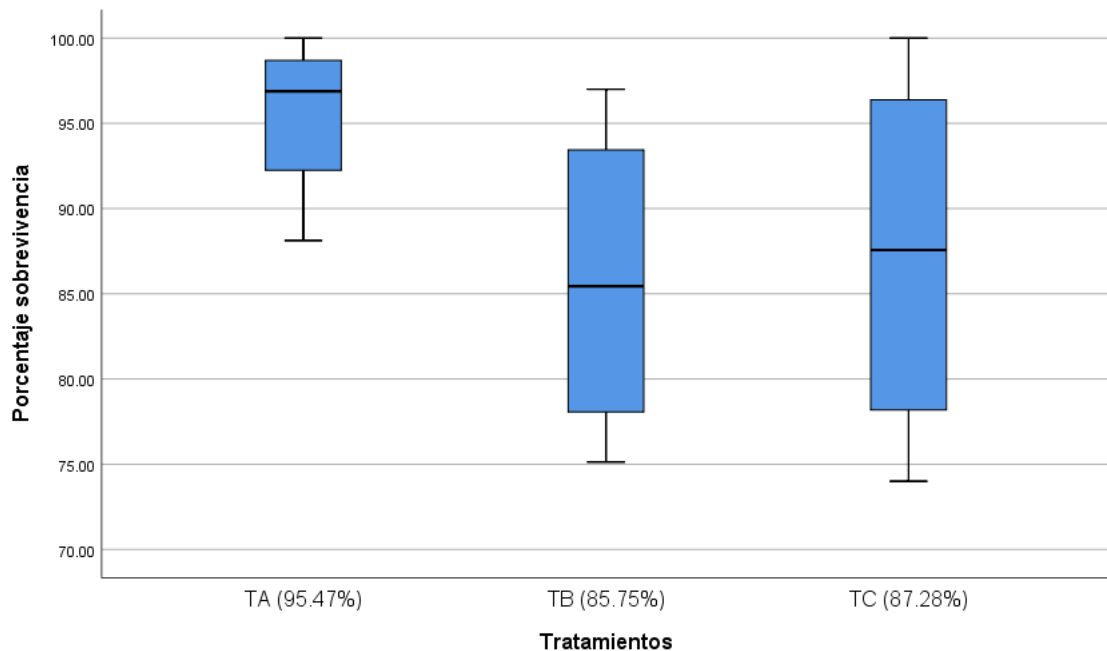
Una vez concluida la prueba de homogeneidad de varianza, nos indica con un p-valor de (0.515) es mayor a alfa ( $p > 0.05$ ), lo que nos permite concluir que si existe homogeneidad de varianza entre tratamientos (Tabla 12).

Tabla 12: Prueba de homogeneidad de varianza entre tratamientos en base a la media del porcentaje de sobrevivencia en Arcoseno.

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Porcentaje de sobrevivencia en Arcoseno	Se basa en la media	.716	2	9	.515
	Se basa en la mediana	.646	2	9	.547
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	.646	2	7.356	.551
	Se basa en la media recortada	.715	2	9	.515

La ilustración 9 muestra los promedios de supervivencia obtenidos, donde el tratamiento A exhibe un intervalo de cuartiles más estrecho, mientras que el tratamiento C presenta el intervalo de cuartiles más amplio. Al observar los valores numéricos, se aprecia que el tratamiento A registra el valor más alto (95.47%), representando un aumento del 11.33% en comparación con el tratamiento B y un incremento del 9.38% en relación al tratamiento C.

Ilustración 9: Diagrama de cajas o box plot de las medias de supervivencia



El análisis estadístico ANOVA indica que con un p-valor (0.353) mayor a alfa ( $p > 0,05$ ) no hay diferencia significativa en las medias de supervivencia entre tratamientos (Tabla 13).

Tabla 13: ANOVA de un factor intergrupos para la comparación de sobrevivencia entre las unidades experimentales.

**ANOVA**

Porcentaje de sobrevivencia en Arcoseno

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Entre grupos	.077	2	.039	1.171	.353
Dentro de grupos	.296	9	.033		
Total	.373	11			

**Nota:** Se toma en cuenta el p-valor para llegar a la interpretación estadística.

## 8. DISCUSIÓN

En un estudio realizado por Godínez, *et al.*, (2004) da a conocer que para la alimentación de *Artemia franciscana* a base de dos especies de microalgas vivas se utilizó una concentración de 3 nauplios/ml en 10 litros con salinidad de 33 ppt, *Tetraselmis suecica* como dieta única brinda los mejores resultados en relación a la longitud promedio tomada en etapa de Postmetanauplio VII ( $4.54 \pm 0.78$  mm), las dietas con 50% de *Tetraselmis suecica* – 50% *Chaetoceros sp* se mantienen en un puesto intermedio ( $4.48 \pm 0.87$  mm), siendo la de menor longitud las que se alimentaron con *Chaetoceros sp* como dieta única ( $3.72 \pm 0.77$  mm). Estos resultados fueron menores que en la presente investigación con dietas a base de *Tetraselmis sp.* y *Thalassiosira sp.*

Balachandar y Rajaram (2018) dan a conocer que en un estudio de producción de *Artemia franciscana* se implementaron como dietas cinco tipos de microalgas (*Tetraselmis sp.*, *Thalassiosira sp.*, *Isochrysis sp.*, *Chaetocero sp.* y *Nannochloropsis sp.*) y se utiliza una densidad de 0,1 nauplio/ml en 2 litros de agua con una salinidad de 70 ppt, la diferencia entre tallas y sobrevivencia fue significativa y se toman los valores obtenidos al paso de 12 días de cultivo, en la que fueron alimentadas con una concentración de 200,000 células/ml a las 07:00, 13:00 y 18:00 horas. La dieta a base de *Tetraselmis sp.* obtuvo valores de talla (mm) y sobrevivencia (%) de  $9.750.0 \pm 1.8$  y  $64.3 \pm 3.3$  respectivamente y alimentadas con *Thalassiosira sp.* obtuvieron valores de estas mismas variables de  $8.410.0 \pm 1.8$  y  $48.7 \pm 2.9$ . Los resultados revelan para la variable de crecimiento valores superiores obtenidos con cultivo de *Tetraselmis sp.* e inferiores con *Thalassiosira sp.*, lo cual no se asimilan a los resultados obtenidos en la presente investigación con valores de talla (mm) de  $8.517 \pm 0.77$  y  $9.62 \pm 0.56$  para estas dos dietas respectivamente al finalizar los 9 días de cultivo. Se muestra que para las artemias alimentadas a base de *Thalassiosira sp.* el porcentaje de sobrevivencia es inferior en comparación a la alimentadas con *Tetraselmis sp.*, lo cual se puede evidenciar de igual manera en el presente trabajo, aunque los valores en la investigación de Balachandar y Rajaram siguen siendo muy bajos.

Arriaga Haro & Re Araujo (1997) utilizaron una concentración de 1 nauplios/ml en 2 litros de agua con una salinidad de  $33 \pm 1$  ppt y experimentaron con otra variedad de clorofita (*Dunaliella sp.*), sin embargo, lograron tasas de sobrevivencia bastante bajas,

oscilando entre el 2.1% y el 18.7% cuando emplearon esta especie. En otro ensayo al utilizar diatomeas (*Chaetoceros sp.*) las tasas aumentaron a un rango de 37.4% - 94.1%. A pesar de estos resultados, los porcentajes de sobrevivencia obtenidos en su estudio son inferiores a los obtenidos en la investigación actual. En términos de madurez sexual, las artemias en el estudio mencionado alcanzaron dicho estado entre el octavo y el decimosexto día, mientras que en el presente estudio se logró en un período más corto, específicamente entre el sexto y el noveno día.

Salarzadeh & Nahidi (2016) analizaron el crecimiento y sobrevivencia de la *Artemia franciscana* utilizando como dietas de microalgas *Nannochloropsis oculata* y *Chlorella capsulata*, alcanzando altas tasas de sobrevivencia de (94%-98%) y (89%-98%) respectivamente, sin embargo, su densidad poblacional fue alta de 1-2 nauplio/ml en 18 litros de agua con una salinidad de 36 ppt, alimentadas con una densidad máxima de 1,200,000 células/ml de *Nannochloropsis oculata* y una densidad máxima de 3,000,000 células/ml de *Chlorella capsulata*. Su capacidad de carga no le permitió alcanzar la fase adulta, llegando a una talla hasta los 3.78 mm y 1.37 mm respectivamente en 7 días, mientras que en los resultados de la presente investigación se alcanzaron tallas superiores a los 8 mm (alrededor 40% madurez sexual) en el mismo rango de tiempo.

Mohebbi, *et al.*, (2016) comenzaron con una densidad poblacional de 0.5 nauplio/ml con una salinidad de 30 ppt, de la misma manera analizaron el crecimiento y sobrevivencia utilizando las microalgas *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros sp.*, *Chlorella sp.*, obteniendo sobrevivencias de (0%-91.75%), (63.84%-98.50), (3.3%-17.75%), (4.6%-23.9%) y (5.7%-23.5%), con una media de crecimiento en milímetros de 5.171 mm, 3.131 mm, 4.555 mm, 4.943 mm y 4.820 mm, respectivamente; estos datos fueron al concluir los 20 días de producción. Las tasas de incremento en tamaño obtenidas mediante la aplicación de diatomeas en el desarrollo de la presente investigación resultaron superiores a las observadas en la investigación mencionada, salvo en el caso de la dieta con *Tetraselmis sp.*, la cual alcanzó 4.745 mm. Aunque, esta cifra sigue siendo superior a la variedad del mismo género empleado por Mohebbi y colaboradores, es menor en comparación con sus otras cepas utilizadas.

En el estudio realizado por Maldonado y Rodriguez (2005) de producción de biomasa y valor nutricional de *Artemia sp.* se siembra una densidad de 10 nauplios por

ml en 1,5 litros y se divide su alimentación dependiendo de los días de cultivo de los organismos. Los primeros seis días son alimentados con salvado de arroz y posteriormente con una dieta de *Tetraselmis suecica* hasta el día quince donde termina el experimento, obteniendo valores de biomasa 15.72 g/l de peso húmedo (0,00198 g por Artemia), longitud media de 5.34 mm y sobrevivencia del 79%. Los investigadores dan a conocer que el uso de salvado de arroz puede haber tenido gran relevancia en el crecimiento de la Artemia dado que la especie requiere gran cantidad de carbohidratos en los primeros días de cultivo y posteriormente el uso de microalgas para la ganancia de peso por su excelente fuente de proteínas.

En el estudio actual, se logró obtener un peso húmedo de 1.20 g/l (0.0062 g por Artemia) con una dieta compuesta al 100% por *Tetraselmis sp.*, este valor resultó inferior al registrado por Maldonado y Rodríguez (2005), sin embargo, cuando las dietas consistían en gramos por Artemia se obtuvo un resultado superior. Dichos autores presentaron un promedio de crecimiento más relevante en relación al uso de clorofitas, pero de igual forma, con uso de diatomeas los resultados de la presente investigación fueron más altos con un promedio de 5.38 mm. Los resultados de estos autores generan mejores valores en comparación con uso de la misma cepa de microalgas empleado en la presente investigación, sin embargo, con el uso de 100% *Thalassiosira sp.* se consiguen cifras superiores.

En los estudios anteriores, se mantuvieron parámetros tanto tolerables como óptimos para el cultivo de la *Artemia sp.* Asimismo, las concentraciones de células de microalgas por mililitro fueron notablemente elevadas, oscilando desde 200,000 células/ml hasta 3,000,000 células/ml, sin embargo, es plausible que la distribución intermitente del alimento haya ejercido influencia sobre el desarrollo de los organismos. En el estudio desarrollado, demostraron la capacidad de consumir un promedio de hasta 100,000 células/ml en un lapso de ocho horas. Contrastando con esto, en otros experimentos con densidades más elevadas de artemias, es probable que el suministro de alimento se agotara con mayor prontitud; esto podría haber resultado en una menor sobrevivencia y lento crecimiento. En algunos casos el alimento fue administrado cada 10 horas como en el trabajo de Salarzadeh y Nahidi (2016) o cada 6 horas como en el estudio de Balachandar y Rajaram (2018), mientras que las demás investigaciones no se especificaba el intervalo de dosificación, además, la especie particular de microalga



empleada puede haber influido en el resultado del cultivo debido a sus diferentes perfiles nutricionales y tamaño de las mismas.

## CAPÍTULO V

### 9. CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación difieren en ocasiones de los patrones observados en investigaciones previas. Estas diferencias pueden ser atribuidas a diversos factores, como la composición de las dietas, las especies de microalgas utilizadas y las condiciones experimentales. Al interpretar y aplicar los resultados de diversos estudios, es esencial tener en cuenta estas variaciones.

Los resultados obtenidos se lograron por el mantenimiento constante y estandarizado de la alimentación a base de en microalgas. Aunque las temperaturas óptimas para el cultivo de *Artemia sp.* son generalmente de 19°C a 25°C, en este caso, la temperatura ligeramente superior a 27°C pudo haber tenido un impacto positivo en el metabolismo de las artemias, lo que resultó en una mejor asimilación del alimento.

En la mayoría de los diversos estudios, se emplearon niveles de salinidad que oscilaron entre 30 ppt y 36 ppt, coincidiendo con el presente enfoque de investigación que comenzó con una salinidad de 32 ppt en todos los tratamientos, no obstante, se produjeron variaciones debido al suministro de microalgas como alimento. La salinidad que se aplicó se mantuvo dentro del rango óptimo para la crianza de Artemia.

Se asume que la adecuada aireación del agua juega un papel importante, especialmente para la *Thalassiosira sp.*, que es una microalga inmóvil. Este flujo garantizó que estuviera distribuida en toda la columna de agua, lo que a su vez facilitó su consumo por parte de la Artemia.

Se pudo determinar estadísticamente que no hubo diferencia significativa en relación a los tres tratamientos administrados a lo largo de la investigación, obteniendo que los p-valores resultaron mayores a alfa, por lo cual son estadísticamente similares entre sí.

A partir de los datos recopilados en este estudio, podemos concluir que para la producción de *Artemia franciscana*, la alimentación a base de *Thalassiosira sp.* se presentó como la opción más favorable para obtener mayor tamaño, en el caso de las

*Tetraselmis sp.*, se observaron tasas de sobrevivencia que fueron superiores, mientras que con la dieta mixta se obtuvieron valores más altos de biomasa en peso seco.

En relación con la selección de la dosis alimenticia para el desarrollo óptimo de *Artemia franciscana* fue importante considerar la concentración de células/ml estable que nos garantizó una buena sobrevivencia y producción de biomasa en el menor tiempo posible. En este trabajo realizado, la dosificación de dietas mixtas compuestas por un 50% de *Thalassiosira sp.* – 50% de *Tetraselmis sp.* emerge como una propuesta sólida.

## 10. RECOMENDACIONES

- Estudiar los posibles efectos de antibióticos naturales de las microalgas y en que podrían influir en la sobrevivencia de la *Artemia franciscana*.
- Analizar si las bacterias presentes en los medios de cultivo influyen o afectan en la sobrevivencia de las artemias.
- Estudiar la influencia de la temperatura en la producción de biomásas de la *Artemia franciscana* por sus antecedentes de desarrollo en ambientes naturales.
- Estudiar la influencia de la salinidad en la producción de biomásas de la *Artemia franciscana* por sus antecedentes de desarrollo en ambientes naturales.
- Experimentar con superiores densidades de artemias para obtener mayor biomasa en peso seco para un correcto estudio del contenido nutricional.
- Estudiar diferentes dosificaciones de células por mililitro en la alimentación con microalgas.
- Experimentar con mayores volúmenes de agua como medio de cultivo para las artemias.
- Analizar la influencia del tamaño de las microalgas relacionadas como fuente de alimento.

## CAPÍTULO VI

### 11. BIBLIOGRAFIA

- Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, J., Torres, E., & Herrero, C. (1995). *Microalgas: Cultivo y Aplicaciones*. Universidad de Coruña: <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>
- Arriaga-Haro, V., & Re-Araujo, A. (1997). Uso de vivas e Inertes como alimento para *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). *Revista de biología tropical*: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/20872/21014>
- Azra, M., Mohd, M., Burlakovs, J., Abdullah, M., Latif, Z., & Sung, Y. (2022). Trends and New Developments in Artemia Research. *Animals*, 12(18), 2321: <https://doi.org/10.3390/ani12182321>
- Balachandar, S., & Rajaram, R. (2018). Influence of different diets on the growth, survival, fecundity and proximate composition of brine shrimp *Artemia franciscana* (Kellog, 1906). *Aquaculture Research*, 50(2), 376-389: <https://doi.org/10.1111/are.13882>
- Belovsky, G., & Perschon, W. (2019). A management case study for a new commercial fishery: brine shrimp harvesting in Great Salt Lake, Utah, USA. *Ecological Applications*, 29(3): <https://doi.org/10.1002/eap.1864>
- Browdy, C., Wyk, P., Stock, C., Flores, D., & Chennamsetti, M. (2011). El suministro de *Artemia* es un cuello de botella potencial para el crecimiento acuícola. *Aquacultura, La voz oficial del sector*, 85(117), 34 - 35: ISSN 1390-6372
- Camara, M. (2020). After the gold rush: A review of *Artemia* cyst production in northeastern Brazil. *Aquaculture Reports*, 17: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100359>
- Casa, V. (2020). Diatomeas de turberas de Tierra del Fuego: diversidad, ecología y evaluación de su uso como indicadores ambientales. [Tesis de grado. Universidad de Buenos Aires]. [https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n6775\\_Casa.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n6775_Casa.pdf)

- Cisneros, R., & Vinatea, E. (2009). Producción de biomasa de *Artemia franciscana* Kellogg 1906 Utilizando diferentes dietas. *Ecología aplicada*, 8(1): ISSN 1726-2216
- Dawes, C. (1986). Botánica marina (1st ed.). *Limusa*: ISBN 968-18-1918-7
- Díaz, M., Altamirano, H., Morales, D., Ramírez, A., Rangel, I., & Noriega, B. (2021). Descripción morfológica, distribución geográfica y aplicaciones potenciales de diferentes especies de diatomeas de la clase Bacillariophyceae: Artículo de revisión. *Jovenes en la Ciencia*, 10: ISSN 2395 - 9797
- Dumitrascu, M. (2011). *Artemia Salina*. *Balneo Research Journal*, 2(4), 119-122: DOI: 10.12680/balneo.2011.1022
- Escudero, L., López, E., Rodríguez, P., & García, M. (2022). Brine shrimps adrift: historical species turnover in Western Mediterranean *Artemia* (Anostraca). *Biological Invasions*, 24, 2477–2498: <https://doi.org/10.1007/s10530-022-02779-6>
- Godínez, D., Gallo, M., Gelabert, R., Díaz, A., Gamboa, J., Landa, V., & Godínez, E. (2004) Crecimiento larvario de *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) alimentado con dos especies de microalgas vivas. *Zootecnia Tropical*, 22(3): ISSN 0798 - 7269
- González, E. (2018). Las poblaciones de invertebrados en charcas supralitorales de Canarias: estudio de la charca anquialina del Médano (Tenerife). [Tesis de grado. Universidad de la Laguna]: <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/10624>
- Gualotuña, N. P. (2020). Efectos tóxicos de *Artemia salina* enriquecida con componentes naturales sobre el desempeño de larvas usadas en acuicultura en la región sur centroamericana en los últimos 10 años. [Tesis de grado. Universidad de las Américas]: <https://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12586>
- Herawati, V., Hutabarat, J., & Radjasa, O. (2014). Nutritional Content of *Artemia* sp. Fed with *Chaetoceros calcitrans* and *Skeletonema costatum*. *HAYATI Journal of Biosciences*, 21(4), 166-172: <https://doi.org/10.4308/hjb.21.4.166>

- Hordjik, W., & Steel, M. (2018). Autocatalytic Networks at the Basis of Life's Origin and Organization. *Life*, 8(4), 62 : <https://doi.org/10.3390/life8040062>
- Huylmans, A. K., Macon, A., Hontoria, F., & Vicoso, B. (2021). Transitions to asexuality and evolution of gene expression in *Artemia* brine shrimp. *The Royal Society*, 288(1959): <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1720>
- Islam, M., Kibria, M., & Bhuyan, S. (2019). Production of *Artemia* Biomass in Indoor Culture Tank in Bangladesh. *Journal of Scientific Research*, 11(1), 101-110: <https://doi.org/10.3329/jsr.v11i1.36467>
- Kumar, G., & Babu, D. (2015). Effect of Light, Temperature and salinity on the growth of *Artemia*. *International Journal of Engineering Science Invention*, 4(12), 07-14: ISSN (Online): 2319 – 6734
- Leal, S., Medina, M., Guerrero, M., Piña, P., Nieves, M., & Curbelo, R. (2013). Concentración y composiciones orgánica y proximal de dos especies de diatomeas bentónicas a diferentes salinidades. *Universidad y Ciencia*, 29(1), 45-52: ISSN 0186-2979
- Lenormand, T., Nougé, O., Jabbour, R., Arnaud, F., Dezileau, L., Chevin, L., & Sánchez, M. (2017). Resurrection ecology in *Artemia*. *Evolutionary Applications*, 11(1), 76-87: <https://doi.org/10.1111/eva.12522>
- Loayza, W. (2017). Crecimiento y sobrevivencia en la primera etapa de alevinaje de *Trichomycterus rivulatus* (suche) alimentados con nauplio de *Artemia* salina y *Daphnia pulex* en condiciones controladas. [Tesis de grado. Universidad Nacional Del Altiplano]: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3276832>
- Lomas, J., Sala, J., García, C., & Alonso, M. (2015). Orden Anostraca. *Revista IDE@-SEA*, 67, 1-12: ISSN 2386-7183
- López, M., Seychelles, L., Hernández, L., Ayala, J., & Mercier, L. (2021). Potencial del nematodo *Panagrolaimus* sp. para remplazar a la *Artemia*. *Recursos Naturales y Sociedad*, 7(2), 47-60: <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2021.07.07.02.0004>

- MacRae, T. (2015). Stress tolerance during diapause and quiescence of the brine shrimp, *Artemia*. *Cell Stress and Chaperones*, 21(1), 9 - 18: <https://doi.org/10.1007/s12192-015-0635-7>
- Makridis, P., Vadstein, O. (1999). Food size selectivity of *Artemia franciscana* at three developmental stages. *Journal of Plankton Research*, 21(11), 2191–2201: <https://doi.org/10.1093/plankt/21.11.2191>
- Maldonado-Montiel, T., & Rodríguez-Canché, L. (2005). Biomass production and nutritional value of *Artemia* sp. (Anostraca: Artemiidae) in Campeche, México. *Revista de Biología Tropical*, 53, 3-4: ISSN 0034-7744
- Mana, P., Vahabzadeh, H., Seidgar, M., & Hafezieh, M. (2015). Proximate composition and fatty acids profiles of *Artemia* cysts, and nauplii from different geographical regions of Iran. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 13(3), 761-775: <https://dorl.net/dor/20.1001.1.15622916.2014.13.3.19.3>
- Manickam, N., Bhavan, S., & Santhanam, P. (2017). Evaluation of nutritional profiles of wild mixed zooplankton in Sultur and Ukkadam lakes of Coimbatore, South India. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17, 509-517: [http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v17\\_3\\_07](http://dx.doi.org/10.4194/1303-2712-v17_3_07)
- Mohebbi, F., Hafezieh, M., Seidgar, M., Hosseinzadeh, H., Mohsenpour, A., & Ahmadi, R. (2016). The growth, survival rate and reproductive characteristics of *Artemia urmiana* fed by *Dunaliella tertiolecta*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros* sp., *Chlorella* sp. and *Spirolina* sp. as feeding microalgae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(2): <https://dorl.net/dor/20.1001.1.15622916.2016.15.2.10.6>
- Nevejan, N., Schryver, P., Wille, M., Dierckens, K., Baruah, K., & Stappen, G. (2016). Bacteria as food in aquaculture: do they make a difference?. *Reviews in Aquaculture*, 10(1), 180-212: <http://dx.doi.org/10.1111/raq.12155>
- Ordóñez-Mejía, C., Galarza-Mora, W., Quizhpe-Cordero, P., & Quijije-López, L. (2021). Efecto de la combinación de alimento artificial y biomasa de *artemia* sp en cría intensiva de postlarvas de *litopenaeus vannamei*. *Dominio de las ciencias*, 7(2), 1167-1189 : <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v7i2.1854>



- Pacheco, J., Cadena, M., Ascencio, F., Rangel, C., & Rojas, M. (2015). Assessment of endemic microalgae as potential food for *Artemia franciscana* culture. *Latin american journal of aquatic research*, 43(1): <http://dx.doi.org/10.3856/vol43-issue1-fulltext-3>
- Pérez-Sánchez, A. (2022). *Comparación de dos tipos de fertilizantes para estanques piscícolas y su influencia en el tipo de plancton que generan (Shinahota- Lauca Ñ (RN4))*. [Tesis de posgrado. Universidad Mayor de San Simon]: <http://hdl.handle.net/123456789/35264>
- Portuguez, B. (2020). Bioprospección de la diatomea *Nanofrustulum shiloi* (Bacillariophyceae), nativa del noroeste de Baja California Sur, México, para su uso como alimento alternativo en sistemas acuícolas. [Tesis de grado. Universidad Nacional de Costa Rica]: <https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/18857/Documento%20final%20de%20Tesis%20Brenda%20Portuguez%20Solano.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Prieto, M. (2006). Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuicola*, 2(2): <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/view/1597/1939>
- Ramírez, M., Caballero, M., & Vásquez, M. (2021). *Iconella guatemalensis* (Ehrenberg) Ruck & Nakov (Bacillariophyta) como especie indicadora de condiciones de nivel lacustre bajo en tres registros sedimentarios lacustres del centro de México. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 24, 1-10: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.384>
- Rendón, L., Ramírez, M., & Vélez, Y. (2015). *Microalgas para la industria alimenticia* (Primera edición ed.). Universidad Pontificia Bolivariana: ISBN: 978-958-764-228-5
- Reyes, W., Alexander, V., Cabrera, R., & Huamán, G. (2021). Manual para la producción de *Artemia franciscana* como alimento para larvas y juveniles de peces. *Instituto del Mar del Perú*, 48(1): 35-49: <https://hdl.handle.net/20.500.12958/3531>

- Roy, S., & Pal, R. (2015). Microalgae in Aquaculture: A Review with Special References to Nutritional Value and Fish Dietetics. *Proceedings of the Zoological Society*, 68(1), 1-8 : <https://doi.org/10.1007/s12595-013-0089-9>
- Ruiz-Pérez, O. (2008). Caracterización de diversas poblaciones de "Artemia" desde el punto de vista de su composición en ácidos grasos y de sus patrones moleculares. [Tesis doctoral. Universitat de València]: ISBN 978-84-370-7340-8
- Salarzadeh, A., & Nahidi, E. (2016). Evaluation of Growth and Survival of Artemia franciscana fed with Nannochloropsis oculata and Chlorella capsulata. *International Journal of Life Sciences*, 10(1), 35: DOI: 10.3126/ijls.v10i1.14507
- Seychelles, L., Happe, S., Palacios, E., Ludwing, M., Hollmer, S., Ehler, R., Mercier, L. (2017). Successful rearing of whiteleg shrimp Litopenaeus vannamei larvae fed a desiccation-tolerant nematode to replace Artemia. *Wiley Aquaculture Nutrition*, 24(2), 903-910: <https://doi.org/10.1111/anu.12626>
- Smirnov, D., Aganesova, L., Khanaychenko, A. (2019). Variabilidad de las características de tamaño y supervivencia de los nauplios de la artemia de Crimea Artemia spp. (Branchiopoda: Anostraca) alimentándose de diferentes especies de microalgas. *Revista de biología marina*, 4(1), 91-99: <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.1.08>
- Stappen, V. (2012). Pesca y acuicultura - Especies acuáticas cultivadas - Artemia spp. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*: [https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/artemia\\_spp/en](https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/artemia_spp/en)
- Vikas, P., Sajeshkumar, N., Thomas, P., Chakraborty, K., Jayasankar, J., & Vijayan, K. (2021). Reduction of Nauplii Size in an Allochthonous Artemia Strain through Selective Breeding. *J Aquac Fisheries*, 5, 41: <http://dx.doi.org/10.24966/AAF-5523/100041>
- Wehr, J., Sheath, R., & Kociolek, J. (2015). Freshwater Algae of North America: Ecology and Classification. *Academic Press*, 2: ISBN 9780123858764
- Zadehmohseni, B., Zakeri, M., Yavari, V., & Haghi, M. (2020). Effects of different salinities on amino acid profile in Artemia franciscana. *Aquaculture Research*, 51(8), 3443-3451: <https://doi.org/10.1111/are.14679>

## 12. ANEXOS



Anexo A: Cultivo de microalgas para la alimentación de artemias.



Anexo B: Ubicación de las unidades experimentales.



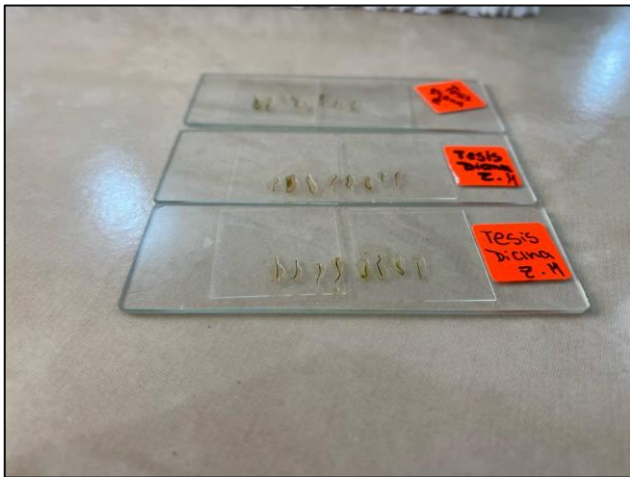
Anexo C: Medición de oxígeno.



Anexo D: Medición de pH.



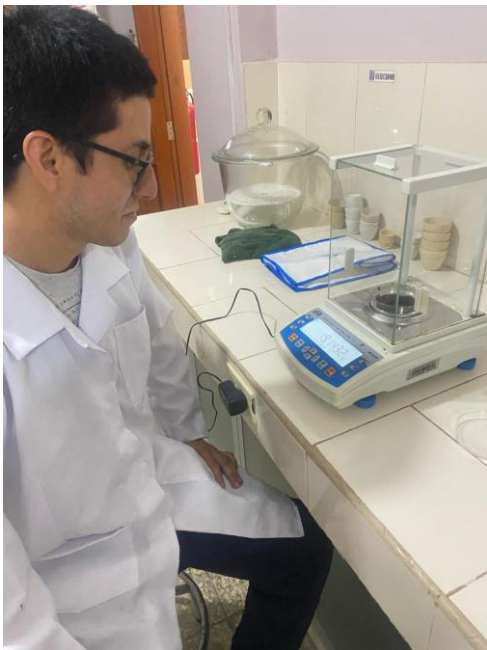
Anexo E: Medición de artemias.



Anexo F: Ubicación de artemias para medición en microscopio.



Anexo G: Conteo de microalgas en cámara de Neubauer.



Anexo H: Medición del peso en gramos de las réplicas.

Tabla 14: Análisis estadístico de comparaciones múltiples.

**Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: Crecimiento

HSD Tukey

(I) Dias	(J) Dias	Diferencia de		Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
		medias (I-J)	Desv. Error		Límite inferior	Límite superior
D1	D2	-.5596	.22750	.259	-1.2735	.1543
	D3	-1.2938 <sup>*</sup>	.22750	.000	-2.0077	-.5798
	D4	-2.6821 <sup>*</sup>	.22750	.000	-3.3960	-1.9682
	D5	-4.4850 <sup>*</sup>	.22750	.000	-5.1989	-3.7711
	D6	-6.7217 <sup>*</sup>	.22750	.000	-7.4356	-6.0077
	D7	-7.5433 <sup>*</sup>	.22750	.000	-8.2573	-6.8294
	D8	-7.8742 <sup>*</sup>	.22750	.000	-8.5881	-7.1602
	D9	-8.3129 <sup>*</sup>	.22750	.000	-9.0268	-7.5990
D2	D1	.5596	.22750	.259	-.1543	1.2735
	D3	-.7342 <sup>*</sup>	.22750	.039	-1.4481	-.0202
	D4	-2.1225 <sup>*</sup>	.22750	.000	-2.8364	-1.4086
	D5	-3.9254 <sup>*</sup>	.22750	.000	-4.6393	-3.2115
	D6	-6.1621 <sup>*</sup>	.22750	.000	-6.8760	-5.4482
	D7	-6.9838 <sup>*</sup>	.22750	.000	-7.6977	-6.2698
	D8	-7.3146 <sup>*</sup>	.22750	.000	-8.0285	-6.6007
	D9	-7.7533 <sup>*</sup>	.22750	.000	-8.4673	-7.0394
D3	D1	1.2938 <sup>*</sup>	.22750	.000	.5798	2.0077
	D2	.7342 <sup>*</sup>	.22750	.039	.0202	1.4481
	D4	-1.3883 <sup>*</sup>	.22750	.000	-2.1023	-.6744
	D5	-3.1912 <sup>*</sup>	.22750	.000	-3.9052	-2.4773
	D6	-5.4279 <sup>*</sup>	.22750	.000	-6.1418	-4.7140
	D7	-6.2496 <sup>*</sup>	.22750	.000	-6.9635	-5.5357
	D8	-6.5804 <sup>*</sup>	.22750	.000	-7.2943	-5.8665
	D9	-7.0192 <sup>*</sup>	.22750	.000	-7.7331	-6.3052
D4	D1	2.6821 <sup>*</sup>	.22750	.000	1.9682	3.3960
	D2	2.1225 <sup>*</sup>	.22750	.000	1.4086	2.8364
	D3	1.3883 <sup>*</sup>	.22750	.000	.6744	2.1023
	D5	-1.8029 <sup>*</sup>	.22750	.000	-2.5168	-1.0890
	D6	-4.0396 <sup>*</sup>	.22750	.000	-4.7535	-3.3257
	D7	-4.8613 <sup>*</sup>	.22750	.000	-5.5752	-4.1473
	D8	-5.1921 <sup>*</sup>	.22750	.000	-5.9060	-4.4782
	D9	-5.6308 <sup>*</sup>	.22750	.000	-6.3448	-4.9169
D5	D1	4.4850 <sup>*</sup>	.22750	.000	3.7711	5.1989

	D2	3.9254'	.22750	.000	3.2115	4.6393
	D3	3.1912'	.22750	.000	2.4773	3.9052
	D4	1.8029'	.22750	.000	1.0890	2.5168
	D6	-2.2367'	.22750	.000	-2.9506	-1.5227
	D7	-3.0583'	.22750	.000	-3.7723	-2.3444
	D8	-3.3892'	.22750	.000	-4.1031	-2.6752
	D9	-3.8279'	.22750	.000	-4.5418	-3.1140
D6	D1	6.7217'	.22750	.000	6.0077	7.4356
	D2	6.1621'	.22750	.000	5.4482	6.8760
	D3	5.4279'	.22750	.000	4.7140	6.1418
	D4	4.0396'	.22750	.000	3.3257	4.7535
	D5	2.2367'	.22750	.000	1.5227	2.9506
	D7	-.8217'	.22750	.011	-1.5356	-.1077
	D8	-1.1525'	.22750	.000	-1.8664	-.4386
	D9	-1.5913'	.22750	.000	-2.3052	-.8773
D7	D1	7.5433'	.22750	.000	6.8294	8.2573
	D2	6.9838'	.22750	.000	6.2698	7.6977
	D3	6.2496'	.22750	.000	5.5357	6.9635
	D4	4.8613'	.22750	.000	4.1473	5.5752
	D5	3.0583'	.22750	.000	2.3444	3.7723
	D6	.8217'	.22750	.011	.1077	1.5356
	D8	-.3308	.22750	.875	-1.0448	.3831
	D9	-.7696'	.22750	.024	-1.4835	-.0557
	D8	D1	7.8742'	.22750	.000	7.1602
D2		7.3146'	.22750	.000	6.6007	8.0285
D3		6.5804'	.22750	.000	5.8665	7.2943
D4		5.1921'	.22750	.000	4.4782	5.9060
D5		3.3892'	.22750	.000	2.6752	4.1031
D6		1.1525'	.22750	.000	.4386	1.8664
D7		.3308	.22750	.875	-.3831	1.0448
D9		-.4388	.22750	.595	-1.1527	.2752
D9		D1	8.3129'	.22750	.000	7.5990
	D2	7.7533'	.22750	.000	7.0394	8.4673
	D3	7.0192'	.22750	.000	6.3052	7.7331
	D4	5.6308'	.22750	.000	4.9169	6.3448
	D5	3.8279'	.22750	.000	3.1140	4.5418
	D6	1.5913'	.22750	.000	.8773	2.3052
	D7	.7696'	.22750	.024	.0557	1.4835
	D8	.4388	.22750	.595	-.2752	1.1527



Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = .621.

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.