

Hibridación en algunas poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca: Artemiidae)

Francisco Correa Sandoval¹, Luis Fernando Bückle Ramírez¹ y Jorge de la Rosa Vélez²

¹ Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (C.I.C.E.S.E.), Departamento de Acuicultura, Av. Espinoza 843, Apdo. Postal 2732, Ensenada, Baja California, México.

² Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Apdo. Postal 453, Ensenada, Baja California, México.

(Rec. 4-XI-1991. Acep. 11-IX-1992)

Abstract: The fertility within and among two Mexican and two San Francisco Bay populations of *Artemia franciscana* was assayed. Mexican strains belong to the same species. The whole F₁ is internally fertile, though some F₂ hybrids, in which a Mexican variety was involved, showed a low resistance to *Vibrio* infections.

Key words: *Artemia franciscana*, populations, crossings, *Vibrio* sp.

Los estudios de cruzamientos han sido de gran utilidad para el establecimiento de grupos específicos con un grado de aislamiento reproductivo (Dobzhansky 1951, Mayr 1970).

De esta manera, se han encontrado tres formas bisexuales con aislamiento reproductivo en *Artemia*: *A. tunisiana* (Europa y Norte de Africa), *A. franciscana* (Norte y Centro de América y el Caribe) y *A. persimilis* (Argentina) (Clark y Bowen 1976). Estos mismos autores relacionan otra especie bisexual más, *A. monica*, que no es fértil al cruzarse con *A. franciscana*, aunque esto es debido, principalmente, a la incapacidad de esa especie de tolerar composiciones iónicas del agua diferentes a las de su hábitat, ubicado en Mono Lake (E.U.A.). La población de Mono Lake no está claramente diferenciada de las poblaciones de *A. franciscana* del continente americano, ya que los valores típicos de distancia genética son bajos (0.06 a 0.09). Por lo tanto, el grado de diferenciación genética entre éstas se asocia usualmente como un par de especies gemelas (Abreu-Grobois y Beardmore 1982, Beardmore y Abreu-Grobois 1983).

Gallardo y Castro (1987) y Castro (1989) realizaron experimentos de hibridación con

artemias procedentes de diversas poblaciones de la República Mexicana: San Luis Potosí, Yavaros, Ecatepec, Ceuta y San Crisanto, y obtuvieron progenie fértil, hasta la generación F₂. Estas poblaciones pueden ser consideradas como pertenecientes a la especie *A. franciscana*, ya que Abreu-Grobois (1983, 1987) había determinado a la población de Yavaros como perteneciente a la especie mencionada.

En función de las características poblacionales del grupo *Artemia*, al constituir grupos geográficamente aislados, se planteó este estudio para conocer, mediante un experimento de hibridación, el grado de diferenciación alcanzado entre dos poblaciones contiguas, no estudiadas hasta el momento, y dos cepas de *A. franciscana*.

MATERIAL Y METODOS

En los experimentos de hibridación se emplearon dos cepas de *A. franciscana* (un lote del Centro de Referencia de *Artemia* de Ghent, Bélgica, cuyo origen es la Bahía de San Francisco, E.U.A., y el lote comercial 3044 de San Francisco Bay Brand), y dos poblaciones nativas de Baja California, México. Las cepas

mexicanas se obtuvieron por recolección manual de quistes en la localidad conocida como San José, situada en los 29° 15' N y los 114° 53' W, pero de lagunas diferentes, separadas entre sí por una distancia aproximada de 5 km (Fig. 1).

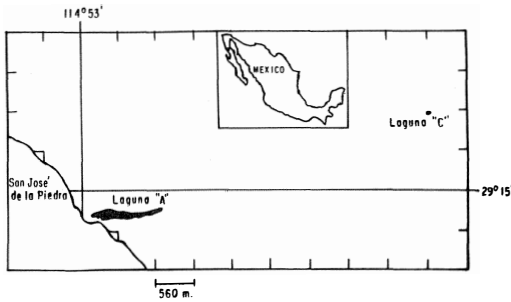


Fig. 1. Ubicación geográfica de las poblaciones mexicanas de *Artemia franciscana* estudiadas.

En el laboratorio, se llevó a cabo el proceso de descapsulación empleando el método del Hipoclorito de sodio (Anónimo 1988) y los nauplius recién eclosionados se colocaron en acuarios de 15 L con aeración. Los organismos se cultivaron hasta el estado adulto. Las condiciones de cultivo fueron: salinidades de 32 - 35 ‰, temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, pH de 7 a 8, concentración de oxígeno de 7 ppm. La ración de microalgas *Chaetoceros* sp. administradas como alimento es la descrita en Correa y Bückle (1993).

Una vez alcanzada la madurez sexual (del 14vo. al 18vo. día), se separaron los machos. La separación fue mantenida por espacio de diez días para asegurarse que las hembras liberaran cualquier producto de apareamiento o cualquier óvulo infértil generado previo al cruzamiento experimental.

El experimento se diseñó para que machos y hembras de todas las poblaciones se cruzaran entre sí. Cada cruzamiento estuvo constituido por 15 repeticiones, cada una con parejas mixtas y parejas de progenitores del mismo origen que sirvieron como testigo (Cuadro 1).

Cada pareja se colocó en frascos de 30 mL con un suministro diario de *Chaetoceros* sp. a una concentración de 1.5×10^6 cels/mL, cultivados en medio f2.

Se efectuaron observaciones diarias durante 70 días para constatar la supervivencia y detectar la producción de progenie. Posteriormente, se realizaron cruzamientos entre machos

y hembras de la misma progenie obtenida con el fin de verificar su fertilidad.

Durante el desarrollo del experimento se detectó la presencia de *Vibrio* sp.; en consecuencia, se aplicó un tratamiento con solución de Tiomersal (merthiolate) al 1 % en agua de mar tratada con luz ultravioleta durante 10 a 15 minutos, el cual redujo la mortalidad a menos del 5 %. Es importante señalar que *Vibrio* tuvo una incidencia general y permanente, aunque controlada, pero que fue útil para detectar la resistencia de la progenie a enfermedades bacterianas.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro 1 se relacionan los resultados de los cruzamientos efectuados intrapoblacional e interpoblacionalmente. Entre las cruza intrapoblacionales se destaca el hecho de la baja fertilidad de las parejas formadas por individuos de la cepa SFBB, con sólo un 33 % de resultados positivos. Estudios de la estructura genética de varios lotes comerciales de quistes de la San Francisco Bay Brand, Inc., revelaron que están compuestos, además de la especie *franciscana*, de poblaciones de origen chino y de organismos partenogénicos (Warner 1989). Esto puede explicar, hasta cierto grado, el bajo porcentaje de fertilidad en la cruz intrapoblacional de SFBB al igual que con las cruza interpoblacionales con este lote. Sin embargo, no se descarta que tales deficiencias reproductivas estén influidas por el efecto de *Vibrio* sp.

Las cruza interpoblacionales de los progenitores abarcan un intervalo de fertilidad entre el 7 % y el 80 %. Los resultados más pobres involucran hembras de la población SJ-A (SJ-C♂ x SJ-A♀ y SFBB♂ x SJ-A♀), mientras que las más altas fertilidades fueron resultado de cruza realizadas con hembras de la cepa CRA (SJ-A♂ x CRA♀, SJ-C♂ x CRA♀, con 80 y 67 %, respectivamente). La fertilidad de las parejas que contaron con machos CRA descendió no sólo respecto a los máximos valores encontrados considerando las parejas formadas con hembras de esta cepa, sino también respecto al control intrapoblacional de ella (27 - 33 %).

Las parejas que contaron con machos SJ-A mejoraron el porcentaje de fertilidad del control intrapoblacional de la cepa de SFBB, la cual mantuvo el propio, y se redujo ligeramente el obtenido por la población SJ-C consigo misma.

CUADRO 1

Hibridación de las diferentes cepas de Artemia (PF/PT= parejas fértiles/parejas totales; CRA= Centro de Referencia de Artemia, A. franciscana; SJ-A= San José, laguna A; SJ-C= San José, laguna C; SFBB= San Francisco Bay Brand; ---= progenie que no maduró sexualmente ni sobrevivió en el estado adulto)

Machos	Hembras	PF/PT	Progenitores				
			% Fertilidad (Progenitores)	#F ₁ Maduros	PF/PT (F ₁)	% Fertilidad (F ₁)	#F ₂ Maduros
CRA	CRA	11/15	73	138	40/61	65	98
SJ-A	SJ-A	12/15	80	140	43/62	69	124
SJ-C	SJ-C	10/15	67	145	38/50	76	130
SFBB	SFBB	5/15	33	54	7/20	35	172
CRA	SJ-A	4/15	27	48	4/17	23	12
SJ-A	CRA	12/15	80	132	40/59	67	104
CRA	SJ-C	5/15	33	64	8/27	29	84
SJ-C	CRA	10/15	67	32	8/14	57	--
CRA	SFBB	5/15	33	40	3/13	23	560
SFBB	CRA	6/15	40	8	1/3	33	120
SJ-A	SJ-C	9/15	60	32	7/13	54	81
SJ-C	SJ-A	1/15	7	8	1/2	50	--
SJ-A	SFBB	6/15	40	20	2/7	28	165
SFBB	SJ-A	1/15	7	8	1/3	33	180
SJ-C	SFBB	9/15	60	28	3/10	30	283
SFBB	SJ-C	2/15	13	9	1/4	25	--

Esta última mantuvo el porcentaje de fertilidad del control intrapoblacional únicamente en la cruce del macho con la hembra de la cepa de CRA, mientras todas las cruces, ya sea que se consideren machos o hembras, fue inferior. El porcentaje de fertilidad de los F₁, para todas las cruces, disminuyó ligeramente con respecto a los progenitores, excepto para las cruces de SJ-C♂ x SJ-C♀, SFBB♂ x SFBB♀, SJ-C♂ x SJ-A♀, SFBB♂ x SJ-A♀ progenitores se registra levemente una disminución de su capacidad reproductiva y, además, de la supervivencia de los híbridos hasta la madurez sexual. Por otro lado, en el comportamiento de los organismos no se observó que existiera un rechazo entre

machos y hembras en todas las cruces y, por lo tanto, se descarta la posibilidad de un mecanismo de aislamiento precopulatorio.

El número de individuos obtenidos en la F₁, de las cruces interpopulacionales, fue siempre inferior a los controles, considerando la proporción de parejas fértiles. Sin embargo, todas las cruces obtenidas a partir de la F₁ produjeron descendencia, aunque como se observa en el Cuadro 1, no todos los individuos alcanzaron la madurez sexual, particularmente los cruzamientos que involucraron a la población SJ-C, tanto machos (SJ-C♂ x CRA♀ y SJ-C♂ x SJ-A♀) como hembras (SFBB♂ x SJ-C♀).

En los cruzamientos con los sexos invertidos respecto a la población SJ-C se obtuvo individuos maduros sexualmente en número considerable. Este hecho demuestra, hasta cierto grado, la capacidad de fertilización de la composición genética. No obstante, debido a que aquellos que no alcanzaron la madurez sexual por causas de muerte prematura, se puede invocar la baja viabilidad en las condiciones de cultivo a la reducción en la resistencia a la infección por el *Vibrio* presente. Al imbricar en este asunto la "salud genética" (Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero 1990) y la calidad del genoma de los híbridos en un medio particular, habría que considerar que el ambiente está influyendo directamente, eliminando la progenie no viable y conservando los caracteres exitosos (para la resistencia a *Vibrio*) en el reservorio génico de los híbridos de la cruce de SJ-A♂ x SJ-C♀.

El análisis global de los resultados permite suponer que las dos cepas de Baja California estudiadas pertenecen a la misma especie *A. franciscana*, caracterizada por Barigozzi (1974) y Abreu-Grobois y Beardmore (1980, 1982), con un número diploide de 42 cromosomas.

El concepto de especie para organismos de reproducción sexual, según la definición tradicional resumida por Mayr (1970), puede enunciarse como el conjunto de poblaciones naturales que se cruzan entre sí y que están reproductivamente aisladas de otros grupos. Sin embargo, debido a que el proceso de especiación es dinámico, existen ciertas consideraciones que han de tomarse en cuenta en el análisis de la composición filética de un taxón. Existen evidencias en los grupos analizados de una diferenciación morfológica (Correa y Bückle 1993) sin aislamiento reproductivo (Correa 1991), que sin embargo no se aplica al cruzamiento de machos de SJ-A con hembras de SJ-C, donde es más factible un posible aislamiento reproductivo parcial en función del aislamiento del hábitat (Correa y Bückle 1993).

De los resultados de este estudio se desprende el hecho que las cuatro poblaciones estudiadas pertenecen a la misma especie, *A. franciscana*, y es factible ubicarlas como poblaciones geográficas con cierto grado de aislamiento. Sin embargo, no se puede considerar que exista un aislamiento reproductivo estricto, aunque fue detectada heterosis negativa en relación a una presión ambiental presente en el cultivo, como fue la presencia de *Vibrio*.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Domenico Voltolina y Beatriz Cordero por sus críticas al manuscrito final. A Patrick Sorgeloos del *Artemia* Reference Center (Ghent, Bélgica) por proporcionar los quistes de referencia. Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México (clave D112-903690) y el Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (clave 6243, 623101).

RESUMEN

Se analiza la fertilidad intra e interpoblacional de dos poblaciones mexicanas y dos de la Bahía de San Francisco, de la especie *Artemia franciscana*. Los resultados muestran que las cepas mexicanas pertenecen a la misma especie. Toda la progenie F₁ es fértil internamente, pero algunos híbridos F₂ en la cual una variedad mexicana estaba implicada, muestran una baja resistencia a las infecciones bacterianas (*Vibrio*).

REFERENCIAS

- Abreu-Grobois, F.A. 1983. Population genetics of *Artemia*. Tesis doctoral, University College of Swansea, Gran Bretaña. 438 p.
- Abreu-Grobois, F.A. 1987. A review of the genetics of *Artemia*. p. 61-99. In P. Sorgeloos, D.A., Bengston, W. Decler & E. Jaspers (eds.). *Artemia* Research and its Applications. Vol. 1. Universa Press, Wetteren, Bélgica. 380 p.
- Abreu-Grobois, F.A. & J.A. Beardmore. 1980. International Study on *Artemia*. II. Genetic characterization of *Artemia* populations -an electrophoretic approach, p. 133-146. In G. Persoone, P. Sorgeloos, O. Roels & E. Jaspers (eds.). *The Brine Shrimp Artemia*. Vol. 1. Universa Press, Wetteren, Bélgica. 345 p.
- Abreu-Grobois, F.A. & J.A. Beardmore. 1982. Genetic differentiation and speciation in the brine shrimp *Artemia*, p. 345-376. In C. Barigozzi (ed.). *Mechanisms of speciation*. Liss, Nueva York. 546 p.
- Anónimo. 1988. Tips on cyst decapsulation. San Francisco Bay Brand, Inc., San Francisco, California. 2 p.
- Barigozzi, C. 1974. *Artemia*: A survey of its significance in genetics problems. *Evolut. Biol.* 7: 221-252.

- Beardmore, J.A. & F.A. Abreu-Grobois. 1983. Taxonomy and evolution in the brine shrimp *Artemia*, p. 153-164. In G.S. Oxford & D. Rollinson (eds.). Protein Polymorphism: Adaptive and Taxonomic Significance. Academic, Londres.
- Castro, J. 1989. Características biométricas generales, modo de reproducción de *Artemia* sp. en Las Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. Rev. Lat. Acui. Lima-Perú. 39: 19-35.
- Clark, L. & S. Bowen. 1976. The genetics of *Artemia salina*. VII. Reproductive isolation. J. Hered. 67: 385-388.
- Correa, S. F. 1991. Caracterización biológica y bioquímica de algunas poblaciones de *Artemia franciscana* Kellogg, 1906. Tesis de Doctor en Ciencias. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada. Baja California, México. 150 p.
- Correa, S. F. & F. R. Bückle. 1993. Morfología y biometría de cinco poblaciones de *Artemia franciscana* (Anostraca, Artemiidae). Rev. Biol. Trop. 41(1): 103-111.
- Dobzhansky, T. 1951. Genetics and the origin of species. Columbia University, Nueva York.
- Gallardo, C. & J. Castro. 1987. Reproduction and genetics of Mexican *Artemia*, p. 249-253. In P. Sorgeloos, D.A., Bengston, W. Declair & E. Jaspers (eds.). *Artemia* Research and its Applications. Vol. 1. Universa Press, Wetteren, Bélgica. 380 p.
- Mayr, E. 1970. Populations, Species and Evolution. Harvard, Massachusetts. 453 p.
- Rosa-Vélez, J. de la & F. Rodríguez. 1990. Enfoque genético para el análisis de poblaciones de recursos pesqueros: el caso de la población ostrícola de la Laguna de Términos, Campeche, p. 255-284. In J. Rosa-Vélez & F. González-Farías (eds.). Temas de Oceanografía Biológica en México. Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada.
- Warner, A.H. 1989. Proteases and protease inhibitors in and their role in the developmental process, p. 113-131. In T.H. MacRae, J.C. Bagshaw & A.H. Warner (eds.). Biochemistry and Cell Biology of *Artemia*. CRC Press, Boca Raton, Florida.