

Stephen P. Tomkins<sup>1</sup> och Leighton Dann<sup>2</sup>  
För Wellcome Trust

<sup>1</sup>Homerton College, Cambridge, CB2 8PH UK

<sup>2</sup>Robinson College, Cambridge, CB3 9AN UK

## Sexuellt urval hos kräftdjuret *Artemia*

Praktiska undersökningar med hjälp av  
*Artemia franciscana*

### Syfte

Att studera hur *Artemia franciscana* väljer partner inför parning.

### Introduktion

Charles Darwin föreslog två grundläggande principer som förklaring till mångfalden av liv på jorden. Även om hans bok *Om arternas uppkomst* främst handlar om det naturliga urvalet, nämner Darwin även kortfattat att *sexuellt urval vid parning* är en drivkraft för evolutionen. Han skrev:

*Och det leder mig in på att nämna något om vad jag kallar sexuellt urval. Detta beror inte på kampen för tillvaron, utan på en kamp mellan hannar för att få tillgång till honor; resultatet blir inte att den som misslyckas dör utan att denne endast får ett fåtal eller inga avkomlingar alls.*

*Om arternas uppkomst*, första upplagan, 1859, kapitel IV

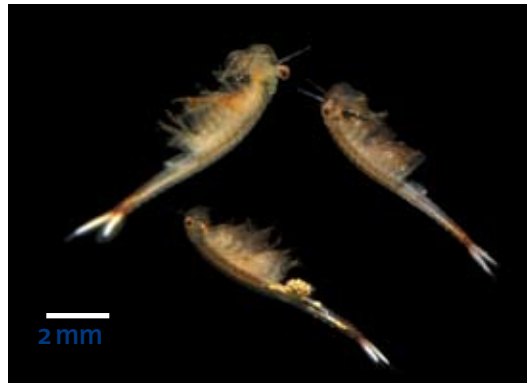
Omkring 1871 hade Darwin utvecklat denna korta text så att temat upptog merparten av boken *Människans härkomst och könsurvalet*, den bok som jämte *Om arternas uppkomst* är den viktigaste av Darwins böcker, som behandlar evolution. Han föreslår att sexuellt urval i stor utsträckning är orsak till variationen hos människan – en slutsats som många av dagens evolutionsbiologer instämmer i.

Fenomenet sexuellt urval kan iakttas och undersökas i klassrummet. Ett väl upplyst akvarium med *Artemia franciscana* är ett lättobserverat och hållbart ekosystem, lämpligt för att elever ska kunna genomföra studier i klassrummet.

När eleverna iakttar *Artemia* kan de se att djuren antingen simmar ensamma eller parvis. De lär sig snabbt att skilja mellan könen, eftersom köns mogna hannar och honor simmar tillsammans i par.

Kontakta författarna genom  
Dean Madden på:  
NCBE, University of Reading  
2 Earley Gate, Reading  
RG6 6AU, England

IMAGE COPYRIGHT © CHRISTOPHER BADZIOCH, 2008



Figur 1. *Vuxna Artemia*, vilka simmar med benen uppåt. Honan (med ägg) kan lätt identifieras på fotot. De båda hannarna har stora gripverktyg (andra antennparet har omvandlats), vilka används för att hålla fast honor; honorna har inga gripverktyg.

Hannen, som vaktar honan genom att klamra sig fast vid henne, har antingen redan parat sig eller kommer att para sig med henne. Hannarna vaktar honorna så att parning med andra hannar förhindras.

Förhållandet mellan könen är jämlikt på så sätt att honorna kan välja hanne för parning – ett socialt arrangemang som väcker elevernas intresse för att göra undersökningar.

Undersökningarna inleds med att eleverna gör egna observationer. Det är precis vad naturvetenskapsmannen Darwin skulle ha gjort. Därefter följer en lärarledd diskussion då eleverna föreslår olika sätt att undersöka parningsbeteendet, vilket leder till hypoteser, som eleverna kan testa. Exempelvis kan en av hypoteserna vara att stora honor väljer stora hannar att para sig med. Detta kan prövas experimentellt av elever a) genom ett försök där individer får välja partner; och b) genom att mäta storleken av de individer som parat ihop sig.

### Darwin, *Artemia* och sexuell urval

Darwin observerade *Artemia* av en tillfällighet när han befann sig i Sydamerika. I reseskildringen *The Voyage of HMS Beagle* skriver han:

*Flamingos i stort antal bebor denna sjö, och fortplantar sig här; i hela Patagonien, i norra Chile, och på Galapagos-öarna, träffade jag på dessa fåglar så snart som det fanns sjöar med Artemia i. Jag såg dem vadande omkring sökande efter föda – förmodligen efter de maskar som gömmer sig i leran; dessa senare livnär sig förmodligen på protozoer eller alger. Det finns således en liten levande värld som är helt anpassad till dessa inlandssjöar med Artemia. Ett litet kräftdjur (*Cancer salinus*) anses finnas i oräkneligt antal i "Artemia-grytor" vid Lynington: men endast i sådana där vattnet genom avdunstning har erhållit avsevärd styrka – nämligen omkring ett kvarts pund salt till en pint vatten. Vi kan alltså bekräfta att varje del av vår värld är beboelig!*

*The Voyage of HMS Beagle*, tredje upplagan, 1860, Kapitel IV

Längre fram skriver Darwin om sexuellt urval:

*Hannarna hos många ...fullvuxna crustacéer, har sina ben och antenner modifierade på ett extraordinärt sätt för att kunna hålla fast honan...*

*Om huvudsyftet med hannens fasthållande organ är att förhindra honan från att fly undan, innan andra hannar kommer ... måste dessa organ ha blivit perfekta genom det sexuella urvalet...i sådana fall har hannarna förvärvat den nuvarande byggnaden av dessa organ, inte genom kampen för överlevnad, men därför att de har gett en fördel gentemot andra hannar.*

Darwin skriver även om honornas val av hannar:

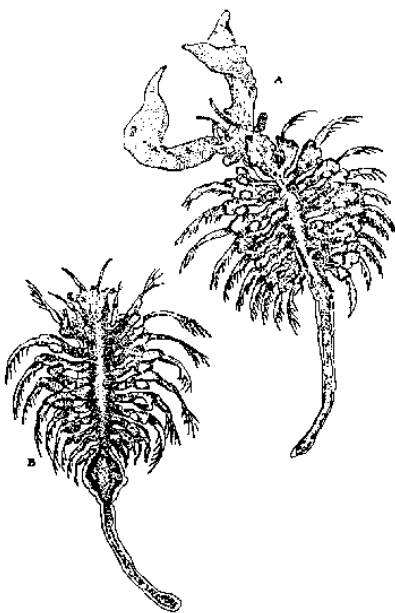
*Men i många fall får inte den hanne, som vunnit kampen om honan, tillstånd av honan att para sig med henne...*

*Honorna är mest uppeggade av eller föredrar parning med de mer utsmyckade hannarna... men det är uppenbart att de samtidigt föredrar de kraftfullaste och livligaste hannarna. De mest energiska och kraftfulla honorna, som är de första att para sig, kan således välja mellan många hannar.*

*Människans härkomst och könsurvalet, 1877, kapitel VIII*

Kommentarer:

1. I senare upplagor av *Om arternas uppkomst* föreslår Darwin att honor också kan spela en roll vid parningsselektion. Från 6:e upplagan 1882 hämtas citatet: "Denna form av urval beror inte på kampen för tillvaron i relation till andra organismer eller på yttre omständigheter, utan på en kamp mellan individer av samma kön, vanligen hannar, för att nå framgång hos det andra könet."
2. Darwins nomenklatur var omodern. Redan 1758 hade Linné gett de aktuella kräftdjuren namnet *Cancer salinus*, men klassifikationen ändrades 1819 till *Artemia salina* av Leach. *A. salina* finns i södra Europa.
3. Den första vetenskapliga beskrivningen av dessa kräftdjur gjordes av Schlösser 1755–6, som observerade djuren i saltgrytor vid Lymington i Hampshire. *Artemia* finns inte längre i Storbritannien.



*Figur 2. Teckningar av hane och hona av Artemia av Schlösser, 1755–6. Till vänster: hona med ägg; till höger: hane med gripklor, vilka används vid uppvaktning av honan och vid parning.*

## ***Artemia franciscana***

Bakgrundsinformation hämtad från Dockery and Tomkins (2000).

### Ekologi

Det finns cirka tio arter av dessa saltvattenskräftdjur. De hör till gruppen *Crustacea* och merparten finns i släktet *Artemia*. Släktet *Artemia* har en global utbredning. *A. franciscana* (San Francisco brine shrimp) lever i Great Salt Lake i Utah, USA. Därifrån kommer de flesta äggcystor som säljs. Övriga kommersiella producenter finns i Kina och Ryssland.

*Artemia*-arterna lever i salta sjöar och dammar. Dessa miljöer torkar ofta ut fullständigt under den varma årstiden. De ekologiska förhållanden där de lever är ofta extrema (exempelvis kan vattnets salthalt överstiga 280 g salt per liter – jämförelsevis innehåller havsvatten bara 35 g per liter), och endast ett litet urval av alger (t.ex. *Dunaliella*) och bakterier (t.ex. *Halobacterium*) kan överleva. Som en konsekvens av detta uppträder algblomning och vattnet, som oftast har en grönaktig färg, kan tillfälligtvis få en röd färgton beroende på att betakaroten bildas i algcellerna.

Det är mycket få ryggradslösa djur som klarar dessa förhållanden, men *Artemia* har framgångsrikt anpassat sig till sådana extrema miljöer. En följd av detta, och av att det inte finns några fiskpredatorer, är att det ofta blir ett mycket stort antal individer. Naturliga predatorer på *Artemia* är fåglar som flamingos och skärfläckor, som söker sig till dessa miljöer när kräftdjuren uppträder i stor mängd.

*Figur 3. Great Salt Lake, Utah. En järnväg skiljer den norra och den södra delen av sjön, två delar som har olika salthalt. Växtplanktonsamhället domineras av cyanobakterier eller grönalger vilka färgar vattnet grönt söder om järnvägsbanken. Norr om järnvägsbanken, domineras sjön av *Dunaliella salina* (som frigör betakaroten) och bakterieliiknande Haloarchaea. Dessa organismer ger vattnet en ovanlig färg; rött eller purpurfärgat. *Artemia* är det enda vattenlevande djur som kan leva i sjön, eftersom salthalten är så hög. De finns huvudsakligen i sjöns södra vik. Bilden är tagen i augusti 2003 och kommer från International Space Station. Den visar att vattennivån är mycket låg. Den nordöstra viken har försvunnit, och Antelope Island [A] har förbindelse med fastlandet.*



IMAGE COURTESY NATIONAL AERONAUTICS AND SPACE ADMINISTRATION (NASA)

## Livscykel

Vattnet i Great Salt Lake, Utah, USA, antar en brunaktig färg mot slutet av året beroende på mycket små bruna partiklar, som lägger sig i ytskiktet. Dessa små partiklar är inaktiva, torra äggcystor från *Artemia franciscana*. Dessa cystor förs i stora mängder av vind och vågor mot stränderna, där de samlas in för att sedan hamna i akvarie- och djuraffärer över hela världen.

Dessa cystor förblir vilande så länge som de förvaras torrt. De innehåller en skyddande polysackarid kallad trehalos, vilken bevarar liv i ett uttorkat tillstånd.

Trehalos återfinns även i sädeskorn och torrjäst, samt i vävnader i ökenväxter, som får dem att överleva svår torka. Äggcystorna som övervintrat kläcks på våren, när de första regnen kommer i april. Cystorna tar upp vatten och äggen börjar utvecklas. Några timmar senare spricker cystorna och embryonerna frigörs, nu endast omgivna av ett membran. I detta stadium ser man det enda ögat hos naupliuslarven. Inom några få timmar börjar antenner och mandibler röra sig och därmed kan larven simma. Det första larvstadiet är orangebrunt.

Larven ömsar skal omkring 15 gånger under det att framkroppen och bakkroppen förlängs. Under första tiden samlar antennerna in födopartiklar och under detta stadium utvecklas facettögon, som är placerade på sidan. Efter det att de första utvecklingsstadierna passerats börjar den mer utvecklade larven använda de parvisa benen för att samla föda. I fortsättningen kommer kräftdjuren att simma på rygg med benen vända uppåt.

De elva paren ben har tre funktioner: som filter, för rörelse och som gälar. Från och med det tionde utvecklingsstadiet utvecklas könskaraktärerna. Det mest utmärkande är att det andra paret antenner hos hannen utvecklas till långa, krökta gripklor som används för att gripa och hålla fast honan under den fas när hannen vaktar honan i samband med parningen. Dessa gripklor syns på Schlösser's originalteckning. Hannar och honor skiljer sig även åt på fler sätt än beträffande gripklorna. Vuxna hannar når en längd på maximalt 8–14 mm, medan fullväxta honor i genomsnitt är 1–2 mm längre än hannarna. Kroppen hos hannarna är genomskinlig och ibland ackumulerar den ett blågrönt pigment. Man kan eventuellt se en parig penis i den bakre delen av framkroppen. Honorna har en brunröd färg och har en äggsäck, vilken mottar mogna ägg från äggstockarna via två äggledare.

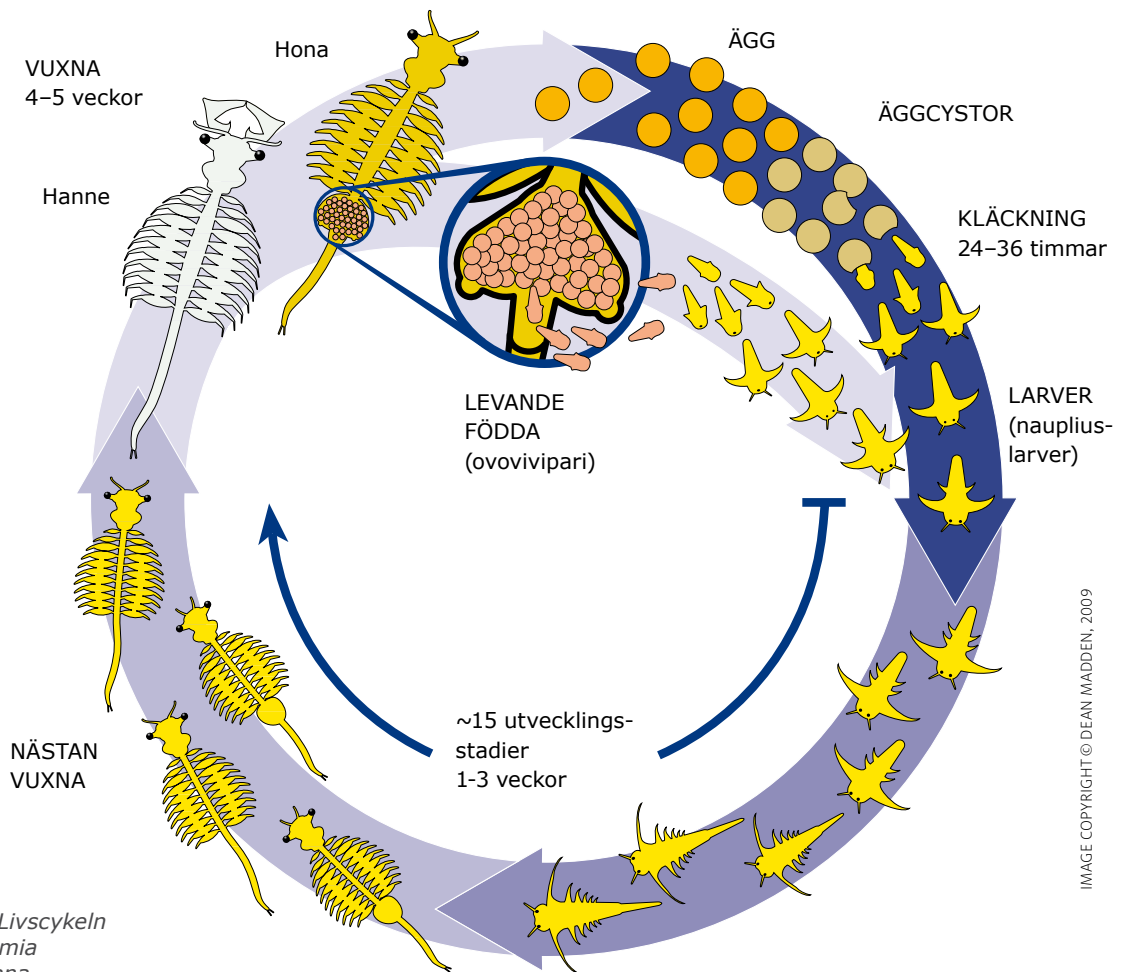


IMAGE COPYRIGHT © DEAN MADDEN, 2009

Figur 4. Livscykeln hos *Artemia franciscana*.

Figur 5. Bilden visar en hanne som håller fast en hona i samband med parning. hos *Artemia*: honan överst och hannen underst. Denna process föregår och fortsätter efter parningen.



IMAGE COPYRIGHT © EL VIEJO, 2006

## Urval vid parning

Hannen tar initiativet till förspelet, den fas när han vaktar honan från kontakter med andra hannar. Han tar tag i honan med sina gripklor, mellan livmodern och det sista benparet. I den här positionen, när hannen rider på honan, kan de två djuren simma runt i många timmar, t. o. m. dagar. *Artemia* tillämpar verkligen partnerval. Man kan lägga märke till att stora hannar stöter ihop med fler honor medan de simmar än små hannar. Det kan förekomma konkurrens mellan hannarna om honorna. De mycket stora gripklorna kan ha en dubbel funktion, dels är de viktiga för att hannen ska kunna försäkra sig om en hona, dels kan de eventuellt också fungera som sexuella ornament, som honorna lägger märke till.

Det finns också ett starkt stöd för teorin att även honorna tillämpar partnerval, eftersom stora honor endast motvilligt parar sig med små hannar. Partnervalet resulterar i att stora honor väljer att para sig med stora hannar. Större honor producerar fler ägg än mindre honor.

Det är fördelaktigt för en hane att para sig med en större hona, eftersom hon kommer att producera fler avkomlingar, som han är pappa till och därmed överförs hans DNA till fler individer i nästa generation. Det är på samma sätt en fördel för honan att para sig med en stor hane, eftersom han bidrar till att paret rör sig snabbare framåt, vilket innebär att honan får mer mat och därmed mer näring till sina ägg.

## Fortplantning

Den honliga sexuella cykeln, från en ägglossning till nästa, är omkring sex dagar. Kräftdjur som simmar tillsammans parvis är mätbart snabbare än ensamma honor. Par med större kräftdjur simmar snabbare än par med mindre djur.

Parningen är en snabb reflex. Bakkroppen hos hannen böjs framåt och en av de båda penisarna förs in i livmoderns öppning. De befruktade äggen kan utvecklas på två sätt. Den första generationens ägg utvecklas ofta omedelbart till frisimmande larver (naupliuslarver), efter det att äggen släppts fria från honan. Detta benämns ovovivipar fortplantning. I Great Salt Lake sker detta i maj eller juni. Maj/juni-populationen fortsätter att producera en större andel av betydligt brunare ägg, som inte kläcks omedelbart. Dessa bruna äggcystor har ett tjockt skal och förblir vilande tills en förändring i miljön påverkar dem, så att utvecklingen fortsätter. Ovovivipar fortplantning är vanligt förekommande i populationer där det sker massförökning, men när näringstillgången eller andra livsviktiga förhållanden försämras, kommer en större andel av vilande äggcystor att bildas. Det kan bli upp till fem generationer under ett år i Great Salt Lake. Populationstätheten i naturliga miljöer kan ibland överskrida 10 kräftdjur per liter, nivåer som lätt överskrids i laboratoriekulturer.

Några arter av *Artemia* har enbart honor som reproducerar sig asexuellt genom jungfrufödelse (partenogenes). De är därför inte lämpliga för de undersökningar som beskrivs på följande sidor.

### Tillväxthastighet och fysiologi

Tillväxthastigheten hos *Artemia* påverkas av temperatur, salthalt och näringstillgång. Vid 25 °C, med optimal salthalt och näringstillgång, blir kräftdjuren sexuellt mogna på 14 dagar och uppnår full storlek på 26 dagar. Om salthalten ökar, minskar tillväxthastigheten och den slutliga storleken. *Artemia* kan leva i vatten med mer än 20% salthalt, men vid 18% är tillväxthastighet halverad jämfört med den vid 3.5%. Detta beror delvis på energiförluster som orsakas av utsöndring av salt (se nedan). Vid låga salthalter, < 3.5% salt, tillväxer *Artemia* bra, men konkurrensen med andra arter som är bättre anpassade till sötvattensliknande förhållanden blir hårdare, och *Artemia* trivs därför inte lika bra som i miljöer med högre salthalt.

*Artemia* har fysiologiskt sett en hypoosmotisk reglering i saltlösning. Detta innebär att blodet är hypotont i förhållande till det omgivande mediet, dvs. har mindre halt lösta ämnen, och att djuret därför förlorar vatten genom ytterskalet. Uttorkning förhindras sannolikt genom att vatten tas upp i samband med det kontinuerliga flödet av vatten som sväljs ner och passerar tarmen. Eftersom detta vatten också är salt sker samtidigt en omfattande aktiv saltsekretion från gälarna för att kompensera för salt som tas upp. Det är energikrävande att pumpa joner över membran. Trots att det kan ske en snabb tillväxt i salta miljöer är det energimässigt kostsamt att leva där om mediet blir alltför salt.

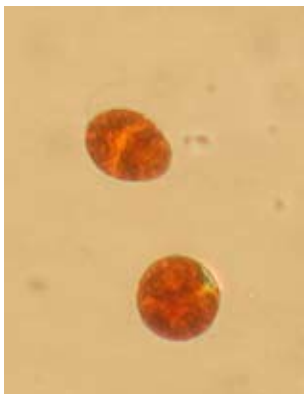




WARNING! Placera inte heta lampor alltför nära kulturen.

Läs också säkerhetsanvisningarna.

Figur 6 och 7. Överst: Ej stressad *Dunaliella salina*. Nederst: När *D. salina* stressas av hög salthalt eller starkt ljus bildar algcellerna stora mängder beta-karoten. Detta färgämne orsakar den orange färgen hos vuxna honor av *Artemia*.



## Utrustning och material

Till varje klass behövs följande:

Utrustning:

- Stor plastlåda, 15l, av genomskinlig plast med avtagbart lock (för odling av *Artemia*)
- Mindre plastlåda, 8l, av genomskinlig plast med avtagbart lock (för odling av alger)
- Bägare, 1 l (för kläckning av *Artemia*-ägg)
- Linjal eller millimeterpapper (till varje elevgrupp)
- 5ml pipetter med vid öppning, 30 st
- Termometer, 0–50 °C (av typen med flytande kristaller att placera på sidan av plastlådan)
- Eventuellt: Tilläggsbelysning med 18 W lågenergilampor (motsvarande 100 W), 2 st
- Eventuellt: Doppvärmare för akvarier (om rummet är kallare än 20–25 °C)

Material

- *Artemia*-ägg
- Havssalt, 1 kg
- Algkultur (förslagsvis någon av följande tre arter av halofila alger: *Dunaliella salina*, *Platymonas* spp. eller *Tetraselmis suecica*)
- Krossade ostronskal, 100 g
- Sand, 2 kg

Näringslösning för växter, lämplig för algodling

Valfritt: Hobby® Liquizell (eller liknande), 50ml, (mat till de nykläckta *Artemia*-larverna (om levande alger saknas)

## Odling av alger

Innan du börjar odla och studera *Artemia*, behöver en algodling startas för att larverna ska få mat när de kläcks och även de vuxna kräftdjuren ska få att äta.

1. Bered 5l klorfritt kranvatten genom att låta vattnet stå i den lilla plastlådan över natten utan att täcka den fullständigt (kloret i vattnet avdunstar).
2. Gör en 3.5%-ig saltlösning genom att lösa 175g havssalt i det avklorerade vattnet. Tillsätt algkulturen.
3. Placera lådan nära en ljuskälla eller ett ljust fönster (om det fortfarande är sommar). Täck lådan för att förhindra alltför stor avdunstning. Förvara kulturen vid 20–25 °C.
4. Varje vecka tillsätts en droppe växtnäringslösning per liter vatten.
5. Efter cirka en vecka kommer du att ha en grön algsuspension. Kontrollera kulturen genom att placera en droppe på ett objektglas och studera den i mikroskop med måttligt stor förstoring. Du bör se en mängd små, rörliga alger (se fotot överst till vänster).

- Behåll denna täta algkultur och hämta alger från den för att mata både vuxna och unga kräftdjur med. Fyll på saltvatten efterhand som du avlägsnar vätska.

### Odling av *Artemia* i skolan

*Artemia franciscana* kommer från Great Salt Lake, Utah, USA. *Artemia* är förhållandevis lätta att hålla i kultur så länge som deras grundläggande behov tillfredsställs. Kräftdjuren matas med encelliga alger och mikroskopisk föda som löses i det salta vattnet. För att kräftdjuren ska överleva behöver de mat löst i vatten, ljus (för algernas fotosyntes), värme och saltvatten. *Artemia* tolererar salthalter från 0.01 % upp till mättad saltlösning, men tillväxten minskar vid höga salthalter. Vid en salthalt över 0.1 %, överlever inga predatorer eller konkurrenter om födan. I naturliga miljöer resulterar detta i enkla ekosystem med endast kräftdjur och alger. *Artemia* blir könsmogna på 12 dagar vid 28 °C och på 8–21 dagar vid 20 °C. Av denna anledning behöver odlingarna startas i god tid innan de ska användas (*Preparation och tidsplanering*, se nedan).

En plastlåda med vuxna, könsmogna *Artemia* och alger är ett enkelt ekosystem att sköta, förutsatt att man har rätt temperatur och håller det tillslutet. Algerna tillväxer i behållaren och ger mat åt *Artemia*. Vuxna kräftdjur kommer efter några veckor att dö av naturliga orsaker. Resterna efter djuren bryts snabbt ner av bakterier och näringsämnen återgår till ekosystemet genom upptag av algceller.

För att bibehålla systemet behöver du bara tillsätta en liten mängd växtnäringsämne varje vecka för att algerna ska klara sig. Det är bra att röra om varje dag i behållaren så att mineralämnena cirkulerar, därmed förbättras kräftdjurens tillväxt. Tillsatt avklorerat vatten som kompensation för det vatten som avdunstar.

På detta sätt är det möjligt att bibehålla en permanent *Artemia*-kultur i skolan. Om du vill överföra kulturen till vilstadium (t.ex. vid skollov), är det bara att låta vattnet avdunsta fullständigt – äggcystor är närmast odödliga. När terminen startar tillsätts åter avklorerat vatten till rätt nivå i plastlådan.

### *Artemia*-behållaren

För att lyckas med odlingen av *Artemia* ska behållaren placeras på ett ställe där det är varmt (20–28 °C) och där det är bra belysning med artificiellt ljus eller solljus via ett söderfönster. En 15-liters behållare kan innehålla mer än 50 *Artemia*-par – tillräckligt många för en klass.

Om eleverna är försiktiga kan kräftdjuren återföras till behållaren efter lektionen, för att användas i ett senare skede. Man kan använda sand av vilket slag som helst om den är väl sköljd (se nedan). *Artemia* betar alger som finns på sanden. Ostronskal tillsätts för att *Artemia* ska få extra tillskott av kalcium.

Behållaren görs iordning:

1. Cirka två kilo sand, blandat med ostronskal, sköljs några gånger i kranvatten för att rengöra sanden och för att få bort de minsta partiklarna.
2. Lägg sand och skalkross i den stora behållare som ska användas till *Artemia*-odlingen. Materialet ska täcka behållarens botten.
3. Gör iordning så mycket saltvatten (3.5% havssalt) att det räcker att fylla behållaren till hälften. Markera vattennivån på behållarens sida för att kunna ersätta det vatten som avdunstar.
4. Så snart som sanden har sjunkit till botten är behållaren klar att använda för alger och *Artemia*-larver.

### Kläckning av *Artemia*

Den bästa temperaturen för att kläcka och odla *Artemia* är 25–28°C.

1. Tillsätt en spatelspets av *Artemia*-ägg (cystor) till en 1-liters bägare till hälften fylld med saltvatten.
2. Placera bägaren nära en lampa och kolla att temperaturen är 25–28°C. Det är nödvändigt med ljus för att cystorna ska kläckas. Ett ljuskänsligt enzym omvandlar trehalos i cystan till glycerol. Glycerol är hygroskopiskt, vilket medför att vatten tränger in i cystan, varvid membranet sprängs och larven frigörs.
3. Inom 1–2 dagar kläcks äggen. Tillsätt några få droppar *Liquizell*-mat, som larverna livnär sig av under de första stadierna av sin utveckling. Larverna föredrar encelliga alger, så efter 3–4 dagar tillsätts cirka 200 ml algsuspension till bägaren. Tillsätt ytterligare 200 ml algsuspension 2–3 dagar därefter.
4. Efter en vecka kommer larverna att vara cirka 1–2 mm långa och synas tydligt. Håll försiktigt larverna (tillsammans med algerna) i den större behållaren. *Artemia* kommer att bli fullväxta inom 3–4 veckor. *Man kan då skilja på hanner och honor och även se att de parar ihop sig.*

## Matning av *Artemia*

Ett bra tips är att ha en separat algkultur med hög täthet i en liten behållare som man kan hämta mat till *Artemia* från. Man kan se på vattnets färg i den stora behållaren om *Artemia* behöver matas. Är vattnet nästan klart är det brist på alger, är det svagt grönt är det lagom mycket, men är vattnet starkt grönt har du fått en algblomning.

Skrapa försiktigt väggarna i den stora behållaren en gång i veckan för att ta bort algbeläggningen – *Artemia* har svårt att äta av denna. *Artemia* lägger ägg (vilstadi-er) i vattnet där de flyter. Äggen fäster på behållarens väggar och när man skrapar väggarna frigörs äggen.

Ett moget *Artemia*-ekosystem innehåller alla stadier i djurens livscykel. Det är därför nödvändigt att då och då tillsätta några få droppar *Liquizell* till behållaren som mat för larverna.

## Säkerhetsregler

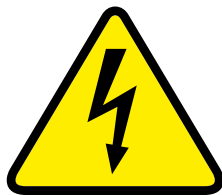
### *Artemia*

Vissa elever kan vara allergiska mot kräftdjur ("skal-djur").



### Odling av alger

Var noga med att belysningen, som används vid odlingen, inte kommer i kontakt med vatten om det blir läckage från behållaren. Det är därför klokt att placera behållaren i ett djupt tråg som är tillräckligt stort för att rymma hela vätskevolymen om det blir ett läckage. All elektrisk utrustning skall placeras utanför detta tråg.



### Lampor

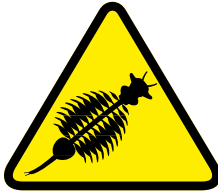
Om lampor används för belysning av algerna gäller det att se till att de inte används på ett sådant sätt att det finns risk för elektrisk chock eller för att de överhettas och orsakar brand.

## Preparation och tidsplanering

Algkulturen och *Artemia*-odlingen måste startas åtminstone fyra veckor innan eleverna ska genomföra det praktiska arbetet. Nedan följer ett förslag till tidsplanering.

Vecka 1	Starta algodlingen i saltvatten.
Vecka 2	Kläck <i>Artemia</i> -cystor och gör iordning behållaren för att ta emot <i>Artemia</i> -larver och alger.

Vecka 3      Överför *Artemia*-larver och alger till behållaren.  
 Vecka 4      Mata *Artemia* med alger.  
 Vecka 5      *Artemia*-kulturen är färdig att användas.



## Djuretik

*Artemia* är levande organismer och de skall därför hanteras försiktigt och ansvarsfullt av såväl elever som lärare. Denna aktivitet ger lärare tillfälle att diskutera användning av djur i forskning.

## Övriga informationskällor

Brine shrimp ecology av Michael Dockery och Stephen Tomkins (2000) British Ecological Society. ISBN: 1 900579 10 3. En handbok för skolor med undersökningar, som kan laddas ner utan kostnad från BES:s webbplats [www.britishecologicalsociety.org/educational/brine\\_shrimp/index.php](http://www.britishecologicalsociety.org/educational/brine_shrimp/index.php)

Ward-Booth, K. och Reiss, M. (1988) *Artemia salina*: an easily-cultured invertebrate ideally suited for ecological studies *Journal of Biological Education* 22 (4) 247–251. Undersökningar lämpade för skolor föreslås.

*Artemia*: Basic and applied biology (Biology of aquatic organisms) av Th.J. Abatzopoulos, J.A. Beardmore, J.S. Clegg och Patrick Sorgeloos [Eds] (2002) Kluwer Academic Publishers. ISBN: 978 1402007460. En dyrbar men auktoritativ akademisk referens.

The Wellcome Trust

Webbsidan från Wellcome Trust's Survival Rivals innehåller kompletterande resurser till denna laboration som ett spel i form av en animation och videoklipp. [www.survivalrivals.org](http://www.survivalrivals.org)

Captain's Universe videoklipp, fotografier, odlingsanvisningar etc  
[www.captain.at/artemia](http://www.captain.at/artemia)

*Artemia* reference centre, University of Ghent  
[www.aquaculture.ugent.be](http://www.aquaculture.ugent.be)

## Inköp

### Brine shrimp ecology kit

Blade's Biological erbjuder ett kit utformat i anslutning till *BES*'s bok om *Artemia*-ekologi av Dockery och Tomkins. Detta kit har inte utformats för att användas till denna övning även om det innehåller en hel del av det material som behövs. Det innehåller en kopia av boken, 60ml *Artemia franciscana* cystor, inoculum, flytande gödning, 65ml *Dunaliella*-kultur, 120g havssalt och 250g korallsand. Blade's erbjuder också förpackningar med 60ml av *Artemia franciscana* cystor. Blade's Biological Limited, Cowden, Edenbridge, Kent TN8 7DX UK.

Tel: + 44 (0) 1342 850 242.

F: + 44 (0) 1342 850 924.

E-mail: [info@blades-bio.co.uk](mailto:info@blades-bio.co.uk), [www.blades-bio.co.uk](http://www.blades-bio.co.uk)

### Alger som lever i saltvatten (halofyter)

Kulturer av *Dunaliella sp.* och *Tetraselmis sp.*, saltälskande alger (halofyter), kan i mindre omfattning erhållas utan kostnad från Institutionen för Marin Ekologi i Göteborg (kontaktperson Monica Appelgren, tel. 031-786 2704, fax: 031-786 2727).

Algkulturer kan också köpas via Culturecollection of algæ and protozoa, [www.ccap.ac.uk](http://www.ccap.ac.uk)

### Artemiacystor

Två typer av cystor finns tillgängliga att köpa: hela cystor och icke-levande cystor som saknar hölje. Den senare typen säljs för att användas omedelbart som fisk föda och är självklart inte lämplig för den här undersökningen. Det finns partenogenetiska arter av *Artemia* i Europa och Asien som helt saknar hannar. För den här undersökningen är det helt nödvändigt att använda den nordamerikanska arten, *Artemia franciscana*.

### Artemiacystor, mat, kläckningsutrustning, havssalt, etc

Detta material säljs vanligen i djuraffärer och akvarieaffärer till hobbyodlare.

Se även inköpsställen i Tyskland och England som finns förtecknade i den engelska versionen av denna laboration.

### Havssalt och korallsand

Olika märken med syntetiskt havssalt finns och används till både kommersiella och privata akvarier. På samma sätt kan korallsand med varierande kornstorlekar och färger inköpas i större mängd i akvarieaffärer.

Webbsidan till tidskriften *Practical fishkeeping* innehåller omfattande information som är användbar: [www.practicalfishkeeping.co.uk](http://www.practicalfishkeeping.co.uk)

### Tack

Denna laborationsbeskrivningen har ursprungligen utformats till Wellcome Trust's Survival Rivals projekt. Survival Rivals är ett erbjudande till skolor i Storbritannien från Wellcome Trust med anledning av 200-årsjubileet för Darwins födelse ([www.survivalrivals.org](http://www.survivalrivals.org)). Wellcome Trust är en oberoende välgörenhetsorganisation som bidrar med resurser för att förbättra människors och djurs hälsa (registrerad välgörenhetsorganisation nr 210183).

Packo Lamers vid Bioprocess Engineering Group i Wageningen University har generöst bidragit med fotografierna på alger på sidan sex.

Ett särskilt tack riktas också till Leighton Dann för utformning av pilotförsöken inom *Survival Rivals* och till följande skolor för utprovningen:

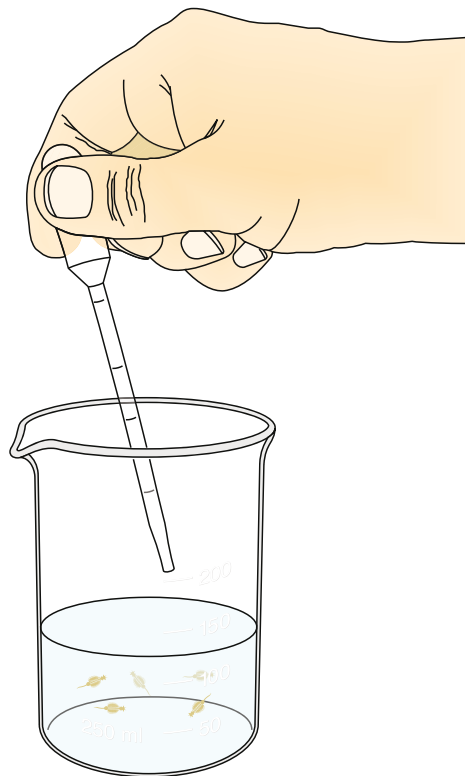
- Oundle School, Peterborough, UK
- King Egbert School, Sheffield, UK
- St Clement Danes School, Chorleywood, UK
- Samuel Ward School, Haverhill, UK

## Creative Commons Licence

Detta försöksprotokoll täcks av Creative Commons ([www.creativecommons.org](http://www.creativecommons.org)) "tillhörigt icke-kommersiellt, dela lika licens". Detta innebär att du får använda det, utveckla det, översätta det o.s.v. Du får inte använda det för kommersiellt bruk och du måste nämna källan där det ursprungliga arbetet har hämtats (The Wellcome Trust). Alla arbeten som härstammar från denna källa skall spridas enligt samma regler.

## Elevinstruktioner

På följande sidor finns elevinstruktioner till denna undersökning.



## Hur väljer *Artemia* partner?

Vi människor tycker inte lika mycket om alla personer som vi möter. Gäller detta även för djur? Charles Darwin funderade över om de olika beteenden som förekommer hos hannar och honor av samma art har en koppling till vilken partner de väljer att para sig med. Föredrar påfågelhonor tuppar med längre och mer magnifika stjärtfjädrar, och innebär detta i så fall ett urval av tuppar? Det var en fråga som Darwin ställde.

Vi vet t.ex. att honhjortar tycker att hanhjortar som har stora horn och för mycket oväsen är mer attraktiva än de som är tysta och har små horn. Hanhjortar tävlar också med varandra genom att slåss och bröla. Honor parar sig hellre med hannar som har vunnit en fight med en annan hanne. Darwin antog att en sådan sexuell selektion var betydelsefull för att förstärka några av de karaktäristiska skillnaderna mellan hannar och honor för att på så sätt försäkra sig om bättre överlevnadsmöjlighet för avkomman.

Avsikten med denna undersökning är att ta reda på om individer av *Artemia* aktivt väljer partner. Det finns tydliga skillnader mellan könen hos *Artemia* och det är lätt att ta reda på vem som parar sig med vem, eftersom de bildar par som håller ihop under en tid.



Figur 8. Hannar av *Artemia* (överst) skiljer sig från honor eftersom de har gripklor. Dessa är förstörade antenner som sitter intill huvudet och gör det möjligt för dem att hålla fast honan (nederst). Honor har inga gripklor. Köns mogna honor har stora äggsäckar med ägg omedelbart bakom det sista benparet.



## Att studera *Artemia*

### Utrustning och material

Varje arbetsgrupp behöver ha tillgång till en stor behållare med olika åldrar och storlekar av *Artemia*.

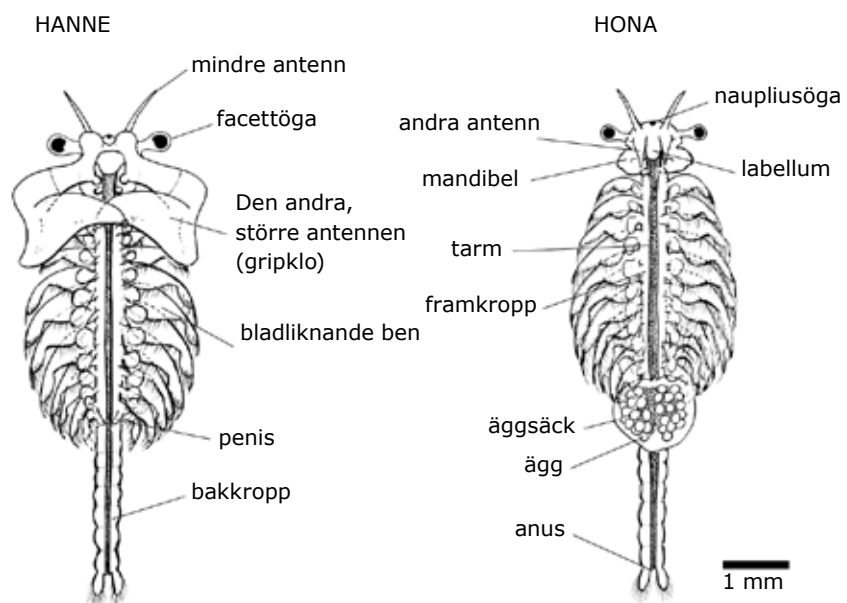
### Utförande

*Artemia* lever i saltvattenssjöar där de får sin föda genom att filtrera alger från vattnet. Börja med att studera djuren tillräckligt länge för att du ska kunna besvara följande frågor.

1. Är alla djur lika stora?
2. Simmar alla ensamma eller finns det några som har bildat par?
3. Hur skiljer man hanner från honor?
4. Vilket av könen simmar först och vilket simmar bakom när djuren håller i hop parvis? Vilken funktion har hannarnas gripklor?
5. Honor bär äggsäckar som finns ungefär mitt på kroppen. Har alla honor äggsäckar av samma storlek? Om storleken varierar, vad kan det bero på?
6. Föreslå varför hanner och honor sitter tillsammans i ungefär tre dagar i samband med parningen. (De parar sig inte hela tiden!)

När du nu har gjort några inledande observationer är det två experiment som du kan genomföra. Diskutera med din lärare vilken av de båda undersökningarna som föreslås nedan som är den bästa för att förstå hur *Artemia* väljer partner.

Figur 9. *Artemias* anatomi (Från Dockery och Tomkins, 2000)



## FÖRSLAG 1: Val av partner

En hypotes som du kan pröva är om *Artemia* väljer partner utifrån storlek. Har ett djurs storlek i förhållande till storleken hos en annan individ betydelse eller väljer de partner slumpmässigt? Om det förekommer sexuellt urval, är det hannen eller honan (eller båda) som väljer partner?

Innan du testar denna hypotes behöver du skilja hannar och honor åt och sedan hålla dem åtskilda i några dagar, för att de ska vara ivriga att para ihop sig när de placeras tillsammans.

## Lektion 1: Separera könen

### Utrustning och material

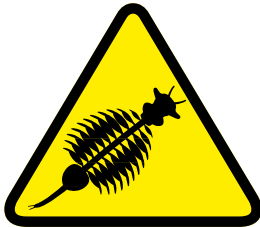
Detta behövs för varje arbetsgrupp:

- Stor behållare som innehåller djur av alla storlekar
- Två mindre bägare eller behållare med havssaltlösning och alger, en märkt "hannar" och den andra märkt "honor"
- Plastpipetter med vid öppning, 5ml. *OBS! Du kan behöva skära av pipettspetsen för att kräftdjuren ska kunna sugas upp utan att de skadas.*
- Förstoringsglas
- Petriskål

### Utförande

Var försiktig när du handskas med *Artemia*!

*Artemia* kan flyttas mellan behållare med saltvatten genom att använda en pipett med vid öppning. När du valt ut ett djur som du vill fånga, klämmer du först ihop blåsan överst på pipetten, låta sedan på trycket och låt vatten sugas in i pipetten. Kontrollera att kräftdjuret har följt med in i pipetten. Släpp sedan ut djuret genom att försiktigt klämma på pipetten igen.



1. Använd en pipett med vid öppning och fånga kräftdjur som simmar ensamma (ej par) i den stora behållaren och placera dem i en petriskål med saltvatten.
2. Använd förstoringsglaset för att kunna skilja på hannar och honor. Placera hannar i en behållare och honor i en annan.
3. Kontrollera att både hannarnas och honornas storlek varierar. Placera behållarna på en varm plats med bra belysning tills du kan fortsätta undersökningarna.
4. Låt hannarna och honorna vara åtskilda i åtminstone två dagar, för att honorna ska bli mer intresserade av hannarna.

## Lektion 2: Val av partner (efter två eller fler dagar)

### Utrustning och material

Detta behövs för varje arbetsgrupp:

- Hannar och honor av *Artemia* (från föregående lektion)
- Platspipetter med vid öppning, 5 ml. *OBS! Du kan behöva skära av pipettspetsen för att kräftdjuren ska kunna sugas upp utan att de skadas.*
- Fyra behållare (bägare, muggar eller flaskor), vardera med en blandning av havssalt och alger
- Vattenfast penna

### Utförande

1. Kontrollera behållarna med hannar och honor. Har några av dem parat ihop sig? I så fall, har du könsbestämt dem rätt?
2. Gör iordning fyra behållare med saltvatten och alger. Märk dem med 1, 2, 3 och 4, samt med din grupps namn.
3. Studera tabellerna nedan. Vilka resultat tror du att det blir?
4. Välj ut kräftdjur till dina försök utifrån storlek och kön och placera dem försiktigt i de fyra behållarna enligt tabellen nedan. Försäkra dig om att det finns en klar skillnad i storlek mellan djuren, så att du kan känna igen var och en av dem igen.
5. Anteckna om varje hona har äggsäckar eller inte, när du placerar djuret i en behållare. Notera äggsäckens storlek och färg.

Placera alla behållarna tillsammans, varmt och med bra belysning. *OBS!* Om du har material och kan göra iordning fler behållare av samma slag blir dina resultat mer pålitliga.

EXPERIMENT 1	♂	♀	NOTERA ÄGGSÄCKARNAS STORLEK OCH FÄRG
Större djur	1	1	
Mindre djur	1	-	-
EXPERIMENT 2	♂	♀	NOTERA ÄGGSÄCKARNAS STORLEK OCH FÄRG
Större djur	1	-	-
Mindre djur	1	1	
EXPERIMENT 3	♂	♀	NOTERA ÄGGSÄCKARNAS STORLEK OCH FÄRG
Större djur	1	1	
Mindre djur	-	1	
EXPERIMENT 4	♂	♀	NOTERA ÄGGSÄCKARNAS STORLEK OCH FÄRG
Större djur	-	1	
Mindre djur	1	1	

### Lektion 3: Resultat och utvärdering (2–4 dagar efter parning)

#### Utrustning och material

Detta behövs för varje arbetsgrupp:

De behållare som användes förra lektionen, vardera med tre kräftdjur.

#### Utförande

1. Notera hur dina kräftdjur har valt partner (om de har gjort något val).
2. Slå samman resultaten från klassen och diskutera dem.

#### Diskussion utifrån resultaten

De här försöken kan ge upphov till åtminstone följande frågor:

1. Parar djuren ihop sig i alla försök? Om inte, vad beror det på?
2. Kan stora hannar lättare skaffa sig en partner än små hannar?
3. Är det mer sannolikt att små hannar parar ihop sig med mindre honor än med större honor?
4. Parar stora honor gärna ihop sig med stora hannar jämfört med de mindre honorna?
5. Parar stora honor gärna ihop sig med mindre hannar jämfört med mindre honor?
6. Påverkar det parningen för en hona om hon bär en stor äggsäck?
7. Inverkar färgen på honans äggsäck om hon kommer att para sig eller inte?

#### Mer att fundera på

1. Vilken fördel är det för en hanne att para sig med en stor hona, under förutsättning att större honor producerar fler ägg än mindre?
2. *Artemia* äter alger och bakterier som finns i vattnet. Vad kallas denna metod för att äta?
3. Vilken fördel är det för en hona att para ihop sig med en stor hanne, förutsatt att en stor hanne kan förflytta en hona snabbare och längre sträcka i vattnet än en liten?
4. Om *Artemia* parar ihop sig efter storlek, vilket par kommer att få flest avkomlingar och därmed bli mest framgångsrikt?
5. Varför verkar det som om honor med stora äggsäckar inte alltid parar sig?

## FÖRSLAG 2: Val av storlek vid parning

Ett annat sätt att pröva om *Artemia* bildar par beroende på storlek är att mäta paren.

Har de stora hannarna parat ihop sig med de stora honorna? Har de mindre hannarna parat ihop sig med de mindre honorna? Eller har storleken inte någon betydelse när *Artemia* väljer partner? Om de parar ihop sig efter storlek, kommer det att framträda ett mönster (slumpmässigt eller inte slumpmässigt) om man plottar mätresultatet.

Din lärare har ställt i ordning ett antal numrerade behållare med *Artemia* som simmar parvis.

### Utrustning och material

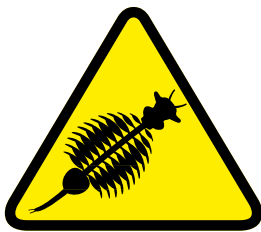
Detta behövs för varje arbetsgrupp:

- *Artemia* som simmar parvis
- Plastpipetter med vid öppning, 5 ml. *OBS! Du kan behöva skära av pipettspetsen så att kräftdjuren lätt kan sugas upp utan att de skadas.*
- Förstoringsglas
- Objektglas
- Millimeterpapper

### Utförande

Var försiktig när du handskas med *Artemia*!

Om man är försiktig kan man flytta *Artemia* mellan behållare som innehåller saltvatten genom att använda en pipett med vid öppning. När du valt ut ett djur som du vill fånga, klämmer du först ihop blåsan överst på pipetten, lätta sedan på trycket och låt vatten sugas in i pipetten tillsammans med kräftdjuret. Kontrollera att djuret har följt med in i pipetten. Släpp sedan ut djuret genom att försiktigt klämma på pipetten igen.



1. Placera objektglaset på millimeterpappret för att du ska kunna mäta längden av djuret.
2. Välj en av de numrerade behållarna och flytta *Artemia*-paret försiktigt tillsammans med några få droppar vatten till objektglaset genom att använda en pipett som har en vid öppning. Det kan ta någon minut för djuren att bli stilla.
3. Mät snabbt hannens längd (det djur som sitter baktill) och honans längd (det djur som är längst fram). Mät från och med ögonen (små prickar) och till och med den yttersta spetsen av stjärten. Detta måste göras med millimeternoggrannhet. Det har ingen betydelse om paret delar på sig, se bara till att du mäter varje djur individuellt.
4. Släpp tillbaka djuren i behållaren när du är klar med mätningen.

5. Anteckna mätresultaten för hannen och honan i en tabell.
6. Mät varje par av kräftdjur.
7. Plotta dina resultat.

### Diskussion utifrån resultaten

1. Har du lyckats mäta längden av honan och hannen i varje par med millimeter-noggrannhet? Hur säker är du på dina mätresultat?
2. Är något av könen i genomsnitt längre än det andra? Studera resultaten från hela klassen.
3. Finns det något synligt mönster i grafen eller bildas paren slumpmässigt?
4. Diskutera resultaten.

### Mer att fundera på

1. Vilken fördel är det för en hane att para sig med en stor hona.
2. *Artemia* äter alger och bakterier som finns i vattnet. Vad kallas denna metod för att äta?
3. Vilken fördel är det för en hona att para ihop sig med en stor hane.
4. Om *Artemia* parar ihop sig efter storlek, vilket par tror du kommer att få flest avkomlingar och därmed bli mest framgångsrikt?
5. Varför kan man förvänta sig att selektionen verkar i riktning mot större kräftdjur?
6. Vilka är de naturliga predatorerna som angriper *Artemia* i en saltsjö?
7. Om dessa predatorer fångar *Artemia* genom att filtrera vattnet, kommer de större eller de mindre kräftdjuren att fångas lättast?
8. *Artemia* har inte ändrat storlek särskilt mycket under miljontals år. Innebär det att det inte sker någon evolution?