

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIETAS ALIMENTICIAS
MICROALGALES, EN CULTIVOS DE COPÉPODOS CALANOIDEOS DE
INFLUENCIA EN LA ESTACIÓN ACUÍCOLA BAHÍA MÁLAGA
BUENAVENTURA COLOMBIA**

JHONNIER WILLIAM MORILLO ROMERO

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO-COLOMBIA
2010**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE DIETAS ALIMENTICIAS
MICROALGALES, EN CULTIVOS DE COPÉPODOS CALANOIDEOS DE
INFLUENCIA EN LA ESTACIÓN ACUÍCOLA BAHÍA MÁLAGA
BUENAVENTURA COLOMBIA**

JHONNIER WILLIAM MORILLO ROMERO

**Trabajo Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola**

**Presidente
ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN
Biólogo Marino**

**Copresidente
GUSTAVO ADOLFO TORRES VALENCIA
Profesional en Acuicultura**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
PASTO-COLOMBIA
2010**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva del autor”.

Artículo 1° del acuerdo N° 324 del 11 de octubre de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN

ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN
Presidente

JULBRINNER SALAS BENAVIDES
Jurado delegado

YOLANDA GOMEZ NIEVES
Jurado

San Juan de Pasto, Junio 02 2010

DEDICO A:

Dios por la vida, la salud e iluminarme en todo momento para realizar mis metas y cumplir con mis objetivos

A mi padre ahora en el cielo porque me brindo todo su amor y me impulso a seguir adelante en mis estudios. A mi madre por darme la existencia y por su apoyo incondicional. A mi hermano por ser la mano amiga y estar siempre cuando lo necesito

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

ARIEL EMIRO GÓMEZ CERÓN Biólogo marino.

JESÚS HERNADO GAMBOA Biólogo marino.
D´CROZ

GUSTAVO ADOLFO TORRES Profesional en Acuicultura.
VALENCIA

JULBRINNER SALAS Biólogo.
BENAVIDES

YOLANDA GÓMEZ NIEVES Bióloga.

MARCO ANTONIO IMUEZ Zoot., Esp.
FIGUEROA

PIEDAD MEJÍA SANTACRUZ Secretaria programa de Ingeniería en
Producción Acuícola.

OSCAR MEJÍA SANTACRUZ Economista, Universidad de Nariño.

LUIS ALFONSO SOLARTE Zoot., Esp., Secretario Académico Facultad de
POTILLA Ciencias Pecuarias.

A la Asociación Colombina de Industriales y Armadores Pesqueros (ACODIARPE), al personal de la Estación Acuícola Bahía Málaga y al programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, como también a todas las personas que en una u otra forma apoyaron el desarrollo de esta investigación.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	21
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	23
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	24
3. OBJETIVOS	25
3.1 OBJETIVO GENERAL	25
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. MARCO TEÓRICO	26
4.1 BIOLOGÍA DEL PARGO LUNAREJO	26
4.1.1 Identificación Taxonómica	26
4.1.2 Distribución geográfica y hábitat	27
4.1.3 Hábitos alimenticios	27
4.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LOS PECES MARINOS	28
4.2.1 Aspectos reproductivos de <i>Lutjanus guttatus</i>	28
4.3 LARVICULTURA	29
4.3.1 Método tradicional de “agua clara”	30
4.3.2 Método del mesocosmos	31
4.3.3 Importancia del plancton en piscicultura	32
4.3.4 Alimento vivo	32

	Pág.
4.3.5 Microalgas	33
4.4 LOS COPÉPODOS	34
4.4.1 Descripción	34
4.4.2 Tamaño	35
4.4.3 Distribución en Colombia	35
4.4.4 Hábitat	35
4.4.5 Aparato reproductor de los copépodos	35
4.4.6 Hábitos alimenticios	36
4.5 POTENCIAL ACUÍCOLA DE LOS COPÉPODOS	37
4.5.1 Importancia de los copépodos	37
4.5.2 Requerimientos nutricionales	37
4.5.3 Los copépodos como alimento vivo	37
4.5.4 Cultivo de copépodos	38
4.5.5 Cultivo intensivo	38
4.5.6 Sistemas extensivos de producción de copépodos	38
5. DISEÑO METODOLÓGICO	40
5.1 LOCALIZACIÓN	40
5.2 INSTALACIONES	41
5.3 EQUIPOS Y UTENSILIOS	43
5.4 MATERIAL BIOLÓGICO	44

	Pág.
5.5 OBTENCIÓN Y AISLAMIENTO DE COPÉPODOS	44
5.5.1 Fase de campo	44
5.5.2 Fase de laboratorio	46
5.6 MORFOMETRÍA Y DESCRIPCIÓN DE <i>Paracalanus parvus</i>	49
5.7 PLAN DE MANEJO	49
5.7.1 Cultivo de microalgas	49
5.7.2 Conteo de microalgas	50
5.7.3 Siembra de nauplios	51
5.7.4 Alimentación de Copépodos	52
5.7.5 Calidad de agua	53
5.7.6 Monitoreo poblacional	53
5.7.7 Siembra en cámara multiceldas	54
5.7.8 Cultivo masivo	55
5.8 DISEÑO EXPERIMENTAL	55
5.9 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	55
5.10 VARIABLES	56
5.10.1 Densidad de copépodos (C)	56
5.10.2 Índice de sobrevivencia	56
5.10.3 Fecundidad	56
6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	57
6.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	57

	Pág.
6.1.1 Aspectos sobre el ciclo de vida de <i>Paracalanus parvus</i>	59
6.1.2 Características morfológicas de <i>Paracalanus parvus</i>	62
6.1.2.1 EL Cefalosoma	62
6.1.2.2 EL Metasoma	62
6.1.2.3 EL Urosoma	62
6.1.2.4 Los Apéndices	62
6.2 CALIDAD DE AGUA	65
6.2.1 Temperatura	65
6.2.2 Oxígeno disuelto	66
6.2.3 Potencial de hidrogenación (pH)	67
6.3 TIEMPO GENERACIONAL	68
6.4 SOBREVIVENCIA	69
6.5 FECUNDIDAD DE HEMBRAS	70
6.6 DENSIDAD POBLACIONAL EN CULTIVOS MASIVOS	72
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	75
7.1 CONCLUSIONES	75
7.2 RECOMENDACIONES	75
BIBLIOGRAFIA	77
ANEXOS	83

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Supervivencia de adultos en volúmenes de 90 L	48
Tabla 2. Supervivencia de nauplios en volúmenes de 90 L	48
Tabla 3. Concentración microalgal para cada tratamiento	53
Tabla 4. Concentración microalgal en volúmenes de 3,0 L establecida por (EABM)	53
Tabla 5. Cálculos morfométricos para los seis estadios naupliares de <i>Paracalanus parvus</i> . Largo del cuerpo (Lc), Ancho del cuerpo (Ac).	60
Tabla 6. Datos morfométricos de hembra de <i>Paracalanus parvus</i> . Ancho del cuerpo (Ac), Largo de la anténula (La), Largo estándar (Ls), Largo del prosoma (Lp).	64
Tabla 7. Comparación del Tiempo Generacional de <i>P. parvus</i> con otras especies	69
Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos del agua durante la prueba de alimentación para <i>Paracalanus parvus</i> en volumen de 3000 L	72

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Morfología del pargo lunarejo <i>Lutjanus guttatus</i>	27
Figura 2. Panorámica de la Estación Acuícola Bahía Málaga (EABM)	40
Figura 3. Ubicación geográfica de la Estación Marina Bahía Málaga	41
Figura 4. Motobomba centrífuga sumergible de 7,5 Hp	42
Figura 5. Filtro de grava y arena de alto rendimiento	42
Figura 6. Filtros de felpa y de cartucho de 20, 15, 5 y 1,0 μm	43
Figura 7. Siembras en los tanques de mesocosmos con agua natural del medio	45
Figura 8. Obtención y Aislamiento de copépodos	45
Figura 9. Montaje de adultos de calanoide en volúmenes de 30 ml y 3,0 L	46
Figura 10. Cultivo de nauplios calanoideos en volúmenes de 90 L	47
Figura 11. Protocolo de cultivo utilizado por la Estación Acuícola Bahía Málaga (EABM)	50
Figura 12. Recipientes plásticos (Bomboneras) de capacidad de 4,0 L, ubicación de los frascos al cuarto de copépodos	51
Figura 13. Sistema de cosecha, colección y siembra de copépodos calanoides.	52
Figura 14. Toma de parámetros fisicoquímicos a cámara multiceldas de 30 ml.	54
Figura 15. Cámara multiceldas de 30 ml	54

	Pág.
Figura 16. Cultivo de copépodos <i>Paracalanus parvus</i> en volúmenes de 3000 L.	55
Figura 17. Copépodos de vida libre.	57
Figura 18. <i>Paracalanus parvus</i> .	58
Figura 19. Características morfológicas de <i>Paracalanus parvus</i> .	61
Figura 20. Características morfométricas de <i>Paracalanus parvus</i> .	63
Figura 21. Comparación morfológica de los copépodos.	64
Figura 22. Curva de temperatura en los tratamientos.	66
Figura 23. Curva de oxígeno disuelto.	67
Figura 24. Curva de pH.	68
Figura 25. Porcentaje promedio de sobrevivencia para los diferentes tratamientos.	69
Figura 26. Número promedio de nauplios <i>Paracalanus parvus</i>	71
Figura 27. Curva de crecimiento poblacional de nauplios en tanques de 4 Ton	73
Figura 28. Curva de crecimiento poblacional de copepoditos en tanques de 4 Ton.	74
Figura 29. Curva de crecimiento poblacional de Adultos en tanques de 4 Ton.	74

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo A. Medio modificado de Guillard y Ryther (1962) para cultivos algales.	84
Anexo B. Prueba de Kruskal-Wallis para Temperatura	85
Anexo C. Prueba de Kruskal-Wallis para Oxígeno	86
Anexo D. Prueba de Kruskal-Wallis para pH	87
Anexo E. Prueba de Brand Snedecor para Supervivencia de <i>Paracalanus parvus</i>	88
Anexo F. contraste para la diferencia entre dos proporciones	89
Anexo G. Contraste de Kruskal-Wallis para Hembras según Tratamiento	90
Anexo H. Contraste Múltiple de Rango para Hembras según tratamiento	91

GLOSARIO

ALIMENTO VIVO: término común no específico, usado para describir los organismos microscópicos (por ejemplo, rotíferos, artemia copépodos) usados para alimentar las larvas de algunos peces y mariscos antes de pasar a la alimentación con dietas artificiales.

COPÉPODO: microcrustáceos considerados entre las alternativas de alimentación en acuicultura, algunos de estos organismos pertenecen al zooplancton marino representando la base de las presas consumidas en el medio natural son por ello alimentos de referencia de reconocida eficacia de la cría de larvas.

COPEPODITO: estado de desarrollo de los copépodos después del estado nauplio

CULTIVO DE MESOCOSMOS: producción de organismos para alimento vivo: sistema de cultivo mesocosmo en el cual el agua de mar se renueva continuamente a una alta tasa, con lo cual el sistema depende de un proceso externo; por ejemplo, un estanque mareal aislado donde se filtra el agua que entra para eliminar los depredadores y permitir solo el ingreso de fito- y zooplancton.

DIATOMEAS: alga unicelular microscópica que flota libremente, rodeada por una pared celular fuertemente impregnada de sílice ($\text{SiO}_2:n\text{H}_2\text{O}$). Normalmente de color marrón. Algunas especies se cultivan para alimentar rotíferos y otros componentes del zooplancton, que a su vez, en el estadio de crecimiento larval, sirven como alimento para otras especies.

DIETA: régimen alimenticio natural o prescrito.

ESPERMATOFORO: cápsula de esperma producida por el macho y transferida a la hembra, que la mantiene generalmente en el abdomen. Proceso usado por algunos crustáceos; el paquete de esperma puede sucesivamente ser usado por la hembra para un desove singular o múltiple.

EXOPODITO: apéndice torácico de los crustáceos y micro crustáceos.

FITOPLANCTON: plantas diminutas suspendidas en la columna de agua, con poca o ninguna capacidad de controlar su posición en la masa de agua; frecuentemente referidas como microalgas (componente vegetal del plancton).

HUFA: ácidos grasos que contienen varios enlaces dobles entre las moléculas de carbono. Los ácidos grasos señalados como HUFA son también PUFA pero se separan de PUFA en que contienen tres o más enlaces dobles del carbono.

LARVICULTURA: el cultivo de larvas, generalmente en hatcheries.

PLANCTON: organismos que derivan pasivamente o nadan débilmente, incluyendo, muchas plantas y animales microscópicos.

TAMIZ: red de apertura de malla muy fina normalmente hecha de tela de seda para filtrar, usada para capturar plancton.

ZOOPLACTON: componente animal del plancton.

RESUMEN

En un sistema productivo de peces marinos uno de los principales problemas es la obtención y sobrevivencia de las larvas, debido a muchas circunstancias entre las cuales se destaca la escasa reserva vitelina, el tamaño del esófago, la funcionalidad del estómago y la producción de alimento vivo o inerte que supla con los requerimientos esenciales tanto cuantitativa, como cualitativamente. Por consiguiente es en esta etapa donde se presentan las mayores pérdidas productivas y, por ende se crea la necesidad de investigar sobre los requerimientos nutricionales de los organismos vivos que pueden aportar con una mayor sobrevivencia.

La presente investigación se llevó a cabo en la Estación Acuícola Marina Bahía Málaga (EABM) Buenaventura Colombia, donde se desarrolló la implementación de ensayos tendientes a producir copépodos calanoideos para la alimentación de larvas de pargo lunarejo (*Lutjanus guttatus*), en recipientes de plástico suministrando tres tipos de microalgas (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*) y una combinación de estas así: *T. suecica* más *I. galbana*, *C. gracilis* más *I. galbana* y *T. suecica* más *C. gracilis* se determinó así la mejor dieta alimenticia.

Se realizaron cultivos de copépodos en tanques de mesocosmos con capacidad de 15 m³; cosechando calanoideos, harpacticoides y cyclopoides, cuyos nauplios fueron colectados en incubadoras de 250 L y sembrados en tres cilindros de 90 L. El primer cilindro fue alimentado con *I. galbana*, el segundo con *T. suecica* y el tercero con la combinación de *T. suecica* más *I. galbana* por un periodo de seis días, siendo el primer cultivo el que demostró facilidad de adaptación para la especie calanoide. Posteriormente se evaluó con 2,0 Nauplios/ml en volúmenes de 3,0 L con copépodos calanoideos provenientes de la siembra y cosecha de los volúmenes de 90 L (cilindros), logrando establecer que el tratamiento con mayor sobrevivencia con un 78.9% fue el tratamiento donde se tenía como dieta la combinación de *I. galbana* más *T. suecica*.

Los mejores resultados para volúmenes de 30 ml con cámara multiceldas se alcanzaron con los tratamientos T3 y T5 logrando obtener 29.09 Nauplios/desove, con *I. galbana*, a una concentración de 2×10^5 cel/ml y 26.5 Nauplios/desove, con el tratamiento de (*C. gracilis* más *I. galbana*) a una concentración de $0,5 \times 10^5$ cel/ml y 1×10^5 cel/ml respectivamente.

La investigación permitió realizar un sistema de cultivo masivo de copépodos basado en la mejor dieta alimenticia, la cual se obtuvo a través de los ensayos realizados en recipientes plásticos, satisfaciendo a futuro la alimentación de

semillas de pargo lunarejo para beneficio del desarrollo de la acuicultura marina en la costa pacífica colombiana.

ABSTRACT

In a marine fish production system one of the main problems is the development and survival of larvae, due to many circumstances, among which stands the small yolk reserves, the size of the esophagus, stomach and functionality of live food production or inert that supplements with the essential requirements both quantitatively and qualitatively. Therefore at this stage is where the biggest losses are productive and thus creating the need for research on the nutritional requirements of living organisms that can provide with better survival.

This research was carried out in the Aquaculture Station Marina Bay Malaga (EABM) Buenaventura Colombia, where he developed the implementation of tests aimed at producing calanoid copepods for feeding of larvae of red snapper (*Lutjanus guttatus*) in plastic containers by providing three types of microalgae (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica* and *Isochrysis galbana*) and a combination of these as follows: *T. suecica* but *I. galbana*, *C. gracilis* but *I. galbana* and *T. suecica* more *C. gracilis* was determined and the best diet.

Copepod cultures were performed in mesocosms tanks with capacity of 15 m³; rearing Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoides whose nauplii were collected in 250 L incubators and seeded in three cylinders of 90 L. The first cylinder was fed *I. galbana*, the second with *T. suecica* and the third with a combination of *T. suecica* but *I. galbana* for a period of six days, the first crop that demonstrated ability to adapt to the calanoid species. Was then evaluated with 2.0 nauplii/ml in volumes of 3.0 L with calanoid copepods from the planting and harvesting of the volumes of 90 L (cylinders), which established that treatment with a higher survival was 78.9% where he was treated as a combination of diet *I. galbana* more *T. suecica*.

The best results for 30 ml volumes of multicell camera were obtained with T3 and T5 being able to obtain 29.09 nauplii/spawning, with *I. galbana*, at a concentration of 2×10^5 cell/ml and 26.5 nauplii/spawning, with the treatment of (*C. gracilis* but *I. galbana*) at a concentration of 0.5×10^5 cells/ml and 1×10^5 cells/ml respectively.

The investigation allowed a mass culture system of copepods based on the best diet, which was obtained through tests conducted in plastic containers, to meet future food seed of snappers to benefit the development of marine aquaculture in the Colombian Pacific coast.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial uno de los grandes problemas que se presentan con las larvas de peces marinos es que no poseen un sistema digestivo completamente desarrollado y funcional que les permita en un corto tiempo acondicionarse a las circunstancias físico-biológicas. Las larvas provienen de huevos pequeños y de escasas reservas vitelinas que no logran suplir completamente con las necesidades nutricionales. En el caso del pargo lunarejo sólo pueden capturar su presa mediante estímulos generados por el alimento a capturar, el cual a la vez resulta indispensable para la formación del tracto gastrointestinal, la asimilación del alimento y la sobrevivencia de la especie.

Sipaúba y Rocha¹, sostienen que el fitoplancton y el zooplancton constituyen la mayor parte del alimento de muchas especies cultivadas, por esta razón es importante producir alimento vivo para el desarrollo de las especies, resaltando el conocimiento sobre la alimentación natural y los hábitos de selección de alimento que en los peces son esenciales para una alta producción, y estas solo pueden ser criadas cuando son alimentadas con plancton vivo, porque son dependientes de enzimas digestivas de sus presas.

Según Stottrup², la mayoría de las investigaciones realizadas sobre los copépodos han hecho énfasis en determinar aspectos nutricionales, reproductivos o fisiológicos, desarrollando las primeras técnicas de cultivo a escala de laboratorio para llegar a producir un número de organismos necesarios para trabajos experimentales, los cuales se han realizado principalmente utilizando copépodos Harpacticoides y Calanoides, y en menor grado algunos Cyclopoides. Además se requiere evaluar el efecto que tiene las microalgas como dieta alimenticia en la producción de copépodos calanoideos mediante sistemas de cultivo, teniendo en cuenta, su adaptación a condiciones de laboratorio y algunos aspectos sobre su ciclo de vida, crecimiento poblacional y reproducción acorde a la dieta, esto con el fin de establecer información base que permita generar tecnología de manejo para los cultivos masivos y la alimentación en larvicultura de especies de peces de interés acuícola para la zona.

¹SIPAÚBA, TAVARES, Lúcia y ROCHA, Odette. Producao de plancton (fitoplancton e zooplancton) para alimentacao de organismos acuáticos. San Carlos, Sao Paulo Brazil: Rima, 2003. p. 106.

² STOTTRUP J. Review on the Status and Progress in Rearing Copepods for Marine Larviculture. Anvantages and Disadvantages Among Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoid Copepods. In: VIII Symposium international of Nutritión Aquaculture. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. México. sne, 2006. Disponible en: URL: <http://w3.dsi.uanl.mx>.

Según Kraul *et al*³, se ha dado a conocer que los copépodos en comparación a las presas vivas tradicionales tienen superioridad nutricional, en términos de altos niveles de proteína, perfil de aminoácidos, ácidos grasos esenciales (HUFAS), fuente exógena de enzimas digestivas, carotenoides y otros componentes esenciales; además de generar mejor respuesta predadora por parte de las larvas hacia estos organismos. Stottrup: “Estos aspectos generan mejores resultados en términos de crecimiento, sobrevivencia y desarrollo de las larvas de peces”⁴.

Stottrup y Norsker⁵ manifiestan que: la aplicación de copépodos en larvicultura ha estado grandemente restringida a sistemas de cultivo extensivos o intensivos, donde el zooplancton es colectado usando diferentes filtros obteniendo un rango de tamaño específico para alimentar directamente las larvas, o se permite que prolifere en policultivos semicontrolados a la intemperie, previo a ser usado como alimento.

La larvicultura del pargo es crítica en el crecimiento, sobrevivencia y desarrollo, debido a que no se ha logrado determinar y cultivar un tipo de alimento que satisfaga completamente con sus requerimientos nutricionales. Lo anterior ha con llevado a que en la Estación Acuícola Bahía Málaga se busque mejorar los protocolos que se tienen establecidos, a fin de producir peces marinos de excelente calidad para garantizar la permanente producción de semilla, desarrollando paquetes tecnológicos de esta especie de gran importancia comercial en zonas de la costa pacífica Colombiana contribuyendo con la diversificación de la acuicultura marina y el desarrollo agropecuario del país.

³ KRAUL S, AKO H, NELSON A, BRITTAIN K, OGASAWARA A. Evaluation of live feeds for larval and postlarval mahimahi, *Coryphaena hippurus*. USA: J. World Aquacult Soc, 1992. p. 299–306.

⁴ STOTTRUP J. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. Canada: Elsevier, 2000. p., 703–711.

⁵ STOTTRUP J y NORSKER N. Production and use of copepods in marine fish larviculture. Oxford: Elsevier, 1997. p. 155-231.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Según Bergot et al,⁶ los copépodos son crustáceos de pocos milímetros y son considerados entre las alternativas de alimentación en acuicultura; algunos pertenecen al zooplancton marino y representan la base de las presas consumidas en el medio natural, son por ello alimentos preferenciales y reconocidos por su eficacia en la cría de larvas. La gama de tamaños cubre perfectamente el conjunto de requerimientos a lo largo del desarrollo, sin embargo, pocas especies se prestan para un cultivo masivo debido a su ciclo reproductivo y las densidades que no son altas.

Por esta razón se ha catalogado la producción de un gran número de copépodos como difícil, principalmente porque en los tanques de cultivo generan un gran requerimiento de espacio. Además, la falta de un control preciso del alimento y la calidad del agua, influyen en la producción variable de copépodos. Se crea así, la necesidad de generar un control más preciso de las condiciones ambientales del cultivo, a través de sistemas intensivos que puedan implementar una producción confiable de copépodos para la larvicultura⁷.

⁶ BERGOT, P; GUILLAUME, J; KAUSHIK, S; y METAILLER, R. Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos. Madrid: Ediciones Mundi prensa, 2004. p. 258

⁷ PAYNE M and RIPPINGALE R. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Australia: Curtin, 2001. p. 309.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Las investigaciones que se han realizado sobre la aplicación de copépodos en larvicultura han estado grandemente restringidas a sistemas de cultivos extensivos o intensivos, en consecuencia este proyecto plantea el siguiente problema:

¿Cuál es el efecto de diferentes dietas alimenticias basadas en microalgas, para cultivos de un copépodo Calanoideo de influencia en la Estación Acuícola Bahía Málaga, Buenaventura. Colombia?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto que tienen las microalgas como dieta alimenticia en la producción de copépodos calanoideos; mediante sistemas de cultivo de 3,0 L de capacidad en la Estación Acuícola Bahía Málaga, Buenaventura Colombia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar un copépodo calanoide, presente en el agua marina, de influencia en la Estación Acuícola Bahía Málaga – ICA.
- Establecer el ciclo de vida de los copépodos evaluados hasta la producción de sus primeros nauplios.
- Cuantificar la sobrevivencia de los copépodos calanoideos en cultivo de 3,0 L, en cada una de las dietas microalgales.
- Evaluar el número de descendientes por hembra día con las respectivas dietas tratamiento
- Implementar un sistema de cultivo masivo de copépodos calanoides como resultado de la mejor dieta alimenticia obtenida en los ensayos de 3,0 L.

4. MARCO TEÓRICO

4.1 BIOLOGÍA DEL PARGO LUNAREJO

El pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* presenta una coloración que varía de rosado a amarillento; en los lados del cuerpo posee líneas doradas o amarillentas colocadas en posición oblicua; la característica más notable es la presencia de una mancha negra debajo de la aleta dorsal entre la octava espina y el tercer radio blando presenta también aletas de color amarillento.⁸

4.1.1 Identificación Taxonómica. Tomando los estudios de Nelson citado por Gamboa y Valverde⁹, la ubicación taxonómica completa de *Lutjanus guttatus* es:

Reino:	Animal
Phylum:	Chordata
Subphylum:	Vertebrata
Superclase:	Gnathostomata
Clase:	Actinopterygii
División:	Teleostei
Subdivisión:	Euteleostei
Superorden:	Acanthopterygii
Serie:	Percomorpha
Orden:	Perciformes
Suborden:	Percoidei
Superfamilia:	Percoidea
Familia:	Lutjanidae
Genero:	<i>Lutjanus</i>
Nombre científico:	<i>Lutjanus guttatus</i> (Cuvier, 1828)
Nombre Vulgar:	Pargo lunarejo, pargo mancha

⁸ HERRERA, M. Desarrollo científico y tecnológico para el cultivo de pargos *Lutjanus sp* en jaulas flotantes. México: Secretaria de pesca, Subsecretaria de fomento y desarrollo pesquero, Instituto de Acuicultura del estado de Sonora, 1994. p. 84.

⁹ GAMBOA, Hernando y VALVERDE, Juan. Aspectos básicos para la reproducción del Pargo Lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). En: Reproducción de peces en el trópico. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, (2005). p. 231.

Figura 1. Morfología del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*



4.1.2 Distribución geográfica y hábitat. Según Rubio¹⁰, el pargo lunarejo se distribuye a través del Golfo de California hasta el Perú, siendo más común en las zonas costeras de la parte central y baja del Golfo de California que en la parte alta del mismo. Este pargo se encuentra frecuentemente a profundidades de 4,6 a 12 metros, no siendo común a profundidades mayores de 30 metros y está presente principalmente en fondos rocosos, aunque pueden encontrarse en arrecifes y zonas arenosas. Los juveniles se encuentran en aguas someras y bahías protegidas, esteros y algunas veces en aguas dulces, prefiriendo hábitats rocosos.

Según Rubio¹¹, es la especie más abundante del género *Lutjanus* en el pacífico colombiano observándose en Isla Gorgona (Muelle, Horno, playa Blanca), Ensenada de Tumaco, Bahía Guapi, Punta Coco, Golfo de Tortugas, Yorumanguí, río Raposo, bahía Málaga (Curinchichi, La Muerte), Boca Charambira, Cabo Manglares y Ensenadas de Docampado a profundidades de 0.5 a 20 brazas.

4.1.3 Hábitos alimenticios. De acuerdo con Gamboa y Valverde¹² la especie es de hábitos carnívoros, es un predador nocturno que se refugia en cuevas y grietas durante el día, aunque en ocasiones sale a incursionar con la luz solar, en la noche se alimenta de crustáceos y cardúmenes de peces juveniles y a menudo la especie ha sido caracterizada como carnívora oportunista.

Los mismos autores manifiestan que los peces anguiliformes son los más comunes y abundantes en la dieta de la especie, además los cangrejos adultos constituyen el segundo nivel de importancia en su dieta, y los camarones componen la siguiente categoría seguidos por otros crustáceos. Cuando los ejemplares se capturan cerca o dentro de los arrecifes coralinos, su dieta incluye una variedad de peces que no están asociados con estos hábitats.

¹⁰ RUBIO, Efraín. A. Peces de importancia comercial para el Pacífico Colombiano. Cali, Colombia: Universidad del Valle, CIME, 1988. p. 118.

¹¹ Ibid., p. 118.

¹² GAMBOA y VALVERDE, Op. cit., p. 232.

4.2 BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LOS PECES MARINOS

4.2.1 Aspectos reproductivos de *Lutjanus guttatus*. Según Botero¹³ la época natural de desove varía según la especie que esta entre 1,0 y 360 días al año y generalmente está sincronizada con “gatillos” o eventos ambientales que ayudan a que los huevos y larvas encuentren temperaturas, corrientes y condiciones de alimentación favorables para su supervivencia. La mayoría de los huevos de los peces marinos tropicales aptos para acuicultura son pequeños (entre 0,6 y 2,0 mm de diámetro) y planctónicos, llegándose a obtener en el laboratorio entre 100 y 300 mil huevos por kg.

Martínez expresa que “el ciclo reproductivo del pargo presenta un desarrollo asincrónico de las gónadas es un desovador parcial con dos períodos reproductivos principales (marzo-abril y agosto-noviembre) representados por altos porcentajes de gónadas categorizadas como maduras en desove”¹⁴.

En los trabajos de Valverde, Gamboa y Botero mencionan que “la reproducción inducida de peces marinos es una actividad muy importante porque genera la obtención de organismos viables y resistentes a las condiciones del medio natural”¹⁵.

Por otra parte, es necesario trabajar en el establecimiento de paquetes tecnológicos para la obtención de los organismos por desove inducido de reproductores obtenidos en las propias instalaciones.

Las especies de latitudes altas donde el período estival es corto, las especies presentan generalmente un período de desove corto bien definido, y un tipo de desove total; es decir en latitudes correspondientes a las zonas subtropical y tropical el período de reproducción de los peces es más prolongado, puede limitarse a una temporada más amplia pero definida con desoves parciales, o puede durar todo el año. Este último es el caso de *L. guttatus*, así mismo para otras especies de la familia Lutjanidae de zonas subtropicales y tropicales tanto del Océano Pacífico como del Atlántico, se han reportado períodos prolongados de actividad reproductiva.

¹³ BOTERO, Julián. Reproducción artificial de peces marinos. En: Reproducción de peces en el trópico. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, (Octubre, 2005). p. 201-202.

¹⁴ MARTÍNEZ, Marcial; HERRERA, Agustín; DOMÍNGUEZ, Federico; VASQUEZ, Bertha y FUERTE, Marcial. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en las costas de Guerrero. En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. México: s.n.e, Vol. 1, No. 36, (julio, 2001). p. 4-6.

¹⁵ VALVERDE, GAMBOA y BOTERO. Reproducción en cautiverio del pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869); en condiciones controladas y fomento de su cultivo en la costa pacífica colombiana. Bahía Málaga, 1999, 5 p. Trabajo de investigación. (Biólogo Marino). Universidad del Valle.

4.3 LARVICULTURA

Gamboa y Valverde¹⁶ describen este periodo desde el momento de la eclosión de las larvas hasta el periodo de destete se suele utilizar una densidad inicial de siembra de 20 a 50 larvas/litro para sistemas intensivos, tanques cilíndrico-cónicos de 1000 a 4000 litros, y una densidad de 5 a 10 larvas/litro en sistemas extensivos o mesocosmos con capacidad de 12000 litros. Álvarez-Lajonchere y Hernández¹⁷ afirman que el período larval comprende el prelarval y el postlarval y es el de permanencia en las instalaciones de larvicultura con una duración aproximada de uno a tres meses según la especie.

Hay algunos autores, como Álvarez- Lajonchere y Hernández que en los últimos años han dividido el período larval en diversas etapas según su tasa de crecimiento y alimentación:

- Etapa 1ª. Crecimiento inicial acelerado con una rápida utilización del vitelo.
- Etapa 2ª. Crecimiento lento por ser la de transición a la nutrición exógena. Utilizan los restos del vitelo, las gotas de grasa y el nuevo alimento ingerido. Inicio de la locomoción.
- Etapa 3ª. Crecimiento ligeramente más rápido después de establecerse la alimentación exógena a base de rotíferos enriquecidos con emulsión lipídica.
- Etapa 4ª. Crecimiento rápido, ligeramente exponencial, alimentación eficiente y locomoción basada en la alimentación con meta-nauplios de *Artemia* enriquecidos¹⁸.

En cuanto a alimentación larval Álvarez – Lajonchere y Hernández¹⁹, sostienen que las técnicas de producción controlada de peces juveniles marinos y estuarinos dependen en gran medida de la alimentación, la cual es uno de los puntos más críticos del cultivo de estos organismos. Las altas mortalidades y crecimientos inadecuados que suelen estar presentes, muchas veces pueden ser atribuidas a una alimentación inadecuada.

¹⁶ GAMBOA y VALVERDE, Op. Cit., p. 238.

¹⁷ ÁLVAREZ – LAJONCHERE, L. y HERNÁNDEZ Olga. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnología. México: Universidad Autónoma de Tabasco, 2001. p. 24.

¹⁸ Ibid., p. 24.

¹⁹ ÁLVAREZ – LAJONCHERE y HERNÁNDEZ, Op. Cit., p. 24.

Botero²⁰ afirma que para realizar la larvicultura de peces marinos se pueden utilizar dos métodos: el de “agua clara” utilizado tradicionalmente en occidente y el de “agua verde” o de “mesocosmos” que ha sido preferido por muchos años en el continente Asiático y que está cobrando cada vez más auge en la región tropical por la calidad de las larvas que produce.

4.3.1 Método tradicional de “agua clara”. Según Botero²¹, durante los días uno y dos después de la eclosión, las larvas de pargo se alimentan de su saco vitelino y gota de aceite y sólo se requiere tener aireación mínima, drenar larvas muertas y hacer recambio diario del 20 %. A partir del tercer día en adelante se sigue realizando el drenado diario de larvas muertas y el recambio con agua microfiltrada, adicionando microalgas *Tetraselmis sp*, *Isochrysis sp*, *Nannocloropsis sp* o *Dunaliella sp*, o una mezcla de las mismas al tanque, hasta que el agua tome un color verde claro. Al agua verde se le puede agregar un poco de *Spirulina sp* disuelta y filtrada por malla de 100 micras para enriquecer más el medio.

También se debe empezar a agregar los rotíferos (*Brachionus rotundiformis*) de cepa “ss” (súper small) enriquecidos con algún tipo de producto comercial como el Selco®. Después del enriquecimiento y antes de agregarlos al tanque de larvicultura deben ser filtrados por malla de 100 micras, y mantenerse a una densidad mínima de 10 rotíferos/ mililitro. El mismo autor afirma que se comienza a visualizar la boca de las larvas aun no abierta, los ojos se empiezan a oscurecer y pronto serán funcionales a partir del segundo día después de la eclosión. En el tercer día las larvas empiezan a consumir el alimento y de aquí hasta el día 14 es indispensable continuar con la rutina diaria de reposición de microalgas y rotíferos.

Así mismo, durante los días ocho y nueve después de la eclosión las larvas deben inflar su vejiga hidrostática y se irán más al fondo de la columna de agua siendo más difícil verlas, de ahí se debe tener especial cuidado a la hora del sifoneo para lo cual se puede utilizar un tambor con malla de 400 micras en el extremo inicial del tubo de sifoneo que permita el recambio de agua y alimento no consumido. A partir del día 14 se deben agregar nauplios de artemia disminuyendo paulatinamente la cantidad de rotíferos y manteniendo una densidad de 5,0 nauplios/mililitro.

Después del día 18 ya no se agregan más rotíferos y la dieta se constituye exclusivamente por estadios más avanzados de artemia, hasta que hacia el día 30 empieza el “destete” o proceso de acostumbrar las larvas al consumo de alimento artificial utilizando micro encapsulados comerciales. Hacia el día 38 ya deben estar formados los alevinos de más o menos 2,0 cm de longitud y 0,5 g de peso, alimentándose con concentrado y listos para pasar a la etapa de “nursery” o cría.

²⁰ BOTERO, Op. Cit., p. 202.

²¹ BOTERO, Op. Cit., p. 202

4.3.2 Método del mesocosmos. Botero²² afirma que: este método consiste en proporcionar a las larvas diferentes presas suficientemente pequeñas y nutritivas que garanticen mayor calidad y porcentaje de supervivencia. El objetivo es que alcancen a llegar al estado de alevinos mediante estandarización de técnicas para la propagación artificial y masiva de copépodos de varias especies para el establecimiento de sistemas de combinación mixta de copépodos, rotíferos, microalgas y otros organismos. Todos ellos a pesar de no ser fáciles de manejar, parecen excelentes alternativas para incrementar la calidad y supervivencia de las larvas dado que proporcionan gran cantidad y variedad nauplios de excelente perfil bromatológico en cuanto al contenido de HUFA y aminoácidos.

De esta forma menciona que en la larvicultura por este método, el agua es bombeada directamente del mar y recolectada en un tanque y puede ser tratada con cloro en algunos casos o en otros utilizada en su forma original y abonada con nitrato y fosfato; estos factores permiten el crecimiento de todos los organismos que se encuentren presentes en ella.

Una vez se empieza a detectar organismos zooplanctónicos se procede a inocular algas *Tetraselmis sp*, *Nannocloropsis sp* o *Isochrysis sp*, como sustento alimenticio del zooplancton. Aquí la larvicultura se puede realizar de dos maneras: la primera por filtración del zooplancton de este tanque y suministro a los tanques donde se encuentren las larvas; o la segunda, consistente en sembrar los huevos embrionados en el mismo tanque donde se ha producido el alimento, cuando se haya logrado una densidad de 0,5 a 1 copépodo/mililitro. En algunos casos la calidad del zooplancton producido en el mesocosmos permite el buen crecimiento de las larvas, pero en otros, se hace necesario la utilización de nauplios y adultos de artemia para su completo crecimiento y desarrollo.

Prieto *et al*²³, afirman que: el mesocosmos representa una excelente alternativa para incrementar la calidad y supervivencia de las larvas, dado que proporciona a estas gran cantidad y variedad de presas pequeñas (nauplios) de excelente perfil bromatológico en cuanto al contenido de ácidos grasos poliinsaturados y aminoácidos se refiere.

Los copépodos cultivados en conjunto con diferentes especies de microalgas, rotíferos y otros microorganismos en sistemas de mesocosmos, son importantes porque ellos son una de las fuentes de alimento vivo primordial para la acuicultura marina, habiéndose demostrado que incrementan la supervivencia y la calidad de las larvas y alevinos que los consumen.

²² BOTERO, Op. Cit., p. 202.

²³ PRIETO, M, CASTAÑO, F, SIERRA, Juan., LOGATO, P, BOTERO, Julián. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y mesocosmos. En: Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, Departamento de Ciencias Acuícolas, Montería – Colombia: s.n.e, Vol. 11 No. 1 (Marzo, 2006). Disponible en Internet, URL. www.unicordoba.edu.co.

En el sistema de mesocosmos el bloom planctónico se desarrollara uno después del otro y este proceso es llamado sucesión. Los primeros organismos que se desarrollan son las diatomeas, luego estas colapsan debido a la disminución de silicatos, usualmente este bloom es seguido por dinoflagelados y nanoflagelados; este cambio es acompañado por un bloom de ciliados y rotíferos. Posteriormente estos dino y nanoflagelados sirven como alimento adicional para nauplios de copépodos y solamente cuando se haya establecido una población adecuada de copépodos las larvas de peces pueden ser alimentadas en tanques²⁴.

4.3.3 Importancia del plancton en Piscicultura. Prieto *et al*²⁵ afirman que: la importancia del plancton en piscicultura marina es mayor durante las fases de larvicultura y alevinaje, siendo su calidad independiente de la estrategia alimenticia del pez durante su vida adulta. Por regla general después de la absorción del saco vitelino el inicio de la alimentación exógena de la larva estará constituido de organismos planctónicos como fitoplancton y zooplancton.

4.3.4 Alimento vivo. Prieto *et al*²⁶, mencionan que el uso de alimento vivo presenta como principales ventajas: menor grado de contaminación en comparación con las dietas artificiales, mejor distribución de alimento en la columna de agua, además de mantener sus características estables por muchas horas lo que no sucede con alimentos artificiales.

En acuicultura marina uno de los alimentos vivos mas empleados es el de los copépodos, los cuales han demostrado que pueden tener mayor valor nutricional que la artemia porque su perfil nutricional es mejor para los requerimientos de larvas de peces marinos.

Asimismo constituyen un eslabón muy importante en la cadena trófica, pues además de ser el alimento fundamental de las larvas de peces marinos y estuarinos en el medio natural, estos son el principal puente entre el fitoplancton y los niveles superiores de muchas de las cadenas tróficas marinas. Por otra parte, su típico movimiento en zig zag es un importante estímulo visual para muchos peces que los prefieren sobre los rotíferos.

Castro *et al*²⁷ mencionan: un aspecto importante en la acuicultura es la nutrición, con frecuencia se observa que los alimentos empleados no contienen los nutrientes que las especies requieren para su crecimiento óptimo, principalmente

²⁴ LEAVERNS, Patrick y SURGE, Leos Patrick; Manual on the production and use of live food for aquaculture: laboratory of aquaculture and artemia reference center. University of Ghent Belgium: FAO, Ghent. 1997. p. 295.

²⁵ PRIETO, *et al*, Op. Cit., p. 31.

²⁶ PRIETO, *et al*, Op. Cit., p. 90.

²⁷ CASTRO, ANDRADE Thalia, CASTRO G, MALPICA, J, y SÁNCHEZ, A. Alimento vivo en la acuicultura. Departamento El Hombre y su Ambiente. México. 2003. Disponible en Internet, URL: Hppt: www. Iztapalapa.vam.mx.

en sus primeras etapas de vida, que son las más críticas en todas las especies, porque es donde se puede presentar la mayor mortalidad, de ahí que a nivel mundial, se utilizan alimentos inertes con ingredientes nutritivos bien balanceados; pero también existe la posibilidad de utilizar organismos vivos, susceptibles de ser modificados en su contenido nutritivo. Dentro de estos organismos vivos están los organismos zooplanctónicos de tamaños microscópicos, como son los rotíferos, pulgas de agua, copépodos, nauplios del crustáceo artemia entre otras especies de invertebrados.

4.3.5 Microalgas. Según Vélez²⁸ son la fuente de alimento indispensable para los estadios de crecimiento larval a tempranas especies de peces que son necesarios para el desarrollo y sobrevivencia de las mismas. Además de la producción masiva de organismos zooplanctónicos, son la segunda fuente importante para su crecimiento, debido a que ésta, estabiliza la calidad del agua del cultivo larval y realiza un control microbiano en la técnica de agua verde.

Así mismo, el autor menciona que dentro de los criterios de selección como: el potencial de cultivo, el fácil manejo, el tamaño celular apropiado, la digestibilidad celular y su valor nutricional de la especie; se presentan efectos dentro al interior del cultivo larval tipo “agua verde” como:

- Estabilidad en la calidad del agua en sistemas estáticos removiendo metabolitos y produciendo oxígeno.
- Fuente directa de alimento para las larvas.
- Fuente indirecta de nutrientes para larvas a través de presas vivas, cuyo valor nutricional se mantiene gracias a las microalgas.
- Aumenta la tasa de ingesta mejorando el contraste visual y la dispersión de la luz en el estanque de cultivo.
- Control microbiano por exudado algal en el agua de cultivo o en el estómago larval.

Álvarez y Hernández²⁹, comparten que el cultivo de las microalgas es el punto de partida de la trama alimentaría, a partir del cual comenzará el flujo de la energía necesaria hasta completar los procesos tróficos, por lo que la producción de microalgas es un componente esencial para la alimentación larval tanto para la producción de organismos del zooplancton con calidad, como para suministrarlas a los tanques de larvas en las tecnologías de “agua verde”.

Los mismos autores mencionan que la importancia de la selección de las especies y cepas de microalgas radica fundamentalmente en su composición química, especialmente de los PUFA, particularmente del EPA, el DHA y el ARA, los cuales

²⁸ VELEZ, Antonio, Producción de Alimento Vivo para Hatchery de Peces Marinos. En: Conferencia Internacional Aqua Sur Chile: s.n.e, Marzo 2002. Disponible en Internet, URL: www.aquasur.cl.

²⁹ ÁLVAREZ y HERNÁNDEZ, Op. Cit., p. 14.

son esenciales para un buen crecimiento, supervivencia, buen desarrollo de la vejiga de los gases, metamorfosis sin dificultades, adecuada pigmentación, mantenimiento mecánico, osmótico estables de las células y resistencia al estrés de las larvas.

4.4 LOS COPÉPODOS

Según Gaviria y Arangurem³⁰, los copépodos (del griego Kope= remar y Podos= pies), pertenecen a un grupo relativamente pequeño de artrópodos acuáticos, con 11.500 especies se consideran que son los metazoos más abundantes del planeta. El grupo de estos organismos está más diversificado en el mar y el número de especies parasitas marinas representa cerca de una tercera parte de aquellas de vida libre.

Según Bradford³¹ existen tres órdenes principales de copépodos de vida libre: Calanoida, Harpacticoida y Cyclopoida, los cuales pertenecen a la infraclase Neocopepoda, esta última está dividida en dos superórdenes, los calanoides que pertenecen al superorden Gymnoplea y los harpacticoides y cyclopoides al superorden Podoplea.

4.4.1 Descripción. Jaume, Conradi y López-González³², mencionan que: para identificar un copépodo de vida libre a primera vista es relativamente sencillo, pero la profusión de especies parasitas muchas de ellas extremadamente modificadas requiere un refinamiento en la diagnosis el cual consta de:

- Al menos dos pares de patas natatorias con los miembros de cada par conectados entre sí por una placa rígida, que permite el batido sincrónico de los miembros de cada par.
- Un cefalosoma que se muestra integrado y totalmente incorporado al primer somito del tronco, portador de los maxilípedos siendo este grupo el único que muestra esta condición.
- De igual forma las antenulas unirrameas multisegmentadas hasta un máximo de 27 segmentos son del todo desconocidas en el resto de maxilopodos, en donde estas no rebasan los 8 segmentos. No obstante cabe decir que la

³⁰ GAVIRIA Santiago y ARANGUREM Nelson, Especies de vida libre de la subclase copepoda (Arthropoda, Crustácea) en aguas continentales de Colombia. En: Biota Colombiana. Bogotá. (Enero-Junio, 2007); p.53 Disponible en Internet, URL: www.siac.net.co.

³¹ BRADFORD G. Key to calanoid copepod families: National Institute of Water and Atmospheric Research. Wellington New Zealand. 2002. Disponible en Internet: URL: <http://crustacea.net>.

³² JAUME Damiá CONRADI Mercedes, LOPEZ-GONZALEZ Pablo J. Curso práctico de entomología. Copepodos. IMEDEA, Instituto Mediterraneo de Estudios Avanzados, departamento de fisiología y zoología. Sevilla España: Esporles, 2000. p.303.

mayoría de copépodos muestra antenulas con reducción secundaria en el número de segmentos.

- La presencia de sacos ovígeros en las hembras es otra forma taxon, especialmente útil a la hora de identificar como copépodos a formas extremadamente modificadas para la vida parasita.

4.4.2 Tamaño. Según Jaume *et al*³³, los copépodos son animales de tamaño corporal reducido generalmente entre 0,3 y 5 mm, no obstante algunas formas de vida libre pueden alcanzar los 28 mm, siendo record de tamaño algunas especies parasitas que alcanzan hasta 32 cm de longitud.

4.4.3 Distribución en Colombia. Según Gaviria y Arangurem³⁴, entre los calanoideos la familia Centropagidae esta restringida a lagos de altura en la cordillera de los Andes mientras que los Diaptomidae en general habitan en lagos y ríos en altitudes medias hasta zonas bajas, con excepción de *Colombodiaptomus* (distribución alto andina) y *Prionodiaptomus* (distribuido desde el altiplano Cundiboyacense hasta zonas bajas).

4.4.4 Hábitat. Según Gaviria y Arangurem³⁵, los copépodos habitan en lagos, estanques, embalses, charcos, ríos, aguas subterráneas y se los encuentra también en fitotelmatas y en ambientes semiterrestres como musgos y suelos húmedos forestales, además se indican por medio de abreviaturas: asu - aguas subterráneas, ben - bentónico, ch - charca, cie -ciénaga, cue- cueva, emb - embalse, est - estanque, este - estero, fue - fuente, int -intersticial, lag - lago, lit - litoral, mad - madreveja, pan - pantano, pel - pelágico, pt - planta de tratamiento, río - río, sal - aguas salobres, semiter - semiterrestre y ta - tanque.

4.4.5 Aparato reproductor de los copépodos. Jaume, Condari y López-González³⁶ manifiestan que: el aparato reproductor lo integran en ambos sexos un par de gonadas, gonoductos y aperturas genitales abriéndose estas últimas en la región postero- ventral del segmento genital.

Los mismos autores manifiestan que el aparato reproductor femenino es especialmente complejo; cada uno de los orificios genitales esta cubierto por su correspondiente sexta pata (opérculo genital) modificada para tal fin, en cada orificio genital que no es más que una depresión cuticular que se abre un poro copulador donde el macho sitúa el espermatoforo durante el apareamiento.

En los machos la estructura del aparato reproductor es mucho más simple cada testículo conecta con su correspondiente gonoporo por un *vas deferens* a lo largo

³³ Ibid., p. 304.

³⁴ GAVIRIA y ARANGUREM. Op. cit., p. 54.

³⁵ GAVIRIA y ARANGUREM. Op. cit., p. 54

³⁶ JAUME, CONRADI y LOPEZ -GONZALEZ. Op. cit., p. 304

del cual se forma el espermatozoido. El gonoporo se abre en el orificio genital, protegido por su correspondiente sexta pata.

En general la reproducción de los copépodos es sexual, los machos son más pequeños que las hembras y son más numerosas siendo estos algunos de los pocos crustáceos pequeños que forman espermatozoidos de modo que el extremo inferior del espermiducto está modificado para tal fin.

Barnes³⁷ menciona que: durante la copula el macho sujeta a la hembra con uno o ambos pares de antenas, y en casi todos los calanoide también con el último par de apéndices torácicos modificados, el macho utiliza estos últimos para transferir los espermatozoidos a la hembra y adherirlos con un cemento especial a los orificios de los receptáculos seminales.

Berger y Maier³⁸ manifiestan que: existen ciertas diferencias en cuanto a algunos aspectos reproductivos de los diferentes órdenes, las hembras de copépodos cyclopoides y harpacticoides a diferencia de la mayoría de los calanoides pueden almacenar el esperma y fertilizar varias cargas de huevos desde una sola inseminación, siendo la reinseminación innecesaria.

Según Barnes³⁹, la mayoría de los copépodos Calanoides liberan los huevos directamente al medio donde eclosionan; en cambio los huevos de la mayoría de Cyclopoides y Harpacticoides son liberados y envueltos en uno o dos sacos adheridos al genosegmento del urosoma, en los cuales son incubados hasta la eclosión.

4.4.6 Hábitos alimenticios. Así mismo Barnes⁴⁰, menciona que en condiciones de laboratorio se ha demostrado que los copépodos con alimentos de diferentes tamaños; se prefieren las partículas alimenticias de mayores dimensiones sin embargo es probable que en condiciones naturales los copépodos planctónicos consuman cualquier alimento predominante.

Según Bradford⁴¹ los calanoideos son planctónicos y principalmente consumidores de alimento en suspensión, especialmente fitoplancton y protozoarios; utilizan sus apéndices bucales para crear corrientes de agua que dirigen el alimento hacia el copépodo.

³⁷ BARNES R. Zoología de invertebrados acuáticos, 5° ed. México: Mc Graw Gill, 1989. p. 29.

³⁸ BERGER I, MAIER G. The mating and reproductive biology of the freshwater planktonic calanoid copepod *Eudiaptomus gracilis*. Freshwater Biology. California: Mc Graw Gill, 2001. p. 46-94.

³⁹ BARNES, Op. Cit., p. 30.

⁴⁰ BARNES, Op. Cit., p. 30.

⁴¹ BRADFORD, Op. Cit., p. 27.

4.5 POTENCIAL ACUÍCOLA DE LOS COPÉPODOS

4.5.1 Importancia de los copépodos. Existe un largo camino por recorrer en la investigación encaminada a la producción en cultivos de diferentes especies de copépodos tanto bentónicos como fitoplanctónicos pues la lista de especies alternativas se encuentra en proceso de experimentación en laboratorio.

Es importante recordar que en el ambiente marino los copépodos ocupan un importante papel en las poblaciones que conforman el zooplancton, pues este grupo es uno de los recursos de alimentación más importantes para peces y crustáceos, porque poseen un apropiado perfil nutricional para la alimentación de larvas de peces.

4.5.2 Requerimientos nutricionales. Según Civera, Álvarez y Moncayo⁴², afirman que dentro de todos los ácidos grasos altamente insaturados (HUFA), los rotíferos como la artemia requieren del ácido araquidónico (ARA, 20:4 n-6), el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3). debido a que presentan carencias de estos ácidos grasos, por lo que para mejorar su calidad nutricional deben ser enriquecidos con emulsiones lipídicas comerciales. Los copépodos son un excelente alimento, porque tienden a mantener constante su calidad y composición, además de contener buenas cantidades de EPA y DHA, aunque también se pueden enriquecer.

4.5.3 Los copépodos como alimento vivo. Los copépodos podrían representar una valiosa alternativa como suplemento a la artemia y rotíferos, son una presa natural y se han utilizado para alimentar larvas en los sistemas extensivos de producción.

Con la intensificación de las técnicas de cultivo se ha preferido la artemia y los rotíferos. Este giro se explica por la facilidad en la obtención y el cultivo de estas especies en relación a la dificultad de cultivar copépodos.

4.5.4 Cultivo de copépodos. Según Vélez⁴³, los cultivos de copépodos se han establecido con mayor importancia nutricional respecto a otros cultivos como artemia y rotíferos, debido al perfil nutritivo que satisface de mejor manera los requerimientos de larvas marinas, pues estos se cree que contienen niveles más altos de enzimas digestivas que las artemias, además pueden ser suministrados como nauplios, copepoditos y adultos, siendo muy pocos los estudios sobre el desarrollo de los copépodos de agua dulce en cultivo masivo y las condiciones que hoy existen para ello, están determinadas para especies marinas.

⁴² CIVERA-CERECEDO, R., ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C.A, y MONCAYO-LÓPEZ, F.J, Nutrición y Alimentación de Larvas Peces Marinos México. 2004. Disponible en Internet: URL: www.educacion.uanl.mx.

⁴³ VELEZ, Op. Cit., p. 30.

En investigaciones realizadas por Muñoz-Gutiérrez⁴⁴, afirma que el cultivo en masa de estos copépodos para fines de acuicultura no se ha intentado con muchas especies, la mayoría de ensayos se han realizado con especies marinas del género calanoides (*Calanus sp.*, *Acartia sp.*, etc.) y de Harpacticoides (como el *Tigriopus japonicus*) principalmente por la facilidad en su manejo.

4.5.5 Cultivo intensivo. Según Hicks y Coull⁴⁵ los principales copépodos utilizados para cultivar larvas de peces marinos involucran principalmente a los órdenes Harpacticoida, Calanoida y en menor grado Cyclopoida. Los primeros, a diferencia de los calanoides tienen la ventaja de poder ingerir una amplia variedad de dietas, pueden alcanzar una alta densidad en cultivo, por lo que son los mejores candidatos para cultivo intensivo. Nanton y Castell: “han demostrado que aparentemente estos copépodos tienen la habilidad de convertir ácidos grasos 18:3n-3 en cantidades substanciales de los HUFAS 20:5n-3 y 22:6n-3 debido a que poseen suficientes cantidades de enzimas (elongasas y desaturasas), necesarias para tal fin”⁴⁶.

Sin embargo, Payne y Rippingale presenta: “una gran desventaja frente a los copépodos calanoides, teniendo en cuenta que los nauplios de muchos de éstos son principalmente bentónicos, siendo menos predados por las principalmente planctónicas larvas de peces marinos”⁴⁷. Stottup menciona que: “dentro de este orden entre los géneros más preferidos como candidatos para acuicultura se encuentran *Euterpina*, *Tigriopus* y *Tisbe*”⁴⁸.

4.5.6 Sistemas extensivos de producción de copépodos. Ejemplos de producción extensiva de copépodos se encuentran en Noruega en sus lagunas internas, donde las larvas de peces son producidas con zooplancton natural o plancton producido en bolsas plásticas dentro de las lagunas, las cuales son llenadas con agua de mar filtrada a 80 µm. Según estudios tomados por Ruiz y Jiménez citando a Stottrup⁴⁹, el plancton se colecta del medio con un doble filtrado (80 – 200 µm) siendo frecuentemente dominantes los copépodos en este rango de tallas, aunque otros organismos como rotíferos también se encuentran.

⁴⁴ MUÑOZ-GUTIERREZ, Mario Estaban. Alimento Vivo para Peces. En: Revista Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá. Vol. 7, No. 14 (2007). p. 55.

⁴⁵ HICKS G, COULL B. The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. In: Oceanogr. Rev. California. Vol. 5, No 6 (1983). p. 67–175.

⁴⁶ NANTON D, CASTELL J. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae. Ohio: Mc Graw Hill, 1999. p. 167–175.

⁴⁷ PAYNE M, RIPPINGALE R. Op. cit., p. 309.

⁴⁸ STOTTRUP, Op. cit., p. 62-83.

⁴⁹ STOTTRUP. J. G, Op. cit., p. 703-711.

Según Ruiz y Jiménez citando a Mckinnon *et al*⁵⁰, el potencial de los copéodos Paracalanoides tropicales *Bestiola similis* y *Parvocalanus crassirostris*, en cultivos extensivos encontraron altas tasas de crecimiento, adecuadas tallas en sus estadios de desarrollo y composición nutricional optima para larvas de peces; Payne *et al*⁵¹, reportan mejoras en la sobrevivencia y crecimiento en larvas de peces como *Glaucosoma hebraicum* y *Pagrus auratus*, que no son fácilmente producidas usando rotíferos.

⁵⁰ MCKINNON A, DUGGANS S, NICHOLS P, RIMMER H, SEMMENS G, ROBINO B. The potencial of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. In: Aquaculture, Amsterdam. Vol. 223, No 13. 2003. p. 89-106.

⁵¹ PAYNE M, RIPPINGALE R, CLEARY J. Cultured copepods as food for west Australian fish *Glaucosoma hebraicum* and pink snapper *Pagrus auratus* larvae. In: Aquaculture. Australian. Vol. 194, No. 23 (September, 2000); p. 137-150.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. LOCALIZACIÓN

El presente estudio se desarrolló en la Estación Acuícola Marina Bahía Málaga (EABM), Océano Pacífico Colombiano en convenio con el Instituto Colombiano Agropecuario ICA, ubicada en el costado izquierdo de Bahía Málaga entre los 3° 56'O y los 4° 05'N y los 77° 21' W, en la región central de la Costa Pacífica Colombiana municipio de Buenaventura, departamento del Valle del Cauca⁵² (Figura 2, 3).

La zona es considerada una de las más lluviosas del mundo, con una precipitación anual generalmente superior a 6.000 mm alcanzando excepcionalmente 8.000 mm, la temperatura del aire varía anualmente entre 24,9 y 25,8 °C y la humedad entre 88% (Julio) y 90,5 % (Noviembre). Las mareas son generalmente semidiurnas y la diferencia entre las mareas altas y bajas sobrepasa los 4,0 m.

Las aguas marinas tienen una temperatura en aguas superficiales que varía entre 25,2 y 29,7 °C, la salinidad se encuentra en un rango de 25 y 30 ‰ y depende de la variación de las mareas, aunque en las zonas costeras el agua tiende a salinidades más elevadas, probablemente por la gran evaporación. El oxígeno disuelto en el agua presenta concentraciones relativamente elevadas debido a la renovación continua de las aguas de la bahía ocasionada por las mareas, con valores que oscilan entre 3,2 y 5,7 mg/L.

Figura 2. Panorámica de la Estación Acuícola Bahía Málaga



⁵² GAMBOA, Hernando. Inventario estación Acuícola Bahía Málaga. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural INCODER. 2006.p.1

Figura 3. Ubicación geográfica de la de la Estación Acuícola Bahía Málaga (EABM)



La estación cuenta con las instalaciones necesarias para el desarrollo de estudios e investigaciones en el campo de la acuicultura de peces marinos, tales como: manejo y cultivo en interiores y exteriores de microalgas, rotíferos, *Artemia* sp. y copépodos, salas de reproductores, larvicultura de peces, jaulas flotantes en la cría de peces. Todas las áreas tienen disponibilidad de agua tratada por sistema de filtros para asegurar su calidad.

5.2 INSTALACIONES

Según Gamboa⁵³ la estación Acuícola Bahía Málaga tiene un área total de 933 m², y cuenta con la siguiente infraestructura física de producción e investigación:

- Laboratorios, oficinas y habitaciones, 326 m².
- Sala de cultivos masivos de microalgas, 54 m².
- Sala de maduración de reproductores y desoves, 224 m².
- Sala de larvicultura, 63 m².
- Sala de mesocosmos, 120 m².
- Sala de alevinaje de peces marinos, 42 m².
- Edificio para cuarto frío y sala de preparación de alimento, 18 m².
- Edificio para bodega y taller, 70 m².
- Caseta para planta eléctrica, 16 m²

⁵³ Ibid., p.3.

El almacenamiento de agua marina se realiza en dos tanques reservorios de concreto, con capacidad de 100 ton, que posibilitan un recambio aproximado del 100%. El agua proviene de la succión a través de una motobomba centrífuga sumergible de 7,5 HP, trifásica con diámetro de succión y de descarga de cuatro pulgadas y un caudal de entrada de 0,0156 pies³/seg (Figura 4). Es conducida a un filtro de grava y arena de alto rendimiento (Figura 5), que pasa a los tanques reservorios donde se realizan procedimientos de filtración (filtros de felpa y cartucho de 20, 15, 5, y 1,0 micras) (Figura 6).

Figura 4. Motobomba centrífuga sumergible de 7,5 Hp



Figura 5. Filtro de grava y arena de alto rendimiento



Figura 6. Filtros de felpa y de cartucho de 20, 15, 5 y 1,0 μm



5.3 EQUIPOS Y UTENSILIOS

Para desarrollar la fase experimental de este proyecto se emplearon los siguientes equipos:

- Refractómetro ATAGO N-1EBX
- Equipo multiparámetro Hach: handylab multi 12/set SCHOTT – Geräte GmbH Kasai
- Microscopio NIKON ALPHA PHOT-2 YS2
- Estereoscopio LEICA ES-635 474
- Cámara Neubauer, Improved M0090
- Cámara Segwick Rafter
- Incubadoras de 250 L con ojo de malla de 150 y 40 μm
- Recipientes de plástico de capacidad 4,0 L
- Cajas multiceldas de 30 ml
- Bomba sumergible de 4,0 HP
- Contenedores y baldes plásticos
- Porta objetos
- Cubreobjetos
- Pipetas Pasteur
- Beakers de diferentes tamaños
- Tamices de 20,40, 65, 100, 150, μm .
- Computador Pentium III
- Cámara fotográfica digital, Canon 3.5X
- Motobomba centrifuga sumergible de 7,5 HP
- Blower regenerativo de capacidad 2,5 HP

5.4 MATERIAL BIOLÓGICO

Durante el desarrollo de la investigación, se evaluó 2,0 Nauplios de copépodos calanoideos/ml, provenientes de la siembra y la cosecha en volúmenes de 90 L. Los copépodos fueron colectados mediante el uso de manguera de ¾" pasados por succión, retenidos por un tamiz de 40 µm y llevados a un volumen de 10 L; posteriormente se pasa a un tamiz de 65 µm obteniendo nauplios de tamaño homogéneo, concentrando la muestra en un tamiz de 40 µm y finalmente se transfieren a un beaker de 1000 ml, siendo utilizados y evaluados con las respectivas dietas-tratamiento (*Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*) en volúmenes de 3,0 L, estableciendo el ciclo de vida del copépodo hasta la aparición de sus primeros nauplios.

5.5 OBTENCIÓN Y AISLAMIENTO DE COPÉPODOS

Previamente a la fase experimental, el desarrollo de la investigación comenzó siete meses atrás; periodo en el cual se realizó la consecución, identificación y adaptación al cultivo de un copépodo calanoideo marino; teniendo en cuenta parámetros sobre su digestibilidad, características morfológicas, morfométricas y adaptación a las condiciones de laboratorio en volúmenes de 3,0 y 90 L, implementando dietas microalgales en forma monoespecífica y en combinación.

5.5.1 Fase de campo. Se efectuaron siembras en tanques masivos, los cuales se llenaron con agua de mar mediante el uso de una motobomba centrífuga sumergible de 7,5 HP (Figura 7), con la finalidad de retener organismos predadores de zooplancton pequeño. El agua de mar fue filtrada por una malla de 200 µm, adicionando microalgas *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*, permitiendo acelerar la proliferación de copépodos calanoides pequeños.

Después de 7 días cuando se presentó una gran proliferación de copépodos calanoides, se procedió a cosechar todo el volumen del tanque, utilizando una motobomba sumergible de 4,0 HP transportando el agua de mesocosmos hacia una incubadora de 250 L con malla de 40 µm, y cosechando a través de un tamiz de la misma dimensión. Se transportó la cosecha a un volumen de 10 L.

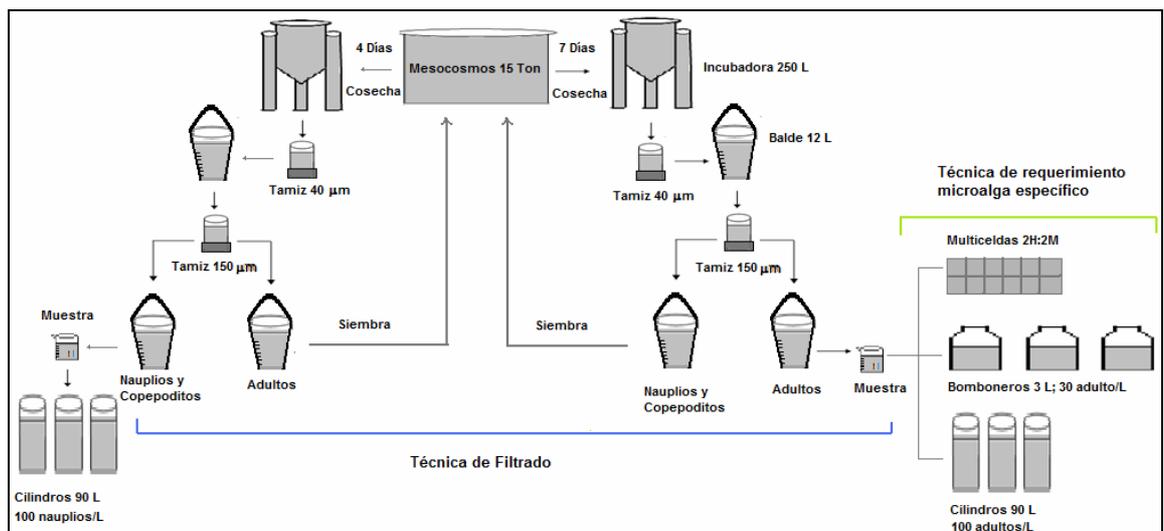
Los adultos de copépodos cosechados fueron limpiados y separados del zooplancton más pequeño (nauplios de otros copépodos, rotíferos y protozoos) pasándolos por una malla de 500 µm y reteniéndolos en un tamiz de 150 µm; fueron lavados con agua de mar filtrada a 1,0 µm. Se tomó una muestra de copépodos adultos y llevada al laboratorio para registrar las posibilidades de aislamiento a nivel de 30 ml, 3,0 y 90 L utilizando pipetas Pasteur y selección por requerimientos algales específicos.

Figura 7. Siembra en tanque de mesocosmos con agua natural del medio



El resto de los copépodos adultos fueron sembrados en un tanque de 15 m³ y alimentados con una mezcla de *Isochrysis galbana* mas *Tetraselmis suecica* (5×10^4 cel.ml⁻¹). Después de cuatro días se procedió a la cosecha del tanque de igual forma que el mesocosmos hasta llevar la cosecha a 10 L, igualmente se pasaron por malla de 150 µm pero esta vez descartando los adultos y reteniendo los nauplios de copépodos en 40 µm; estos fueron utilizados para establecer los requerimientos microalgales específicos para los nauplios con el fin de establecer la técnica mas apropiada para aislar la cepa (Figura 8).

Figura 8. Obtención y aislamiento de copépodos.



Según el trabajo realizado por Torres citando a Ripingale y Payne⁵⁴ mencionan que uno de los principales problemas al realizar un monocultivo de una especie de copépodo es la eliminación de organismos contaminantes, tales como rotíferos y otros copépodos. La literatura reporta varias técnicas para separar los copépodos de contaminantes, tales como la disminución de salinidad en especies que soportan gran estrés osmótico, y el más común según Stottrup⁵⁵, es la utilización de filtros con diferentes tipos de micraje aprovechando el ancho de los últimos estadios de copepódito y adultos.

5.5.2 Fase de laboratorio. Previo a la adaptación a sistemas de cultivo de 3,0 L, cámara multiceldas y siembra en tanques de 5 m³, se estableció la mejor técnica de aislamiento, seleccionando un grupo de adultos ubicando 2 hembras y 2 machos en las multiceldas de 30 ml y 30 adultos en recipientes de 3,0 L (Figura 9) utilizando un estereoscopio, cajas de petri y pipetas Pasteur plásticas, con el fin de establecer el mejor volumen de aislamiento, alimentados en ambos casos con *I. galbana* y *T. suecica* a una concentración de (1x10⁵ y 1x10⁴ cel/ml) sin aireación artificial.

Figura 9. Montaje de adultos de calanoide en volumen de 3,0 ml y 3,0 L



Durante cuatro días de cultivo, los adultos lograron producir nauplios que no alcanzaron a sobrevivir, debido a densidades de siembra altas, a la inestabilidad en la columna de agua por falta de aireación, deterioro en la calidad del cuerpo de agua producida por la no remoción de alimento no consumido, ocasionando una

⁵⁴ PAYNE y PPINGALE, Op. cit., p. 60.

⁵⁵ STOTTRUP, Op. cit., p. 706.

mortalidad masiva. Esta afirmación es similar a lo dicho por Stottrup⁵⁶ quien menciona que los copéodos calanoides requieren de grandes volúmenes de agua porque son principalmente consumidores de alimento en suspensión.

Igualmente se utilizaron seis cilindros en acrílico de capacidad 90 L con fondo plano y aireación suave, donde se sembraron en tres de ellos 100 adultos/L de copéodos, alimentados con *I. galbana*, *T. suecica* y una combinación de ambas (Figura 10). La muestra de nauplios obtenida a los 4 días de siembra después del reinóculo de adultos en el tanque de 15 m³, se ubicaron en los 3 cilindros restantes conteniendo la especie deseada. El número de copéodos se registró durante el ciclo de cultivo de 6 días, y se estableció el método de aislamiento.

Figura 10. Cultivo de nauplios calanoides en volúmenes de 90 L



En los volúmenes de 90 L la mezcla de copéodos adultos Cyclopoide, Harpacticoide y Calanoide demostró ser más efectiva, registrando altas sobrevivencias de los nauplios en un periodo de 6 días (Tabla 1). La mejor sobrevivencia se obtuvo alimentando con *I. galbana*, posiblemente a que la especie calanoide tuvo fácil adaptación de la microalga y por ende mayor producción de nauplios.

En el cultivo con nauplios en volúmenes de 90 L, se presentó una mayor producción de *Paracalanus parvus* con *I. galbana* (Tabla 2).

⁵⁶ STOTTRUP J. Review on the Status and Progress in Rearing Copepods for Marine Larviculture. Anvantages and Disadvantages. Among Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoid Copepods. Denmark : Kavalergaarden, 2006. p. 66.

Tabla 1. Supervivencia de adultos en volúmenes de 90 L

Microalga	Copépodos	# cope/ml	% Supervivencia
<i>I. galbana</i>	<i>Paracalanus</i>	0,4	80
	<i>Acartia</i>		20
<i>T. suecica</i>	<i>Cyclopoide</i>	0,05	60
	<i>Acartia</i>		40
	<i>Harpacticoides</i>		10
<i>I. galbana</i> + <i>T. suecica</i>	<i>Acartia</i>	0,5	80
	<i>Paracalanus</i>		15
	<i>Harpacticoides</i>		5

Tabla 2. Supervivencia de nauplios en volúmenes de 90 L

Microalga	Copépodos	# cope/ml	% Supervivencia
<i>I. galbana</i>	<i>Paracalanus</i>	0,85	5
	<i>Acartia</i>		5
	<i>Harpacticoides</i>		5
	<i>Cyclopoide</i>		5
<i>T. suecica</i>	<i>Cyclopoide</i>	0,4	65
	<i>Harpacticoides</i>		35
<i>I. galbana</i> + <i>T. suecica</i>	<i>Acartia</i>	0,6	45
	<i>Paracalanus</i>		40
	<i>Harpacticoides</i>		15

Según el estudio realizado por Torres⁵⁷ el suministro de tres dietas microalgales para *Oithona* sp aceptando diferentes especies de microalgas de diferente tamaño y movilidad, generó diferentes respuestas en términos de capacidad de reproducirse con una dieta u otra, en la producción de huevos y número de eventos reproductivos producidos. Con lo anterior se puede observar un requerimiento microalgal específico por la *I. galbana* en esta especie de copépodo calanoide; que fue la mejor técnica utilizada y más apropiada para aislar esta especie debido a que se adapta bien al cultivo con esta microalga en las condiciones de estudio.

⁵⁷ TORRES G. Cultivo Experimental de los Copépodos Marinos *Oithona* sp Y *Cyclopina* sp. En la estación marina de Bahía Málaga-ICA. Asociación Colombiana de Industriales y Armadores Pesqueros (ACODIARPE). Buenaventura, 2008, 52 p. Trabajo de grado (Profesional en Acuicultura). Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria.

La utilización de copepoditos estableció que en la segunda generación se pudo obtener completamente la especie *Paracalanus parvus*, porque se logró determinar que *I. galbana* genera una mayor capacidad de reproducción y obtención de nauplios de buena calidad nutricional, la cual dentro de las pruebas de alimentación y cultivo en volúmenes de 3,0 L fue la mas utilizada para este copépodo.

A diferencia de este estudio la mayoría de los trabajos realizados por Schipp *et al*⁵⁸, Marcus y Murray⁵⁹, McKinnon *et al*⁶⁰, Hernández y Álvarez⁶¹ y Lee *et al*⁶² en copépodos involucran una alimentación con combinaciones de varias microalgas esto debido a que existe un beneficio nutricional para los copépodos, especialmente con efecto positivo sobre la fecundidad.

5.6 MORFOMETRÍA Y DESCRIPCIÓN DE *Paracalanus parvus*

Las características morfométricas de *Paracalanus parvus*, fueron establecidas en organismos de diferentes fases de desarrollo, observados a través del microscópico NIKON ALPHAPHOT-2 YS2-H y un micrómetro ocular de precisión de 10 µm. Se muestrearon 42 nauplios, 20 hembras ovadas y 10 machos, determinando el largo total y ancho máximo del cuerpo; en las hembras se estableció la longitud del prosoma y el largo de las antenas.

Con los datos registrados en los nauplios de *Paracalanus parvus* se establecieron seis diferentes tamaños de los estadios naupliares.

5.7 PLAN DE MANEJO

5.7.1 Cultivo de microalgas. El suministro de microalgas para cada unidad experimental provino de cultivos realizados en la Estación Acuícola Bahía Málaga (EABM), el cual mediante un sistema escalonado se trabajo diferentes volúmenes desde manejo de cepas en tubos de ensayo hasta volúmenes de 250 ml, 500 ml y 3,0 L. (Figura 11).

⁵⁸ SCHIPP G, BOSMANS J, MARSHALL A. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *In*: Aquaculture. Australia. Vol. 174, No. 14 (December, 1998); p. 81-174.

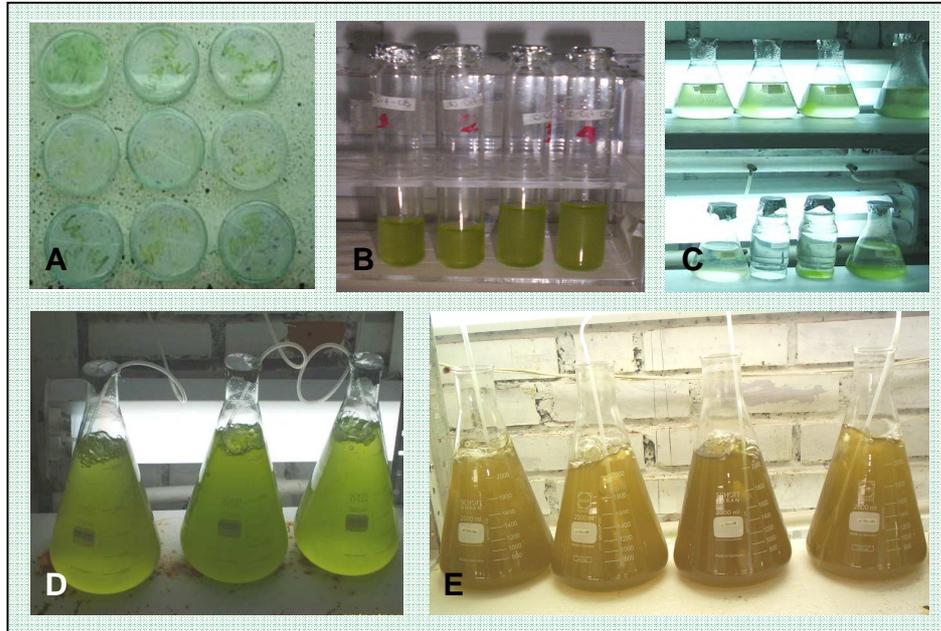
⁵⁹ MARCUS N. y MURRAY M. Copepod diapause eggs: a potential source of nauplii for aquaculture. *In*: Aquaculture. Florida. Vol. 201, No 32 (December, 2000); p. 201.

⁶⁰ MCKINNON *et al.* Op. cit., p. 89-106.

⁶¹ HERNÁNDEZ O, ALVAREZ-LAJONCHÉRE L. Culture experiments with *Oithona oculata* Ferran, 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. *In*: Aquaculture. Cuba. Vol. 219, No. 13 (November, 2002); p.471-483.

⁶² LEE K, PARK H, LEE S, KANG H. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov. Aquaculture 2006. p.1-4.

Figura 11. Protocolo de cultivo utilizado por la Estación Acuícola Bahía Málaga (EAMB)



A) Manejo de cepas en cajas petri, B) tubos de ensayo, pasando por volúmenes de C) 250 ml, D) 500 ml, E) 3,0 L.

5.7.2 Conteo de microalgas. Para suministrar la dieta adecuada a los copépodos se realizó conteos por volumetría a los cultivos de algas empleando un hematocitómetro o cámara de Neubauer.

Procedimiento:

1. - Se homogenizó el cultivo con aireación, se tomó una muestra de 1,0 ml aproximadamente y se adicionó en la cámara.
2. - Se observó al microscopio y se contó 5 cuadros de cada cámara.
4. - Para los cálculos, el número promedio de células contadas de las dos cámaras, se multiplica por 5 (cuadros contados) y por último por 10.000 para así obtener la cantidad de células por mililitro empleando la siguiente fórmula:

$$\# \text{ cel/ml} = N \times D \times C \times 10.000$$

Donde:

N= Número promedio de células contadas en las 2 cámaras.

D= Dilución de la muestra

C= Número de cuadros contados en la cámara

10.000 = Constante para convertir de microlitros a mililitros.

5.7.3 Siembra de nauplios. Previo a la siembra, los recipientes de capacidad de 4,0 L fueron desinfectados con hipoclorito de Sodio a razón de 1,0 ml por cada 3,0 L de agua para todos los tratamientos y sus réplicas, después de una hora fueron neutralizados con hiposulfito de sodio a razón de 1,0 g/L, con el fin de eliminar cualquier residuo de cloro. Posteriormente los frascos (bomboneros), fueron llevados al área de copépodos, y por último se adicionó las microalgas con su respectiva dieta-tratamiento, donde cada cultivo contaba con lámparas fluorescentes con una intensidad de 5000 lux, debido al (fototaxismo positivo) que representan (Figura 12).

Figura 12. Recipientes plásticos (Bomboneras) de capacidad de 4,0 L, ubicación de los frascos al cuarto de copépodos.

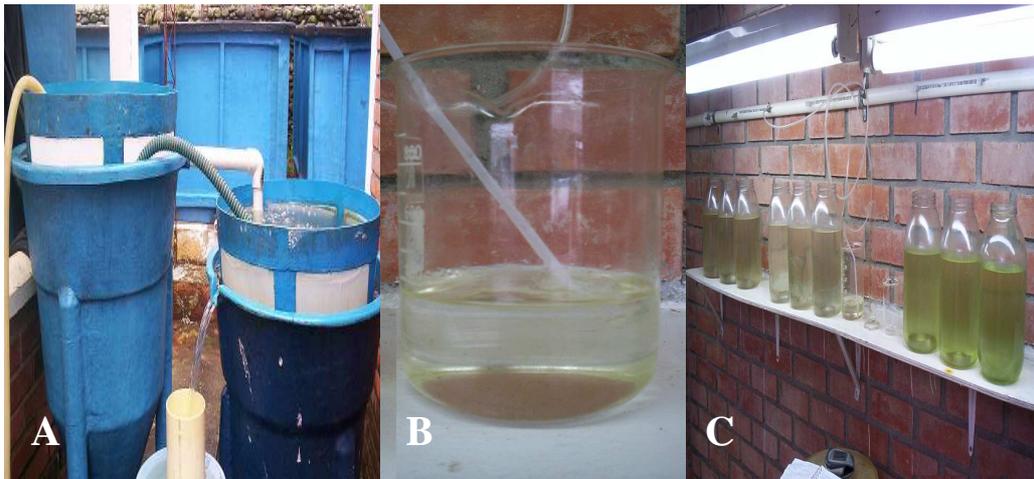


A. Desinfección y neutralización de las unidades de cultivo. B. Distribución de las unidades experimentales en el área de copépodos.

Los adultos y estadios tardíos de *Paracalanus parvus* aislados y mantenidos en volúmenes de 90 L durante 6 días, fueron cosechados y llevados al laboratorio. La muestra colectada por tamiz de 40 μm y pasada por tamiz de 65 μm , fue concentrada en un beaker de 1000 ml, obteniendo nauplios de tamaño homogéneo, se tomó cuatro submuestras de 2,0 ml para establecer el número de nauplios a utilizar por tratamiento. Luego cada submuestra se contó, se promedió y se dividió por el volumen de la submuestra multiplicando por el contenido del beaker para obtener el resultado total de los nauplios cosechados.

La cantidad de nauplios requeridos en cada tratamiento se obtuvo dividiendo el número de nauplios que se necesitaba por bombonero (6000 nauplios), sobre el número total de nauplios de la muestra cosechada. Las muestras se obtuvieron con la ayuda de una pipeta de 10 ml y la siembra en los frascos se efectuó adicionando agua del medio original filtrada a $1,0 \mu\text{m}$, enriquecida con microalgas como dieta alimenticia respectivamente (Figura 13).

Figura 13. Sistema de cosecha, colección y siembra de copépodos calanoides



A. Sistema de cosecha de copépodos producidos en tanques de 15m^3 . B. Muestra de nauplios colectados en las incubadoras en volumen de muestra de 1000 ml. C. Recipientes plásticos con sus respectivas dietas tratamiento

5.7.4 Alimentación de copépodos. La determinación del alimento adecuado (tamaño, digestibilidad celular y nutrición) para el óptimo crecimiento poblacional de los *Paracalanus parvus* se realizó mediante la implementación de ensayos, estableciendo seis tipos de tratamientos en volúmenes de 3,0 L cultivo microalgal, en donde se evaluó el crecimiento poblacional con base al suministro de las microalgas (Tabla 3). En la implementación del cultivo microalgal para la producción de copépodos fue indispensable conocer la concentración de algas en volúmenes de 3000 ml que se manejan en el laboratorio de la estación (Tabla 4).

La concentración empleada en cada tratamiento, se estableció teniendo en cuenta el peso celular de cada microalga en picogramos (pg) así: *T. suecica* con un peso de 200 pg/cel, *C. gacilis* de 50 pg/cel e *I. galbana* con un peso de 20 pg/cel, donde se estableció la biomasa de cada microalga con el respectivo volumen de cultivo en 3000 ml. En los tratamientos de forma mono específica se tomó el volumen multiplicando por la concentración del tratamiento por su peso celular y se dividió con el valor en picogramos dando como resultado en miligramos de la biomasa microalgal; para la combinación de las dietas es la mitad del resultado de la forma mono específica.

Tabla 3. Concentración microalgal para cada tratamiento

Tratamiento	Microalgas	Concentración cel/ml	Biomasa mg
T1	<i>T. suecica</i>	25×10^3	15
T2	<i>C. gracilis</i>	1×10^5	15
T3	<i>I. galbana</i>	2×10^5	15
T4	<i>T. suecica</i> + <i>I. galbana</i>	$12.5 \times 10^3 +$ 1×10^5	7,5 + 7,5
T5	<i>I. galbana</i> + <i>C. gracilis</i>	$1 \times 10^5 +$ $0,5 \times 10^5$	7,5 + 7,5
T6	<i>T. suecica</i> + <i>C. gracilis</i>	$12.5 \times 10^3 +$ $0,5 \times 10^5$	7,5 + 7,5

Tabla 4. Concentración microalgal en volúmenes de 3,0 L establecida por (EABM)

VOLUMEN ml	MICROALGA	CONCENTRACION Cel/ml
3000	<i>Tetraselmis suecica</i>	500000 - 1000000
3000	<i>Chaetoceros gracilis</i>	1000000 - 5000000
3000	<i>Isochrysis galbana</i>	5000000 - 10000000

La metodología empleada para la producción del número de nauplios/hembra/día en cámaras multiceldas, fue la misma manejada en volúmenes de 3,0 L.

5.7.5 Calidad de agua. Con un equipo multiparámetro KASAI-SCHOTT Geräte GmbH, Handilab, serial 2480, se tomaron registros de temperatura (°C), oxígeno (mg/L) y pH (unidades) a los recipientes de 3,0 L, cámaras multiceldas y tanques masivos de 5 m³; la salinidad se midió mediante el uso de un refractómetro ATAGO N-1EBX, realizando recambios diarios del 25% de agua para todos los frascos de 3,0 L. (Figura 14).

5.7.6 Monitoreo de copépodos. Los conteos de cada uno de los tratamientos, para establecer la población existente y determinar el número de nauplios al final de los ensayos, se realizó tomando muestras de 1,0 ml, las cuales se colocaron en una placa de conteo Segwick Rafter fijando los copépodos con formol al 10% y de esta forma establecer por volumetría la población final por frasco.

5.7.7 Siembra en cámara multiceldas. A partir del sexto día, con la aparición de los primeros nauplios, se seleccionó por tratamiento, mínimo catorce hembras, a las cuales se les determinó el número de descendientes que produce en 24h, contando el número de huevos y sus nauplios. Se empleó cámaras multiceldas (Figura 15), de 14 espacios, disponiendo de hembras ovadas individualmente las cuales fueron alimentadas con la respectiva dieta tratamiento.

Figura 14. Toma de parámetros fisicoquímicos a cámara multiceldas de 30 ml



Figura 15. Cámara multiceldas de 30 ml



5.7.8 Cultivo masivo. Una vez establecida la dieta, se procedió a desarrollar cultivos masivos en cuatro tanques de 4000 L (Figura 16), llenados hasta 3000 L, con agua de mar filtrada; la cantidad de copépodos necesarios se realizó utilizando el método de volumen seriado, iniciando desde poblaciones base-inóculos producidos en volúmenes de 1000 L, utilizando como alimento la microalga *I. galbana*.

Figura 16. Cultivo de copépodos *Paracalanus parvus* en volúmenes de 3000 L



5.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DCA), mediante la implementación de microalgas en volúmenes de 3,0 L, de los cuales se evaluaron seis tratamientos; tomando submuestras al final del ensayo de cada tratamiento para determinar la población final de la investigación. Se estableció tres replicas por cada tratamiento para un total de 18 unidades experimentales de manera simultánea a fin de proporcionar igualdad de condiciones.

La variable sobrevivencia se determinó aplicando la prueba no paramétrica de Brand Snedecor. En aquellas variables que no cumplieron los supuestos estadísticos, se ajustaron las pruebas de Kruskal Wallis y comparación de medias de Bonferroni.

5.9 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

Se plantean las siguientes hipótesis estadísticas:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

H₀: Los resultados obtenidos para cada valor medio de las diferentes variables evaluadas son iguales en todos los tratamientos.

H₁: $\mu_1 \neq, \mu_2 \neq, \mu_3$

H₁: Existe por lo menos un tratamiento que presenta un resultado medio diferente de las variables evaluadas.

5.10 VARIABLES

Para el análisis de las variables sobrevivencia, fecundidad y parámetros fisicoquímicos se utilizó el programa estadístico STATGRAPHICS versión 5.1 del 2001. El análisis detectó que por lo menos en una de las variables estudiadas existen diferencias significativas con un 95 % de confianza.

En los cultivos de copépodos se analizaron las variables, densidad de copépodos (C) y fecundidad.

5.10.1 Densidad de copépodos (C). Se refiere al número de individuos o al número total de copépodos obtenidos por un volumen determinado, de acuerdo a la siguiente formula:

$$C = \frac{F}{V}$$

Donde:

F = número de copépodos contados

V = volumen total contado

5.10.2 Índice de Sobrevivencia. Variable expresada en porcentaje que indica el número de individuos vivos en un periodo determinado y se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$S = (N_f / N_i) \times 100$$

Donde:

S: Sobrevivencia.

N_i: Número inicial animales.

N_f: Número final animales.

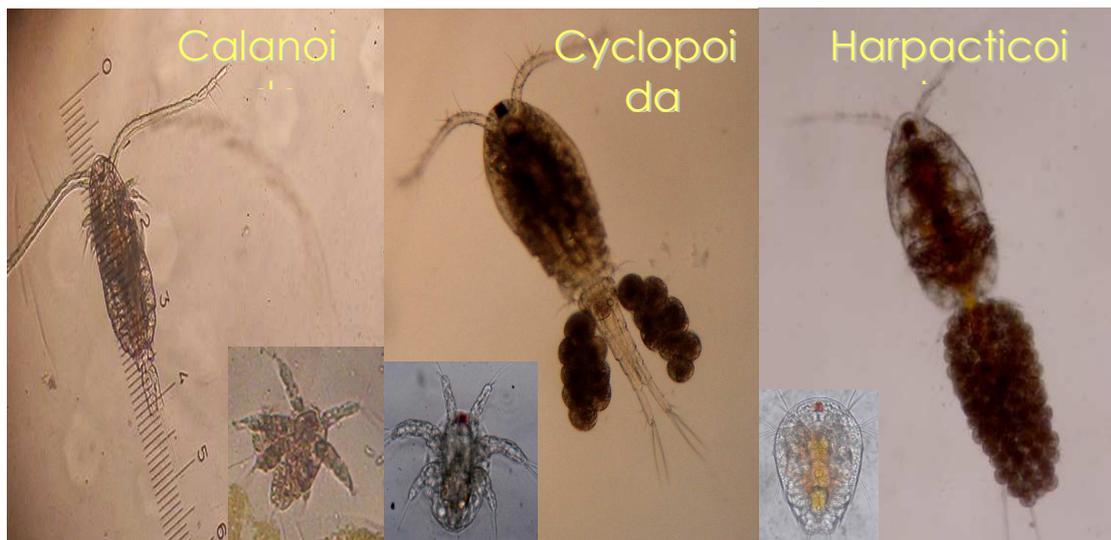
5.10.3 Fecundidad. Entendida como el número de huevos y/o nauplios producidos por una hembra, en un periodo de 24 h.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Con la ayuda de clave taxonómica de Bradford⁶³ se encontró la existencia de tres órdenes de copépodos de vida libre Calanoida, Harpacticoida y Cyclopoida pertenecientes a la infraclase Neocopepoda (Figura 17). Los calanoides pertenecen al superorden Gymnoplea, mientras que los harpacticoides y cyclopoides al superorden podoplea, con somitos torácicos, abdominales y telson caracterizados por conformar dos tagmas: uno anterior o prosoma, más o menos ensanchado, y otro posterior o urosoma más estrecho, separados uno del otro por una zona de flexión.

Figura 17. Copépodos de vida libre



Según Jaume, Conradi y López-González⁶⁴ la posición de esta zona de flexión varía según el grupo de copépodos, pudiéndose situar entre el sexto somito torácico (el quinto portador de patas natatorias) y el somito genital, en cuyo caso se habla de tagmosis gymnoplea, o entre el quinto y el sexto somito torácico (es decir entre el cuarto y el quinto portador de patas) de tagmosis podoplea. La muestra obtenida del cultivo para su clasificación fue de hembras de calanoides, siendo estas identificadas por el tamaño mayor que los machos.

⁶³ BRADFORD, Op. cit., p. 105.

⁶⁴ JAUME, CONRADI y LOPEZ –GONZALEZ, Op. cit., p. 306.

En el cefalosoma la hembra presentó el primer somito pedígero fusionado, así mismo los somitos 4 y 5 fusionados la curva del prosoma en vista lateral es claramente redondeada, en vista dorsal fue simétrica, el urosoma con cinco somitos libres, en vista dorsal es simétricamente con doble somito con un par de receptáculos seminales.

Según estudios realizados por Sewell⁶⁵, la hembra de *Paracalanus parvus* al igual que el encontrado en esta investigación tenía cuerpo robusto con la frente uniformemente redondeada, la cabeza y el 1^{er} segmento torácico se fundía completamente, los rastros de la línea original de separación es claramente visible por la superficie dorsal, el margen torácico posterior algo grandemente redondeada y el urosoma con cinco segmentos.

En parte de la boca en la primera antena se encontró 27 segmentos libres, el ancestral X y XI separados en algunos calanoides, segunda antena exopodito con 7 segmentos libres; 12 setas, base y endopodito separado. En la mandíbula base con 4 setas, segmento terminal del endopodito con 10 setas, primera maxila con base salida y seta presente, exopodito extendido bajo el endopodito. Segunda maxila coxal con seta ausente y el maxilipedo coxal con dos setas

En el macho la maxila 1 y 2 la boca fue reducida, en los maxilipedos los segmentos 5 y 6 del endopodito con seta externa alargada, clasificándolo como *Paracalanus parvus* (Figura 18).

Figura 18. *Paracalanus parvus*



⁶⁵ SEWELL, R. The Free swimming Planktonic Copepoda. Systematic Account. The John Murray Expedition 1933-1934. s.l.: Scientific Reports, 1947. Vol. 8, No.1. p. 23.

Tomando a Bradford⁶⁶, la ubicación taxonómica de los copépodos pertenecen a:

Reino: Animal
Phylum: Artrópoda
Subphylum: Crustacea
Superorden: Gimnoplea
Orden: Calanoideo
Familia: Paracalanidae
Género: *Paracalanus*
Nombre científico: *Paracalanus parvus* (Geisbrecht 1892)

6.1.1 Aspectos sobre el ciclo de vida de *Paracalanus parvus*

En la reproducción el macho persigue a la hembra hasta poder sujetarla con la ayuda del primer par de antenas que esta modificado para tal fin. El tiempo transcurrido entre la etapa naupliar y la presentación de más del 80% de hembras ovadas (infertilidad juvenil) hasta la aparición de nuevos descendientes fue de 6 a 7 días menos al registrado por Ruiz y Jiménez⁶⁷ que fue de 9 días.

Se determinó que la hembra *Paracalanus* libera los huevos y dependiendo del alimento ingerido pudo liberar hasta 30 huevos, a diferencia de otros copépodos estos no producen sacos de huevos, y en comparación con lo dicho por Torres citando a Ruiz y Jiménez⁶⁸ quienes registraron una producción de 23 nauplios por desove, demostrando que necesitan de un periodo de incubación mayor a 24 horas en la fecundidad de hembras cyclopoides.

Después de varios estadios naupliares (mudas) en los cuales la larva calanoide aumenta de tamaño y complejidad, aparece el estado copepodito, este se diferencia del nauplio por ser más parecido al adulto, igualmente el copepodito atraviesa varios estadios con cada muda, siendo el estadio del adulto donde alcanza su máximo tamaño debido a la aneclisis.

6.1.2 Características morfológicas de *Paracalanus parvus*

Con los registros de medida en los nauplios, se logró establecer 6 diferentes tamaños que corresponden a los estadios naupliares, (Tabla 5).

⁶⁶ BRADFORD, Op. cit., p. 105.

⁶⁷ RUIZ Javier y JIMÉNEZ Cesar. Aspectos reproductivos y cultivo experimental del copépodo ciclopoide marino *Cyclopina* sp. Lórica, 2007, 36-38 p. Trabajo de Grado (Profesional en Acuicultura). Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Departamento de Ciencias Acuícolas.

⁶⁸ Ibid., p. 36-38.

Tabla 5. Cálculos morfométricos para los seis estadios naupliares de *Paracalanus parvus*. Largo del cuerpo (Lc), Ancho del cuerpo (Ac).

Nauplios	<i>Paracalanus parvus</i>	
	Lc µm	Ac µm
I	46,2	29,13
II	62,68	35,53
III	80,15	44,55
IV	98,68	47,87
V	118,64	54,14
VI	150,81	62,63

Según Torres citando a Payne y Rippingale⁶⁹, uno de los aspectos más importantes al seleccionar un alimento vivo para larvas de peces marinos en los primeros estadios es el tamaño, dentro del cual según el ancho del cuerpo del organismo vivo puede ser el parámetro más importante, fijando los límites de la disponibilidad como presa. El nauplio recién eclosionado de *Paracalanus parvus* presentó un tamaño de 46,2 µm de largo y un ancho de 29,13 µm, y tiene la apariencia de huevo aplanado.

Las características muestran que el nauplio de *Paracalanus parvus* es ideal para la alimentación de algunos peces que tienen limitaciones en la primera alimentación exógena debido al pequeño tamaño de abertura bucal Schipp⁷⁰.

El nauplio de *Paracalanus parvus* (Figura 19A) se encontró que posee un ojo y solo tres pares de apéndices, en la parte anterior se encuentran las primeras antenas o antenulas unirrameas con tres segmentos cada una, estos apéndices le sirven al animal para la percepción sensorial; luego siguen las segundas antenas o antenas verdaderas birrameas que están involucradas en la natación y alimentación; en la parte media del cuerpo se encuentran las mandíbulas birrameas y con una protuberancia masticadora en el primer segmento del endopodito, este apéndice está involucrado en la alimentación.

⁶⁹ PAYNE y RIPPINGALE, Op. cit., p. 12.

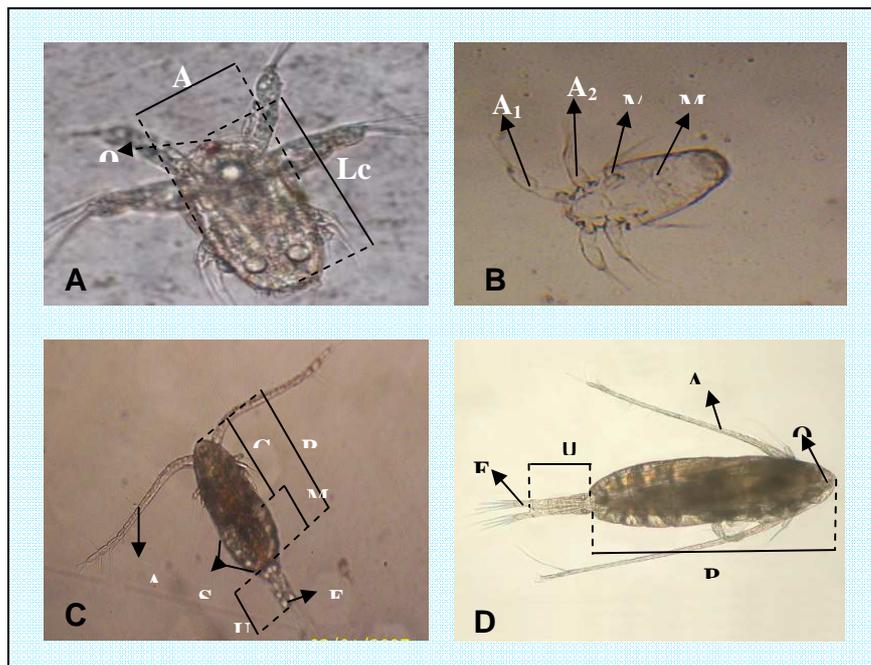
⁷⁰ SCHIPP G. The Use of Calanoid copepods in Semi-Intensive, Tropical Marine Fish Larviculture. Avances en Nutrición Acuicola. En: VIII Symposium internacional de Nutrición Acuicola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México: s.n.e, 2006. Disponible en: URL:<http://www.educacion.uanl.mx>.

En la parte posterior se encuentran un singular par de filamentos que forman la furca caudal del nauplio. En los posteriores estadios naupliares empieza a aumentar la complejidad del animal a través de la adición de segmentos a los apéndices y la aparición de un cuarto par de apéndice posterior llamado maxílula (Figura 19 B).

El estadio copepódito se diferenció del nauplio principalmente por la diferenciación entre prosoma y urosoma, también aparece más definida la forma unisegmentada de la furca caudal y presentan antenulas más conspicuas. En general su apariencia es más cercana al copépodo adulto (Figura 19 D).

En el adulto se encontró todas las características de un calanoide, la principal articulación movable del cuerpo entre el quinto segmento torácico, por lo que no tiene apéndices torácicos ubicados en el urosoma (gymnoplea) presentó antenas de tamaño grande (27 segmentos) y una clara diferenciación entre el tórax y abdomen (Figura 19 C).

Figura 19. Características morfológicas de *Paracalanus parvus*



A. Nauplio recién eclosionado. Ancho del cuerpo (Ac), Largo del cuerpo (Lc), Ojo naupliar (O). B. Exuvia de nauplio avanzado, Anténulas (A1), Antenas (A2), Mandíbulas (M), Maxílulas (Mx); C. Hembra adulta, Furca caudal (F), Cefalosoma (C), Metasoma (M), Prosoma (P), Segmentos del metasoma (S), Urosoma (U). D. Copepódito. Ojo naupliar (O), Antenula (A1), Urosoma (U), Prosoma (P), Furca caudal (F).

6.1.2.1 En el **Cefalosoma** (Figura 20 D) del adulto se encuentran las antenulas unirrameas, involucradas en la percepción sensorial; luego las antenas birrameas donde el exopodito está marcadamente reducido con función locomotora y trófica; posteriormente se encuentran cuatro pares de apéndices de función trófica, encontrándose primero (en sentido antero-posterior) las mandíbulas y maxíbulas birrameas, seguidas por las maxilas y maxilípedos unirrameos.

6.1.2.2 El **Metasoma** se determinó como la parte más ancha del cuerpo, dividido en cinco segmentos donde se encontró cinco pares de apéndices birrameos, en cada uno el endopodito como el exopodito exhiben dos y tres segmentos ornamentados con sus respectivas setas y espinas.

6.1.2.3 El **Urosoma** (Figura 20 A) dividido en cinco segmentos en la hembra y cuatro en el macho; a diferencia de otros copépodos este no posee apéndices en el urosoma debido a su tagmisis que en este caso para copépodos calanoides es gymnoplea, es decir sin apéndices en el segmento abdominal.

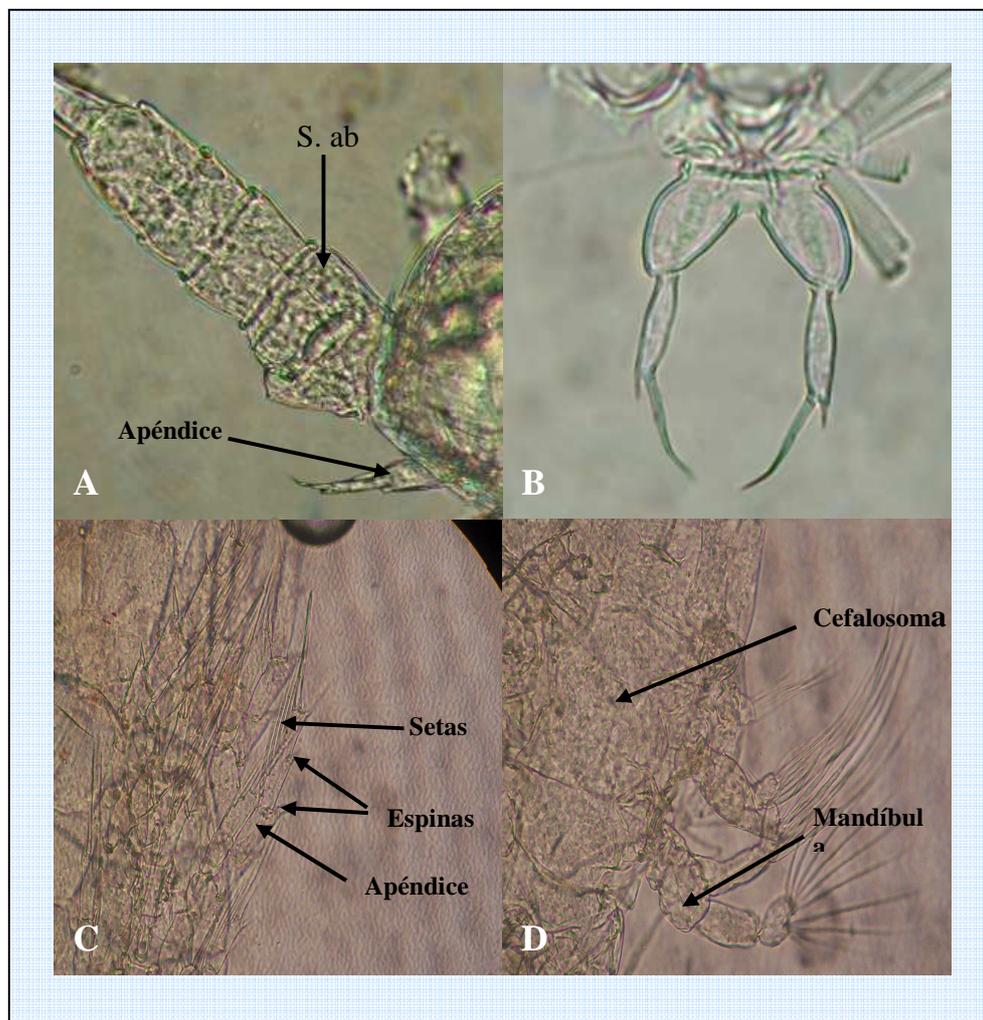
6.1.2.4 Los **apéndices**: en el primer apéndice (Figura 20 C) presentó una base externa con seta ausente; el endopodito como el exopodito con dos y tres segmentos. En el primer segmento del exopodito se observó una espina distal externa, y en el último con 4 setas internas; segundo apéndice el endopodito como el exopodito presentaron tres segmentos; el tercer segmento del exopodito se observó 2 espinas externas; tercer apéndice se observó una base externa y espina distal ausente; el endopodito en el tercer segmento presentó 7 setas internas y el exopodito en el último segmento con 2 espinas externas y 5 setas internas para él; cuarto apéndice en el tercer segmento del endopodito se observó 7 setas.

Los apéndices 2 al 4 la superficie con espina blanda terminal con borde exterior liso, el apéndice 5 (Figura 20 B) es muy distinto de los apéndices 2 al 4, coxa interna borde sin seta. Cuando presenta unirrameas la coxa y la intercoxa son fusionados con una adición en el primer y tercer segmento terminado por setas y también por espínulas externas

Según Perumal y Rajkumar⁷¹, el segmento terminal de los apéndices 2, 3 y 4 del exopodito están separados en un proximal y una porción del distal por la espina marginal exterior. La porción del proximal es dos veces más pequeña que la porción distal, el urosoma con 4 segmentos en el macho y 5 segmentos en la hembra; el quinto apéndice es simétrico solamente en el macho.

⁷¹ PERUMAL P and RAJKUMAR M. Zooplankton Centre of Advanced Study in Marine Biology. *In*: Faunal Diversity Annamalai University, s.n.e, 2001 page 7.

Figura 20. Características morfométricas de *Paracalanus parvus*

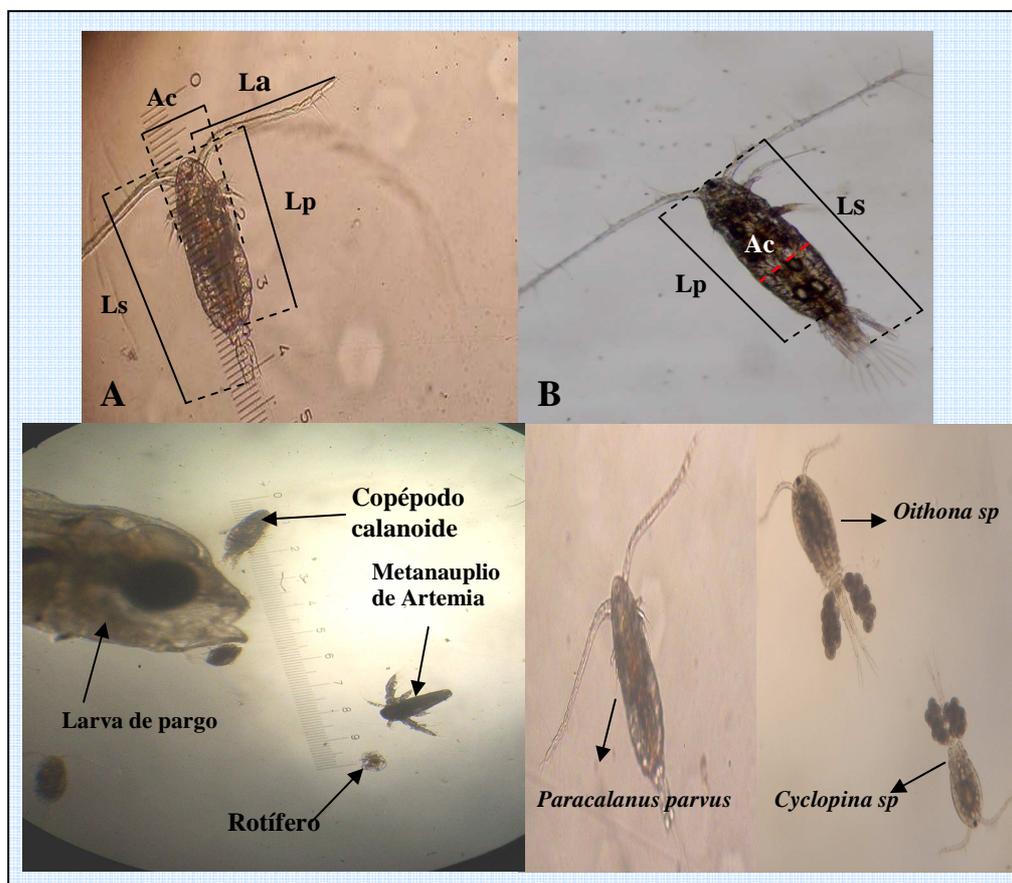


A. Urosoma. Segmento abdominal (S.ab), apéndice B. quinto par de apéndice C. primer apéndice Exopodito con cuatro setas internas en el tercer segmento, y con espinas. D. cefalosoma encontrándose primero en sentido antero posterior las mandíbulas.

Las hembras son más grandes que los machos y se les diferencia por la forma y el largo de las antenas (Figura 21 A, B) y son más grandes que un nauplio recién eclosionado o metanauplio pequeño de *Artemia* (Figura 21 C). A diferencia de otras especies las hembras de *Paracalanus parvus* no produjeron saco con huevos como en los cyclopoides (Figura 21 D).

Referente al copépodo *Calanoide*, los datos morfométricos para la hembra ovada se registran en la (Tabla 6).

Figura 21. Comparación morfológica de los copépodos.



A. Hembra *Paracalanus parvus*. Ancho del cuerpo (Ac), Largo de la anténula (La), Largo del prosoma (Lp), Largo estándar (Ls). B. Macho. C. Comparación entre Hembra de *Paracalanus* sp. y Metanauplio de *Artemia* sp. D. Comparación entre Hembras ovadas de ciclopoideas con paracalanoides.

Tabla 6. Datos morfométricos de hembra de *Paracalanus parvus*. Ancho del cuerpo (Ac), Largo de la anténula (La), Largo estándar (Ls), Largo del prosoma (Lp).

	<i>Paracalanus parvus</i>	
	Hembra µm	Macho µm
Ls	388,6	282,11
Lp	299,4	220,41
Ac	121,7	84,57
La	337,8	320,2

6.2 CALIDAD DE AGUA

Las características del agua tanto físicas, químicas y biológicas deben ser adecuadas para obtener los máximos en la producción de copépodos, sin embargo hay que tener en cuenta que el desarrollo de los copépodos es un proceso dependiente de la temperatura, el alimento y en algunos casos la salinidad; pudiendo variar sus características productivas tal como lo expuso Su *et al*⁷² quienes demostraron como la salinidad, la temperatura y el tipo de alimento puede afectar el desarrollo de copépodos en cuanto al tiempo de producción de huevos cyclopoides tales como *Apocyclops royi*.

Según Bagues y Sloane⁷³, mencionan que un alimento poco estable también incide en la pérdida de calidad de agua, originando contaminaciones a la densidad de copépodos y alimento, así mismo el aumento en la densidad de siembra perjudican a los organismos probablemente por la falta de estabilidad en la columna de agua y en la remoción del alimento no consumido, provocando una oxidación y por lo tanto el consumo de oxígeno, formando un medio que permitió la mortalidad excesiva de copépodos.

6.2.1 Temperatura. La prueba estadística de Kruskal Wallis, demostró que no existen diferencias significativas entre los seis tratamientos sobre la temperatura (Anexo B). La temperatura promedio registrada durante los 6 días de cultivo fue de 27,9 °C (Figura 22) un rango adecuado para *Paracalanus parvus* bajo condiciones de laboratorio. Según estudios tomados por Velásquez, Rosas, Cabrera, Millán y Hernández citando a Maier⁷⁴ y Amarasinghe *et al*⁷⁵ demostraron que la temperatura fue significativa para el crecimiento y desarrollo del copépodo calanoideo *Heliodiaptomus viduus* cultivado a dos concentraciones de alimento y tres temperaturas (22,5; 27,5 y 32,5 °C).

Según los estudios de Velásquez, Rosas, Cabrera, Millán y Hernández citando a McLaren⁷⁶, Ban⁷⁷ y Santer y Bosch⁷⁸ indican que los copépodos calanoides,

⁷² SU, H; CHENG, S; CHEN, T and SU, M. Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing in Taiwan. *In*: Copepods in Aquaculture, Iowa, USA: Lee C, O'Bryen P, Marcus N. Blackwell Publishing. 2005. p. 183-194.

⁷³ BAGUES, M and SLOANE. Effects of dietary protein and Stach levels on growth and survival of *Penaeus monodon* fabricius Postlarvae. *In*: Aquaculture. Florida: s.n.e,1981. p. 117- 128.

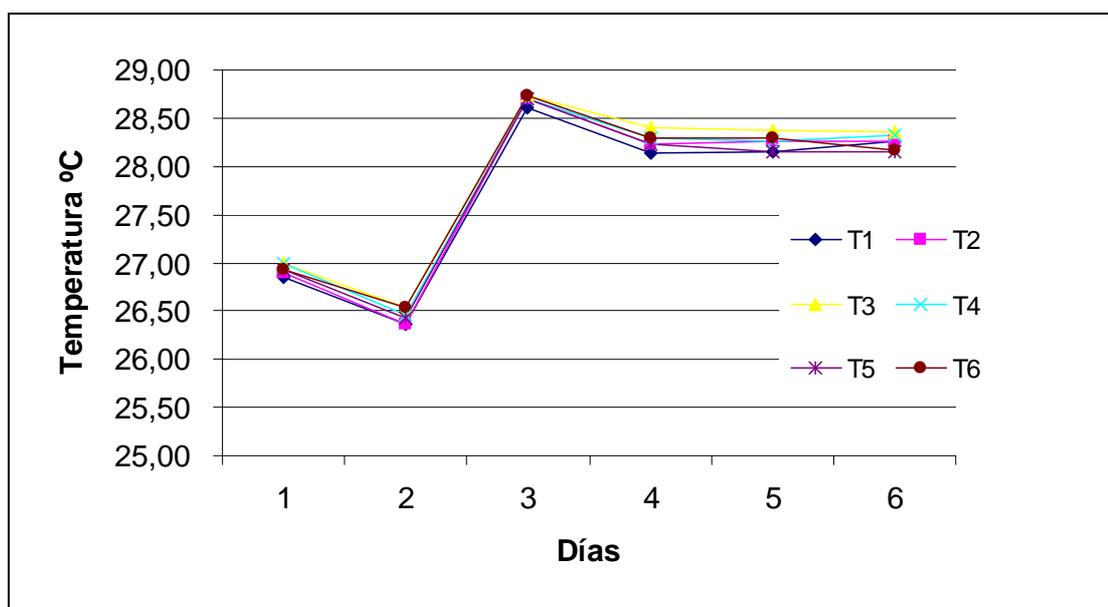
⁷⁴ MAIER, G. Patterns of life history among cyclopoid copepods of central Europe Freshwater Biology. England : Mc Graw Hill, 1994. p. 77-86.

⁷⁵ AMARASINGHE B, BOERSMA M and VIJVERBER J G. The Effect of temperature, and food quantity and quality on the growth and development rates in laboratory – cultured copepods and cladocera from a Sri Lankan reservoir. *Hidrobiología* 1997. p. 131–144.

⁷⁶ MCLAREN. Some relationships between temperature and egg size, body size, development rate and fecundity, of the copepod *Pseudocalanus*. *In*: *Limnology and Oceanography*. Florida. Vol. 10, No. 1 (1983); p. 528-538.

ciclopoides en el plancton marino son poiquiloterms y su desarrollo depende estrictamente de la temperatura cuando están en presencia de cantidades de alimento igual o en exceso a sus necesidades nutricionales.

Figura 22. Curva de temperatura en los tratamientos.



6.2.2 Oxígeno disuelto. En esta investigación los rangos de oxígeno se mantuvieron entre 4,38 a 9,37 mg/L (Figura 23), siendo el tratamiento de *Isochrysis galbana* el que presentó el valor más bajo al sexto día con un valor de 4,38 mg/L, mientras la combinación de *Isochrysis galbana* más *Tetraselmis suecica*, presentaron el valor más alto 9,37 mg/L al cuarto día de cultivo, debido posiblemente a que los dos generan mayor cantidad de oxígeno en sus procesos fotosintéticos. La prueba estadística de Kruskal Wallis (Anexo C), demostró que no existen diferencias significativas entre los seis tratamientos sobre el oxígeno.

El nivel de oxígeno en el quinto día disminuyó, debido a que para estos días la población de nauplios empieza a consumir el mayor número de microalgas y por ende el gasto de oxígeno es mayor debido a la densidad de copépodos que existen y a la ausencia de aireación en los cultivos, además el cambio de mudas afecta directamente con la calidad del agua, tal como lo afirma Ruiz y Jiménez⁷⁹

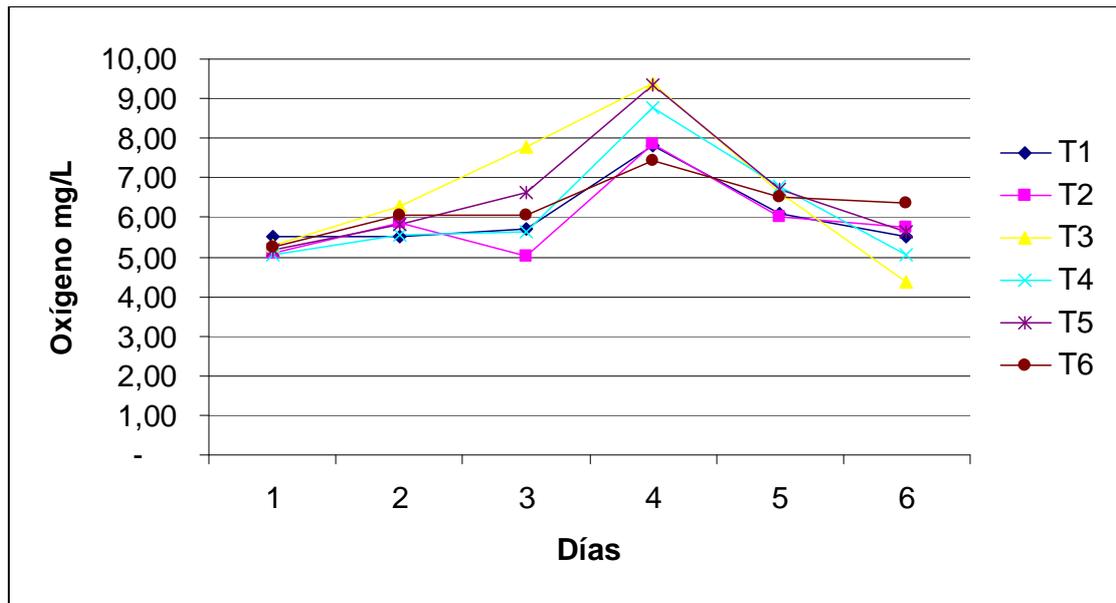
⁷⁷ BAN S. Effect of temperature and food concentration on post-embrionic development, egg production and adult body size of calanoid copepod *Eurytemora affinis*. In: Journal of Plankton Research. Iowa: s.n.e, 1994. p. 721-735.

⁷⁸ SANTER B y BOSCH F. Herbivorous nutrition of cyclops vicinus: the effect of pure algal diet on feeding, development, reproduction and life cycle. In: Journal of Plankton Research. Iowa: s.n.e, 1994. p. 171-195.

⁷⁹ RUIZ y JIMÉNEZ., Op. Cit., p. 36-38.

en estudios sobre cultivo de copépodos ciclopoideos en acuarios, quienes indicaron que el crecimiento de la población fue un factor limitante puesto a que la densidad de organismos se incrementa y el cambio en la cantidad de oxígeno entre el día y la noche aumento hasta el punto de agotarse, teniendo en cuenta que no había aireación en dichos cultivos.

Figura 23. Curva de oxígeno disuelto.



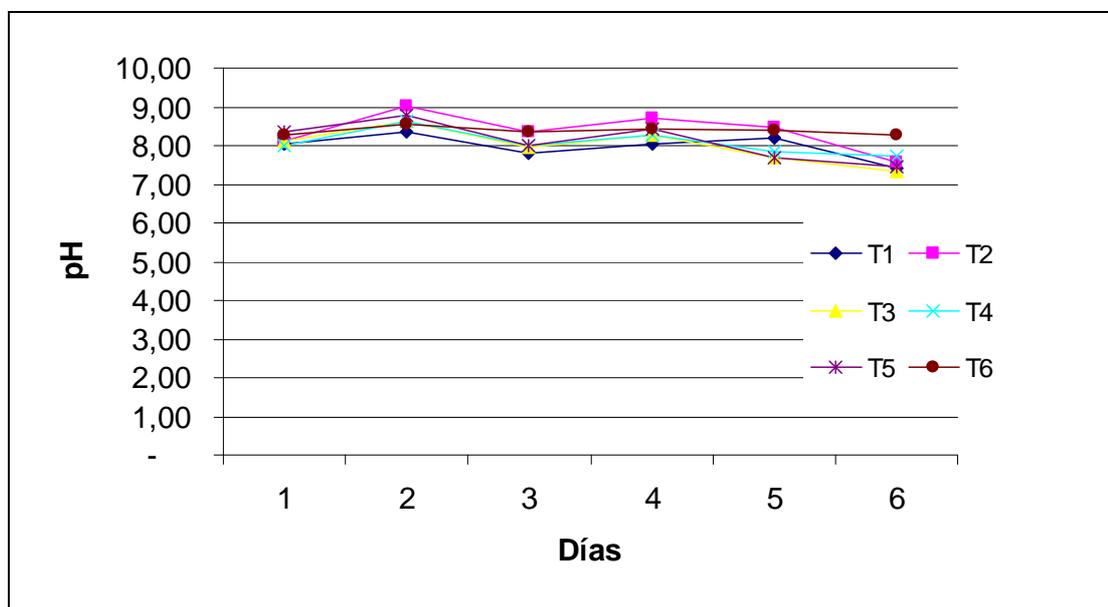
En comparación con los valores obtenidos por Torres⁸⁰ en cuanto al oxígeno, hubo variaciones significativas entre los tratamientos; siendo el nivel de oxígeno en la dieta monoalgal de *T. suecica* el más bajo con 2,1 mg/L presentando diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos.

6.2.3 Potencial de hidrogenación (pH). La acidez y la alcalinidad del agua son factores importantes que deben ser considerados en la acuicultura. El pH para el agua de esta investigación se mantuvo entre 7,56 y 8,36 (Figura 24) lo que produjo un leve cambio entre los tratamientos, estos valores comparados con los obtenidos en un cultivo de *Cyclopina sp* es apto para cultivo de estos copépodos como lo reporta Torres⁸¹. Según la prueba Kruskal wallis ($p < 0,05$) (Anexo D), existen diferencias significativas entre las medianas a un nivel de confianza del 95% y la prueba de Bonferroni, indicó que el T1 y T6 mostró diferencias estadísticamente significativas a un nivel de confianza 95%.

⁸⁰ TORRES, Op. Cit., p.52.

⁸¹ Ibid., p.52.

Figura 24. Curva de pH.



En igual sentido Carcamo citando a Rajkumar y Kumaraguru⁸², reportan para el cultivo del calanoide *Acartia clausi* que el pH entre valores de 7 a 8,5, indican que los niveles son adecuados para el desempeño de esta especie.

6.3 TIEMPO GENERACIONAL

El tiempo registrado para *Paracalanus parvus* desde inicio del cultivo hasta la aparición de los primeros nauplios en este trabajo fue de 7 días menos al registrado por Torres citando a Schipp *et al*⁸³, quienes reportan un tiempo generacional de ocho días para *Acartia* sp; mientras Rippingale y Payne⁸⁴ reportan tiempos generacionales de hasta 10 días para *Gladioferens imparipes* en las condiciones óptimas locales (Tabla 7). En general, se pudo determinar que el alimento influye marcadamente en los aspectos reproductivos de estos organismos, que adicionalmente pueden variar dependiendo de las condiciones en cuanto a los factores fisicoquímicos.

⁸² RAJKUMAR M, KUMARAGURU vasagam K.P. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): Compared to traditional live-food organisms with special emphasis on the nutritional value. *In*: Aquaculture. California. Vol. 261, No. 23 (2006); p. 649–658.

⁸³ SCHIPP *et al*, Op. Cit., p. 81-174.

⁸⁴ PAYNE y RIPPINGALE, Op cit., p. 201-329.

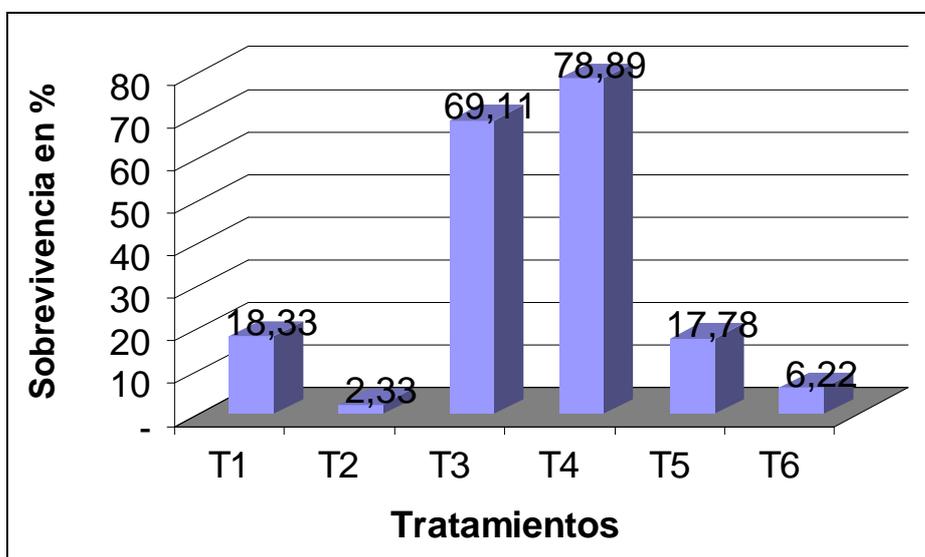
Tabla 7. Comparación del Tiempo generacional de *P. parvus* con otras especies

Especie	Tiempo generacional en días	Fuente
<i>P. parvus</i>	7	-----
<i>Oithona</i> sp	7,20 ± 0,17	Torres (2008)
<i>Acartia</i> spp	8	Schipp et al. (1999)
<i>Gladioferens imparipes</i>	10	Rippingale & Payne (2001)

6.4 SOBREVIVENCIA

La prueba estadística de Brand Snedecor demostró que existen diferencias significativas entre los seis tratamientos sobre la sobrevivencia (Anexo E). Además el contraste para la diferencia entre dos proporciones (Anexo F) estableció que el tratamiento con mayor cantidad de copépodos fue el tratamiento 4, (*I. galbana* más *T. suecica*), alcanzando una sobrevivencia de 78.89 % demostrando que existe preferencia por la mezcla de microalgas (Figura 25).

Figura 25. Porcentaje promedio de sobrevivencia para los diferentes tratamientos.



En comparación con los trabajos realizados por Cambefort-Florez y Arcos⁸⁵ afirman que el desarrollo naupliar resultó ser mayormente favorecido al alimentar con la microalga *Isochrysis galbana*. Donde presentó un mayor índice de supervivencia y alcance de desarrollo en cuanto a los estadíos al alimentar con esta especie.

Los nauplios lograron crecer y cambiar a estadíos de copepodito únicamente con *Isochrysis*, las demás dietas no lograron que los nauplios cruzaran a estadíos de copepodito debido a que según Cambefort-Florez y Arcos⁸⁶ la *Isochrysis galbana* microalga pequeña y móvil con un tamaño celular promedio de 5 x 3,5 µm, es un excelente alimento para los estadíos naupliar de copépodos calanoideos, y es rica en el ácido graso insaturado docosahexanoico (DHA) que ha probado ser beneficioso para el crecimiento, desarrollo y supervivencia de larvas de peces marinos, así mismo altos niveles de DHA pueden también producir efectos positivos en la productividad a largo plazo de los copépodos.

Santer y Bosch⁸⁷, mencionan que una diferencia entre los nauplios y los copepoditos en cuanto a su sobrevivencia y desarrollo, es que los últimos pueden hacerlo a más bajas concentraciones de alimento, además de que responden de manera menos sensitiva que los nauplios a esas bajas densidades de alimento.

Un factor adicional que pudo influir en los resultados del presente estudio es que pudo darse un menor gasto energético que supone la captura de microalgas grandes como *T. suecica*, respecto a las de menor tamaño como lo señaló Abdullahi⁸⁸, quien indica que en la captura de un gran número de organismos de pequeño tamaño y rápidos movimientos es posible un mayor gasto de energía que la usada en la captura de organismos de peso y volumen similar a la del depredador.

6.5 FECUNDIDAD DE HEMBRAS.

La producción de hembras según la prueba Kruskal wallis ($p < 0,05$) (Anexo G), demostró que existen diferencias significativas entre tratamientos, y la prueba de Bonferroni, al 95% de confianza (Anexo H), estableció como los mejores resultados al T3 y T5; los cuales se evaluaron mediante uso de cámaras multiceldas de 14 espacios. Las hembras de cada tratamiento fueron tomadas de

⁸⁵ CAMBEFORT-FLOREZ Santiago y ARCOS Fernando. Efecto de las Microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis sp.* e *Isochrysis galbana* sobre la Reproducción y Desarrollo Naupliar en Copépodos Calanoideos Marinos Tropicales, *Acartia spp*, Guayaquil, Ecuador: Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar (FIMCM) y Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), 2000. p. 3.

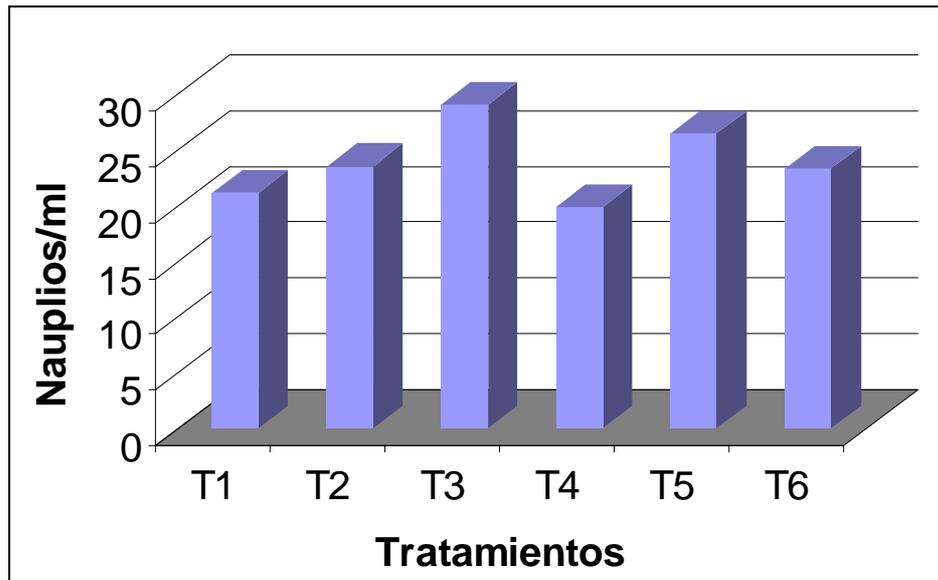
⁸⁶ Ibid., p. 6.

⁸⁷ SANTER y BOSCH, Op. cit., p. 171–195.

⁸⁸ ABDULLAHI B. Effects of diet on growth and development of three species of cyclopoid copepods. *Hidrobiologia*. 1992. p. 223-241.

la cosecha de los recipientes de 3,0 L y sembradas en cada celda con volumen algal de 30 ml, determinando que el número de nauplios producidos por tiempo de incubación es de 24 horas, logrando las hembras a producir 29,09 Nauplios*desove, con *I. galbana* a una concentración de $2 \cdot 10^5$ cel/ml (Figura 26).

Figura 26. Número promedio de nauplios *Paracalanus parvus*



Estos valores son diferentes a los descritos por Ruiz y Jiménez⁸⁹ en una investigación con *Cyclopina* en cuanto al número de huevos producidos por incubación que fue de 23 huevos por evento reproductivo en 48 horas, en comparación con la especie trabajada en esta investigación el evento reproductivo se desarrollo en solo 24 horas produciendo un mayor numero de nauplios por desove.

Según estudios de Stottrup citando a Shields *et al*⁹⁰ y Mckinnon *et al*⁹¹ mencionan que la fecundidad de *Parvocalanus sp* mejora cuando se alimentan con la mezcla de microalgas *Chaetoceros sp* y *Isochrysis sp* comparando con las dietas monoalgales, aunque la producción de huevos mas alta fue de 31 huevos por hembra/día que se obtuvo de hembras de *P. cassirostris* alimentadas con *Heterocapsa niei*. Shields *et al*⁹², mencionan que el sistema de productividad es alto para especies como Paracalanoides cuya producción diaria es de 3750

⁸⁹ RUIZ y JIMÉNEZ, Op. Cit., p. 16.

⁹⁰ SHIELDS, R.J.; KOTANI, T; MOLNAR, A; MARION, K; KOBASHIGAWA, J and TANG, L. Intensive cultivation of a subtropical paracalanid copepod, *Parvocalanus sp*, as prey for small marine fish larvae. In: Copepods in Acuaculture, Oxford: By C.-S. Lee, P.J. O`Bryen, N.H. Marcus, Blackwell Publishing Ltd. 2005. p. 209-223.

⁹¹ MCKINNON *et al*, Op. cit., p. 67.

⁹² SHIELDS, *et al*, Op. cit., p. 210.

nauplios.L⁻¹ para cultivo de *Parvocalanus* sp en 400 L. Una producción más alta se obtuvo para un especie de *Acartia* tropical 444 nauplios.L⁻¹ en un cultivo de 1000 L y 878 nauplios.L⁻¹ para cultivo de *G. imparipes* en volúmenes de 500 L.

6.6 DENSIDAD POBLACIONAL EN CULTIVOS MASIVOS.

El cultivo realizado en tanques de 4000 L, con *Isochrysis galbana* mostró diferencias significativas en crecimiento y composición poblacional de *P. parvus*, siendo mejor la producción de nauplios durante los cuatro primeros días de cultivo, a diferencia de los que se desarrollaron en volúmenes de 3,0 L que fue de 7 días, debido a que en los tanques tuvieron mayor distribución de espacio, aireación suave y buena condición reproductiva para desarrollarse mas rápidamente, con parámetros fisicoquímicos que se encuentran dentro del rango que soporta la especie (Tabla 8).

Tabla 8. Parámetros fisicoquímicos del agua durante la prueba de alimentación para *Paracalanus parvus* en volumen de 3,0 m³.

#Tanques	T°C	pH	O ₂
1	26.21	7.82	6.75
2	26.45	8.05	5.69
3	27.52	8.19	7.45
4	28.96	8.34	6.5

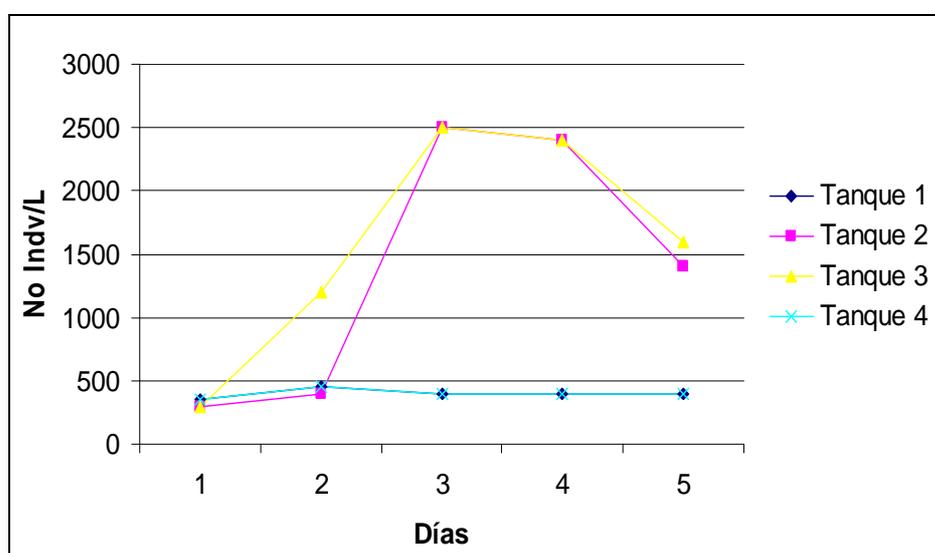
La concentración de la microalga *I. galbana* utilizada para la alimentación de los copéodos al inicio del cultivo fue de 2.5x10⁴ cel.ml⁻¹, un valor por debajo de la densidad microalgal de la misma dieta de los ensayos de 3.0 L.

El mayor número de nauplios producidos en las condiciones evaluadas fue alcanzado al tercer día de cultivo en el tercer estanque, con un promedio de 7.5 nauplios.ml⁻¹ (Figura 27), en el mismo estanque los adultos alcanzaron al segundo día una producción de 2.4 adultos.ml⁻¹ (Figura 29). La población de copepoditos alcanzó su máximo al segundo día en el segundo estanque, produciendo 4.8 copepoditos.ml⁻¹ (Figura 28), a diferencia de la producción de nauplios que alcanzó su máxima población al tercer día.

El momento de la disminución de los nauplios estuvo claramente acompañada de una disminución en la concentración de microalgas de los tanques de copéodos, posiblemente a problemas en la concentración de células alcanzada en los tanques de 2 m³ de cultivo algal de la estación.

Los resultados obtenidos muestran que son muy satisfactorios y promisorios pues Hernández y Álvarez-Lajonchere⁹³ mencionan que en el cultivo con *Oithona oculata* se obtienen promedios de 5 copépodos.ml⁻¹ en policultivo con el rotífero *B. rutundiformis* en sistemas de 2.5 m³. En este trabajo de investigación con la especie *P. parvus* alcanzó su máxima población debido a que en su desarrollo con *I. galbana* pudo demostrar que solo con esta especie se alcanza altas densidades de siembra en cultivos masivos, favoreciendo la producción de larvas de peces marinos en cuanto a alimentación y sobrevivencia de la especie.

Figura 27. Curva de crecimiento poblacional de nauplios en tanques de 4 Ton



La concentración de algas en los tanques de copépodos al inicio del experimento se logró mantener dentro del cultivo, y a partir del segundo día se incrementó en cuanto a que los copépodos adultos necesitaban más cantidad de alimento, por lo cual se manejó un reajuste a la concentración de algas de $8-10 \times 10^4$ cel.ml⁻¹ hasta los cuatro días de haber iniciado el ensayo.

⁹³ HERNÁNDEZ O, ALVAREZ-LAJONCHÉRE L., Op. cit., p. 471-483.

Figura 28. Curva de crecimiento poblacional de copepoditos en tanques de 4 Ton.

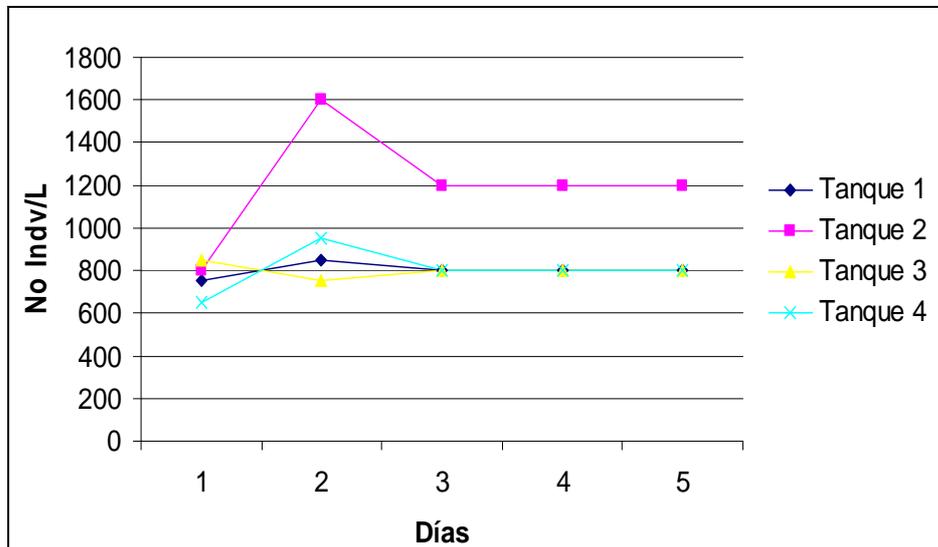
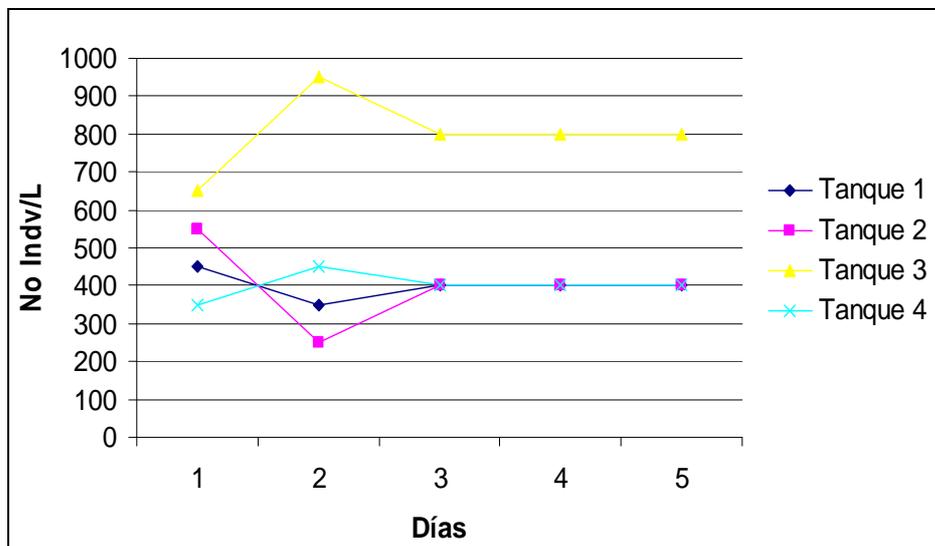


Figura 29. Curva de crecimiento poblacional de Adultos en tanques de 4 Ton.



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- Las microalgas *I. galbana* y *Chaetoceros gracilis* se perfilan como dietas adecuadas para el cultivo de copépodos en la producción de huevos y la fecundidad de las hembras de *Paracalanus parvus*.
- El tipo de alimento suministrado tiene efecto sobre el crecimiento, la capacidad de producir cargas de huevos y la fecundidad de las hembras en obtener nauplios con mayor valor nutricional.
- Los mejores tratamientos para crecer nauplios se obtuvieron con la combinación de *I. galbana* mas *T. suecica*, y en forma monoespecifica *I. galbana*, perfilando como dietas adecuadas para cultivo de copépodos a nivel de ensayos.
- El crecimiento en cultivo de *Paracalanus parvus* puede ser realizado utilizando *I. galbana* como única dieta, en la cual pueden alcanzar densidades superiores aun en bajas concentraciones de esta microalga.
- Los cultivos masivos de copépodos dependen del manejo de las dietas algales mixtas y la no contaminación con otras especies pues aseguran un cultivo monoespecifico satisfactorio.
- El copépodo *Paracalanus parvus*, posee un estadio naupliar planctónico de tamaño de (46.2 μm), adecuado para la larvicultura de peces marinos en la primera alimentación.
- Establecer el crecimiento poblacional del *Paracalanus parvus* en cuanto a aspectos reproductivos es garantizar el potencial de cultivo como alimento vivo en la larvicultura comercial.

7.2 RECOMENDACIONES

- Establecer cultivos iniciales de copépodos comenzando con poblaciones base-inóculos que garanticen con la estabilidad poblacional y la sobrevivencia de los nauplios.
- Promover el mantenimiento y la conservación de las cepas de copépodos con el fin de mejorar las técnicas de producción.

- Reforzar los seguimientos diarios de las densidades de los cultivos mejorando la producción.
- Implementar el uso de las microalgas *Isocrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis* para proporcionar una dieta más adecuada a los copépodos en todos sus estadios.
- Generar cultivos en mesocosmos con mayor número de zooplancton para garantizar mayor variabilidad en tamaño y en composición nutricional.
- Implementar el uso del copépodo calanoide para proporcionar una dieta mas variada a las larvas de pargo en su primera fase de vida.
- Determinar la composición bromatológica y el perfil de ácidos grasos del *Paracalanus parvus* y de otros copépodos, garantizando la calidad de alimento vivo y el perfil nutricional de las larvas al ser estos consumidos.
- Mejorar los trabajos de investigación para aislar otra cepa de copépodos para evaluar su potencial en la larvicultura de pargo lunarejo.

BIBLIOGRAFÍA

ABDULLAHI B. Effects of diet on growth and development of three species of cyclopoid copepods. *Hidrobiologia*. 1992. p. 223-241.

ÁLVAREZ – LAJONCHERE, L. y HERNÁNDEZ Olga. Producción de juveniles de peces estuarinos para un centro en América Latina y el Caribe: Diseño, Operación y Tecnología. México: Universidad Autónoma de Tabasco, 2001. p. 24.

AMARASINGHE B, BOERSMA M and VIJVERBER J G. The Effect of temperature, and food quantity and quality on the growth and development rates in laboratory – cultured copepods and cladoceraus from a Sri Lankan reservoir. *Hidrobiología* 1997. p. 131–144.

BAGUES, M and SLOANE. Effects of dietary protein and Stach levels on growth and survival of *Penaeus monodon* fabricius Postlarvae. In: *Aquaculture*. Florida: s.n.e,1981. p. 117- 128.

BAN S. Effect of temperature and food concentration on post-embrionic development, egg production and adult body size of calanoid copepod *Eurytemora affinis*. In: *Journal of Plankton Research*. Iowa: s.n.e, 1994. p. 721-735.

BERGER I, MAIER G. The mating and reproductive biology of the freshwater planktonic calanoid copepod *Eudiaptomus gracilis*. *Freshwater Biology*. California: Mc Graw Gill, 2001. p. 46-94.

BERGOT, P; GUILLAUME, J; KAUSHIK, S; y METAILLER, R. Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos. Madrid: Ediciones Mundi prensa, 2004. p. 258

BOTERO, Julián. Reproducción artificial de peces marinos. En: Reproducción de peces en el trópico. Bogota: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, (Octubre, 2005). p. 201-202.

BRADFORD G. Key to calanoid copepod families: National Institute of Water and Atmospheric Research. Wellington New Zealand. 2002. Disponible en Internet: URL: <http://crustacea.net>.

CARCAMO Yamiles. Producción Planctónica De Cuatro Sistemas De Mesocosmos Para su aplicación en la Larvicultura De Peces Marinos. Punta Canoa, departamento de Bolívar, 2008, 55 p. Trabajo de grado (Profesional en

Acuicultura). Universidad de Córdoba Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Departamento de Ciencias Acuícolas Montería.

CASTRO, ANDRADE Thalia, CASTRO G, MALPICA, J, y SÁNCHEZ, A. Alimento vivo en la acuicultura. Departamento El Hombre y su Ambiente. México. 2003. Disponible en Internet, URL: [Htpt: www. Iztapalapa.vam.mx](http://www.Iztapalapa.vam.mx).

CAMBEFORT-FLOREZ Santiago y ARCOS Fernando. Efecto de las Microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis sp.* e *Isochrysis galbana* sobre la Reproducción y Desarrollo Naupliar en Copépodos Calanoideos Marinos Tropicales, *Acartia spp*, Guayaquil, Ecuador: Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar (FIMCM) y Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), 2000. p. 3.

CIVERA-CERECEDO, R., ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C.A, y MONCAYO-LÓPEZ, F.J, Nutrición y Alimentación de Larvas Peces Marinos México. 2004. Disponible en Internet: URL: <http://www.educacion.uanl.mx>.

GAMBOA, Hernando y VALVERDE, Juan. Aspectos básicos para la reproducción del Pargo Lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869). En: Reproducción de peces en el trópico. Bogota: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER) y Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, (2005). p. 231.

GAMBOA, Hernando. Inventario estación Acuícola Bahía Málaga. Instituto Colombiano de Desarrollo Rural INCODER. 2006; p.1.

GAVIRIA Santiago y ARANGUREM Nelson, Especies de vida libre de la subclase copepoda (Arthropoda, Crustácea) en aguas continentales de Colombia. En: Biota Colombiana. Bogotá. (Enero-Junio, 2007); p.53. Disponible en Internet URL: <http://www.siac.net.co>.

HERNÁNDEZ O, ALVAREZ-LAJONCHÉRE L. Culture experiments with *Oithona oculata* Ferran, 1913 (Copepoda: Cyclopoida), and its advantages as food for marine fish larvae. In: Aquaculture. Cuba. Vol. 219, No. 13 (November, 2002); p. 471-483.

HERRERA, M. Desarrollo científico y tecnológico para el cultivo de pargos *Lutjanus sp* en jaulas flotantes. México: Secretaria de pesca, Subsecretaria de fomento y desarrollo pesquero, Instituto de Acuicultura del estado de Sonora, 1994. p. 84.

HICKS G, COULL B. The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. In: Oceanogr. Rev. California. Vol. 5, No 6 (1983). p. 67–175.

JAUME Damiá CONRADI Mercedes, LOPEZ-GONZALEZ Pablo J. Curso practico de entomologia. Copepodos. IMEDEA, Instituto Mediterraneo de Estudios Avanzados, departamento de fisiologia y zoologia. Sevilla España: Esporles, 2000. p.303.

KRAUL S, AKO H, NELSON A, BRITTAIN K, OGASAWARA A. Evaluation of live feeds for larval and postlarval mahimahi, *Coryphaena hippurus*. USA: J. World Aquacult Soc, 1992. p. 299–306.

LEAVERNS, Patrick y SURGE, Leos Patrick; Manual on the production and use of live food for aquaculture: laboratory of aquaculture and artemia reference center. University of Ghent Belgium: FAO, Ghent. 1997. p. 295.

LEE K, PARK H, LEE S, KANG H. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov. Aquaculture 2006. p.1-4.

MAIER, G. Patterns of life history among cyclopoid copepods of central Europe Freshwater Biology. England : Mc Graw Hill, 1994. p. 77-86.

MARTÍNEZ, Marcial; HERRERA, Agustín; DOMÍNGUEZ, Federico; VASQUEZ, Bertha y FUERTE, Marcial. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en las costas de Guerrero. En: Revista de Biología Marina y Oceanografía. México: s.n.e, Vol. 1, No. 36, (Julio, 2001). p. 4-6.

MARCUS N. y MURRAY M. Copepod diapause eggs: a potential source of nauplii for aquaculture. In: Aquaculture. Florida. Vol. 201, No 32 (December, 2000); p. 201.

MCKINNON A, DUGGANS S, NICHOLS P, RIMMER H, SEMMENS G, ROBINO B. The potencial of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. In: Aquaculture, Ámsterdam. Vol. 223, No 13. 2003. p. 89-106.

MCLAREN. Some relationships between temperature and egg size, body size, development rate and fecundity, of the copepod *Pseudocalanus*. In: Limnology and Oceanography. Florida. Vol. 10, No. 1 (1983); p. 528-538.

MUÑOZ-GUTIERREZ, Mario Estaban. Alimento Vivo para Peces. En: Revista Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá. Vol. 7, No. 14 (2007). p. 55.

NANTON D, CASTELL J. The effects of temperature and dietary fatty acids on the fatty acid composition of harpacticoid copepods, for use as a live food for marine fish larvae. Ohio: Mc Graw Hill, 1999. p. 167–175.

- PAYNE M and RIPPINGALE R. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladiferens imparipes*. Australia: Curtin, 2001. p. 309.
- PAYNE M, RIPPINGALE R, CLEARY J. Cultured copepods as food for west Australian fish *Glaucosoma hebraicum* and pink snapper *Pagrus auratus* larvae. In: Aquaculture. Australian. Vol. 194, No. 23 (September, 2000); p. 137-150.
- PERUMAL P and RAJKUMAR M. Zooplankton Centre of Advanced Study in Marine Biology. In: Faunal Diversity Annamalai University, s.n.e, 2001 page 7.
- PRIETO, M, CASTAÑO, F, SIERRA, Juan., LOGATO, P, BOTERO, Julián. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y mesocosmos. En: Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de Córdoba, Departamento de Ciencias Acuícolas, Montería – Colombia: s.n.e, Vol. 11 No. 1 (Marzo, 2006). Disponible en Internet, URL. www.unicordoba.edu.co
- RAJKUMAR M, KUMARAGURU vasagam K.P. Suitability of the copepod, *Acartia clausi* as a live feed for Seabass larvae (*Lates calcarifer* Bloch): Compared to traditional live-food organisms with special emphasis on the nutritional value. In: Aquaculture. California. Vol. 261, No. 23 (2006); p. 649–658.
- RUBIO, Efraín. A. Peces de importancia comercial para el Pacífico Colombiano. Cali, Colombia: Universidad del Valle, CIME, 1988. p. 118.
- RUIZ Javier y JIMÉNEZ Cesar. Aspectos reproductivos y cultivo experimental del copépodo ciclopoide marino *Cyclopina* sp. Loricata, 2007, 36-38 p. Trabajo de Grado (Profesional en Acuicultura). Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Departamento de Ciencias Acuícolas.
- SANTER B y BOSCH F. Herbivorous nutrition of *cyclops vicinus*: the effect of pure algal diet on feeding, development, reproduction and life cycle. In: Journal of Plankton Research. Iowa: s.n.e, 1994. p. 171–195.
- SEWELL, R. The Free swimming Planktonic Copepoda. Systematic Account. The John Murray Expedition 1933-1934. s.l.: Scientific Reports. 1947. Vol. 8. No.1. p. 44.
- SCHIPP G. The Use of Calanoid copepods in Semi-Intensive, Tropical Marine Fish Larviculture. Avances en Nutrición Acuícola. En: VIII Symposium internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México: s.n.e, 2006. Disponible en: URL:<http://www.educacion.uanl.mx>.
- SCHIPP G, BOSMANS J, MARSHALL A. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. In: Aquaculture. Australia. Vol. 174, No. 14 (December, 1998); p. 81-174.

SHIELDS, R.J; KOTANI, T; MOLNAR, A; MARION, K; KOBASHIGAWA, J and TANG, L. Intensive cultivation of a subtropical paracalanid copepod, *Parvocalanus* sp, as prey for small marine fish larvae. In: Copepods in Acuaculture, Oxford: By C.-S. Lee, P.J. O`Bryen, N.H. Marcus, Blackwell Publishing Ltd. 2005. p. 209-223.

SIPAÚBA, TAVARES, Lúcia y ROCHA, Odette. Producao de plancton (fitoplancton e zooplancton) para alimentacao de organismos acuáticos. San Carlos, Sao Paulo Brazil: Rima, 2003. p. 106.

STOTTRUP J. Review on the Status and Progress in Rearing Copepods for Marine Larviculture. Anvantages and Disadvantages Among Calanoid, Harpacticoid and Cyclopoid Copepods. In: VIII Symposium international of Nutritión Aquaculture. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey. México. sne, 2006. Disponible en: URL: <http://w3.dsi.uanl.mx>.

STOTTRUP J. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. Canada: Elsevier, 2000. p., 703–711.

_____. y NORSKER N. Production and use of copepods in marine fish larviculture. Oxford: Elsevier, 1997. p. 155-231.

SU, H; CHENG, S; CHEN, T and SU, M. Culture of copepods and applications to marine finfish larval rearing in Taiwan. In: Copepods in Aquaculture, Iowa, USA: Lee C, O`Bryen P, Marcus N. Blackwell Publishing. 2005. p. 183-194

TORRES G. Cultivo Experimental de los Copépodos Marinos *Oithona* sp Y *Cyclopina* sp. En la estación marina de Bahía Málaga-ICA. Asociación Colombiana de Industriales y Armadores Pesqueros (ACODIARPE). Buenaventura, 2008, 52 p. Trabajo de grado (Profesional en Acuacultura). Universidad de Córdoba. Facultad de Medicina Veterinaria.

VALVERDE, GAMBOA y BOTERO. Reproducción en cautiverio del pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (steindachner, 1869); en condiciones controladas y fomento de su cultivo en la costa pacifica colombiana. Bahía Málaga, 1999, 5 p. Trabajo de investigación. (Biólogo Marino). Universidad del Valle.

VELÁSQUEZ Aidé; ROSAS Jesús; CABRERA Tomas; MILLÁN José y HERNÁNDEZ Miguel. Efecto de *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata* y *Dunaliella salina* sobre el crecimiento poblacional de *Apocyclops distans* (Copepoda, Cyclopoidae) en diferentes condiciones de temperatura e iluminación en la Isla de Margarita. Venezuela. En: Revista de Biología Marina y Oceanografía Vol. 36, Nº 2, (diciembre de 2001); p.192.

VELEZ, Antonio, Producción de Alimento Vivo para Hatchery de Peces Marinos.
En: Conferencia Internacional Aqua Sur Chile: s.n.e, Marzo 2002. Disponible en Internet, URL: www.aquasur.cl.

ANEXOS

Anexo A. Medio modificado de Guillard y Ryther (1962) para cultivos algales.

Nutrients	mg.L ⁻¹ seawater	Stock solution preparations
NaNO ₃	75	Nitrate/Phosphate Solution: (Reactivos grado técnico y, solo analítico para tubos de ensayo)
NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O	5	
Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ O ₈ N ₂ .H ₂ O (Na ₂ EDTA)	4.36	Working Stock: add 100 g NaNO ₃ + 10 g NaH ₂ PO ₄ to 1 liter distilled water (DW)
CoCl ₂ .6 H ₂ O	0.01	
CuSO ₄ .5 H ₂ O	0.01	Trace Metal/EDTA Solution: (Reactivos grado analítico) Primary stocks: make 5 separate 1-liter stocks of (g.L ⁻¹ DW) 10.0 g CoCl ₂ , 9.8 g CuSO ₄ , 180 g MnCl ₂ , 6.3 g Na ₂ MoO ₄ , 22.0 g ZnSO ₄ .
FeCl ₃ .6 H ₂ O	3.15	
MnCl ₂ .4 H ₂ O	0.18	
Na ₂ MoO ₄ .2 H ₂ O	0.006	Working stock: add 1 ml of each primary stock solution + 4.35 g Na ₂ C ₁₀ H ₁₄ O ₈ N ₂ + 3.15 g FeCl ₃ to 1 liter DW
ZnSO ₄ .7 H ₂ O	0.022	
Thiamin HCl	0.1	Vitamin Solution: (Reactivos grado analítico) Primary stock: add 20 g thiamin HCl + 0.1 g biotin + 0.1 g B ₁₂ to 1 liter DW
Biotin	0.0005	
B ₁₂	0.0005	
		Working stock: add 5 ml primary stock to 1 liter DW

Anexo B. Prueba de Kruskal-Wallis para Temperatura

Contraste de Kruskal-Wallis para TEMPERATURA según TRATAMIENTO

TRATAMIENTO	Tamaño muestral	Rango Promedio
1	18	51,4722
2	18	52,4444
3	18	58,2778
4	18	55,2222
5	18	53,7222
6	18	55,8611

Estadístico = 0,562741 P-valor = 0,989646

Anexo C. Prueba de Kruskal-Wallis para Oxígeno

Contraste de Kruskal-Wallis para OXÍGENO según TRATAMIENTO

TRATAMIENTO	Tamaño muestral	Rango Promedio
1	18	50
2	18	45,4167
3	18	60,7222
4	18	47,4444
5	18	61,6111
6	18	61,8056

Estadístico = 5,4168 P-valor = 0,367156

Anexo D. Prueba de Kruskal-Wallis para pH

Contraste de Kruskal-Wallis para pH según TRATAMIENTO

TRATAMIENTO	Tamaño muestral	Rango Promedio
1	18	40,9722
2	18	69,3056
3	18	43,6111
4	18	45,8333
5	18	52,8889
6	18	74,3889

Estadístico = 18,2639 P-valor = 0,00263329

Contraste Múltiple de Rango para pH según TRATAMIENTO

Método Bonferroni al 95 %

TRATAMIENTO	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
1	18	7,98333	X
3	18	8,00444	XX
4	18	8,08278	XX
5	18	8,12333	XX
2	18	8,37056	XX
6	18	8,38556	X

Contraste	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	-0,387222	0,40022
1 - 3	-0,0211111	0,40022
1 - 4	-0,0994444	0,40022
1 - 5	-0,14	0,40022
1 - 6	*-0,402222	0,40022
2 - 3	0,366111	0,40022
2 - 4	0,287778	0,40022
2 - 5	0,247222	0,40022
2 - 6	-0,015	0,40022
3 - 4	-0,0783333	0,40022
3 - 5	-0,118889	0,40022
3 - 6	-0,381111	0,40022
4 - 5	-0,0405556	0,40022
4 - 6	-0,302778	0,40022
5 - 6	-0,262222	0,40022

* indica una diferencia significativa

Anexo E. Prueba de Brand Snedecor para Supervivencia de *Paracalanus parvus*

Respuesta	T1	T2	T3	T4	T5	T6	Total
Éxito	825	105,00	3.110,00	3.550,00	800,00	280,00	8.670,00
Fracaso	3675	4395	1.390,00	950,00	3.700,00	4.220,00	18.330,00
Total	4.500,00	4.500,00	4.500,00	4.500,00	4.500,00	4.500,00	27.000,00
Pi	0,183	0,023	0,691	0,789	0,178	0,062	0,321
Pi*a_i	151,250	2,450	2.149,356	2.800,556	142,222	17,422	2.784,033

Anexo F. Contraste para la diferencia entre dos proporciones

Comparación entre proporciones valores P1-P2

		T1	T2	T3	T4	T5	T6
	Pi	0,18	0,02	0,69	0,79	0,18	0,06
T6	0,06	0,12	-0,04	0,63	0,73	0,12	-
T5	0,18	0,01	-0,15	0,51	0,61	-	-0,12
T4	0,79	-0,61	-0,77	-0,10	-	-0,61	-0,73
T3	0,69	-0,51	-0,67	-	0,10	-0,51	-0,63
T2	0,02	0,16	-	0,67	0,77	0,15	0,04
T1	0,18	-	-0,16	0,51	0,61	-0,01	-0,12

Comparación entre proporciones valores de Z

	T1	T2	T3	T4	T5	T6
T6	17,50	-9,12	61,56	69,71	16,87	-
T5	* 0,69	-24,36	49,12	58,01	-	-16,87
T4	-57,47	-73,94	-10,57	-	-58,01	-69,71
T3	-48,56	-66,10	-	10,57	-49,12	-61,56
T2	24,93	-	66,10	73,94	24,36	9,12
T1	-	-24,93	48,56	57,47	*-0,69	-17,50

Ho se rechaza si:

$Z > Z_{1-\alpha/2} = Z_{0,975} = 1.96$ ó

$Z < Z_{\alpha/2} = Z_{0,025} = -1.96$

* Existen diferencias estadísticas significativas

Anexo G. Contraste de Kruskal-Wallis para Hembras según Tratamiento

TRATAMIENTO	Tamaño muestral	Rango Promedio
1	10	26,9
2	14	34,3929
3	11	56,4091
4	14	18,7143
5	12	48,25
6	10	34,4

Estadístico = 27,0088 P-valor = 0,0000568181

Anexo H. Contraste Múltiple de Rango para Hembras según Tratamiento

Método Bonferroni al 95 %			
TRATAMIENTO	Frecuencia	Media	Grupos homogéneos
4	14	19,8571	X
1	10	21,2	XX
6	10	23,4	XX
2	14	23,5714	XX
5	12	26,5	XX
3	11	29,0909	X

Contraste	Diferencias	± Límites
1 – 2	-2,37143	5,19327
1 – 3	*-7,89091	5,4804
1 – 4	1,34286	5,19327
1 – 5	-5,3	5,37057
1 – 6	-2,2	5,60937
2 – 3	*-5,51948	5,05369
2 – 4	3,71429	4,74079
2 – 5	-2,92857	4,93437
2 – 6	0,171429	5,19327
3 – 4	*9,23377	5,05369
3 – 5	2,59091	5,23572
3 – 6	*5,69091	5,4804
4 – 5	*-6,64286	4,93437
4 – 6	-3,54286	5,19327
5 – 6	3,1	5,37057

* indica una diferencia significativa