

**CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE *Procambarus clarkii* GIRARD
(CRUSTACEA, DECAPODA) CON DIFERENTES
TEMPERATURAS Y DIETAS ISOCALORICAS**

**GROWTH AND SURVIVAL OF *Procambarus clarkii* GIRARD
(CRUSTACEA, DECAPODA) WITH DIFFERENT
TEMPERATURES AND ISOCALORIC DIETS**

Por/By

M.C. Ana Denise Re Araujo
y/and

Dr. L. Fernando Bückle Ramírez

Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada

Apartado Postal No. 2732
Ensenada, B.C. 22800, México

RE ARAUJO, A.D. y L.F. Buckle Ramírez, 1985. Crecimiento y sobrevivencia de *Procambarus clarkii* Girard (Crustacea, Decapoda) con diferentes temperaturas y dietas isocalóricas. Growth and survival of *Procambarus clarkii* Girard (Crustacea, Decapoda) with different temperatures and isocaloric diets. Ciencias Marinas 11 (2): 39-68 (30)

RESUMEN

Se cultivaron juveniles de *Procambarus clarkii* que alimentados con tres dietas isocalóricas: harina de sardina, harina de soya, harina de acelga y agar en diferentes porcentajes; se mantuvieron a temperaturas de $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, $24^{\circ}\text{C} \pm 1$ y $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Se diseñó un sistema experimental versátil con un recambio continuo de agua, y autolimpieza por medio de tres filtros de carbón activado. El sistema fue de funcionamiento mixto, abierto, cerrado, o ambos, con capacidad de 150 cajas experimentales y 300 animales separados para evitar el efecto de canibalismo. El tiempo experimental fue de 120 días. Durante este lapso se introdujeron 541 organismos de la Bocana de Santo Tomás. Los organismos fueron sometidos a nueve tratamientos y las progenies se introdujeron conforme iban alcanzando un mes de vida. Diariamente se obtuvieron datos de temperatura, oxígeno, pH y amonio; se registró también la sobrevivencia y el crecimiento por progenie en cada uno de los tratamientos.

Se correlacionó la sobrevivencia con la temperatura, encontrándose un rango térmico intolerante para estos organismos ($25\text{-}30^{\circ}\text{C}$) y un rango aceptable para el crecimiento ($18\text{-}22^{\circ}\text{C}$). El tratamiento que tuvo el mejor efecto en la sobrevivencia y el crecimiento de *P. clarkii* fue el de temperatura más baja (20°C) y dieta A (proteína animal).

Se identificó un efecto tóxico de zinc, producido por una malla galvanizada utilizada en las cajas experimentales. Esta variable no fue medida.

ABSTRACT

Culture of juveniles of *Procambarus clarkii* fed with isocalorics diets of fish, soy, and swiss chard meal mixed with agar in different percents were performed and maintained at $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 24°C , and $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. A fickle experimental system was designed with continuous running water and autoclean by means of three filter of activated charcoal. This system works either open, close or both, with a capacity of 150 experimental boxes and 300 animals separately to avoid cannibalism effects. The duration of the experiment was 120 days. In this time, 541

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

organism were introduced of seven different females broodstock from La Bocana de Santo Tomás. The crayfish were tested at nine treatments and the broods were introduced reaching one month of Life.

Daily records of temperature, oxygen, pH, ammonia, growth and survival were measured in each treatment by progeny. Correlations with survival and temperature show intolerable (25-30°C) and acceptable (18-22°C) termic rank for the animals.

Low temperature (20°C) and a diet with high percentage of animal protein were the best treatments for survival and growth of *Procambarus clarkii*. In the galvanized mesh of the culturing boxes a toxic effect of zinc was identified. This variable was not measured.

INTRODUCCION

Los astácidos son crustáceos decápodos de agua dulce con más de 300 especies distribuidas en todo el mundo. En América habitan gran parte de los arroyos y depósitos lacustres de Guatemala, México, Cuba y la vertiente occidental de los Estados Unidos (La Caze, 1976). Están también en Costa Rica y Nicaragua (América Central), en Europa (España) y en Kenia, Uganda y El Sudán (Africa) (Fig. 1).

INTRODUCTION

The astacids are fresh water crustaceans with more than 300 species with a world wide distribution. In America they can be found in the greater part of streams and lake deposits in Guatemala, México, Cuba and the west slope of the United States (La Caze, 1976). They are also in Costa Rica and Nicaragua (Central-America), in Europe (Spain) and in Kenya, Uganda and Sudan (Africa) (Fig. 1).

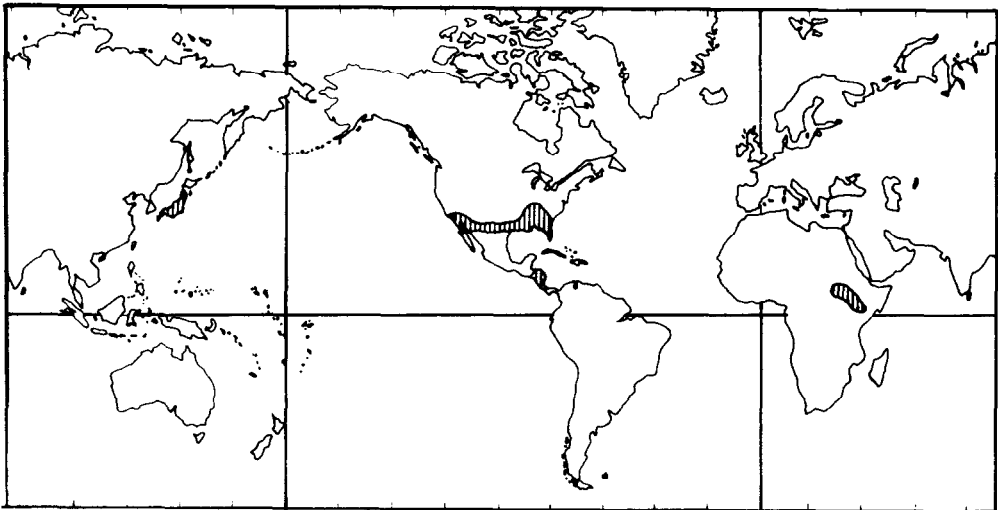


FIG. 1. Distribución mundial de *Procambarus clarkii*.
World distribution of *Procambarus clarkii*.

Sistemáticamente, los Astacinae americanos están emparentados con los Astacinae europeos que fueron considerados globalmente como especies del género *Astacus*. Posteriormente, Boot (1950) estableció el género *Pacifastacus* y propuso un nombre genérico para todos los astácidos del oeste de Norteamérica. Rieget (1958), reportó la presencia en California de cinco Astácidos que representan dos subfamilias y tres géneros; *Pacifastacus leniusculus* (Dana); *Pacifastacus klamathensis* (Stimpson) y *Pacifastacus nigrescens* (Stimpson) de la subfamilia Astacinae; *Procambarus clarkii* (Girard) y *Orconectes virilis* (Hagen) de la subfamilia Cambarinae. Villalobos, en 1955, realiza estudios sobre la sistemática de los astácidos en México, en particular los del sureste y centro del país, pero sus investigaciones no incluyen las especies del noroeste de México.

En Estados Unidos, entre los años 1957 y 1978, *Procambarus clarkii* fue extendido exitosamente en Florida, Maryland, South Carolina, Virginia, California y Nevada. También en laboratorios experimentales de Santo Domingo y Puerto Rico (Caribe) se están estudiando poblaciones de estos organismos (Huner, 1978).

En los Estados Unidos se ha venido desarrollando una industria alimenticia basada en poblaciones naturales del "cangrejo rojo de pantano" (*Procambarus clarkii*) y del "cangrejo blanco de río" *Procambarus acutus*. Particularmente en el Estado de Louisiana en donde se produce el 99 % de la captura (2.5 millones de kilogramos al año; De la Bretonne, 1970).

Los pescadores de bagre (Osteichthyes, Ictaluridae) boca chica de Louisiana utilizan a los cangrejos de río como carnada. En cambio en el Japón, Hawaii y Australia, son considerados una peste por algunos granjeros regionales. México tiene "acociles", que desde tiempos precolombinos fueron consumidos por la población indígena (Chavero, 1952).

A estos organismos se les conoce con diferentes nombres vernaculares según su lugar de procedencia: mini-langosta, acucil, crayfish, mudburg, red swamp (Louisiana),

The American Astacinae are systematically related with the European Astacinae that were globally considered as species of the genus *Astacus*. Later, Bott (1950) established the genus *Pacifastacus* and proposed a generic name for the Astacids of West North America. Riegel (1958) reported in California the presence of five Astacids that represent two subfamilies and three genera: *Pacifastacus leniusculus* (Dana), *Pacifastacus klamathensis* (Stimpson) and *Pacifastacus nigrescens* (Stimpson) of the Astacinae subfamily; *Procambarus clarkii* (Girard) and *Orconectes virilis* (Hagen) of the Cambarinae subfamily. In 1955 Villalobos did some studies on the Astacids systematics in México, particularly from the southwest and center of the country, but his researches not include the species of the northwest of México.

In the United States, from 1957 and 1978, *Procambarus clarkii* was successfully extended to Florida, Maryland, South Carolina, Virginia, California and Nevada. Also in experimental laboratories of Santo Domingo and Puerto Rico (Caribbean), populations of these organisms are being studied (Huner, 1978).

In the United States an alimentary industry based in natural population of the "swamp red crayfish" (*Procambarus clarkii*) and of the "river white crayfish" (*Procambarus acutus*) has developed; particularly in the state of Louisiana, where 99 % of the catch is produced (2.5 million kilogram per year; De la Bretonne, 1970).

The people capturing catfish (Osteichthyes, Ictaluridae) from Louisiana use the river crayfish as bait. On the other hand, in Japan, Hawaii and Australia, some local farmers consider them as a plague. Mexico has "acociles" that from precolombian times were consumed by the indigenous population (Chavero, 1952).

These organisms are known with different vernacular names: minilobster, acucil, crayfish, mudbug, red swamp (Louisiana), stone crab, river crab or caucue

cangrejo de piedra o de río, y cauque (Sonora, México). El tamaño fluctúa, en animales adultos, de 2.54 cm a 31 cm de longitud (acocil australiano) (De la Bretonne 1970). Actualmente en México los acociles se consumen poco y no se les considera como un recurso que potencialmente tiene importancia económica, nutricional y como fuente de trabajo. Hasta el momento no se ha desarrollado una biotecnia para el cultivo de las especies mexicanas. Por esta razón, a partir de las crías obtenidas de una población de La Bocana de Santo Tomás (Fig.2), se experimentó la administración de tres dietas y tres temperaturas (nueve tratamientos) para conocer su efecto en el crecimiento, sobrevivencia y frecuencia de muda de los juveniles de *Procambarus clarkii*.

MATERIALES Y METODOS

El diseño experimental comprendió un sistema para cultivar organismos de agua dulce bajo condiciones controladas de temperatura y oxígeno, permitiendo operar simultáneamente con 300 animales y someter grupos de 100 a tres condiciones de temperatura y tres dietas. El diseño comprende fundamentalmente un estanque de fibra de vidrio de 2.54 x 0.74 x 0.15 m, dividido en tres partes (secciones) con dos paredes de acrílico transparente de 0.8 cm de grosor unidas al estanque con resina para impermeabilizar y aislar las secciones. El estanque tiene un doble fondo de enrejado de plástico (Fig. 3-1) que sirve para separar las cajas experimentales (Fig. 4) del fondo, permitiendo que las excretas y el alimento no digerido fluyan hacia el desagüe. Cada sección tiene su propio sistema de desagüe (Fig. 3-2) y una capacidad para 50 cajas de acrílico transparente de 9 x 9 x 11.5 cm (Fig. 4-1). Cada una de ellas fue dividida longitudinalmente a la mitad con una doble pared de mallas, una plástica con una luz de 1 mm y otra de acero galvanizado con una luz de 3 mm (Fig. 4-2). Esta doble malla también cubría el fondo de la caja (Fig. 4-5) que fue perforado con un orificio de 7 cm de diámetro para permitir la circulación del agua libremente, impidiendo la salida de los organismos (Fig. 4-3). La tapa de acrílico tam-

(Sonora, México). The size ranges in adult organisms from 2.54 cm to 31 cm length (Australian acocil) (De la Bretonne, 1970). To this day, the acocils are very little consumed in Mexico and they are not considered as a resource with a potentially economic, nutritional importance and as a source of jobs. Until now a biotechnique for the culture of the mexican species has not been developed. For this reason, with the offsprings of a population of La Bocana de Santo Tomás (Fig. 2) the administration of three diets and three temperatures (nine treatments) were experimented, to know about their effect in the growth, survival and molten of the *Procambarus clarkii* juveniles.

MATERIALS AND METHODS

The experimental design consisted of a system for culturing fresh water organisms under controlled conditions of temperature and oxygen, allowing the simultaneous operation with 300 animals as well as to submit groups of 100 organisms to three temperature conditions and three different diets. The design fundamentally consists of a glass fiber tank (2.54 x 0.74 x 0.15 m) divided in three parts (sections) with two transparent acrylic walls 0.8 cm thick joined to the tank with resin to make it water proof and to isolate the sections. The tank has a double bottom of plastic "bars" (Fig. 3.1) that separate the experimental portions (Fig. 4) from the bottom allowing the feces and the not digested food to flow towards the discharge. Each sections has its own discharge system (fig 3-2) and a capacity for 50 transparent acrylic boxes with dimensions of 9 x 9 x 11.5 cm (Fig. 4-1). Each one was longitudinally divided at the middle with a 1 mm mesh size and the other of galvanized steel with a 3 mm mesh size (Fig. 4-2). This double "mesh" also covered the bottom of the box (Fig. 4-5) perforated with a hole of 7 cm diameter to allow for the free circulation of the water, stopping the organisms from leaving (Fig. 4-3). The acrylic cover was also perforated (Fig. 4.4) with two holes, one for the incoming water and one for the incoming water and one for the feeding of the

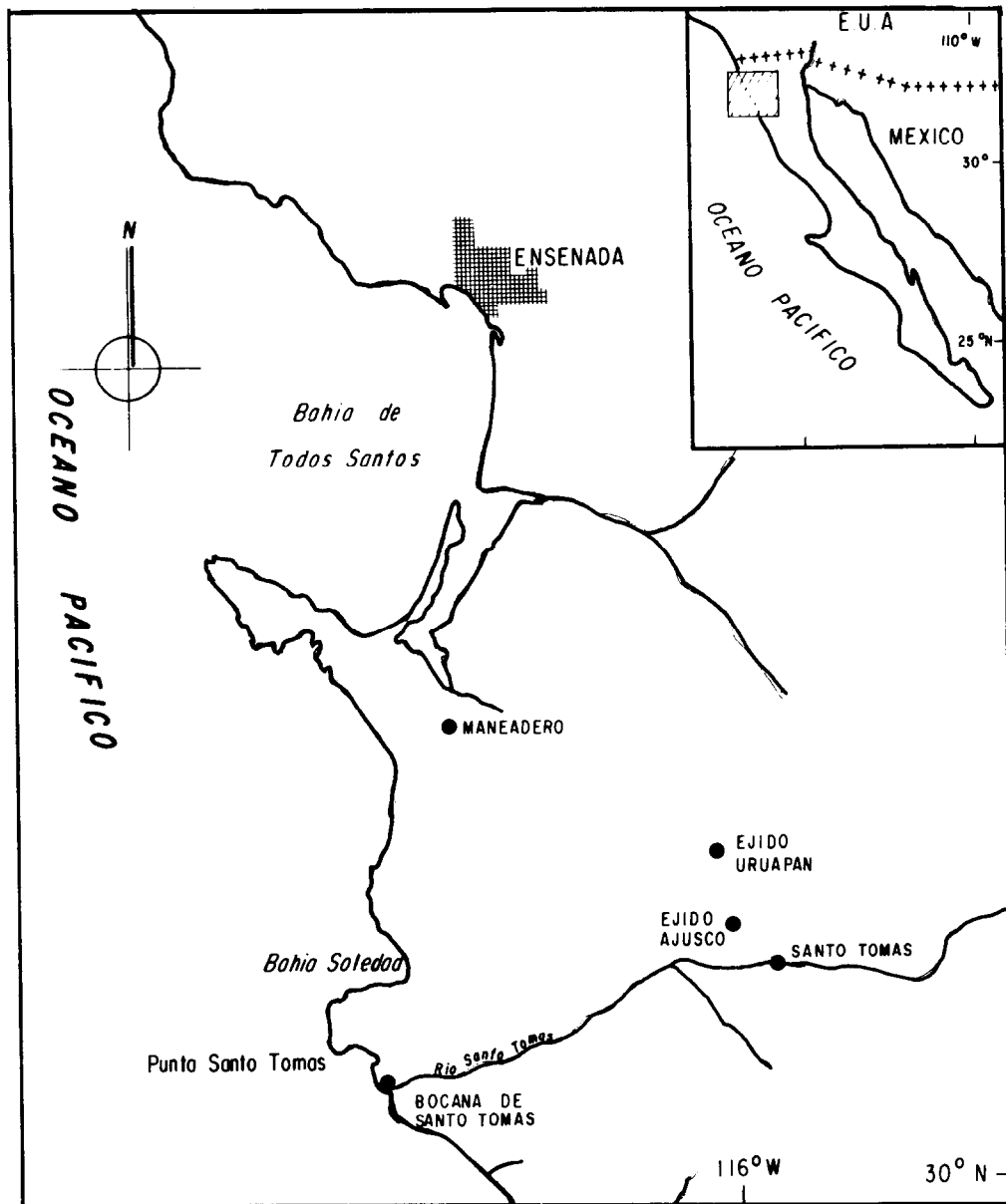


FIG. 2. Distribución geográfica (local) de *Procambarus clarkii*. Visitas realizadas en el estado de Baja California.
 Distribution of *Procambarus clarkii* in Baja California State.

bién fue perforada (Fig. 4-4), con dos orificios; uno para la entrada de agua y otro para administrar el alimento. Las 50 cajas que

organisms. The 50 boxes in each section were subdivided in three groups and a numerical and alphabetical combination was assigned

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

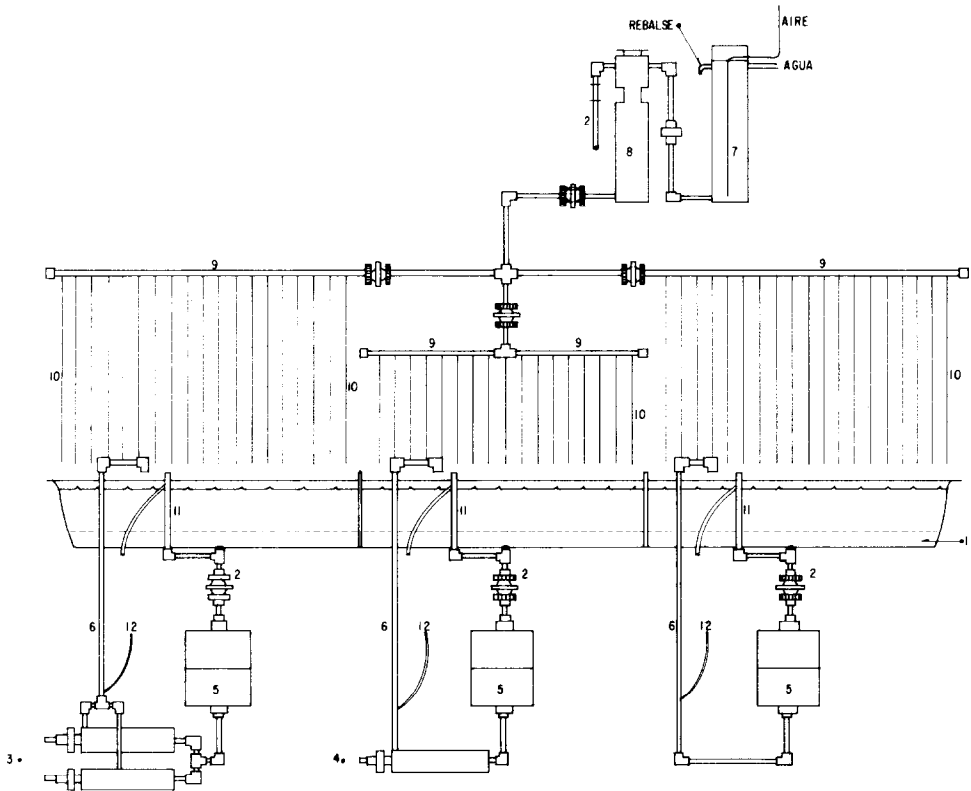


FIG. 3. Diseño del sistema experimental. 1. Doble fondo 2. Desagüe 3. Termostato doble (Temp. I) 4. termostato sencillo (Temp. II). 5. Filtro de carbón activado 6. Elevador vertical ("air lift") 7. Burbujeador 8. Cámara para atrapar burbujas 9. Tubos de distribución 10. Repartidor con 50 mangueras 11. Control de nivel y mangueras de desagüe 12. Aire.
 Experimental system design. 1. Double bottom 2. Drain 3. Double thermostat (Temp. I) 4. Single thermostat (Temp. II) 5. Activated charcoal filter 6. Air lift 7. Bubbling device 8. Bubble trap chamber 9. Distribution tubes 10. Distributor with 50 tubes 11. Level control and drain tubes 12. Air.

tuvo cada sección se subdividieron en tres grupos y se designaron con una combinación numérica y alfabética para diferenciarlas según su dieta (Fig. 5).

El agua dulce se introdujo al sistema por la parte superior, donde primero se aireaba con un burbujeador (Fig. 3-7); después pasaba a otra cámara donde eran atrapadas las burbujas (Fig. 3-8) para continuar

to each to differentiate them by diets (Fig. 5).

Fresh water was introduced to the system by the top previously aerated by a bubbles were (Fig. 3-7); it was later transported to another box where the bubbles were trapped (Fig. 3-8) continuing to the 3/4" PVC distribution tubes (Fig. 3-9). In each section 50 hoses took the water from

Re-Buckle

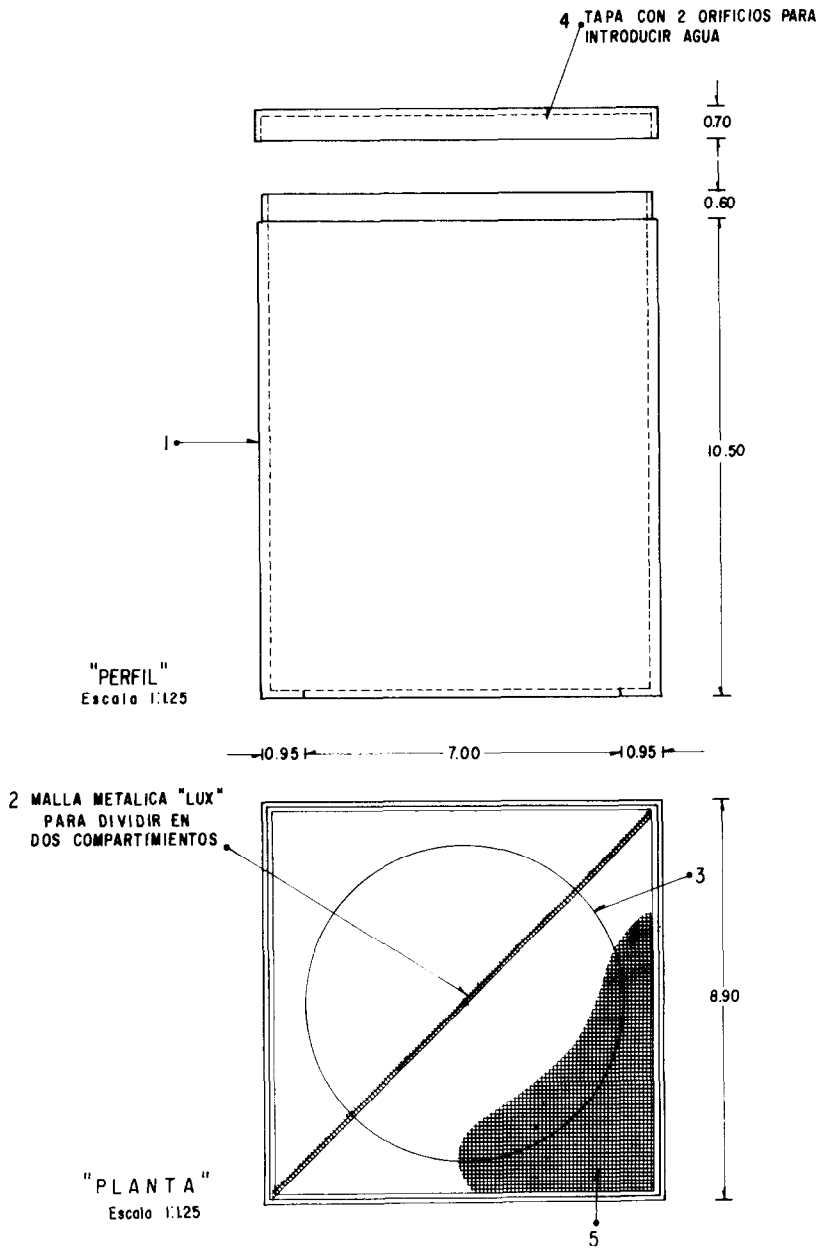


FIG. 4. Compartimientos para juveniles 1. Caja experimental de acrílico 2. Mallas plásticas y acero galvanizado 3. Orificio 4. Tapa 5. Malla doble del fondo.
 Juvenile compartments 1. Acrylic experimental box 2. Plastic and galvanized iron mesh 3. Hole 4. Tap 5. Double bottom mesh.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

I T ₁										II T ₂										III T ₃									
6c	* 6	* 12	o 18	o 24	o 30	o 36	o 42	o 48		* 56	* 62	o 68	o 74	o 80	o 86	o 92	o 98		* 106	* 112	o 118	o 124	o 130	o 136	o 142	o 148			
5c	* 5	* 11	o 17	o 23	o 29	o 35	o 41	o 47		* 55	* 61	o 67	o 73	o 79	o 85	o 91	o 97		* 105	* 111	o 117	o 123	o 129	o 135	o 141	o 147			
4c	* 4	* 10	o 16	o 22	o 28	o 34	o 40	o 46	50c	* 54	* 60	o 66	o 72	o 78	o 84	o 90	o 96	o 100	* 104	* 110	o 116	o 122	o 128	o 134	o 140	o 146	o 150		
3c	* 3	* 9	o 15	o 21	o 27	o 33	o 39	o 45		* 53	* 59	o 65	o 71	o 77	o 83	o 89	o 95		* 103	* 109	o 115	o 121	o 127	o 133	o 139	o 145			
2c	* 2	* 8	o 14	o 20	o 26	o 32	o 38	o 44	50c	* 52	* 58	o 64	o 70	o 76	o 82	o 88	o 94	o 99	* 102	* 108	o 114	o 120	o 126	o 132	o 138	o 144	o 149		
1c	* 1	* 7	o 13	o 19	o 25	o 31	o 37	o 43		* 51	* 57	o 63	o 69	o 75	o 81	o 87	o 93		* 101	* 107	o 113	o 119	o 125	o 131	o 137	o 143			

* A	16 cajas	* A	17 cajas	* A	17 cajas
o B	17 cajas	o B	17 cajas	o B	16 cajas
o C	17 cajas	o C	16 cajas	o C	17 cajas

FIG. 5. Distribución de las dietas y las temperaturas experimentales en cada sección del estanque. T1; T2; T3; temperaturas 1, 2 y 3. Diet and experimental temperature distribution in each section of the tank T1; T2; T3; temperatures 1, 2 and 3.

a los tubos de distribución (Fig. 3-9), que se construyeron de PVC de 3/4 de pulgada. En cada sección, un tubo repartidor con cincuenta mangueras hacía llegar el agua a cada caja (Fig. 3-10). Cada sección tenía un control de niveles. (Fig. 3-11). La velocidad del fluido determinó la temperatura de cada sección.

La primera sección tiene dos termostatos (Fig. 3-3) que mantenían la temperatura en un rango de 18 a 30°C; la segunda sección, intermedia, con un solo termostato, (Fig. 3-4) trabajaba de 18 a 26°C, y la tercera a la temperatura ambiental, la cual está regida por el aire acondicionado del laboratorio, regulado de 20-22°C.

Las tres secciones tienen desagües independientes (Fig. 3-2) conectados a filtros de carbón activado (Fig. 3-5) que limpian el agua y la regresan a la sección correspondiente por medio de un elevador vertical (air-lift) (Fig. 3-6 y 3-12). El sistema puede funcionar cerrado, abierto o de ambas maneras a la vez, eliminando la posibilidad de que el cultivo fracasase por interrupciones en el suministro de agua. El agua potable de la ciudad de

the distribution tube to each box (Fig. 3-10—. Each section had a level control (Fig. 3-11). The speed of the fluid determined the temperature in each section.

The first section has two thermostats (Fig. 3-3) that kept the temperature in a range of 18 to 30°C. The second section, with only one thermostat (Fig. 3-4) worked in a range of 18 to 26°C, and third at the environmental temperature, which is controlled by the laboratory's air conditioning system regulated from 20-22°C.

The three sections have independent discharges (Fig. 3-2) connected to activated carbon filters (Fig. 3-5) that clean the water and return it to the correspondent section by a vertical elevator (air-lift) (Figs. 3-6 and 3-12). The system can work closed, opened or both, eliminating the possibility of a failure due to interruptions on the water supply. The potable water of the city went through a clarifier stopping particles and impurities and through a high capacity softener to lower the carbonate content.

Ensenada, antes de ser utilizada, se hizo pasar por un clarificador que retenía partículas e impurezas y por un suavizador de alta capacidad que trabajaba el contenido de carbonatos.

En una visita de prospección que se realizó al arroyo localizado en La Bocana de Santo Tomás, al sur este del Ejido Ajusco, se encontró una población de *Procambarus clarkii* viviendo en las márgenes, refugiada bajo la vegetación que crece sobre y dentro del agua. Este río tiene una profundidad de 75 cm con un sustrato mixto de lodo y predominantemente arena. Utilizando una red de metal de los nativos del lugar y otra de malla de nylon, se procedió a capturar 17 parejas de cangrejos del río, cantidad suficiente para iniciar el cultivo de astácidos en condiciones de laboratorio.

Los organismos fueron transportados al laboratorio de Acuicultura del CICESE en hieleras de plástico, protegidos con vegetación del lugar.

Los progenitores se colocaron en un estanque de fibra de vidrio (200l) para observar los apareamientos registrando la hora del día y el tiempo aproximado que duraba la cópula. Al terminar el proceso se separaba a las hembras en acuarios de 60l de capacidad, para seguir observándolas. Posteriormente se registraba la fecha del desove, que ocurría entre 5 y 6 semanas después de la cópula, y se registraba la coloración de los huevos para saber si estaban fertilizados. En general, las condiciones a las que se mantuvieron las hembras ovígeras fueron: temperatura de 20 a 22°C con aereación constante y oxígeno oscilando entre 7 a 8 ppm; se les administró alimento preparado *ad libitum*; el agua se cambiaba totalmente cada tercer día.

Los juveniles obtenidos de cada hembra (Tabla I) se separaban y se contaban cuando tenían un mes de vida. La hembra se regresaba al estanque de los progenitores después de que mudaba, para evitar canibalismo entre los adultos.

In a survey visit to the stream in La Bocana de Santo Tomás southeast of Ejido Ajusco, a population of *Procambarus clarkii* was found living in the shores under the vegetation growing on and in the water. This river has a 75 cm depth with a mixed muddy and sandy substrate. With the use of a metal net of the natives and a nylon one we captured 17 couples of river crabs, enough to start the astacids' culture in laboratory conditions.

The organisms were transported to the Aquaculture Laboratory at CICESE in plastic ice boxes, protected with vegetation.

The mature specimens were placed in a glass fiber tank (200 l) to observe the couplings recording the time of day and the approximate duration of it. At the end of the process the females were placed in aquaria with a 60 l capacity to be kept under observation. Later, the data of spawning was recorded, usually 5 to 6 weeks after coupling; the eggs' coloration was also recorded to know whether they were fertilized. In general, the ovigerous females were kept at temperatures of 20-22°C, the aeration was constant and the oxygen oscillated between 7 to 8 ppm. They were given food prepared *ad libitum*. The water was totally changed every third day.

The juveniles obtained from each female (Table I) were separated and counted when they were one month old. The female was returned to the tank with the adults after molting to avoid cannibalism.

Knowing the total number of offspring per female, the juveniles for each treatment were selected at random and then they were acclimatized to the assigned temperature. To equal the experimental conditions all the offspring of one female were introduced into the acrylic boxes in the same day. Survival and molting frequency were checked daily. The organisms and the moltings were preserved to measure the cephalothorax length.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

TABLA I. Juveniles obtenidos (crías) por hembra de la Bocana de Santo Tomás que se introdujeron en los 9 tratamientos. Long. Cef. = longitud cefalotorácica.
 Obtained juveniles (young) per female from La Bocana de Santo Tomás introduced in the 9 treatments. Long. Cef. = Cephalothoracic length.

♀ #	Crios	Long. Total	Long.Cef.	Ancho
1	18	10.60	5.33	2.42
2	150	10.43	5.44	2.44
3	20	9.83	5.14	2.41
4	52	9.40	4.90	2.24
5	60	8.87	4.60	2.14
6	39	10.29	5.44	2.42
7	178	9.56	5.00	2.33
8	89	9.56	5.52	2.44

Conociendo el número total de crías por hembra, se seleccionaban al azar los juveniles que entrarían a cada uno de los tratamientos, para evitar sesgo y perder la aleatoriedad e independencia de los datos y se procedía a aclimatarlos dependiendo de la temperatura asignada. Para igualar las condiciones experimentales, todas las crías de una hembra eran introducidas en el mismo día en las cajas de acrílico. Diariamente en cada caja se revisaba la sobrevivencia y la frecuencia de muda. Los organismos y las mudas se preservaron para medir la longitud del cefalotórax.

Debido a la fragilidad del material biológico no se pudieron pesar los juveniles y por lo tanto no se limitó el alimento en cuanto al porcentaje de su peso inicial, sino que se les dio *ad libitum*. Diariamente se extraía el alimento sobrante.

Las dietas isocalóricas sólo fueron cuantitativamente diferentes y estaban formadas por los mismos productos; a saber,

Due to the fragility of the biological material we were not able to weight the juveniles and so, the food was not limited with respect to their initial weight percentage, giving it to them *ad libitum*. The remaining food was extracted daily.

The isocaloric diets were only quantitatively different and consisted of the same products, sardine flour, soy flour, beets flour and agar (Table II), they differed percentually (Table III) but kept an isocaloric range (Table IV) (Re-Araujo, 1984).

The noodle-like dry food was put through a cutter previously designed (Fig. 6) giving it a pellet size of appropriate length and volume.

RESULTS

All the experimental work took place with a photoperiod of fifteen hours of light and nine of darkness.

Re-Buckle

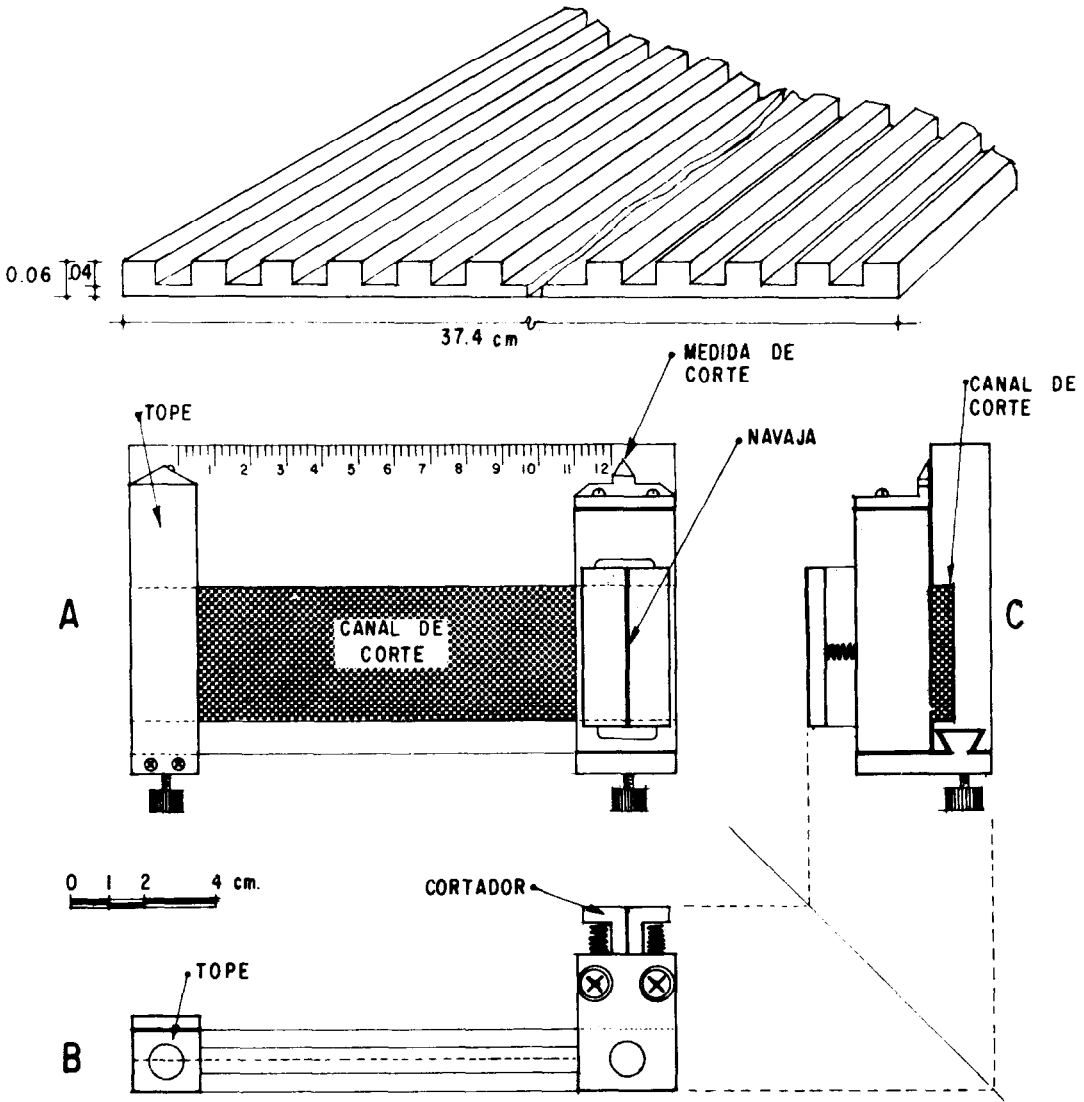


FIG. 6. Charola para moldear tallarines y cortador de alimento en vista A, superior; B, frontal; C, lateral.
Molding noodle tray and food cutter in ; A, superior; B frontal and C, lateral view.

RESULTADOS

Todo el trabajo experimental se llevó a cabo con un fotoperíodo de quince horas de luz y nueve de obscuridad.

Their development and maturation of the eggs lasted a month. This was more extensive than the reported by Penn in 1943 of approximately 17 days for *Procambarus clarkii* and to 21 days in natural conditions

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

Se observó, por medio de las incidencias de apareamiento, que los meses de mayor frecuencia corresponden al verano, disminuyendo hacia los meses de noviembre, diciembre y enero (Fig. 7). Estas observaciones se llevaron a cabo ocho meses en el laboratorio y durante el día, por lo que la frecuencia puede ser mayor ya que en la noche, sin el personal en el laboratorio, los organismos también podrían haberse apareado. En total se fertilizaron positivamente doce hembras y de siete de ellas se utilizaron sus juveniles.

El desarrollo y la maduración de los huevos duraron invariablemente un mes, más extensos que los reportados por Penn en 1943 para *Procambarus clarkii*, de aproximadamente 17 días, y al nivel de Wright en Anón. (1980), de 21 días en condiciones naturales. Esta diferencia puede deberse a la temperatura del agua del laboratorio, que se mantuvo entre los 18 a 20°C. A pesar de las condiciones de limpieza mantenidas en los acuarios destinados a las hembras ovígeras, se tuvieron problemas con los hongos que atacaron los huevos, siendo más susceptibles los de color anaranjado (sin fertilizar) que los de color café rojizo (fertilizados). Las hembras con huevos infectados (cubiertos con micelas) fueron tratadas con verde de malaquita, fungicida efectivo utilizado comúnmente para peces de agua dulce. Se les administró una gota por dos litros de agua durante una semana, dando buenos resultados. En algunos casos, manualmente se quitaron los hongos de los huevos.

Las dietas preparadas fueron muy estables en el agua y en las tres secciones con un tiempo mayor de seis horas. Fueron fáciles de almacenar y no se requirió refrigeración (Re-Araujo, 1984).

Durante el tiempo en que se probaron las dietas se hizo un control continuo de temperatura, pH y amonio en las tres secciones del sistema experimental descrito. Los datos obtenidos se graficaron contra el tiempo (días) en la computadora PRIME del CICESE. Para la sección I la figura 8c muestra la temperatura graficada, que fluctuó entre $26 \pm 1^\circ\text{C}$. Se observa que en los prime-

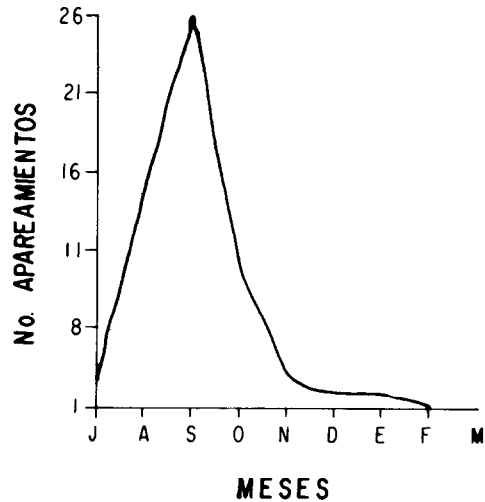


FIG. 7. Incidencia de apareamientos de *Procambarus clarkii* vs. tiempo en el Laboratorio de Acuicultura CICESE. Mate incidence of *Procambarus clarkii* vs. time in the Aquaculture Laboratory of CICESE.

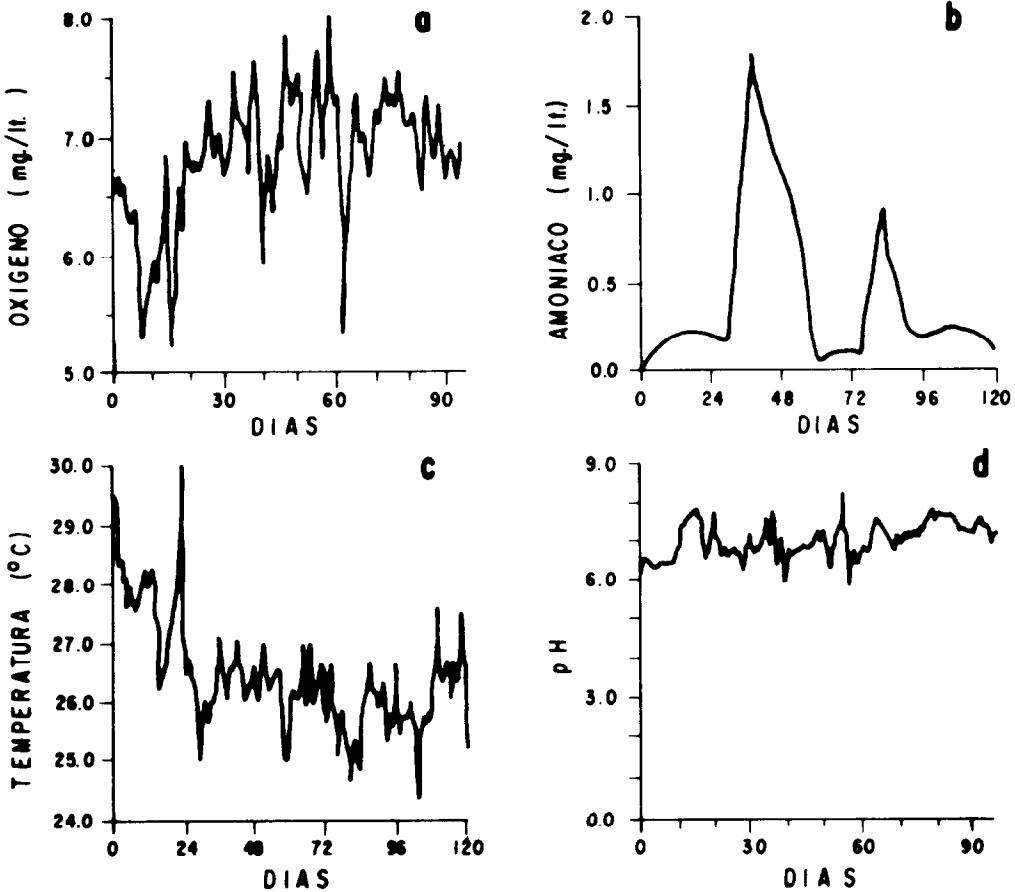
reported by Wright in Anón. (1980) this difference could be due to the water temperature in the laboratory that was kept between 18 to 20°C. In spite of the clean conditions kept in the aquaria destined for the ovigerous females, we had problems with fungi attacking the eggs, the orange colored (not fertilized) being more susceptible than the reddish-brown ones (fertilized). The females with infected eggs (covered by micelle) were treated with malaquita green, effective fungicide commonly used for fresh water fishes. One drop per 2 l of water was administered for over a week with good results. In some cases the fungi were manually removed.

The prepared diets were very stable in the water and in the three sections with a time longer than six hours. They were easy to store and did not required refrigeration (Re-Araujo, 1984).

During the time the diets were tested, a continuous temperature, oxygen, pH and ammonia control was done in the three

ros 20 días las oscilaciones fueron mayores, pero posteriormente se logró estabilizar. El pH (Fig. 8 d) varió entre 6.5 y 7.0, siempre dentro de rangos óptimos (6.0-7.8) (La Caze, 1976). El oxígeno (Fig. 8a) se mantuvo entre 7 ± 1 ppm, aunque se observaron tres mínimos; dos de ellos de 5.4 al principio y el tercero al 62º día de experimentación; pero siempre estuvo dentro del rango biológico aceptable (Bardach *et al.* 1972; Nelson y Dendy, 1978). En el amonio (Fig. 8b) se detectaron dos máximos; uno de 1.77 y el otro de 0.88 mg/l, pero en general los niveles se mantuvieron inferiores a 1.

sections of the experimental system. The obtained data were plotted against time (in days) in the PRIME computer at CICESE. For section I, Figure 8c shows the plotted temperature which fluctuated between $26 \pm 1^\circ\text{C}$. The oscillations in the first 20 days were bigger, but this was stabilized later. pH (Fig. 8d) varied between 6.5 and 7.0, always between optimum ranges (6.0-7.8) La Caze, 1976). The oxygen (Fig. 8a) stayed between 7 ± 1 ppm although three minima were observed, two of them of 5.4 at the beginning and the third at the 62th day of experimentation, but it was always inside the accepted biological range (Bardach *et al.*, 1972; Nelson and Dendy, 1978).



- FIG. 8. Parámetros fisicoquímicos de la sección I. Physical and chemical parameters in section I.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

Las observaciones de temperatura, oxígeno, pH y amonio de la sección II se muestran en la figura 9. El oxígeno osciló en los primeros días experimentales entre 6 y 5 ppm, pero a partir del 20º día se mantuvo entre 6 y 8 ppm (Fig. 9a). La temperatura se logró mantener entre 23 y 24°C ± 1°C (Fig. 9c). El amonio presentó dos máximos; uno de 1.7 y otro de 0.9 (mg/l) (Fig. 9b). El pH (Fig. 9d) se mantuvo siempre básico con valores mayores de 7 ± 1.

In the ammonia (Fig. 8b) two maxima were detected, one of 1.77 and the other of 0.88 mg/l, but in general, the levels stayed lower to 1.

The temperature, oxygen, pH and ammonia observations in section II are shown in Figure 9. The oxygen oscillated in the first experimental days between 6 and 5 ppm, but from the 20th day it stayed between 6 and 8 ppm (Fig. 9a). Temperature was kept between 23 and 24°C ± 1°C (Fig. 9c). The ammonia presented two maxima, one of 1.7 and the other of 0.9 mg/l (Fig. 9b). pH stayed always basic, with values higher than 7 ± 1

En la sección III el oxígeno (Fig. 10a) fue más alto que en las dos secciones anteriores debido al efecto de la baja temperatura (Fig. 10c). Se constataron valores de 6-7 ppm cuando ésta estuvo entre 21 y 22º, y de 8 a

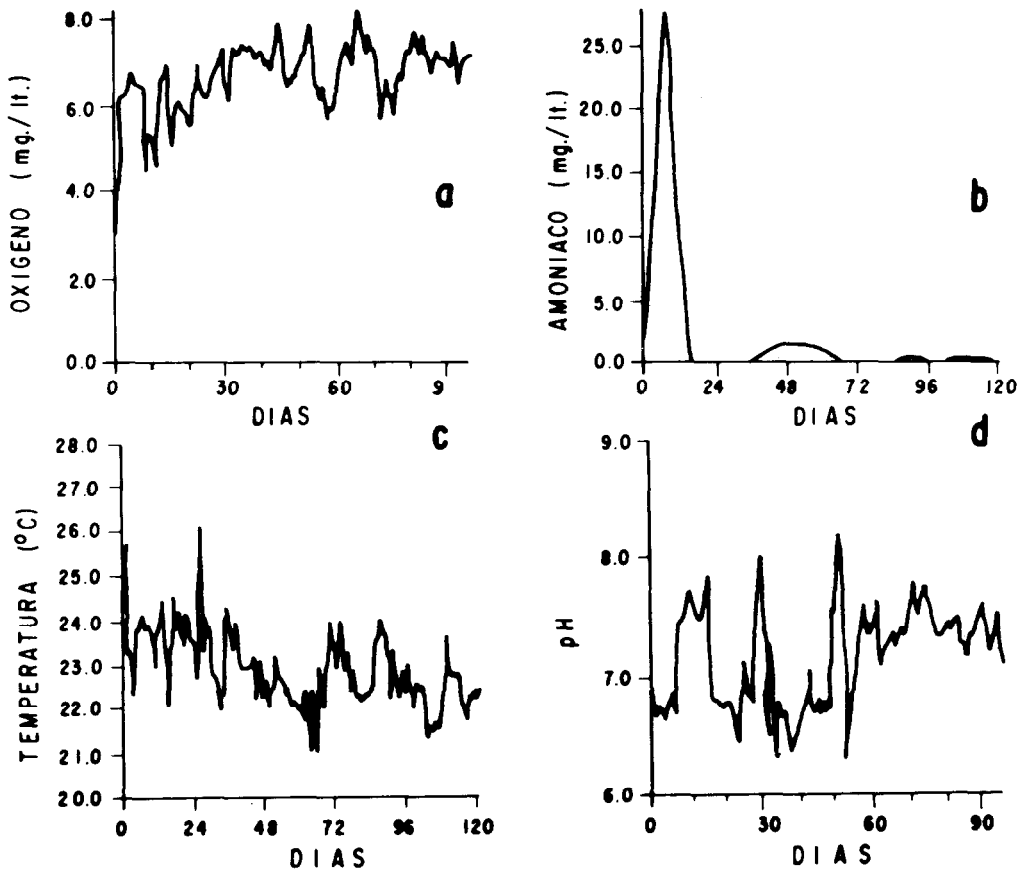


FIG. 9. Parámetros fisicoquímicos de la sección II.
Physical and chemical parameters in section II.

harina de sardina, harina de soya, harina de acelga y agar (Tabla II). Difierían porcentualmente (Tabla III), pero mantenían un rango isocalórico (Tabla IV) (Re Araujo, 1984). El alimento seco y en forma de un tallarín se pasaba a un cortador previamente diseñado (Fig. 6), el cual daba un tamaño de pellet de longitud y volumen apropiado para los animales.

By the coupling incidences, it was observed that the months with a higher frequency correspond to summer, decreasing towards the months of November, December and January (Fig. 7). These observations took place during eight months in the laboratory and during the day; that is why the frequency could be higher because the organisms could have coupled by night when there were no laboratory personnel around. In total, 12 female were positively fertilized and we used the juveniles of seven of them.

TABLA II Análisis proximal de los componentes en cal/g de las dietas experimentales. Proximal analysis of the experimental diets compounds in cal/g.

ALIMENTO	CALCIO	CARBOHIDRATOS	HUMEDAD	PROTEINA	GRASA	CENIZAS	CONT. CALORICO (cal./grs.)
Harina de sardina	—	0.5	4.29	66.79	8.97	14.55	46.40
Harina de soya	1.87	40.2	—	37.30	3.90	—	33.1
Acelga molida	62	4.8	—	2.9	0.3	—	62

TABLA III. Composición porcentual (o/o) de las dietas experimentales. Percentual composition (o/o) of the experimental diets.

ALIMENTO EN %	DIETAS ISOCALORICAS					
	1	2	3	4	5	6
Harina de sardina	70	60	45	25	10	5
Harina de soya	5	15	30	50	65	70
Harina de acelga	20	20	20	20	20	20
Agar	5	5	5	5	5	5
Total	100	100	100	100	100	100

TABLA IV. Composición calórica (cal/g) de las dietas experimentales. Caloric composition (cal/g) in the experimental diets.

ALIMENTO EN CALORIAS /gr	DIETAS ISOCALORICAS					
	1	2	3	4	5	6
Harina de sardina	348.00	278.40	208.80	116.00	46.40	23.20
Harina de soya	16.55	49.65	99.30	165.50	215.15	248.25
Harina de acelga	12.40	12.40	12.40	12.40	12.40	12.40
Total cal./gr.	376.95	340.45	320.50	293.90	273.95	283.95

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

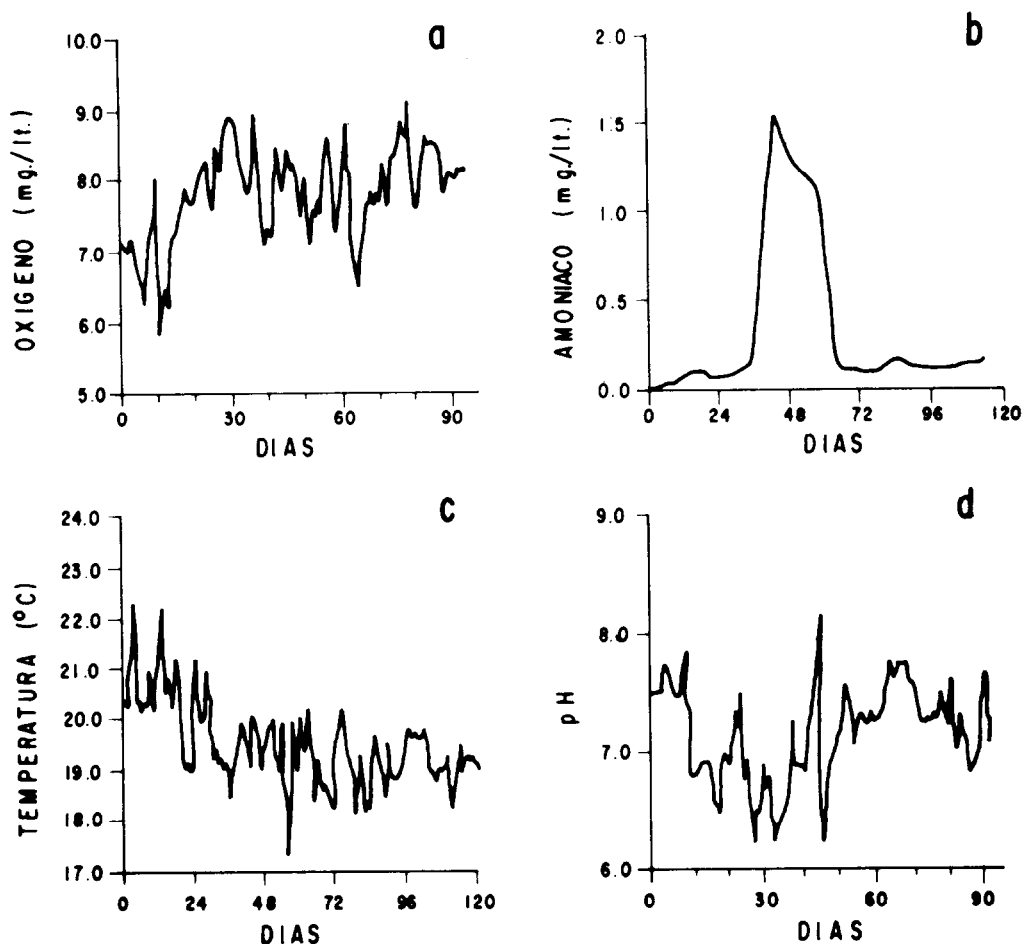


FIG. 10. Parámetros fisicoquímicos de la sección III.
Physical and chemical parameters in section III

9 ppm cuando bajó a $19 \pm 1^\circ\text{C}$. El amonio sólo tuvo dos máximos, de 1.5 y 1.3, en los días 48 y 70 (Fig. 10b); pero estos máximos y los observados en las dos secciones anteriores probablemente fueron causados por un error en la calibración del microanalyzer de iones. El pH (Fig. 10d) fue básico (7 a 8) durante todo el experimento.

Las velocidades de fluido se trataron de mantener dentro de los rangos de 100-250 ml/min (Fig. 11); así, las fluctuaciones de temperatura en las secciones no excedieron los valores experimentales propuestos.

In section III oxygen (Fig. 10a) was higher than in the two previous sections due to the low temperature (Fig. 10c). Values of 6-7 ppm were recorded when the temperature was between 21 and 22°C and from 8 to 9 ppm when this dropped to $19 \pm 1^\circ\text{C}$.

The ammonia only had two maxima of 1.5 and 1.3 in days 48 and 70 (Fig. 10b), but these maxima and the observed in the two previous sections were probably due to a mistake in the calibration of the ion microanalyzer. pH (Fig. 10d) was basic (7-8) throughout the experiment.

Durante esta experiencia, se trabajó con juveniles provenientes de siete hembras y se observó la sobrevivencia de cada grupo. El número de individuos por hembra varió mucho y por ende, también la cantidad de organismos que se introducían en cada combinación experimental (Tabla V). De esta forma cada tratamiento se repitió varias veces (Tabla VI).

Con los resultados obtenidos se graficó el número de organismos introducidos en cada sección en el tiempo así como su extracción del sistema por mortalidad, tal como se muestra en las figuras 12a, b y c. En la sección I la sobrevivencia fue muy baja durante todas las introducciones de los juveniles, los cuales morían entre el tercero y el quinto día (Fig. 12a).

En la segunda sección la mortalidad fue más elevada al principio pero no llegó a ser total (Fig. 12b); ya en la tercera sección la dinámica fue distinta porque en general la mortalidad fue menor que en las dos secciones anteriores (Fig. 12c).

En la figura 13 se muestra la variación de la temperatura en la sección 1 (Fig. 13-1) y el porcentaje de sobrevivencia en el tiempo en los tratamientos I-A, I-B, y I-C; además, en cada gráfica se muestra el momento de la introducción de juveniles al sistema por progenie (1, 2, 3, 4, y 5). Con el mismo esquema se presentan las figuras 14 y 15. En la sección I y en la dieta A (proteína animal) quedó sólo el 2.7 % de la población estudiada, en la B y en la C un 0 % de sobrevivencia (Fig. 13).

En la sección II los organismos logran vivir bajo las condiciones impuestas mudando y creciendo; el porcentaje de sobrevivencia en la dieta A fue de 1.53 % en la dieta B, 5.79 % y en la dieta C, 6.45 % (Fig. 14). Las sucesivas introducciones de los juveniles de *Procambarus clarkii* en la tercera sección se sumaban a las anteriores, lo cual permitió obtener más información. Se observó muda y crecimiento; la sobrevivencia en la dieta A fue de un 14.11 %; en la dieta B, 7.77 % y en la dieta C, 4.25 % (Fig. 15).

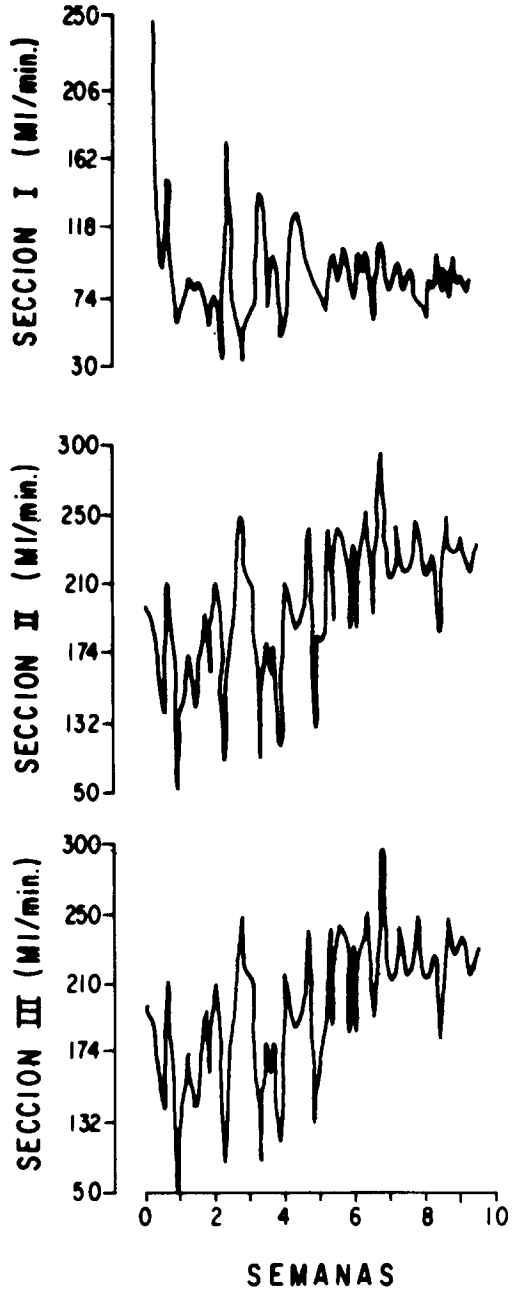


FIG. 11. Velocidades del fluido en las tres secciones.
Flow velocity in three sections.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

TABLA V. Número de organismos introducidos por progenie y por tratamiento. (nt = número total de organismos, ni = número de organismos/hembra).
Number of the introduced organisms by broodstock and by treatment (nt = total number, ni = number of the organisms/female).

DIA	♀ #	T R A T A M I E N T O									nt	ni
		I-A	I-B	I-C	II-A	II-B	II-C	III-A	III-B	III-C		
13	1	4	3	6	3	4	3	4	4	5	36	36
14	2	19	15	16	20	27	14	16	19	24	170	198
34	3	11	4	4	16	14			30	23	110	110
45	4							21		3	24	24
55	5							19			19	19
58	6	2	2	2	21	11	4	16	6	14	78	146
72	7		7	10	5	14	10	11	19	20	96	98

TABLA VI. Número de repeticiones por tratamiento.
Repetition number by treatment.

TEMPERATURA	D I E T A			TOTAL
	A	B	C	
I 26 °C	4	5	5	14
II 24 °C	5	5	4	14
III 20 °C	6	6	6	20

A simple vista, en las tres figuras es posible detectar dos grupos de curvas. En el segundo grupo se observa una extensión del tiempo de sobrevivencia de los juveniles. Debido a esto se trataron los dos grupos de curvas con un análisis de varianza que indicó una diferencia significativa en esta apreciación (Tabla VII); pero considerando solamente el 50 % de sobrevivencia de cada población.

The fluid speed was kept inside the range of 100-250 ml/min (Fig. 11), thus the temperature fluctuations in the sections did not exceeded the proposed experimental values.

During this experience we worked with juveniles from seven females and we observed the survival in each group. The number of individuals per female varied

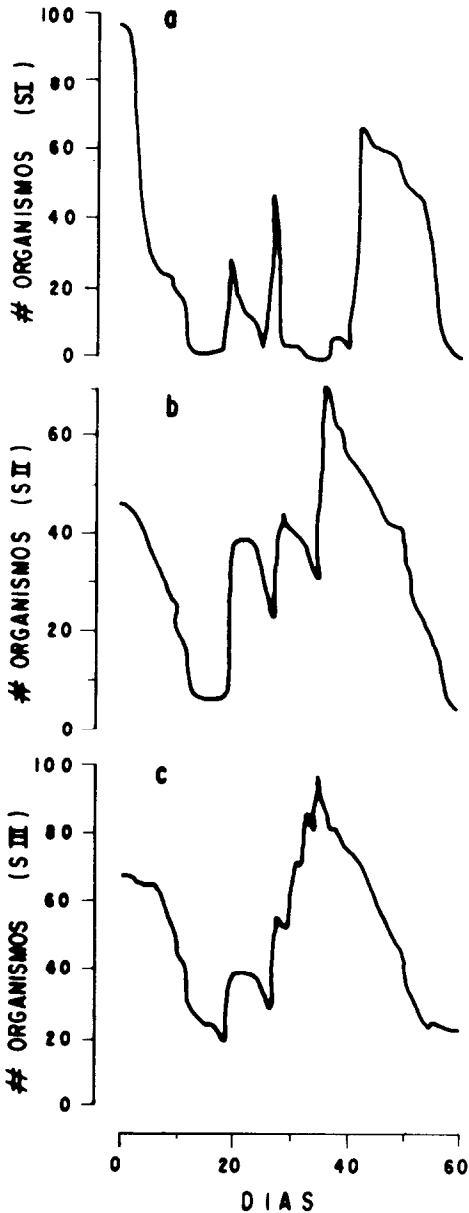


FIG. 12. Número de organismos en cada una de las secciones vs. tiempo experimental. S.I.: S.II: S.III, secciones. Number of organisms on each sections vs. experimental time SI; SII; SIII, sections.

a lot and so did the amount of organisms that were introduced in each experimental combination (Table V). In this way every treatment was repeated several times (Table VI).

With the results we plotted the number of organisms introduced in each section in time, as well as their removal from the system by mortality, as is shown in figures 12a, b and c. In section I survival was very low during the juveniles introductions, which died between the third and fifth day (Fig. 12a). In the second section mortality was higher in the beginning, but it was never total (Fig. 12b), for in the third section the dynamic was different because in general, mortality was lower than in the other sections (Fig. 12c).

In figure 13, the temperature variation in section I (Fig. 13-1) is shown, and the survival percentage in time, in treatments I-A, I-B, I-C; besides, in each graphic is shown the moment of the juvenile introduction in the system per female (1, 2, 3, 4 and 5). Figures 14 and 15 presented with the same outline. In section I and diet A (animal protein) only 2.7 % of the studied population remained; in B and C survival was 0 % (Fig. 13).

In section II the organisms could live under the imposed conditions, molting and growing; the survival percentage with diet A was 1.53 %; with diet B, 5.79 % and with diet C, 6.45 % (Fig. 14). The successive introductions of juveniles of *Procambarus clarkii* were added to the previous ones which allowed us to obtain more information. We observed molting and growth. Survival with diet A was 14.11 %, with diet B, 7.77 % and with C, 4.25 % (Fig. 15). It is very easy to detect two curve groups in the three figures. In the second group we observed an extension in the survival time of juveniles. Because of this, both curve groups were treated with a variance analysis that indicated a significant difference in this appreciation (Table VII), but considering only 50 % of survival in each population.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

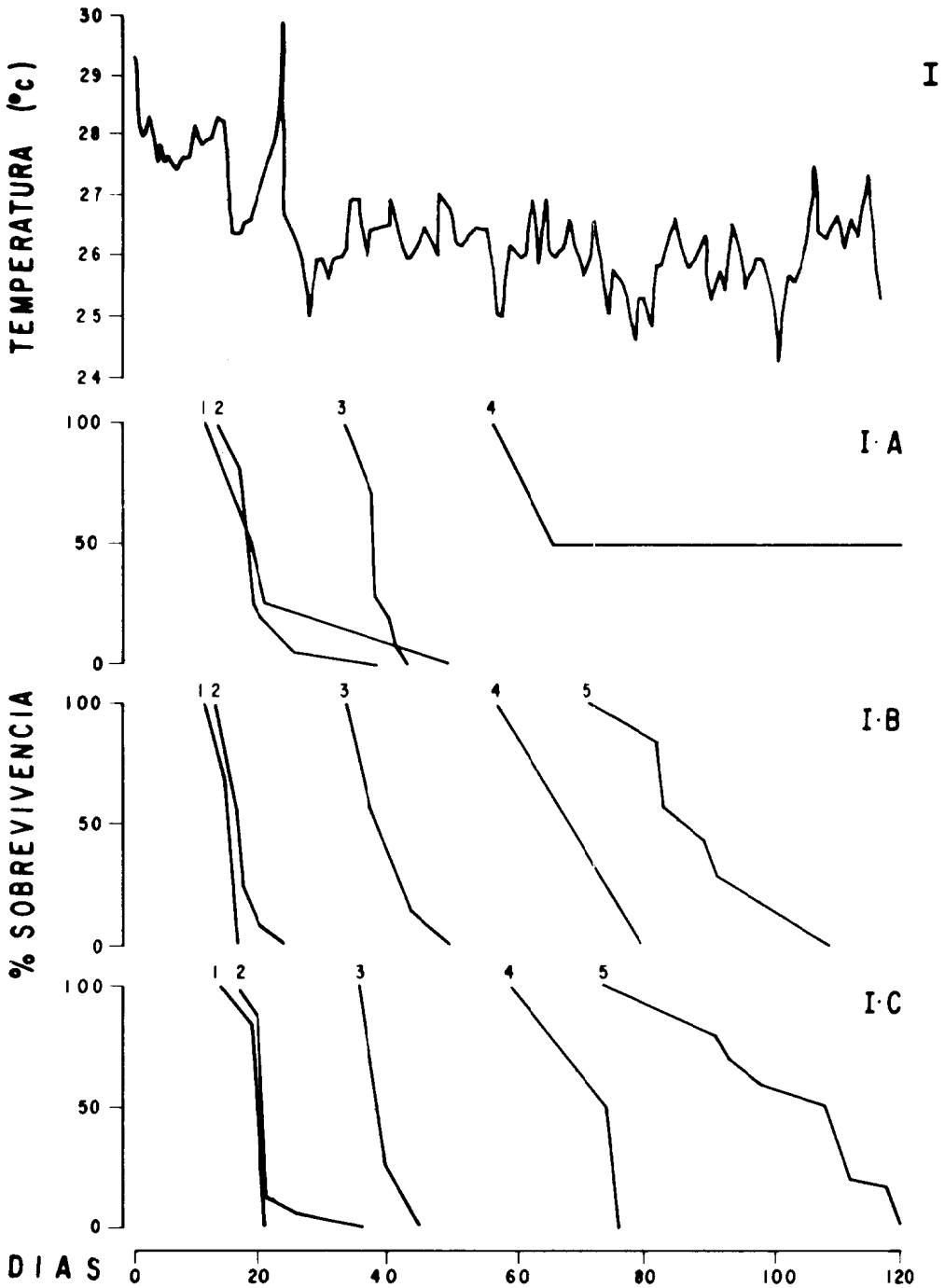


FIG. 13. Variación de la temperatura vs. tiempo (13-I). Introducción de juveniles por progenie en la sección I. Porcentaje de sobrevivencia en la dieta A (13-IA), en la dieta B (13-IB); y en la dieta C (13-IC) vs. tiempo.
 Temperature variations vs. time (13-I) juvenile introduction by broodstock in section I. Survival percentage in diet A (13-IA); diet B (13-IB) and diet C (13-IC) vs. time.

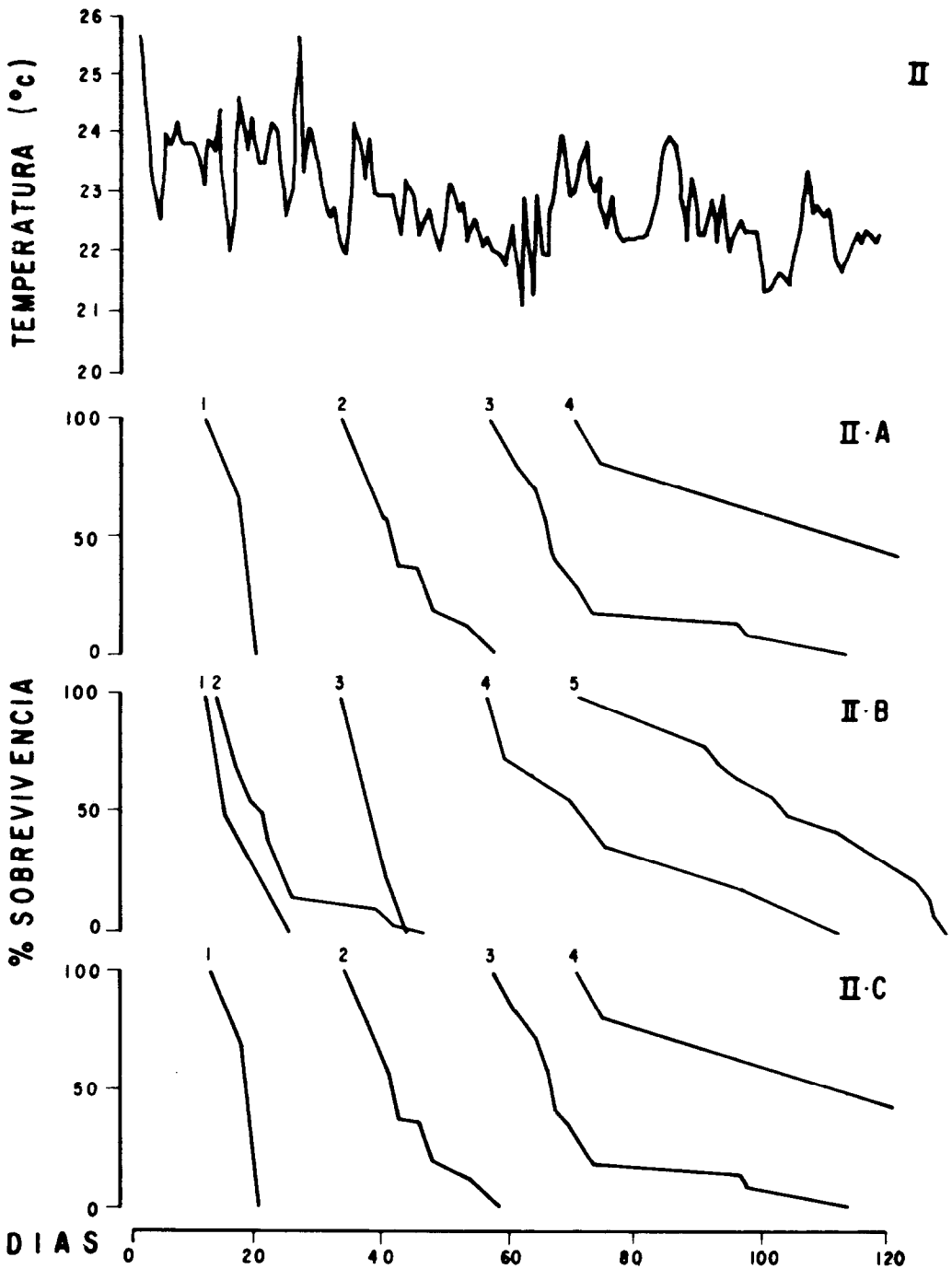


FIG. 14. Variación de la temperatura vs. tiempo (14-II). Introducción de juveniles por progenie en la sección II. Porcentaje de sobrevivencia en la dieta A (14-II) en la dieta B (14-II) y en la dieta C (14-II-C) vs. tiempo. Temperature variation vs. time (14-II) juvenile introduction by broodstock in section II. Survival percentage in diet A (14-II-A); diet B (14-II-B) and diet C (14-II-C) vs. time.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

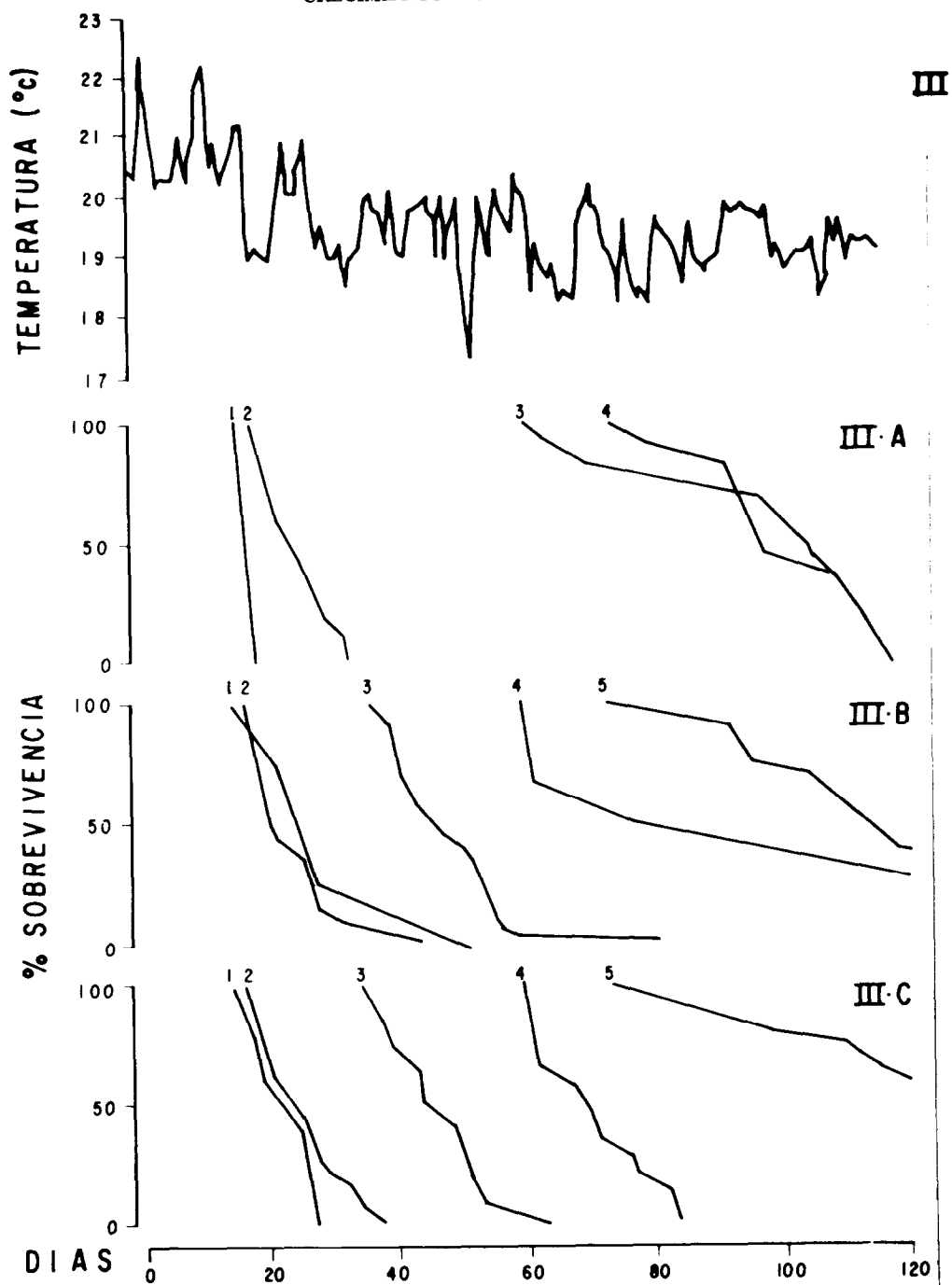


FIG. 15. Variación de la temperatura vs. tiempo (15-III). Introducción de juveniles por progenie en la sección III. Porcentaje de sobrevivencia en la dieta A (15-III A); en la dieta B (15-III B) y en la dieta C (15-III C) vs. tiempo.
 Temperature variations vs. time (15-III) juvenile introduction by broodstock in section III. Survival percentage in diet A (15-III A); diet B (15-III B) and diet C (15-III C) vs. time.

TABLA VII. Análisis de varianza de dos vías entre sobrevivencia (progenie) y tratamiento.
Two-way analysis of variance between survival (broodstock) and treatment.

Fuente de Variación	A N V A		II VIAS		
	D.F.	S.S.	MS = SS/DF		
Progenie	4	57 42.0	1436.0	5.72	* sig.
Dieta	2	3 07.0	154.0	19.50	sig.
Progenie-Dieta	8	5 18.0	650	3.04	sig.
Error	30	3849.0	128.0		
Total	44	10417.0			

En la Tabla VIII se presenta un sumario de las características anormales, observadas al microscopio, de todos los organismos que se introdujeron al sistema experimental. Estas observaciones se asocian a cada tratamiento con el fin de obtener un índice de saludabilidad. En particular, los tratamientos que tuvieron un mayor porcentaje de anomalías fueron las dietas B y C en la sección II. En la dieta A, en las secciones I y II hubo una incidencia de 3.01 y 3.08 % respectivamente, y en la sección III fue de 2.22 %/o. Las características más relevantes fueron: cefalotórax doblado, branquias expuestas, presencia de bacterias quitinívoras y cefalotórax hinchado, que reflejaron ya sea una pobre calidad en las dietas o bien el efecto de la contaminación del zinc, que se discute más adelante. En experimentos previos nunca se habían presentado anomalías de esta magnitud, aun cuando se trabajaba con alimentos no combinados y de valor proteínico inferior. Con los valores de la Tabla VIII se intentó probar si existía alguna diferencia significativa asociada a algún tratamiento, utilizando una prueba estadística de análisis de varianza de dos vías. Este análisis fue significativo para cada una de las características, encontrándose las siguientes asociaciones: manchas en el exoesqueleto de los animales en las secciones II y III; cefalotórax doblado en la sección III, pero

In Table VIII a summary of the abnormal characteristics observed through a microscope of all the organisms introduced into the experimental system is shown. These observations are associated to each treatment in order to obtain a health index. In particular, the treatments that showed a higher abnormalities percentage were diets B and C in section II. In diet A in sections I and II there was an incidence of 3.01 and 3.08 %/o, respectively and in section III it was of 2.22 %/o. The more relevant characteristics were bent cephalothorax, exposed gills, presence of quitinivore bacteria and swollen cephalothorax revealing either a poor quality in the diets or the effect of zinc pollution discussed later in this paper. In previous experiments we had never had abnormalities of this magnitude, even when we worked with non combined food and of lower proteinic value. With the values on Table VIII we tried to prove if there was a significant difference associated to some treatment using an statistical test of two way variance analysis. This analysis was significant for each of the characteristics finding the following associations: spots in the exoeskeleton in the organisms of sections II and III roughed cephalothorax in section III, with a low incidence; bent exposed gills and presence of quitinivore bacteria in section II (Table IX).

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

TABLA VIII. Características anormales producidas por efecto de las dietas y las temperaturas en los organismos de *Procambarus clarkii* durante el experimento.
Abnormal characteristics by diet effects and temperature in the *Procambarus clarkii* organisms during the experiment.

CARACTERISTICA	TEMPERATURA - DIETA									PROMEDIO \bar{x}
	I-A	I-B	I-C	II-A	II-B	II-C	III-A	III-B	III-C	
1.- Manchas en el exoesqueleto	0.00	6.45	0.00	7.23	4.34	12.9	7.06	2.22	2.13	4.93
2.-Cefalotorax doblado	0.00	0.00	2.63	0.00	1.45	0.00	1.18	1.11	1.06	0.83
3.-Branquias expuestas	2.77	0.00	2.63	1.54	2.90	6.45	2.35	5.55	2.13	2.92
4.-Canibalismo	0.00	0.00	2.63	4.62	4.35	3.22	3.53	1.11	3.19	2.52
5.-Hongos	0.00	0.00	0.00	1.54	5.80	0.00	1.18	1.11	1.06	1.19
6.-Bacteria Quitinivora	2.77	3.23	0.00	10.76	2.9	12.90	3.53	2.22	4.25	4.73
7.-Problemas al mudar	8.33	3.23	0.00	1.54	7.25	0.00	4.70	6.66	3.19	3.88
8.-Burbujas internas en la cavidad cefalotoraxica	5.55	0.00	0.00	3.08	0.00	3.22	7.05	3.33	1.06	
9.-Cefalotorax hinchado	0.00	0.00	0.00	0.00	2.90	0.00	0.00	0.00	1.06	0.44
10.-Coloracion anormal	8.33	0.00	0.00	3.08	8.67	6.45	4.70	1.11	3.55	4.21
11.-Separado cefalotorax del Telson (zona ecdycial)	8.33	3.23	0.00	1.54	5.80	0.00	1.18	1.11	0.00	2.35
12.-Presencia de puntos de Co en los mudos	0.00	0.00	0.00	0.00	2.90	0.00	0.00	1.11	3.19	0.80
PROMEDIO \bar{x}	3.01	1.35	0.66	3.08	4.10	3.70	3.04	2.22	2.32	

con una incidencia muy baja; branquias expuestas y presencia de bacterias quitinivoras en la sección II (Tabla IX).

Con la información de sobrevivencia por dieta y por temperatura en los nueve tratamientos, se trató de definir cuál o cuáles eran las mejores condiciones para *P. clarkii* (Avault, et al. 1974). Los datos se sometieron a una prueba de ajuste para

With the survival information per diet and per temperature, we tried to define which were the best conditions for *P. clarkii* in the nine treatments (Avault et al., 1974). The data were subjected to an adjustment test to have the normality condition, which was rejected just as was the transformation of the data to arch-sine. Then we applied the Wilson's two way non parametric variance analysis (Snedecor and Cochran, 1970;

cumplir con la condición de normalidad, la cual fue rechazada, al igual que la transformación de los datos a arco-seno. Entonces se aplicó la prueba de análisis de varianza no paramétrico de dos vías que Wilson (Snedecor y Cochran, 1970; Sokal y Rholf, 1979). Esta prueba dio una diferencia significativa para el factor 1 entre las temperaturas, pero no fue significativa para el factor

Sokal and Rholf, 1979). This test gave us a significant difference for factor 1 among temperatures, but it was not significant for factor 2 (diets) nor the interaction (factors 1 x 2) (Table X). That is, survivals in each experimental temperature were significantly different, but not the diets in each section, which indicates that no one propitiated a better survival.

TABLA IX. Análisis de varianza de dos vías.
Two-way analysis of variance

ANVA II VIAS			
Fuente de Variación	D. F.	S. S.	MS = SS/DF
Anomalías	11	246.45	22.40 2.16 * (s)
Dieta	8	117.21	14.65 2.66 * (s)
Error	88	576.68	6.55
Total	107	940.34	

TABLA X. Análisis de varianza no-paramétrico de dos vías de Wilson.
Wilson's nonparametric two-way analysis of variance.

ANVA II VIAS			
No paramétrico (Wilson)			
Fuente de Variación	g. l.	Valor de J_i^2	Probabilidad
Factor 1: TEMPERATURA	2	41.042	0.0000 (S)
Factor 2: DIETAS	2	1.942	0.3786 (NS)
Int. 1 x 2.	4	8.103	0.0879 (NS)

2 (diets) ni para la interacción (factores 1 x 2) (Tabla X). Es decir, las sobrevivencias en cada temperatura experimental fueron significativamente diferentes; no así

The measurements of the average cephalothorax length of the organisms and the survival time are summarized on Table XI. A rate of daily average growth obtained

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

en el caso de las dietas en cada sección, lo que indica que ninguna de ellas propició una mejor sobrevivencia.

Las mediciones de la longitud promedio del cefalotórax de los organismos y el tiempo de sobrevivencia se resumen en la Tabla XI. A cada tratamiento se le calculó una tasa de crecimiento promedio diario, que se obtuvo de las pendientes promedio. Además se muestran los números inicial y final de organismos por tratamiento. La dieta A de la sección I tuvo la tasa más alta de crecimiento (83.95 micras/día), pero también la sobrevivencia menor en todo el experimento (15.5 días). En la sección II, de las tres dietas, la A tuvo una alta tasa de crecimiento promedio (61.30 micras/día) y la C la mayor sobrevivencia promedio (37.80 días). En la tercera sección la dieta B se distinguió con 52.99 micras/día, y la dieta C tuvo la sobrevivencia promedio mayor (39.66 días), pero una tasa de crecimiento de 37.15 micras/día, la más baja de todos los tratamientos.

DISCUSIONES Y CONCLUSIONES

Considerando la sugerencia de Nelson y Dendy, 1979 de no alimentar a las hembras durante el tiempo de incubación para prevenir la aparición de *Dictyuchus sp.* que

from the average slopes, was calculated for each treatment. We also show the initial and last number of organisms per treatment. Diet A in section I had the highest growth rate (83.95 microns/day) but it also had the lowest survival in the experiment (15.5 days). In section II, diet A had a high average growth rate (61.30 microns/day), and C had the highest average survival (37.80 days). In the third section, diet B had an outstanding 52.99 microns/day and diet C had the highest average survival (39.66 days) but a growth rate of 37.15 microns/days, the lowest of all.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Considering Nelson and Dendy's suggestions (1979) of not feeding the female during the incubation period to prevent *Dictyuchus sp* from appearing, for it infects the eggs producing an epizootic aspect (Vey, 1977) called zoonicetes or phycomicetes, we took the alternative of reducing the food, eliminate the remainings and increase the water exchange.

With respect to the number of captive organisms (17 couples) and to the 87 times the coupling was observed, it is probable that not all are succesful and that the repetition of this process is needed in order to guarantee fertilization (12 fertilized females).

TABLA XI. Resumen de los datos de crecimiento (Long. cefalotórax) de los juveniles de *P. clarkii* mantenidos bajo diferentes condiciones de temperatura y alimento.
Growth data summary (Cephalothorax lenght) of *P. clarkii* juveniles under different conditions of temperature and food.

TRATAMIENTO	Nº inc/org	Nº final/org	SOBREVIVENCIA (\bar{X}) DIAS	LONG. CEFALOT. INICIAL (μ)	LONG. CEFALOT. FINAL (μ)	TASA DE CRECIM. (μ /día)	PENDIENTE (X)
I A	36	2	15.50	6415.80	7716.30	83.955	0.9677
I B	31	2	37.60	6415.80	7976.40	41.494	0.4654
I C	38	2	35.50	7456.20	8713.35	35.412	0.4084
II A	65	5	19.80	5895.60	7109.40	61.300	0.6767
II B	69	12	33.08	6410.80	7282.80	26.200	0.3131
II C	31	5	37.80	7282.80	8063.10	20.640	0.2433
III A	85	25	31.64	6329.10	7369.10	32.880	0.4370
III B	90	16	33.94	6329.10	7109.40	52.990	0.5538
III C	94	15	39.67	6155.70	7629.60	37.150	0.2915

infecta los huevos sanos produciendo un aspecto epizootico (Vey, 1977), llamados zoomicetos o phycomicetos, se tomó la alternativa de reducir el alimento administrado, eliminar el sobrante y aumentar el recambio de agua.

Con respecto al número de organismos cautivos (17 parejas) y respecto a las ochenta y siete veces que se observó la cópula, es probable que no todas sean exitosas y que se requiera la repetición de este proceso para garantizar la fertilización (doce hembras fertilizantes).

Debido a los efectos de la distribución al azar, la mortalidad natural de los organismos bajo las condiciones impuestas y la diferente fertilidad de las hembras progenitoras, no se logró mantener en forma continua un número igual de organismos en los nueve tratamientos investigados. La metodología fue positiva porque se observaron las diferencias del material genético (capacidad de adaptación), la fecundidad de las hembras y la mortalidad de los juveniles (Figs. 13 a 15).

En la sección I, donde se probó la temperatura de $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, la mortalidad impidió probar adecuadamente las dietas a pesar de que los juveniles se aclimataron gradualmente. Se estima que el problema no radicó en la metodología aplicada sino más bien en que *Procambarus clarkii* no está adaptado, como su congénere de Louisiana, a temperaturas mayores de 24°C . De aquí se desprende que existe una barrera térmica para este astácido, y la sección I estaba en este rango de intolerancia fisiológica.

Del alimento que se administró *ad libitum* no se hizo un control diario de asimilación, ya que esto hubiese requerido de un sistema experimental muy diferente.

El diseño de las cajas resultó ser eficiente para evitar el canibalismo, presentándose sólo algunos sucesos aislados (3.2 0/o) en todo el experimento (Tabla VIII). El uso de la malla galvanizada en las cajas experimentales introdujo un contaminante (zinc). En el proceso de galvanización no se utiliza zinc puro, sino que éste viene asociado al

Due to the effects of the distribution at random, the natural mortality of the organisms under the imposed conditions and the different female fertility, we could not keep an equal number of organisms in the nine treatments in a continuous way. The methodology was positive because the difference in the genetic material (adaptation capacity), female fecundity and juvenile mortality was observed (Fig. 13 to 15).

In section I, where temperature was $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, mortality stopped us from adequately testing the diets, in spite of the gradually acclimation of the juveniles. It is estimated that the problem was not in the applied methodology but rather in the fact the *Procambarus clarkii* is not adapted like its Louisiana relative to temperatures higher than 24°C . So there is a thermic barrier for this astacid and section I was within this physiological intolerance range.

With respect to the food supplied *ad libitum*, there was no daily assimilation control, for this would have required a very different experimental system.

The box design was efficient to avoid cannibalism, having only some isolated cases (3.2 0/o) during the experiment (Table VIII). The use of galvanized mesh in the experimental boxes introduced a pollutant (zinc). In the galvanization process pure zinc is not used but it is associated to lead and cadmium. Although we tried to eliminate the effect of zinc with the ageing of the material and washing it continuously, we can not guarantee that this was harmless and that survival in the experiment was not affected by its presence.

In general, we observed a higher survival as the experiment went by, which could be attributed to the positive acclimation of the organisms and to the probable elimination of the pollutant concentration which was not measured. But this increase in survival was not what was expected because in previous nutritional experiments (Re, 1981 and 1982 personal observations) with mixed diets, survival was of 10 0/o (even with cannibalism) and the average growth of 1 cm/month in the total length.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

plomo y al cadmio. Aunque se trató de eliminar el efecto del zinc con el envejecimiento del material y continuos lavados, no se puede garantizar que este haya sido inocuo y que la sobrevivencia en el experimento no fuera afectada por su presencia.

En general, se observó una mayor sobrevivencia conforme transcurrió el experimento, que puede atribuirse a la aclimatación positiva de los organismos y a la probable eliminación de la concentración del contaminante que no fue medido. Pero este aumento en la sobrevivencia no fue lo que se esperaba porque en experimentos nutricionales anteriores (Re, 1981 y 1982, observaciones personales) hechos con dietas mixtas, la sobrevivencia fue del 10 % (aún con canibalismo) y el crecimiento promedio de 1 cm/mes de longitud total.

El tratamiento estadístico de los datos de sobrevivencia obtenidos, hecho a través del método de ANVA no paramétrico de dos vías, indicó que existe una diferencia significativa entre las temperaturas pero no en cuanto a la diferencia cuantitativa de las dietas probadas. Tampoco fue significativo el crecimiento con respecto a las dietas ni a las temperaturas.

Las condiciones físico-químicas estuvieron dentro de los rangos óptimos. La Caze, (1976), y Bardach *et al.*, (1972) mencionan que estos animales son muy poco tolerantes a sustancias tóxicas como pesticidas (Sommer, 1983) y contaminación con metales pesados (Hubschman, 1967; Giesy *et al.*, 1980). En este caso se piensa que el zinc combinado con las temperaturas pudieron haber sido los causantes de la alta mortalidad que aumentó su efecto en la sección I donde se combinó con la barrera térmica. Sin embargo, como lo indican los grupos de curvas (Figs. 13 a 15), no es improbable que el efecto del zinc haya desaparecido en los tratamientos cuando se introdujeron, al experimento la cuarta y la quinta población, que en término medio tuvieron una extensión notable en el tiempo de sobrevivencia, la cual fue estadísticamente significativa. Difícilmente podría asumirse que la extensión antes referida se deba exclusivamente a

The statistical treatment with the two way non parametric variance analysis of the data obtained from survival, indicated that there is a significant difference among the temperatures but not in the quantitative difference of the diets proved. Neither was the growth significant with respect to the diets and the temperatures.

The physical-chemical conditions were within the optimum ranges. La Caze (1976) and Bardach *et al.* (1972) mention that these animals are very little tolerant to toxic substances as pesticides (Sommer, 1983) and to heavy metal pollution (Hubschman, 1967; Giesy *et al.* 1980). In this case we think that zinc combined with the temperatures could have caused the high mortality which increased its effect in section I, where it was combined with the thermal barrier. However, as the curve groups indicate (Figs. 13 to 15), it is not improbable that the zinc effect disappeared in the treatments when the fourth and fifth populations were introduced, which had a notable extension in the survival time and was statistically significant. It could very hardly be assumed that the extension above mentioned is due exclusively to an adaptation of the parents, for by the time the fourth and fifth population were introduced, these have been living in the laboratory at least for seven months.

The natural environmental temperature (Ejido Ajusco and Maneadero) had their maxima in August and September with 23 and 24°C respectively, and their minima in December and January with 18°C in Ejido Ajusco and 13°C in Maneadero, from which we infer that the low and medium experimental temperatures (24 and 18°C) are the best for these organisms in these latitudes. The highest temperature (26°C) is good for growth (Table XI) but it effects survival through the organisms metabolism (Thorp and Wineriter, 1981).

The information obtained in relation to the molting frequency and the growth of all the organisms was a source of higher certainty about the diets, because the proposed experimental time was of 120 days and at the end, the organisms still

una adaptación de los progenitores, puesto que en el tiempo transcurrido en la introducción de la cuarta y la quinta progenie, estos ya tenían al menos siete meses viviendo en el laboratorio.

La temperatura en el ambiente natural (Ejido Ajusco y Maneadero) tuvo sus máximos en agosto y septiembre, con 23 y 24 °C respectivamente, y sus mínimos en diciembre y enero, de 18°C en el ejido y de 13°C en Maneadero, por lo cual se infiere que, en estas latitudes, las temperaturas media y baja (24 y 18°C) experimentales sean las mejores para estos organismos. La temperatura más alta (26°C) es buena para el crecimiento (Tabla XI), pero afecta la sobrevivencia a través del metabolismo de los organismos (Thorp y Wineriter, 1981).

Por otra parte, la información captada en relación a la frecuencia de muda y crecimiento de todos los organismos dio una fuente de mayor certeza acerca de las dietas debido a que el tiempo experimental propuesto fue de 120 días en el que, al concluir los organismos que aún sobrevivían en este lapso no habían mudado más de dos veces. Sin embargo, las tasas de crecimiento promedio diario de los animales que mudaron sugieren que es posible obtener buenos resultados con las dietas experimentales, pero en el rango óptimo de temperatura de 18 a 23°C (Tabla XI, secciones II y III).

En la temperatura más baja (20°C). Las tres dietas tuvieron organismos sobrevivientes, pero el mejor tratamiento fue la dieta A con 14.11 % de sobrevivencia. Este hecho corrobora la preferencia de los organismos por la proteína animal en la etapa juvenil. En la temperatura de 24°C la dieta B (prot. vegetal y prot. animal) se distinguió de la A (prot. animal) con un 5.79 % y 1.53 % de sobrevivencia respectivamente; siendo la C la mejor con 6.45 % de sobrevivencia (prot. vegetal). Comparativamente, en la temperatura más alta (26°C) ninguna dieta sobresalió de manera importante, aunque la dieta A tuvo al final una sobrevivencia del 2.7 %.

surviving had not molted more than twice. However, the daily average growth rate of the animals that molted suggests that it is possible to obtain good results with the experimental diets but in the temperatures optimum range of 18 to 23°C (Table XI, sections II and III).

In the lowest temperature (20°C) the three diets had surviving organisms, but the best treatment was diet A with a survival of 14.11 %. This fact corroborates the preference of the organisms for animal protein in the juvenile stage. In a 24°C temperature, diet B (vegetal and animal protein) had a survival of 5.79 % and diet A (animal protein) a survival of 1.53 %; diet C (vegetal protein) was the best with a survival of 6.45 %. Comparatively, in the highest temperature (26°C) no diet was outstanding, although diet A had at the end a survival of 2.7 %.

For all this we can conclude that diet A at 20°C was the best in the experimental conditions given.

Myra Pamplona translated this paper into English.

Por todo esto se puede concluir que, dadas las condiciones experimentales, la dieta A en la temperatura de 20°C fue la mejor.

LITERATURA CITADA

- ANONYMUS, 1980. A Review of crayfish biology, culture, and potential future of the industry in the Pacific Northwest. SH380 92 U6 B5 cop. 2 Marine Sci. Ctr. 68 pp.
- AVAILT, J. W., L. W. de la Bretonne and J. V. Huner. 1974 Two major problems in culturing crayfish in ponds: oxygen depletion and overcrowding Proc. Internat. Symp. Freshwater Crayfish, 2:134-144.
- BARDACH, J. E., J. H. Ryther and W. O., and McLarney, 1972. The farming and Husbandry of freshwater and marine organisms. Wiley Interscience, U.S.A., 686 pp.
- BOTT, R. 1950. Die Flusskrebse Europas (Decapoda, Astacidae). Abhandl. Senckenberg Naturf. Ges. No. 483.
- CHAVERO, A. 1952. México a través de los siglos, Tomo I. Historia Antigua. Compañía General de Ediciones, México, D. F.: 387-388.

CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA

- DE LA BRETONNE, L., Jr. 1970. History of crawfish farming. En: Proceeding First Crawfish Research Symposium, Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 36 pp.
- GIESY J. P., J. W. Bowling, and H. J. Kania 1980. Cadmium and zinc accumulation and elimination by freshwater crayfish. *Environmental Contamination and Toxicology* Vol. 9 No. 6 683-697 pp.
- HUBSCHMAN J. H. 1967. Effects of copper on the crayfish *Orconectes rusticus* (Girard). *Crustacea* 1:33, 1967.
- HUNER, J. V., 1978. Information about At the Annual Meeting of the Louisiana Crawfish Farmers Association. 1-9 pp.
- LA CAZE, C. 1976. Crawfish farming. Louisiana Wildlife and Fisheries Commission, Bull. No. 7: 1-26. pp.
- NELSON, R. G. and J. S. Dendy. 1978. Effects of various culture conditions on survival and reproduction of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Freshwater Crayfish*. 4:305-312.
- NELSON, R. G., and J. S. Dendy. 1979. Conditions for holding and propagating crayfish broodstock (*Procambarus clarkii*). Submitted to the World Maric. Soc., 10th Annual Meeting. 11 pp.
- PENN, G. H. 1943. A study of the life history of the Louisiana red-crawfish *Procambarus clarkii* (Girard). *Ecology*. 24:1-18.
- RE-Araujo A. D. 1984. Efecto de dietas alimenticias isocaloricas y temperaturas en el crecimiento y sobrevivencia de juveniles de *Procambarus clarkii* (Girard) (Crustacea, Decapoda), estudio en condiciones controladas y naturales probando desechos agrícolas como alternativa alimenticia. Tesis de maestría, Centro de Investigación Científica y de educación Superior de Ensenada. 116 pp.
- RIEGEL, J. A. 1958. The systematics and distribution of crayfishes in California. *Calif. Fish and Game*: 29-50.
- RYAN, T. A. Jr., B. L. Joiner and B. F. Ryan. 1976. *Minitab* student handbook Duxbury Press North Scituate., Massachusetts. 341 pp.
- SNEDECOR, G. W. and W. G. Cochran 1970. *Statistical methods*. The Iowa State University Press., Ames, Iowa, U.S.A.
- SOKAL, R. R., and F. J., Rohlf 1979. *Biometry*. Principles methods statistics in the biology research. 832 pp.
- SOMMER T. R. 1983. Laboratory and field studies on the toxic effects of thiobencarb (bolero) to the crayfish (*procambarus clarkii* J. World Maricul. Soc. 14 #34-440.
- STEEL R. G. and J. H. Torrie. 1969. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill., New York 499 pp.
- THORP J. H. and S.A. Wineriter 1981. Stress and growth response of juvenile crayfish to rhythmic and arrhythmic temperature fluctuations. *Arch. Environmental Contamination and Toxicology*. Vol. 10 No. 1 69-77.
- VEY, A. 1977. *Mycoses des crustacees*. *Oceanis* 3 (5).
- VILLALOBOS, A. 1955. *Cambarinos de la fauna mexicana* (Crustacea, Decapoda). Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, Universidad, Nacional Autónoma de México., México, D. F. 320 pp.