

COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO DE *Artemia franciscana* (KELLOGG, 1906) DE SAN QUINTÍN, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF *Artemia franciscana* (KELLOGG, 1906) FROM SAN QUINTÍN, BAJA CALIFORNIA, MEXICO

Francisco Correa S.¹

Olivia Tapia V.^{2,3}

¹ Laboratorio de Genética

Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Universidad Autónoma de Baja California

Apartado postal 453

Ensenada, CP 22800, Baja California, México

E-mail: correa@faro.ens.uabc.mx

² Instituto Nacional de la Pesca

Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Ensenada

Km. 97.5 Carretera Tijuana-Ensenada

Ensenada, Baja California, México

³ Facultad de Ciencias

Universidad Autónoma de Baja California

Km. 107 Carretera Tijuana-Ensenada

Ensenada, CP 22860, Baja California, México

Recibido en marzo de 1998; aceptado en mayo de 1998

RESUMEN

Se analiza el comportamiento reproductivo de dos poblaciones de *Artemia*, una de San Quintín, Baja California, y otra de Yavaros, Sonora. En las cruzas interpoblacionales, se observa reproducción ovípara y ovovivípara alternada, con dominancia de la primera. En la crusa intrapoblacional de San Quintín, se observa un 100% de reproducción ovípara. La fecundidad intrapoblacional de *Artemia* de San Quintín fue de 75% y la de Yavaros, 82.35%. En la crusa interpoplacional ♀Yav/♂SQ, la fecundidad fue de 73.3%, y en la crusa ♀SQ/♂Yav, de 66%. De estas experiencias se concluye que la población de San Quintín es *Artemia franciscana*, aunque se observó cierto retraso en el tiempo de apareamiento con la población de Yavaros, lo que sugiere el inicio de una diferenciación específica.

Palabras clave: *Artemia franciscana*, poblaciones, hibridación, reproducción.

ABSTRACT

The reproductive behavior of two populations of *Artemia* is analyzed, one from San Quintín, Baja California, and the other from Yavaros, Sonora. In the interpopulation mating, alternating oviparous and ovoviparous reproduction was observed, with the former dominating. In the San Quintín intrapopulation crossbreeding, 100% oviparous reproduction was observed. The intrapopulation fertility of *Artemia* from San Quintín was 75% and from Yavaros, 82.35%. In the interpopulation ♀Yav/♂SQ crossbreeding, fertility was 73.3%, and in the ♀SQ/♂Yav crossbreeding, 66%. It is concluded from these experiences that the population from San Quintín is *Artemia franciscana*, although some delay

was observed in the mating time with the Yavaros population, which suggests the beginning of a specific differentiation.

Key words: *Artemia franciscana*, populations, hybridization, reproduction.

INTRODUCCIÓN

En Baja California existen numerosos cuerpos de agua hipersalinos y la mayoría de ellos posiblemente con poblaciones de *Artemia*. Las poblaciones de San José, San Luis Potosí, Yavaros, Ecatepec, Ceuta y San Crisanto han sido plenamente caracterizadas e identificadas como pertenecientes a la especie *A. franciscana* (Gallardo y Castro, 1987; Castro *et al.*, 1989; Correa *et al.*, 1993). Estos estudios han abarcado hibridaciones hasta F₂ con relativo éxito dada la incipiente diferenciación específica. Del resto de las localidades, se desconoce su estatus taxonómico y el nivel de diferenciación genética debida a su aislamiento geográfico y, en algunos casos, hasta ecológico (Castro *et al.*, 1997). *Artemia franciscana* es considerada una "superespecie" (Beardmore *et al.*, 1996), motivo por el cual el objetivo del presente estudio es determinar el grado de diferenciación específica por medio de cruzas inter e intrapoblacionales entre la población de *Artemia* de San Quintín y la población de Yavaros, esta última determinada como perteneciente a la especie *franciscana* (Abreu-Grobois, 1983, 1987; Correa *et al.*, 1993).

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de donde proceden las muestras de *Artemia* corresponde a un cuerpo de agua hipersalino de aproximadamente 30 ha, ubicado en el Ejido Nueva Odisea. Este ejido se localiza en el Valle de San Quintín, en la porción noroccidental de la península de Baja California (fig. 1). La otra población de *Artemia* procede de las salinas Tres Hermanos en Yavaros, Sonora. La recolección de las muestras de quistes en ambas localidades se hizo tamizando muestras de tierra en los márgenes de las lagunas. Los quistes, una vez lavados y secados, fueron almacenados en frascos.

La descapsulación de los quistes de San Quintín y de Yavaros se realizó utilizando el

INTRODUCTION

In Baja California, there are numerous hypersaline bodies of water and the majority of them may contain *Artemia* populations. The populations of San José, San Luis Potosí, Yavaros, Ecatepec, Ceuta and San Crisanto have been fully characterized and identified as belonging to the species *A. franciscana* (Gallardo and Castro, 1987; Castro *et al.*, 1989; Correa *et al.*, 1993). These studies have covered hybridization up to F₂ with relative success, considering the incipient specific differentiation. At other sites, their taxonomic status and level of genetic differentiation is not known, due to their geographical, and in some cases ecological, isolation (Castro *et al.*, 1997). *Artemia franciscana* is considered a "superspecies" (Beardmore *et al.*, 1996). For this reason, the main objective of the present study is to determine the degree of specific differentiation through inter- and intrapopulation crossbreeding of *Artemia* populations from San Quintín and Yavaros. The latter population has been determined to belong to the species *franciscana* (Abreu-Grobois, 1983, 1987; Correa *et al.*, 1993).

MATERIALS AND METHODS

Artemia samples were obtained from a hypersaline body of water, of approximately 30 ha, located in Ejido Nueva Odisea, in the San Quintín Valley, in the northwestern portion of the peninsula of Baja California (fig. 1). The other *Artemia* population comes from the Tres Hermanos saltworks in Yavaros, Sonora. The collection of cysts at both sites was done by sieving soil samples along the margins of the lagoons. After the cysts were washed and dried, they were stored in vials.

The cysts were decapsulated with the sodium hypochlorite method (Sorgeloos *et al.*, 1986). Once the nauplii were obtained, they were placed in 10-L tanks with filtered

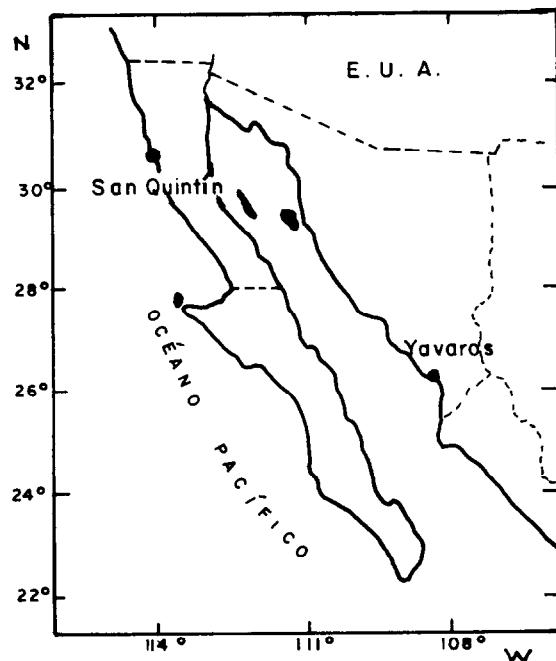


Figura 1. Localización geográfica de los sitios de muestreo de las poblaciones de *Artemia franciscana* estudiadas.

Figure 1. Geographic location of the sampling sites of *Artemia franciscana*.

método de hipoclorito de sodio (Sorgeloos *et al.*, 1986). Una vez obtenidos los nauplios, éstos se colocaron en acuarios de 10 L con agua de mar filtrada por una malla de 1 μm , hasta que alcanzaran el estadio adulto. Posteriormente, se aislaron 100 hembras en frascos de 30 mL por 10 días con el fin de asegurar que no se encontraran productos fértils en el ovisaco. Se colocaron dos machos por hembra en frascos de 30 mL, con 15 repeticiones por cada cruce recíproca: ♀ SQ/♂ SQ, ♀ Yav/♂ Yav, ♀ SQ/♂ Yav, ♀ Yav/♂ SQ. Las cruzas intrapoblacionales fueron utilizadas como control. Diariamente se cambió el agua de mar y se suministró *Chaetoceros* sp. como alimento, según las raciones descritas en Correa y Bückle (1993). Se realizaron observaciones diarias, una en la mañana y otra en la noche, durante 49 días, para determinar el comportamiento reproductivo referente al tiempo en que tardan en acoplarse, duración del acoplamiento, número de cópulas,

seawater (1 μm), until they reached the adult stage. Afterwards, 100 females were isolated in 30-mL vials for 10 days in order to assure that no fertile products were present in the ovisacs. One female for every two males was placed in 30-mL vials, and 15 repetitions of each crossbreeding were made: ♀ SQ/♂ SQ, ♀ Yav/♂ Yav, ♀ SQ/♂ Yav, ♀ Yav/♂ SQ. The intrapopulation crossbreedings were used as control. The seawater was changed daily and *Chaetoceros* sp. was used as food, according to the rations described by Correa and Bückle (1993). Daily observations were made, one in the morning and another at night, during 49 days, in order to determine the reproductive behavior, with reference to the time it takes them to begin mating, mating time, number of copulations, F_1 production time, fertility and type of offspring produced, such as cysts or nauplii; mortality was also recorded.

tiempo de producción de F_1 , fecundidad y tipo de producción de progenie como quistes y nauplios, registrándose además la mortalidad.

RESULTADOS

Comportamiento reproductivo

El tiempo promedio que tardaron antes de efectuar la cópula, en las cruzas intrapoblacionales, fue de 1.0 día en la población de San Quintín y de 1.05 días en la de Yavaros. Las cruzas interpoblacionales tardaron más en acoplarse o copular; en el caso de ♀Yav/♂SQ, fue de 11.1 días y duraron copulando 3.68 días, en promedio. En contraste, la crusa de ♀SQ/♂Yav tardó en acoplarse 14.5 días y permanecieron en ese estado 4.9 días, en promedio. En cuanto al número de repeticiones del acoplamiento, la frecuencia fue mayor en las cruzas intrapoblacionales que en las interpoblacionales (tabla 1).

El tiempo promedio en que apareció la F_1 en las cruzas intrapoblacionales, en el caso de San Quintín, fue de 10 días y en la de Yavaros, 7.9 días; en la crusa ♀Yav/♂SQ fue de 7.6 y en la crusa ♀SQ/♂Yav, 6.9 días.

La mortalidad en las hembras fue mayor en la crusa ♀Yav/♂SQ, con 84.2%, y menor en la crusa ♀SQ/♂Yav, con 54.1%. En los machos, la mayor mortalidad se presentó en la crusa ♀SQ/♂SQ, con 31.2%, y la menor en la crusa ♀SQ/♂Yav, con 12.5% (tabla 1).

Fecundidad

La fecundidad intrapoblacional de la cepa de San Quintín fue de 75% y la de Yavaros de 82.3%. La primera población tuvo una producción final promedio de 198 quistes, mientras que la segunda produjo 165 quistes (reproducción ovípara) y 60 nauplios (reproducción ovovivípara). La fecundidad interpoblacional entre ♀Yav/♂SQ produjo 130 quistes y 132 nauplios; la crusa ♀SQ/♂Yav dio 159 quistes y ningún nauplio (tabla 2).

DISCUSIÓN

El comportamiento entre los integrantes de una pareja, como son la búsqueda, cortejo,

RESULTS

Reproductive behavior

The average time spent before copulation in the intrapopulation crossbreeding was 1.0 day for the San Quintín population and 1.05 days for the Yavaros population. The mating or copulation time was longer for the interpopulation crossbreeding; the mating time for ♀Yav/♂SQ lasted 11.1 days and copulation lasted 3.68 days, on average. The crossbreeding of ♀SQ/♂Yav took 14.5 days to mate and copulation lasted 4.96 days. With regard to the number of mating repetitions, the frequency was greater in the intrapopulation than in the interpopulation crossbreeding (table 1).

The average time in which F_1 appeared in the intrapopulation crossbreeding was 10 days for San Quintín and 7.9 days for Yavaros. In the ♀Yav/♂SQ crossbreeding it was 7.6 days, and in the ♀SQ/♂Yav crossbreeding, 6.9 days.

Greatest female mortality occurred in the ♀Yav/♂SQ crossbreeding, with 84.2%, and lowest in the ♀SQ/♂Yav crossbreeding, with 54.1%. In the males, greatest mortality occurred in the ♀SQ/♂SQ crossbreeding, with 31.2%, and lowest in the ♀SQ/♂Yav crossbreeding, with 12.5% (table 1).

Fecundity

The intrapopulation fecundity of the San Quintín strain was 75% and of the Yavaros strain, 82.3%. The first population had a final production of 198 cysts. Yavaros had a production of 165 cysts (oviparous reproduction) and 60 nauplii (ovoviviparous reproduction). The interpopulation fecundity between ♀Yav/♂SQ produced 130 cysts and 132 nauplii; the ♀SQ/♂Yav crossbreeding produced 159 cysts and no nauplii (table 2).

DISCUSSION

The behavior between the couples, such as seeking, courtship, mating and lastly copulation, are behavioral components that define the success or failure of offspring formation. Yoshito and de Almeida (1981) suggest that

Tabla 1. Comportamiento reproductivo de los cruzamientos intra e interpoblacionales de las poblaciones de *Artemia* de San Quintín (SQ), Baja California, y de Yavaros (Yav), Sonora. Tiempo promedio en días; rango entre paréntesis.**Table 1.** Reproductive behavior of the intra- and interpopulation crossbreeding of *Artemia* from San Quintín (SQ), Baja California, and Yavaros (Yav), Sonora. Time in days; range in parentheses.

	♀ SQ/♂ SQ (días)	♀ Yav/♂ Yav (días)	♀ Yav/♂ SQ (días)	♀ SQ/♂ Yav (días)
Tiempo para el acoplamiento	1 (1)	1.05 (1–2)	11.1 (3–21)	14.5 (5–31)
Duración del acoplamiento	4.5 (2–11)	5.16 (2–13)	3.68 (1–13)	4.96 (1–15)
Número de cópulas	1.7	2.1	1.8	1.4
Tiempo de producción de F ₁	10 (6–21)	7.9 (4–13)	7.6 (4–21)	6.9 (2–12)
% de mortalidad				
Hembras	56.2	58.8	84.2	54.1
Machos	31.2	23.5	26.3	12.5

Tabla 2. Híbridación de las poblaciones de *Artemia* de San Quintín (SQ), Baja California, y de Yavaros (Yav), Sonora. PF/PT = parejas fértiles/parejas totales; x/pf = promedio/pareja fértil.**Table 2.** Hybridization of the *Artemia* populations from San Quintín (SQ), Baja California, and Yavaros (Yav), Sonora. PF/PT = fertile couples/total couples; x/pf = mean/fertile couple.

Hembras/machos	PF/PT	%	Quistes x/pf	Nauplios x/pf
SQ/SQ	12/16	75.0	198	0
Yav/Yav	14/17	82.3	165	60
Yav/SQ	14/19	73.3	130	132
SQ/Yav	16/24	66.0	159	0

apareamiento y finalmente la cópula, son componentes conductuales que pueden definir el éxito o fracaso de la formación de la progenie. Yoshito y de Almeida (1981) sugieren que la velocidad de apareamiento y la duración de la cópula pudieran estar controlados genéticamente. De lo anterior se infiere que si estos elementos conductuales difieren significativamente entre las poblaciones próximas e incluso simpáticamente, entonces conducen al aislamiento reproductivo, estrategia que a su vez permite mantener la identidad genética de la

mating speed and duration of copulation may be genetically controlled. It can be inferred from the above that if the behavioral elements of neighboring populations differ significantly, or even sympatrically, there will be reproductive isolation. At the same time, this strategy allows the population to maintain its genetic identity and remain in a specific habitat.

Some marginally sympatric species are known for *Artemia* (*A. salina* and *A. persimilis*), where the morphology of the reproductive system is sufficiently different to

población y su permanencia en un hábitat específico.

En el caso de *Artemia*, se conocen algunas especies marginalmente simpátricas (*A. salina* y *A. persimilis*), donde la morfología del sistema reproductivo es lo suficientemente diferente para generar aislamiento reproductivo. Sin embargo, esta condición no ha sido confirmada (Barigozzi, 1990). En el presente caso, se observaron diferencias en la longitud de las espinas de los penes, las cuales son más pequeñas en la población de San Quintín y, además, se registró un retraso en el apareamiento con la población de Yavaros, lo cual pudiera ser el inicio de la formación de una subespecie (Correa y Tapia, en preparación).

Es importante resaltar que, a pesar del retraso en el tiempo de acoplamiento entre poblaciones, el éxito de los acoplamientos híbridos fue alto, lo cual es indicativo de que estas poblaciones no están aún reproductivamente aisladas y que la población de San Quintín es *Artemia franciscana*. Por otro lado, el mayor crecimiento de la progenie producto de la crusa interpoblacional, F₁ híbridos, sugiere que ésta fue beneficiosa, aunque sería necesario verificar si este vigor híbrido persiste en las siguientes generaciones.

La fecundidad en las cruzas interpoblacionales fue mayor que el 50%, por lo que se considera que las hembras fueron fértiles. Un resultado importante fue el que en las cruzas intrapoblacionales de San Quintín solamente se produjeron quistes y en los experimentos de hibridación donde se involucró hembras de San Quintín, se observó solamente el oviparismo. En el medio ambiente natural, se observó que esta población tiende a producir principalmente quistes, independientemente de las condiciones del medio. Este comportamiento reproductivo puede estar asociado con la secuencia de eventos muy fluctuantes del medio, particularmente lo efímero del agua en la laguna. Quizá, a través del tiempo, con muchas generaciones, esta característica se ha fijado a nivel genético. En relación con el aprovechamiento de este fenómeno (Amat *et al.*, 1991), se sugiere un escalamiento de la experiencia realizada en el laboratorio para verificar que la producción exclusiva de quistes persista a nivel de cultivo

generate reproductive isolation; however, this condition has not been confirmed (Barigozzi, 1990). In the present study, differences were observed in the length of the spines of the penis, which were smaller in the San Quintín population; furthermore, a delay was observed in the mating time with the Yavaros population, which could be the beginning of the formation of a subspecies (Correa and Tapia, in preparation).

It is important to emphasize that, in spite of the delay in mating time between the populations, the success of the hybrid mating was high. This indicates no reproductive isolation in these populations, and that the San Quintín population is *Artemia franciscana*. On the other hand, the greater growth of the offspring from the interpopulation crossbreeding, F₁ hybrids, suggests that this was beneficial, although it would be necessary to verify if the vigor of this hybrid persists in subsequent generations.

The fertility in the interpopulation crossbreeding was greater than 50% and, therefore, the females were considered fertile. An important result was that the intrapopulation crossbreeding from San Quintín produced only cysts, and in the hybridization experiments involving females from San Quintín, only oviparous reproduction was noted. In the natural environment, it was observed that this population tends to produce mainly cysts, regardless of the environmental conditions. This reproductive behavior may be associated with fluctuations in the environmental conditions, particularly the ephemeral water in the lagoon. It is possible that, through the passage of time and many generations, this characteristic has fixed at the genetic level. With regard to the exploitation of this phenomenon (Amat *et al.*, 1991), more laboratory studies are suggested to verify that the exclusive production of cysts continues in a semi-intensive culture with *Artemia* from the San Quintín population.

It may be concluded that the *Artemia* population from Ejido Nueva Odisea in San Quintín, Baja California, belongs to the species *franciscana*. This population has a dominant oviparous reproduction. Furthermore, there are differences in the reproductive behavior of the San Quintín and Yavaros populations, which

semiintensivo con la población de *Artemia* de San Quintín.

Se puede concluir que la población de *Artemia* del Ejido Nueva Odisea en San Quintín, Baja California, pertenece a la especie *franciscana*. Esta población tiene una reproducción ovípara dominante. Además, existen diferencias en el comportamiento reproductivo entre la población de San Quintín y la de Yavaros, que puede ser el resultado de un aislamiento geográfico o vicariante.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Meredith Gould-Chambers, Claudia Farfán, J. Clegg y Luis F. Bückle R., su valiosa asesoría y la revisión crítica del manuscrito original; a los revisores anónimos y a todos las personas que de una forma u otra mejoraron sustancialmente este artículo. Este estudio fue parcialmente financiado por el proyecto UABC-4054.

REFERENCIAS

- Abreu-Grobois, F. (1983). Population genetics of *Artemia*. Ph.D. thesis, Univ. Coll. Swansea, UK, 438 pp.
- Abreu-Grobois, F. (1987). A review of the genetics of *Artemia*. In: P. Sorgeloos, D.A. Bengston, W. Decleir and E. Jaspers (eds.), *Artemia Research and its Applications*. Vol. I. Morphology, Genetics, Strain Characterization, Toxicology. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 61–69.
- Amat, F., Hontoria, D.F., Navarro, T., Gonzalbo, E.A. y Varo, V. (1991). Bioecología de *Artemia* (Crustacea: Branquipoda) en la Laguna de La Mata. Torre Vieja, Alicante. Inst. de Acuicultura, Torre de La Sal, España, 176 pp.
- Barigozzi, C. (1990). Cytogenetics and speciation of the brine-shrimp *Artemia*. Mem. Atti della Accademia Nazionale dei Lincei Roma, Ser. VIII, Vol. XIX, 84 pp.
- Beardmore, J.A., Pilla, E.J. and Thomas, K.M. (1996). Genetic variation in *Artemia*: speciation, reproductive mode and potential for exploitation. In: G. Gajardo and P. Coutteau (eds.), Improvement of the Commercial Production of Marine Aquaculture Species. Proc. of a Workshop on Fish and Mollusc Larviculture, Santiago, Chile, pp. 157–163.
- Castro, M.G., Castro, M.J., De Lara, A.R., Gallardo, R.C., Salazar, I. y Sánchez, B. (1989). Características biométricas generales, modo de reproducción y aislamiento reproductivo de la población silvestre de *Artemia* sp. de Las Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. Rev. Lat. Acui. Lima, Perú, No. 39–68: 18–23.
- Castro, T., Castro, G., Castro, J., Malpica, A. y De Lara, R. (1997). Características morfométricas y calidad de los quistes de *Artemia* sp. (Crustacea: Anostraca), habitante de aguas sulfatadas de Coahuila, México. Ciencias Marinas, 23(4): 491–503.
- Correa, F. y Bückle, R.F. (1993). Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca, Artemiidae). Rev. Biol. Trop., 41: 103–111.
- Correa, F., Bückle, R.F. y de la Rosa, V.J. (1993). Hibridación en algunas poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae). Rev. Biol. Trop., 41: 97–101.
- Gallardo, C. and Castro, J. (1987). Reproduction and genetics of Mexican *Artemia*. In: P. Sorgeloos, D.A. Bengston, W. Decleir and E. Jaspers (eds.), *Artemia Research and its Applications*. Vol. I. Universa Press, Wetteren, Belgium, pp. 249–253.
- Sorgeloos, P., Lavens, P., Leger, P., Tackaert, W. and Versichele, D. (1986). Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. State Univ. of Ghent, Belgium, 319 pp.
- Yoshito, M. and de Almeida, J.R. (1981). Association between mating speed and lethal genes in *Drosophila melanogaster*. Rev. Brasil. Genet., IV: 329–336.

may be the result of vicariance or geographical isolation.

ACKNOWLEDGEMENTS

Our thanks to Meredith Gould-Chambers, Claudia Farfán, J. Clegg and Luis F. Bückle R. for their critical review of the paper; and to the anonymous reviewers and all the people who, in one way or another, helped to improve this article. This study was partially financed by project UABC-4054.

English translation by the authors.