

# PENÍNSULA DE SANTA ELENA

# FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

"CULTIVO EXPERIMENTAL DE COPÉPODOS MARINOS BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS, CON MIRAS A SU
POTENCIAL USO COMO ALIMENTO VIVO EN EL SECTOR
ACUÍCOLA DEL PAÍS, EN PUNTA CARNERO-SALINAS-SANTA
ELENA, ECUADOR"

# TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del Título de:

### **BIÓLOGO MARINO**

**AUTOR:** ALEXIS HERNÁN SUÁREZ LAINEZ.

TUTOR: MARÍA HERMINIA CORNEJO, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2014-2015

# UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

# FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

"CULTIVO EXPERIMENTAL DE COPÉPODOS MARINOS BAJO
CONDICIONES CONTROLADAS, CON MIRAS A SU
POTENCIAL USO COMO ALIMENTO VIVO EN EL SECTOR
ACUÍCOLA DEL PAÍS, EN PUNTA CARNERO-SALINAS-SANTA
ELENA, ECUADOR"

# TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del Título de:

# **BIÓLOGO MARINO**

**AUTOR:** ALEXIS HERNÁN SUÁREZ LAINEZ.

TUTOR: MARÍA HERMINIA CORNEJO, Ph.D.

LA LIBERTAD – ECUADOR

2014-2015

# **DECLARACIÓN EXPRESA**

"La responsabilidad por las investigaciones, resultados y discusiones expuestos en esta tesis, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal "Península de Santa Elena" (UPSE).

Alexis Hernán Suárez Lainez.

C.I. 2400011843

# **DEDICATORIA**

El presente trabajo escrito es dedicado con amor y cariño a Dios padre todopoderoso, por sus bendiciones diarias, por la fe brindada y apoyo espiritual.

A mi familia.

A mis queridos padres, Sr. Justo Suárez Quirumbay y la Sra. Magaly Lainez, por darme el regalo más sublime "la vida", por brindarme su amor, apoyo, esfuerzo y guiarme por el buen camino.

A mis apreciados hermanos (Franklin, Ivonne y Sheyla), a mis abuelos, tíos y primos quienes estuvieron apoyándome incondicionalmente para el logro de esta meta profesional.

# **AGRADECIMIENTOS**

A las autoridades y personal Académico de la Universidad Estatal Península de Santa Elena por liderar el proceso de formación profesional, en especial a los Directivos y docentes de la Facultad de Ciencias del Mar, por sus grandes enseñanzas.

Al Blgo. Cesar Aguirre Gerente general de CULTRIANZA S.A, por permitir el desarrollo de este trabajo en las instalaciones del laboratorio que dirige, y a los señores: Carlos, Federico, Flavio y Jefferson (personal de servicio del laboratorio en mención), por la ayuda prestada en innumerables ocasiones.

A mis compañeros José Saa Gómez y Alex Ricardo Rosales, por su ayuda en la recolección de material zooplanctónico usado en mi trabajo.

Al Sr. Carlos Alejandro, director del departamento de fitoplancton del laboratorio CORPAQUAR S.A., por su valiosa ayuda, al proporcionándome las cepas de microalgas usadas en este estudio.

Al Blgo. Carlos Andrade Ruiz MSc, (Director de la estación de investigaciones marinas de la Libertad – INOCAR; por su colaboración, prestando material bibliográfico y materiales para el desarrollo de mi trabajo.

En particular a la Dra. María Herminia Cornejo Rodríguez, tutora de este trabajo de titulación, porque con sus ideas científicas profesionales orientó nuestro trabajo, permitiéndome alcanzar este anhelado logro en mi vida profesional.

# TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ocean. Johnny Chavarria V. Ph.D. (c) Decano de la Facultad de Ciencias del Mar.	Blga. Dennis Tomalá S. M.Sc. Directora de la Carrera de Biología Marina.
Blga. María Herminia Cornejo. Ph.D.  Docente Tutor.	Ab. Joe Espinoza A. Mgt. Secretario General.
Blgo. Carlos An	ndrade R. M.Sc.

# ÍNDICE GENERAL

		,	Pág.
		CAPÍTULO I	
1.	INTRO	DDUCCIÓN	1
-	1.1. El zo	oplancton	1
-	1.2. Copé	épodos	2
	1.2.1.	Aspectos morfológicos de los copépodos	2
	1.2.2.	Tamaño	6
	1.2.3.	Alimentación	6
	1.2.4.	Locomoción	7
	1.2.5.	Reproducción	7
	1.2.6.	Ciclo de vida	8
	1.2.7.	Clasificación	9
	1.2.8.	Distribución de los Copépodos	10
	1.2.9.	Importancia ecológica	11
2.	JUSTII	FICACIÓN	12
3.	OBJET	TVOS	23
3	3.1. Ot	ojetivo general	23
3	3.2. Ot	ojetivos específicos	23
4.	HIPÓT	ESIS	23
		CAPÍTULO II	
5.	MARC	CO TEÓRICO	24
		escripción de las principales especies de copépodos identificadas	
		en el cultivo	
	5.1.1.	Acartia tonsa (Dana, 1849)	24
	5.1.2.	Oithona nana (Giesbrecht, 1892)	26
	5.1.3.	Euterpina acutifrons (Dana, 1848)	27

# CAPÍTULO III

6.	MA	RCO METODOLÓGICO	28
	6.1.	Descripción del Área de estudio	28
	6.2. Ai	slamiento y acondicionamiento de copépodos	29
	6.2.1	Zona de recolecta	29
	6.2.2	2. Aislamiento	31
	6.2.3	3. Acondicionamiento	32
	6.3.	Cultivo de copépodos	33
	6.3.1	Siembra	33
	6.3.2	2. Pruebas de alimentación	34
	6.4. Cı	ıltivo de microalgas	37
	6.4.1	l. Origen de las cepas y condiciones de cultivo	37
	6.5.	Identificación de especies de copépodos recolectados	38
		CAPÍTULO IV	
7.	ANÁ	LISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	39
	7.1.	Recolección y Aislamiento de copépodos marinos	39
	7.2.	Identificación de especies de copépodos	42
		Prueba N° 1. Copépodos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Saliro-2015)	
		Prueba N° 2. Copépodos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salir-2015)	
		Prueba N° 3. Copépodos recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Ele-2015)	
	7.6.	Prueba N° 4. Cepas de copépodos, adaptadas al cultivo. (Abril-2015)	50
	7.7.	Otros resultados alcanzados	52
	7.7.1	. Tasa de producción de huevos (TPH)	52
C	ONCLU	USIONES	54
D.	ISCUSI	ÓN	56
R]	ECOME	ENDACIONES	58
B	IBLIOG	RAFÍA	59

# ÍNDICE DE TABLAS

Pág
Tabla I. Características distintivas entre los 5 estadios de copepodito (CI a CV) y         adultos de copépodos.       9
Tabla II. Características de los Tratamientos (T1, T2 y T3), de la Prueba N° 1:         Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas         (Febrero-2015).
<b>Tabla III.</b> Característica del Tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015). 35
Tabla IV. Características de los Tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba N° 3:         Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena         (Febrero-2015).
Tabla V. Características de los Tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba N° 4         Copépodos aislados como cepas puras: Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina         acutifrons (Abril-2015)
<b>Tabla VI.</b> Biomasas y porcentajes mensuales de los grupos zooplanctónicos recolectados en las zonas de Punta Carnero-Salinas y Ballenita-Santa Elena, de donde se aislaron los copépodos para las pruebas en el laboratorio
<b>Tabla VII.</b> Lista de especies de copépodos identificadas para las zonas costeras de Punta Carnero-Salinas y Ballenita-Santa Elena, identificadas de los arrastres con red de 300 u

<b>Tabla VIII.</b> Variables tomadas en los tratamientos (T1, T2 y T3) de la Prueba N° 1:
Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas
(Febrero-2015)
<b>Tabla IX.</b> Variables tomadas para el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos
recolectados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015)
<b>Tabla X.</b> Variables tomadas en los tratamientos T5, T6 y T7. Prueba 3 copépodos
recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Marzo-2015)
<b>Tabla XI.</b> Variables tomadas en los tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba N° 4:
Copépodos aislados como cepas puras: Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina
acutifrons (Abril-2015)
<b>Tabla XII.</b> Tasa de producción de huevos (TPH) de Acartia tonsa reportada en varios
estudios
<b>Tabla XIII.</b> Porcentaje de supervivencia y mortalidad de copépodos efectuados en las
4 pruebas y sus respectivos tratamientos
i pracoas y sas respectivos tratamentos

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pág.
Gráfico No 1. Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m³; Recolectados en la
zona costera de Punta Carnero-Salinas (Enero-2015)
<b>Gráfico No 2.</b> Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m³; Recolectados en la
zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febreo-2015)
<b>Gráfico No 3.</b> Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m³; Recolectados en la
zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015)
<b>Gráfico No 4.</b> Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m³; Recolectados en la
zona costera de Ballenita-Santa Elena (Marzo-2015)
<b>Gráfico No 5.</b> Concentraciones diarias de alimentación para los tratamientos (T1, T2
y T3) de la Prueba $N^\circ$ 1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta
Carnero-Salinas (Febrero-2015)
Gráfico No 6. Número de individuos en los tratamientos (T1, T2 y T3) de la Prueba
N° 1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas
(Febrero-2015)
Gráfico No 7. Concentración diaria de alimentación dieta con Tetraselmis suecica
para el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados y aislados de la
zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015)
<b>Gráfico No 8.</b> Número de individuos en el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2:
Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas
(Marzo_2015)

Gráfico No 9. Concentraciones diarias de alimentación con la dieta Tetraselmis
suecica para los tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba N° 3: Copépodos recolectados
y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Febrero-2015) 48
<b>Gráfico No 10.</b> Número de individuos en los tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba
N° 3: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena
(Febrero-2015)
<b>Gráfico No 11.</b> Concentración de alimento (cel/mL/Día) dieta <i>Tetraselmis suecica</i> con
promedio de $5.39*10^3$ cel/mL en los Tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba $N^{\circ}$ 4:
Copépodos aislados como cepas puras: Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina
acutifrons (Abril-2015)
<b>Gráfico No 12.</b> Número de individuos en los tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba
N° 4: Copépodos aislados como cepas puras: <i>Acartia tonsa</i> , <i>Oithona nana</i> y <i>Euterpina</i>
acutifrons (Abril-2015).

**RESUMEN** 

Los copépodos constituyen un grupo diverso y abundante de pequeños crustáceos

acuáticos que han colonizado todos los regímenes de temperatura, todos los intervalos

de salinidad y todas las profundidades. Su alto valor nutritivo hace que sean codiciados

en la acuacultura marina, para ser utilizados como una fuente de alimento vivo para los

primeros estadios de peces y crustáceos. Copépodos marinos pelágicos fueron

cultivados bajo condiciones controladas de laboratorio, resaltando tres especies:

Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina acutifrons. Se logró establecer un protocolo

para realizar un cultivo de copépodos, donde se reporta que la mejor dieta suministrada

en las pruebas fue con la microalga *Tetraselmis suecica*, y que las concentraciones

diarias de  $6.16*10^3$ ,  $1.36*10^4$  y  $2.38*10^4$  cel/mL respectivamente de estas especies. De

las especies de copépodos que se logró adaptar al cultivo, Euterpina acutifrons fue la

especie que mayor número de individuos generó en las pruebas.

Palabras clave: copépodos, cultivo, tratamientos, Euterpina acutifrons.

XII

**ABSTRACT** 

Copepods are a diverse and abundant group of small aquatic crustaceans that have

colonized the most of temperature, salinity and depths environments within marine

zooplankton. Its high nutritional value makes them important to be used as a source of

live food in aquaculture, for early stages of fish and crustaceans. Three species, Acartia

tonsa, Oithona nana and Euterpina acutifrons were cultured under controlled

laboratory conditions. A culture protocol of copepods was established. The best diet

provided in the tests was to *Tetraselmis suecica* microalgae, with daily concentrations

of 6.16\*10<sup>3</sup> 1.36\*10<sup>4</sup> and 2.38\*10<sup>4</sup> cells/mL of these algal species, respectively.

Euterpina acutifrons got the highest number of individuals.

**Keywords:** copepods, crop treatments, *Euterpina acutifrons*.

XIII

#### **GLOSARIO**

**Abertura genital:** Abertura del sistema reproductivo de los copépodos (Hulsemann, 1996).

Ácidos grasos: Moléculas orgánicas que poseen una cadena hidrocarbonada larga con un grupo carboxilo terminal. La cadena hidrocarbonada puede ser saturada o insaturada al tener uno o varios enlaces dobles. Estos difieren por la longitud de su cadena, el número y la posición de sus enlaces dobles (Diccionario Esencial de las Ciencias, 2000).

**Ácidos grasos esenciales:** Ácidos grasos que no pueden ser biosintetizados por un organismo determinado y que deben ser suministrados en la dieta (Diccionario Esencial de las Ciencias, 2000).

**Ácidos grasos poli-insaturados:** Ácidos grasos que contienen dos o más enlaces dobles, algunos son ácidos grasos esenciales. Los más importantes son los ácidos linoléico, linolénico y araquidónico (Diccionario Esencial de las Ciencias, 2000).

**Alimento vivo:** Alimento conformado por organismos vivos. Ej.: microalgas, artemias, copépodos (Yúfera *et al.*, 1984).

**Aminoácido:** Compuesto orgánico que tiene un grupo amino y un grupo carboxilo en su estructura, principal compuesto de las proteínas, por lo que su distribución y concentración determina las propiedades de estas (Chong-Carrillo y Vega-Villasante, 2003).

Antena: Segundo apéndice cefálico en los crustáceos (Hulsemann, 1996).

**Biomasa:** Peso total en seco de todos los organismos vivos que pueden sostenerse en cada nivel trófico de una cadena alimenticia (Gasca y Suárez, 1996).

**Birrámeo:** Con dos ramas exopodito y endopodito (Hulsemann, 1996).

- **Cefalón:** Región anterior del cuerpo que comprende los primeros cinco segmentos, siempre fusionados de la primera antena a la segunda maxila (Björnberg, 1981).
- **Cefalosoma:** Cefalón y segmentos fusionados que tienen a los maxilípedos (Björnberg, 1981).
- Ciclo de vida: En el caso de los copépodos este comprende el desarrollo completo de los individuos, desde el primer estadio naupliar, hasta el estadio de copepodito seis o adulto (Krebs, 1985).
- **Cohorte:** Un grupo de individuos nacidos en la misma puesta, con la finalidad de que presenten la misma edad (Caswell, 1989).
- **Consumidores:** Organismos que se nutren ya sea directamente a partir de vegetales (herbívoros), o indirectamente, a partir de un productor representado por los seres herbívoros (carnívoros) (Björnberg, 1981).
- **Copepodito:** Estadio postnaupliar o juvenil en el desarrollo de los copépodos; típicamente 5 estadios de copepodito antes del adulto (Hulsemann, 1996).
- **Copépodo:** Pequeños crustáceos pelágicos, bentónicos o parásitos que viven en la columna de agua, son usualmente el grupo dominante del zooplancton marino (Lally y Parsons, 1993).
- **Crustacea:** Clase de artrópodos con un número elevado de especies con cuerpo segmentado, con apéndices pares y un exoesqueleto quitinoso (Bowman y Abele, 1982).
- **Densidad:** Número de individuos con relación al espacio y volumen de área en que están presentes (Krebs, 1985).

**Diatomea:** Vegetal microscópico formado por lo general por una sola célula rodeada de una cubierta de sílice, que vive en agua dulce o salada (Palma y Kaiser, 1993).

**Espermatóforos:** Vesícula oval pequeña en la que el esperma es transferida del macho a la hembra (Sipaúba-Tavares, 1993; Sipaúba-Tavares *et al.*, 2001; Sipaúba-Tavares y Rocha, 2003; McKinnon *et al.*, 2003).

**Espinas:** Elementos de armadura rígida insertadas en un hueco que pasa a través del integumento (Björnberg, 1981).

Endopodito: En copépodos, rama interna de un apéndice (Hulsemann, 1996).

**Exopodito:** En copépodos, rama externa de un apéndice (Hulsemann, 1996).

**Fecundidad:** Capacidad potencial de un organismo para producir unidades reproductivas como huevos, espermatozoides o estructuras asexuales (Krebs, 1985).

**Fitoplancton:** Porción vegetal del plancton. La comunidad de plantas en aguas marinas y dulces que flota libremente en ellas e incluye numerosas especies de algas (Krebs, 1985).

**Fotoperiodo:** Respuesta fisiológica y de comportamiento de organismos a la duración relativa del día y la noche (Krebs, 1985).

Mandíbula: En copépodos, tercer apéndice cefálico (Hulsemann, 1996).

Maxila 1: Cuarto apéndice cefálico (Björnberg, 1981).

Maxila 2: Quinto apéndice cefálico (Björnberg, 1981).

**Maxilípedo:** Apéndice del segmento fusionado al Cefalón, último apéndice del cefalosoma (Björnberg, 1981).

**Metasoma:** Parte del prosoma que comprende a los segmentos pedígeros libres (Björnberg, 1981).

**Nauplio:** Estadio larval de un copépodo, con un par de antenas, anténulas, mandíbulas y cuerpo ovoide, exhiben usualmente seis estadios naupliares antes de la muda metamórfica a primer copepodito (Hulsemann, 1996).

**Nutrición:** Proceso por el que los organismos utilizan el alimento para la obtención de la energía relativa al crecimiento, mantenimiento, reparación y reproducción: Los tres tipos principales son la nutrición autótrofa, la heterótrofa y la quimiotrófica (Diccionario Esencial de las Ciencias, 2000).

Opérculo genital: Placa que cubre la abertura genital (Björnberg, 1981).

**Plancton**: Comunidad de organismos microscópicos que vive flotando libremente en las masas de aguas (Hulsemann, 1996).

**Población:** Grupo de individuos de una sola especie que se reproducen entre sí (Krebs, 1985).

**Producción:** Cantidad de energía o biomasa generados por un individuo, una población o una comunidad, en un periodo específico estandarizado por volumen o área (Krebs, 1985).

**Ramas:** Ramificación de un apéndice ya sea exopodito o endopodito (Björnberg, 1981).

**Rama caudal:** Apéndices en pares sobre la superficie posterior al segmento anal (Björnberg, 1981).

**Rostro:** Extensión media entre la primera antena del margen anterior del cefalón en crustáceos (Hulsemann, 1996).

Segmento: Porción del cuerpo (Björnberg, 1981).

Segmento anal: Segmento terminal del cuerpo, dónde está el ano (Björnberg, 1981).

Segmento genital: Segmento con la abertura genital (Björnberg, 1981).

**Segmento pedígero:** Segmento que lleva un par de patas nadadoras (Björnberg, 1981).

**Seta:** Estructura afilada y flexible que es un elemento de la armadura en la superficie externa de los apéndices en crustáceos (Hulsemann, 1996).

Unirrámeo: Que tiene una sola rama (Björnberg, 1981).

Urosoma: Región del cuerpo posterior a la principal articulación (Björnberg, 1981).

**Zooplancton:** Comunidad de animales de marinos y dulceacuícolas que flotan libremente en el agua, que se mueven pasivamente con las corrientes (Krebs, 1985).

### ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

A1: Anténula (Primera antena).

A2: Segunda antena. Basi: Basipodito. **B1 a B2:** Segmento basipodial 1-2. °C: Grados Centígrados. Cel/mL: Concentración de microalgas, número de células por cada mililitro de agua y/o cultivo. Ceph: Cefalosoma. CR: Ramas caudales. **End:** Endopodito. Exo: Exopodito. FAO: Food and Agriculture Organization / Organización de las naciones unidas para la alimentación la agricultura. **INOCAR:** Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador. Mnd: Mandíbula. Max 1: Primera maxila. Max 2: Segunda maxila.

Mxp: Maxilípedo.

Meta: Metasoma.

pH: Potencial de Hidrógeno

P1 - P5: Patas nadadoras 1 - 5.

**Pro:** Prosoma.

R: Rostro.

**Re1 – Re:** Segmento exopodial 1 - 3.

Ri1 - Ri3: Segmento endopodial 1 - 3.

Se: Seta lateral.

Si: Seta media.

St: Seta terminal.

**TPH:** Tasa de producción de huevos.

TN°1-10: Tratamiento número 1 al 10.

Th1 – Th5: Segmentos toráxicos.

UPS: Unidad Prácticas de Salinidad.

U1: Segmento genital.

U1 – U4: Segmentos del urosoma 1-4.

### CAPÍTULO I

# 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. El zooplancton

El zooplancton está conformado por una amplia variedad de seres, donde se incluyen estadios juveniles, larvarios y adultos de casi todas las taxa de la escala zoológica (Raymont, 1980). Estos organismos que conforman el plancton viven suspendidos en la columna de agua y son transportados pasivamente por los movimientos de las masas de agua. En los ambientes acuáticos las comunidades del zooplancton presentan variaciones espacio-temporales tanto en lo referente a su composición como en su biomasa (Gasca y Suárez, 1996).

Existen varias clasificaciones que pueden ser utilizadas para arreglar los diversos grupos del zooplancton en función de su forma, tamaño, afinidad ecológica, distribución o ciclo vital. La categoría más relevante en términos ecológicos, es la que separa al zooplancton en **meroplancton** y **holoplancton**, el primer grupo constituido por los organismos que solamente en etapas tempranas de su ciclo vital forman parte del plancton y al crecer o desarrollarse adquieren hábitos bentónicos. El holoplancton lo conforman aquellos cuyo ciclo vital transcurre totalmente como parte del plancton.

El zooplancton representa el elemento que asimila, convierte y transfiere la energía y la materia vegetal de la enorme biomasa del fitoplancton hacia los niveles tróficos superiores, pues constituyen el alimento principal de muchos depredadores (Björnberg, 1981). En este contexto las poblaciones de copépodos sostienen el desarrollo de las poblaciones de las etapas tempranas de una gran variedad de peces, algunos de importancia económica, al ser los zoopláncteres más abundantes constituyendo entre el 50 y el 80% del total del zooplancton tanto en aguas oceánicas como en zonas neríticas y costeras (Hulsemann, 1996).

### 1.2. Copépodos

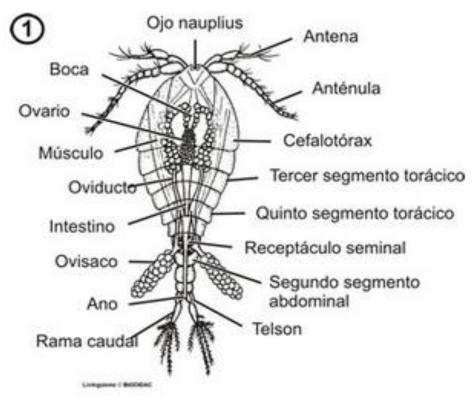
Los copépodos constituyen un grupo de pequeños crustáceos acuáticos que ha tenido un enorme éxito evolutivo (Hulsemann, 1996). Este es un grupo diverso y abundante, que ha colonizado todos los regímenes de temperatura; desde las aguas polares hasta los manantiales cálidos, todos los intervalos de salinidad; desde el agua dulce hasta las lagunas hipersalinas y todas las profundidades; desde las aguas superficiales hasta las trincheras oceánicas (Gasca y Suárez 1996).

La mayoría de los copépodos son de hábitat marino, pero existen también especies de agua dulce, de suelos húmedos, parásitos y comensales de otros organismos, además viven en los sedimentos, entre algas y en asociaciones con otros organismos (Björnberg, 1981). Es el grupo de metazoos con el número de individuos más alto de la biosfera con alrededor de 11.500 especies descritas (Jaume *et al*, 2001).

#### 1.2.1. Aspectos morfológicos de los copépodos

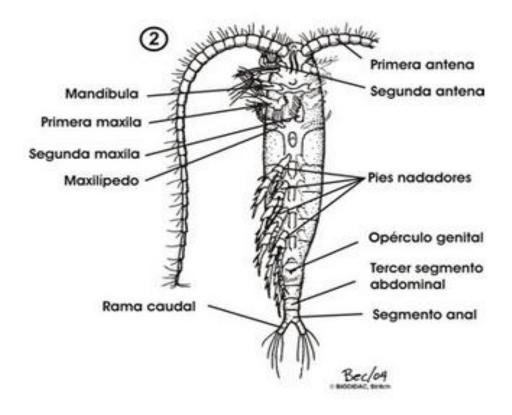
El cuerpo es alargado, casi cilíndrico, más ancho en la parte delantera. La cabeza, cuyo extremo suele ser redondeado, tiene un ojo nauplio bien visible y dos antenas primarias largas y perpendiculares al cuerpo (**Figuras 1 y 2**).

La cabeza y el tórax constituyen la parte anterior denominada cefalotórax o cefalosoma. Los seis pares de apéndices cefálicos son: El primer par de antenas unirrámeas, un segundo par de antenas birrámeas modificadas en un endo y exopodito, las mandíbulas provistas de gnatobase y palpos birrámeos, las maxilas, un primer par de maxilípedos siempre unirrámeos y un segundo par de maxilípedos (Björnberg, 1981).



**Figura 1**. Vista dorsal de un copépodo. Fuente: Asturnatura. http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php (03/02/2015).

El tórax o metasoma está formado por seis segmentos, el primero de los cuales se fusiona con la cabeza para constituir el cefalosoma. El primer par de apéndices funciona como maxilípedo. Los demás segmentos toráxicos restantes se emplean en la locomoción, llevan un par de apéndices birramosos y tienen una placa de unión entre las dos ramas para que batan acompasadamente. El quinto par de apéndices o P5 generalmente el último de la mayoría de los copépodos, suele estar modificado, en los machos se transforman en un órgano copulador, en las hembras está atrofiado o ausente (Björnberg, 1981).



**Figura 2.** Vista ventral de un copépodo. Fuente: Asturnatura. <a href="http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php">http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php</a> (03/02/2015).

El abdomen o urosoma, formado por 5 segmentos más estrechos que los toráxicos, En los dos primeros los gonoporos están cubiertos por una placa quitinosa "La placa genital u opérculo genital". El último segmento abdominal o telson es el anal y termina en dos ramas caudales o furcas paralelas, más o menos divergentes y articuladas con el segmento caudal (Björnberg, 1981).

En la **Figura 3** se muestran las partes de la anatomía externa que se presentan en un copépodo.

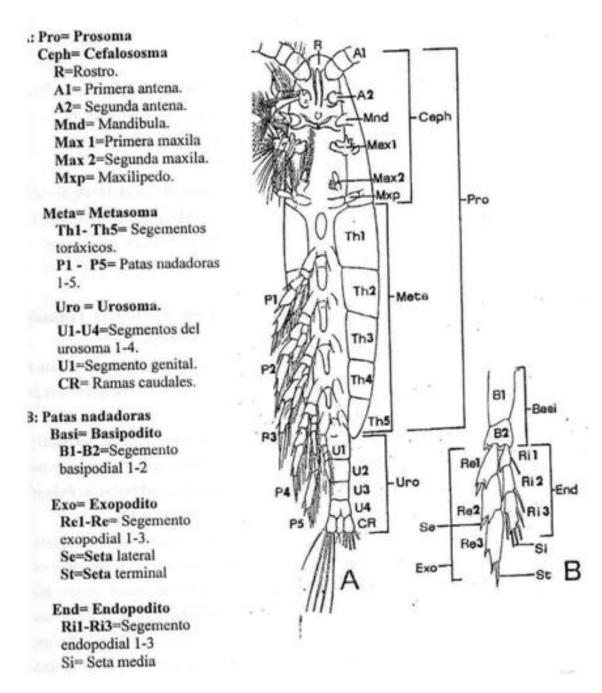


Figura 3. Características Morfológicas de un Copépodo (Hulsemann, 1996).

#### 1.2.2. **Tamaño**

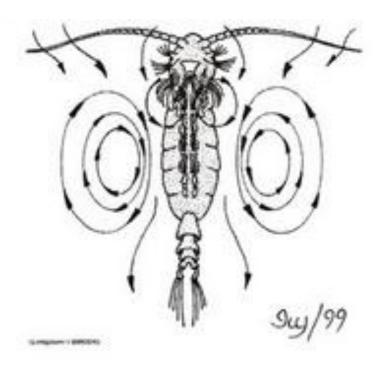
Los copépodos son animales de tamaño corporal reducido, en general miden entre 0,2 y 5 mm. No obstante, algunas formas de vida libre pueden alcanzar los 28 mm. El récord de tamaño lo ostentan algunas especies parásitas de peces, de hasta 25 cm de longitud (Reid, 1985). Su color suele ser transparente, aunque abundan las formas rojas, anaranjadas y azuladas.

#### 1.2.3. Alimentación

En el medio marino son el principal eslabón trófico entre el fitoplancton y los niveles superiores. Son principalmente herbívoros filtradores, aunque existen varias especies de aguas profundas de régimen carnívoro u omnívoro, para filtrar su alimento los copépodos producen flujos de agua hacia la boca mediante las antenas y anténulas (Björnberg, 1981).

En el proceso de alimentación participan todos los apéndices cefalotoráxicos, es decir antenas, anténulas y apéndices bucales, crean corrientes de agua que discurren por la zona ventral con alimento, el cual es tratado por las sedas de los apéndices alimenticios hasta llegar a la boca (**Figura 4**). Los principales grupos que constituyentes la dieta de los copépodos son las diatomeas y dinoflagelados (Palma y Kaiser, 1993).

En estadios larvarios (nauplio) actúan como microfiltradores pasivos, siendo su alimentación en el contexto de los sistemas acuáticos continentales similar a la de rotíferos y pequeños cladóceros (Margalef, 1983). A medida que atraviesa los distintos estadios de desarrollo (copepodito) hasta adulto, el tamaño de partícula que filtra es mayor.



**Figura 4.** Proceso de alimentación de un copépodo. Fuente: Asturnatura. <a href="http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php">http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php</a> (03/02/2015).

#### 1.2.4. Locomoción

Para la locomoción utilizan las segundas antenas y los apéndices toráxicos, variando su importancia entre los diferentes grupos. Las primeras antenas se utilizan para frenar el movimiento, generalmente para hacer lento el hundimiento actuando a modo de paracaídas gracias a las sedas que disponen, especialmente en los periodos en los que se está alimentando (Margalef, 1983; Hulsemann, 1996).

### 1.2.5. Reproducción

Los copépodos son gonocóricos: los sexos son separados. En el apareamiento no hay cópula, sino que el macho transfiere el esperma a la hembra dentro del espermatóforo, una estructura oval que emplaza en contacto con alguno de los dos poros copuladores que se abren en el segmento genital de ésta. (Sipaúba-Tavares, 1993; Sipaúba-Tavares, et al., 2001; Sipaúba-Tavares y Rocha, 2003; McKinnon et al., 2003).

Los huevos pueden ser liberados uno por uno, o en otros casos permanecen pegados por una sustancia gelatinosa formando una o dos estructuras semejantes a racimos de uvas adheridas al segmento genital de la hembra (Palma y Kaiser, 1993),

#### 1.2.6. Ciclo de vida

El desarrollo ontogenético es gradual. Durante su ciclo vital se pasa por 6 estadios naupliares/metanaupliares, a los que suceden 5 estadios de copepodito antes de alcanzar el estadio adulto. Los adultos no mudan. Los nauplios tienen el cuerpo ovalado e insegmentado, y en principio sólo tres pares de apéndices (anténulas, antenas y mandíbulas).

Los diferentes estadios naupliares/metanaupliares (NI a NVI) se distinguen entre sí por el grado de desarrollo alcanzado por los tres pares de apéndices anteriormente citados, así como por la aparición secuencial de muñones correspondientes a las maxílulas, maxilas, maxilípedos y los dos primeros pares de patas; cuando el nauplio pasa a tener más de tres pares de apéndices funcionales se le denomina metanauplio (Jaume *et al.*, 2001).

Los 5 estadios de copepodito (CI a CV) tienen ya la forma de copépodo característica, con el cuerpo segmentado. Dado que la proporción de ellos en una población puede ser elevada, cabe prestar especial atención a su correcta identificación; la confusión entre estadios de copepodito (sobre todo de CV) con el de adulto es un error frecuente y motivo de confusión y desesperación para el no iniciado, puesto que la mayoría de claves de clasificación disponibles utilizan caracteres o estados de caracteres sólo manifiestos en los adultos.

La distinción entre todos estos estadios es, no obstante, relativamente fácil atendiendo a las características morfológicas de cada estadio, reportadas por Jaume *et al.* (2001) las que se presentan en la **Tabla I.** 

**Tabla I.** Características distintivas entre los 5 estadios de copepodito (CI a CV) y adultos de copépodos.

Estadio	Características	
CI	CI sólo 3 pares de patas	
CII	II 4 pares de patas.	
CIII	5 pares de patas; 1 somito urosomal ápodo + telson	
CIV	CIV 5 pares de patas; 2 somitos urosomales ápodos + telson.	
CV 5 pares de patas, aunque las ramas no han alcanzado la segm definitiva; 3 somitos urosomales ápodos + telson.		
Adulto	5 pares de patas con la segmentación definitiva; 4 somitos urosomales ápodos + telson. En la mayoría de especies, no obstante, la hembra sólo cuenta con 3 somitos urosomales ápodos + telson por la integración del somito genital y el primer somito abdominal en uno sólo.	

La duración del ciclo completo varía entre especies y puede abarcar de una semana hasta más de un año y la cantidad de generaciones por año depende del hábitat de la especie (Palma y Kaiser, 1993). Los copépodos machos son por lo general más pequeños que las hembras que a la vez son más abundantes (Margalef, 1983).

#### 1.2.7. Clasificación

La clasificación de los copépodos está basada en su anatomía externa, constituyen una subclase de crustáceos (Copepoda) dentro de la clase Maxillopoda. En la actualidad se distinguen 10 órdenes. De los copépodos pláncticos marinos la gran mayoría pertenecen al órden Calanoida. Muy pocos representantes de los otros órdenes son

miembros del plancton, aunque ciertas especies de Cyclopoida y Harpacticoida pueden aparecer en grandes cantidades (Hulsemann, 1996; Gasca y Suárez, 1996).

No obstante, cabe apuntar que la sistemática ordinal del grupo no se halla definitivamente establecida, sospechándose que los Misophrioida no son en realidad más que un grupo muy primitivo de Cyclopoida, y que los Harpacticoida y Poecilostomatoida son taxones polifiléticos, los otros órdenes son: Siphonostomatoida, Platycopioida, Gelyelloida, Monstrilloida y Mormonilloida (Jaume *et al*, 2001).

### 1.2.8. Distribución de los Copépodos

La distribución de los copépodos marinos está determinada principalmente por los factores físicos como la temperatura, la salinidad, la luz, la turbidez y la hidrodinámica que tienen una gran influencia en la distribución horizontal y vertical en la diversidad de estos crustáceos. Su abundancia y la composición específica están estrechamente relacionadas con la producción primaria (Björnberg, 1981; Hulsemann, 1996; Gasca y Suárez, 1996).

Las diferencias faunísticas entre los hábitat neríticos y oceánicos radica en que las aguas neríticas encontradas sobre la plataforma continental son fundamentalmente d tipo oceánico, y se encuentran modificadas por los afluentes de agua dulce, la entrada de materiales de origen terrestre y por condiciones climáticas, allí las fluctuaciones estacionales y la influencia de las mareas son más extremas y la productividad es más alta, mientras que generalmente la abundancia es más alta en las aguas de la plataforma, la diversidad es casi siempre mayor en las oceánicas (Hulsemann, 1996).

Hay una clara división vertical en lo que se refiere a copépodos. Las capas superficiales relativamente más calidad y las aguas profundas frías conforman biotopos con características distintas. Las regiones epi, meso y batipelágicas son distinguibles

claramente. El número de especies tiende a elevarse cuando aumenta la profundidad Gasca y Suárez, 1996). Por el contrario, la biomasa y el número de individuos es mayor en aguas poco profundad (0-100 m) y decrece con el aumento de profundidad.

#### 1.2.9. Importancia ecológica

Ecológicamente los copépodos constituyen un grupo muy importante dentro de la red trófica, ya que son los consumidores primarios más numerosos de todos los mares, océanos, y ecosistemas limnológicos. A su vez, estos organismos constituyen el alimento primordial de numerosos peces plantófagos y de innumerables estadios larvales de invertebrados tanto planctónicos como bentónicos (Björnberg 1981). Pues las principales presas que estos consumen en el medio natural son copépodos en diferentes etapas de desarrollo, ya que cerca de 50-80 % de la producción secundaria del zooplancton en el océano es compuesto por copépodos (Hulsemann, 1996).

Mediante el estudio de copépodos, se puede estimar la productividad general y el estatus ecológico de un sistema dado, pero sin embargo, es poco conocido el efecto que puede ejercer la variabilidad sobre su dinámica poblacional, abundancia y distribución (Bonilla, 2003). Se han utilizado algunas especies pertenecientes a estos grupos para caracterizarlas y relacionarlas con las condiciones oceanográficas, así como diferentes tipos de masas de aguas ya que son considerados como excelentes indicadores biológicos.

#### 2. JUSTIFICACIÓN

Estudios relacionados con organismos planctónicos (Fitoplancton y zooplancton) en el mar Ecuatoriano se realizan en gran medida, siendo el Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador (INOCAR), entidad que se destaca por evaluar periódicamente la diversidad del plancton marino en nuestras aguas, monitoreando 5 estaciones fijas en la zona costera del país (En las provincias de: Esmeraldas, Manabí, Guayas, Santa Elena y El Oro) para relacionarlos con diferentes cambios climáticos y factores físicos que se suscitan en nuestras costas, por tener diferentes ecorregiones (estuarios, ríos, archipiélagos, zonas insulares de afloramientos, posición del Frente Ecuatorial, eventos como El Niño y La Niña). Este organismo viene ejecutando estudios desde el año 1980 hasta la fecha, con más de 300 publicaciones registradas y publicadas en sus actas oceanográficas. <a href="http://www.inocar.mil.ec/web/index.php/publicaciones">http://www.inocar.mil.ec/web/index.php/publicaciones</a>

Sim embargo el conocimiento sobre copépodos en el país es escaso, resaltando solo trabajos con enfoque en los aspectos ecológicos y taxonómicos en aguas Ecuatorianas como en los reportados por (Arcos, 1978; Arcos y Fleminger, 1986; Bonilla, 1983; Bonilla-Coello, 1992; Tutasi, 2005 y Salinas, 2005).

Acá una síntesis de los trabajos mencionados. Arcos (1978), realizó estudios en la parte interna del Golfo de Guayaquil sobre la distribución de biomasa planctónica y copépodos encontrando 12 familias, 21 géneros y 40 especies.

Mientras que Arcos y Fleminger (1986), efectuaron estudios acerca de la abundancia y distribución de 21 especies de copépodos Calanoideos en el Pacífico Ecuatorial durante agosto – Septiembre de 1967 y febrero – abril de 1968.

Por otro lado Bonilla (1983), ejecutó estudios del zooplancton de las islas Galápagos, donde determinó 29 grupos zooplanctónicos, entre ellos los más abundantes fueron los copépodos.

Después Bonilla-Coello (1992), realizó un estudio sobre El Niño 1982-1983 en la distribución de Copépodos del Pacífico Ecuatorial Oriental donde identificó especies como *Temora discaudata*, *Euchaeta romana*, *Oncaea venusta*, *Eucalanus* sp, entre otras especies. La misma en 2003, analiza la distribución de Copépodos en el Estuario interior del Golfo de Guayaquil.

Además Tutasi (2005), ejecutó un trabajo taxonómico de las especies de copépodos en aguas costeras ecuatorianas relacionando su presencia con el evento de La Niña, usando material recolectado con redes de 335μ y 600μ en el crucero oceanográfico CO-02-2001 a bordo del BAE "ORION". Identificando en las 5 estaciones de muestreo del órden Calanoida: 18 familias, 34 géneros y 71 especies; del órden Cyclopoida: 5 familias, 9 géneros y 25 especies; del órden Harpacticoida: 1 familia, 1 género y una especie.

En la provincia de Santa Elena se cuenta con el trabajo de Salinas (2005), quien determinó la presencia de cinco órdenes pertenecientes a la clase Copépoda, con un total de 19 familias, 25 géneros y 42 especies de copépodos planctónicos marinos entre el rango del área costera de 500 metros y 2 millas correspondiente a una profundidad menor a 20 m, de la bahía de Santa Elena durante octubre 2004 a octubre 2005. De los cuales el 94% eran calanoides, 5% copépodos parásitos y 1% cyclopoides.

Por otra parte estudios sobre el cultivo y/o empleo de copépodos en la nutrición de especies con intereses acuícolas en el país es nulo, es en este sentido que este trabajo pretende iniciar el estudio sobre el potencial cultivo de copépodos y su eventual uso en la acuicultura, evaluando especies de copépodos con proyecciones de cultivo, además relacionando dietas unialgales como alimento y parámetros físico-químicos que son factores inciden en aspectos reproductivos como la fecundidad, la proporción de sexos y el apareamiento, así como también en la duración de los estadios de desarrollo.

Conociendo que en laboratorios dedicados al cultivo de organismos acuícolas, el alimento es uno de los insumos a los que se destina un mayor costo de producción. En la Acuacultura, la calidad del alimento es fundamental para obtener organismos resistentes y sanos que tengan una elevada sobrevivencia (Cardona-Pascual, 1993). En las fases iniciales de vida se suelen observar elevadas mortalidades, que en muchos casos, pueden ser atribuibles a una deficiencia en la calidad alimentaria o inanición (Schipp *et al.*, 1999; Payne *et al.*, 2001), debido a que la mayoría de las especies de crustáceos y peces marinos tienen requerimientos estrictos respecto a la alimentación (Izquierdo, 1996; Nanton y Castell, 1999).

En este contexto que hasta la fecha, en el País y en particular en la provincia de Santa Elena existen 128 laboratorios certificados dedicados a la producción del camarón (*Litopenaeus vannamei*), de los cuales 109 están enfocados a producir larvas (Laboratorios de semicultivo o de Larvicultura, donde solo se trabaja en las fases larvarias de dicho crustáceo), 10 a realizar todo el ciclo productivo del camarón (Laboratorios Integrales), y 9 solo se dedican al desarrollo de reproductores (Laboratorios de Maduración). Es así que aquellos laboratorio dedicados a la larvicultura e integrales los alimentos tradicionales son *Artemia* sp., y en menor medida rotíferos. Que no solo son utilizados como alimento vivo para los primeros estadios de larvas de camarón *Litopenaeus vannamei* sino también de larvas de peces marinos.

No obstante el empleo de Artemia, presenta algunos inconvenientes, debido a que en los últimos años se han observado cambios en la producción y la calidad de este organismo, con variaciones representativas en su costo (Cabrera *et al.*, 2002; Puello-Cruz *et al.*, 2004). Al evaluar lo antes mencionado el cultivo de copépodos, para ser usado como alimento alternativo en acuicultura toma fuerza y al conocer que son uno de los alimentos preferidos de las larvas y juveniles de camarones y peces en la naturaleza y usualmente dominan en el contenido estomacal de diferentes especies de estos dos grupos marinos (Hicks y Coull, 1983; Coull, 1999).

Los copépodos presentan características favorables para el desarrollo de un cultivo siendo estas: un ciclo de vida corto, gran producción de huevos, alta fecundidad, eclosión y sobrevivencia, poseen tamaños adecuados (nauplios, copepoditos y adultos) en relación a la boca de la larva de pez o del camarón (Yúfera *et al.*, 1984; Amat-Domènech, 1993; Delbare *et al.*, 1996). También suelen ser resistentes a la manipulación en los cultivos, y a los cambios brucos de salinidad y temperatura. Además su típico movimiento en zig-zag es un importante estímulo de aceptabilidad para muchos peces, los cuales los prefieren antes que a los rotíferos (Velásquez *et al.*, 2001).

Pero la característica que lleva a que los copépodos sean una nueva alternativa de producción es su contenido nutricional, pues se ha demostrado que los copépodos son naturalmente ricos en los ácidos grasos de la familia linoléica, y poseen un contenido de proteína de 44 a 52% con un buen perfil de aminoácidos, siendo mayor valor nutritivo que *Artemia* porque cubren mejor los requerimientos nutritivos de larvas de peces marinos, además, pueden ser suministrados como nauplios, copepoditos o adultos (Velásquez *et al.*, 2001).

En los trabajos de Coll (1999) y Støttrup (2000), se afirma que los ácidos grasos esenciales (EFA), los altamente insaturados (HUFA), especialmente los ecosapentanoicos (EPA) y los decosahexanoicos (DHA) determinan el valor nutricional de las dietas para peces marinos, y reconocen la importancia de la suplementación de la dieta tradicional en la industria acuícola, con el uso de copépodos como una fuente de estos EFA. Mientras que (Payne *et al*, 2001; Payne y Rippingale, 2001), muestran que los copépodos calanoideos marinos tienen la composición bioquímica de su dieta reflejada en sus tejidos corporales y en sus reservas, de tal manera que los ácidos grasos como el ácido eicosapentanoico (EPA) y el ácido docosahexanoico (DHA), que son esenciales en la dieta de larvas de peces marinos (y otros vertebrados), pueden ser suplementados naturalmente a través de una cadena

alimenticia encabezada por fitoplancton luego copépodos herbívoros y por último peces.

Estudios como el de Pedersen (1984), en el cual examinó la digestión en larvas de arenque (*Clupea harengus*) y determinó que los copépodos eran pasados con mayor rapidez a lo largo del sistema digestivo y eran digeridos con mayor eficiencia que *Artemia*. Además, analizando la digestión de las larvas notó una pausa justo antes de entrar los copépodos al estómago, al contrario de *Artemia*, y se dedujo, hipotéticamente, que esto puede, de alguna manera, estar relacionado con la liberación de enzimas digestivas necesarias para el proceso de digestión.

Otro factor es la selección de las especies, pues al depender de los hábitos alimenticios de los organismos a alimentar estos pueden ser bentónicos o planctónicos, características que presentan los copépodos.

Apoyados en una gama de trabajos ejecutados referente a copépodos, nos planteamos realizar un protocolo para el cultivo de copépodos en la provincia, así pues el determinar las especies presentes en dos zonas costeras de la provincia de Santa Elena (Punta Carnero y Ballenita), susceptibles al cultivo en condiciones de laboratorio, pues se busca colocar al copépodo marino como una alternativa de alimento vivo con sustentabilidad nutritiva y económica, ante los alimentos tradicionales usados en la acuicultura de peces y crustáceos en el país. Se espera que este trabajo sea un aporte en gran medida al sector acuícola del país, considerando el inicio de una gama de trabajos referentes a este campo de acción "los copépodos y la acuicultura".

A continuación una reseña de los diversos estudios ejecutados con relación al cultivo de copépodos, de los que se resaltan 3 órdenes propensos al cultivo (Calanoida, Cyclopoida y Harpacticoida). Debido a la no existencia de un protocolo definido para el cultivo de estos microcrustáceos se proporcionará una experiencia con bases técnicas del cultivo, apoyados en investigaciones previas como las de (Koga, 1979; Asencio *et* 

al., 1993; Mujica et al., 1995; Velásquez et al., 2001; Pérez, 2005; Prieto et al., 2006; Rosas et al., 2007; Prieto y Atencio, 2008; Cambefort, 2009; Martínez-Córdova et al., 2010; Martínez-Córdova et al., 2011; Ruiz-Guzmán et al., 2012).

Uno de los primeros copépodos usados en la acuacultura, para quien se han desarrollado técnicas de cultivo es el harpacticoide *Tigriopus japonicus* por su resistencia a cambios ambientales, como son la temperatura (10–27°C), salinidad (0–18‰), concentración y tipo de alimento, etc. Fue así que Koga (1979), evaluó el crecimiento de esta especie (ind/L) relacionándolo con el tipo de alimento, donde usó levadura; alimento sintético (piensos para peces y camarones); microalgas del género *Nitzchia*; leche en polvo, y fragmentos de macroalgas (géneros *Undaria*, *Ulva*, *Enteromorpha*), determinando además la tasa de alimentación para cada uno. Otras especies que se han cultivado en forma masiva son *Tiste*, *Amphiascella*, *Calanus*, etc., pero la que ha ofrecido las mayores ventajas para su producción masiva es *T. japonicus* FAO (2014).

Entre marzo de 1990 y enero de 1992, Asencio *et al.* (1993) efectuaron un estudio de copépodos harpacticoideos de las comunidades de Venus antiqua y Mulina sp., en la planicie mareal de Yaldad, Quellón, Chiloé, (Chile), sometiéndolos a cultivos que se realizaron con agua de mar (25-30%o), con temperaturas de 10°C (temperatura invierno) y otro a 15° C (temperatura verano). Los alimentos utilizados fueron la microalga *Isochrysis aff. Galbana* y bacterias del tipo bacilo, reportándose el exitoso cultivo de las especies de copépodos harpacticoídeos *Amphiascopsis cinctus* (especie que se alimenta de bacterias) y *Laophonte parvula* (especie que se alimenta de microalgas).

Reportando además que las especies que tuvieron oferta alimentaria constante durante el año, mostraron densidad poblacional y actividad reproductiva constante; en cambio aquellas en que esa oferta presentó fuertes fluctuaciones, su densidad poblacional y actividad reproductiva oscilaron fuertemente. Las bajas densidades numéricas

encontradas para los copépodos harpacticoídeos en Yaldad (Chile), hacen difícil postular que sean parte importante en la alimentación de organismos de la macrofauna epibentónica o pelágica.

Entre noviembre de 1994 y enero de 1995 en los laboratorios del Centro Costero de la Universidad Católica del Norte (Chile), a partir de ejemplares capturados en pozas intermareales del sector La Pampilla de Coquimbo (IV Región, Chile) Mujica *et al.* (1995), realizaron un cultivo experimental de *Tigriopus* sp, referidos a crecimiento poblacional, fecundidad, estado de desarrollo, alimentación, temperatura y salinidad. Obteniendo el mayor crecimiento de copépodos a 21°C, 26 ups y un alimento de mezcla en iguales proporciones de *Nannochloris* sp (Microalga) y *Saccharomyces* sp (Levadura). Además se determinó que las hembras portan un promedio de 24 huevos, independiente de la talla y la camada. No hay mortalidad en la etapa de eclosión, por lo que se generaron tantos nauplios como huevos producidos. El tiempo de aparición de huevos desde el momento de la cópula fue dependiente de la temperatura, así como también la velocidad de desarrollo de las diferentes fases, apareciendo los copepoditos I a los 6-7 días después de la eclosión y los adultos aproximadamente a los 17 días.

Velásquez *et al.* (2001), estudiaron el efecto de las microalgas *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata* y *Dunaliella salina* en el crecimiento poblacional de *Apocyclops distans*. Durante 10 días se cultivó (5 ind/mL) en tubos de ensayos conteniendo 5 mL de agua de mar inoculada con las microalgas mencionadas como dietas unialgales, a temperatura ambiente (26–33,8 °C) y en el laboratorio (22 ± 1°C) a tres condiciones de iluminación, fotoperiodo (12 h luz: 12 h oscuridad), oscuridad y luz continua. La mayor producción de nauplios (se obtuvo con *T. chuii*, en oscuridad a temperatura ambiente en el tercer día de cultivo. La mayor producción de copepoditos fue con *T. chuii*, bajo fotoperíodo y temperatura ambiente en el sexto día. El mayor número promedio de hembras adultas no ovadas con *T. chuii* se produjo el sexto día a temperatura ambiente. El promedio máximo de hembras adultas ovadas con *T. chuii* se produjo el tercer día a temperatura ambiente en oscuridad. El mayor número de

masas ovígeras desprendidas fue con *N. oculata* a temperatura ambiente. El mayor número promedio del total de copépodos con *T. chuii* se obtuvo en oscuridad a temperatura ambiente el tercer día.

Por otro lado, Pérez (2005), realizó un experimento con Euterpina acutifrons a partir de nauplios de una misma cohorte (recolectados de la laguna de La Paz-Baja California), para determinar el efecto de las microalgas Isochrysis galbana, Chaetoceros calcitrans y Dunaliella tertiolecta, en el desarrollo, las tasas vitales de la población mediante tablas de vida y el crecimiento somático en longitud a 21±1°C y 37±1 ups. Durante 17 días se suministraron las microalgas estandarizadas. Se identificó cada estadio de vida de E. acutifrons y se observó que el tiempo más corto de desarrollo, se presentó con C. calcitrans, encontrándose adultos a partir del día 9 y la descendencia de estos (F2) en el día 12, seguido de *I. galbana* donde se encontraron adultos a partir del día 11 y la F2 en el día 16. Con D. tertiolecta se presentó un desarrollo lento con mortalidad total en el estadio de copepodito 3. La mayor cantidad de hembras por macho se observó con C. calcitrans (60%). Se observaron altas mortalidades en nauplios en estadio 2 alimentados con C. calcitrans. La mayor mortalidad en copepoditos (c1-c5) se observó con alimentación de *I. galbana*. Los valores más altos de la esperanza de vida se presentaron con *I. galbana* para nauplios y copepoditos. La mayor cantidad de huevos por saco ovígero se observó con la microalga C. calcitrans. El crecimiento de nauplios se observó más uniforme con C. calcitrans y el crecimiento en copepoditos fue mayor con I. galbana. El crecimiento somático en hembras fue mayor con C. calcitrans.

A través de una revisión bibliográfica del Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos, Prieto *et al.* (2006) se enfocaron principalmente en la producción de copépodos dentro de sistemas mesocosmos, pues los copépodos cultivados en conjunto con diferentes especies de microalgas, rotíferos y otros microorganismos en este sistemas son importantes pues son una de las fuentes de alimento vivo para la acuicultura marina, habiéndose demostrado que incrementan la supervivencia y la

calidad de las larvas y alevinos que los consumen. La supervivencia de larvas de Lenguado (*Psetta maxima*) se incrementó de un 14% cuando se utilizaron rotíferos en la forma tradicional, a un 45% cuando se utilizaron copépodos de la especie *Tisbe holothuriae*, en conjunto con microalgas y rotíferos; Por primera vez se logró producir en Australia alevinos del Pargo dorado (*Lutjanus johnii*), utilizando el copépodo *Acartia* sp en su larvicultura. En la larvicultura del Mero (*Epinephelus coioides*), cuando se alimentaron sus larvas en un mesocosmos compuesto por microalgas, rotíferos y copépodos (*Acartia tsuensis*, *Pseudodiaptomus* sp y *Oithona* sp), se alcanzó una supervivencia de 3.4%. En la larvicultura del Pargo Rojo (*Lutjanus campechanus*) se obtuvo excelentes resultados de supervivencia (12,5%) al utilizar un mesocosmos con los copépodos *Acartia* sp y *Pseudodiaptomus* sp. Supervivencias excepcionales del 30% y 50% se lograron en dos experimentos de larvicultura de la Mojarra marina *Eugerres brasilianus* utilizando un mesocosmos de cinco especies diferentes de microalgas, rotíferos y el copépodo *Oithona oculata*.

Con el fin de determinar su crecimiento poblacional y valor nutricional del copépodo *Oithona ovalis*, Rosas *et al.* (2007), cultivaron durante cinco días en recipientes de 250 L de capacidad, alimentados con las microalgas *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana* y *Chlorella* sp. La densidad inicial de copépodos empleada fue entre 5 y 7 ind/ml. Una vez terminado el cultivo se cuantificó los copépodos. Obteniendo mayor densidad promedio con el tratamiento de *T. Chuii.*, seguida de *I. galbana*, *N. oculata* y *Chlorella* sp.

Prieto y Atencio (2008), revisan bibliográficamente los trabajos que abarcan la incidencia del zooplancton en la larvicultura de peces neotropicales, abordan además la importancia de la larvicultura en el proceso piscícola, la importancia del zooplancton como alimento y las alternativas en el manejo de cladóceros, rotíferos y copépodos para la alimentación de larvas de especies neotropicales. Dando para estos últimos grandes referencias en cuanto a su valor nutricional.

Con el propósito de evaluar la posibilidad de crear cultivos continuos de copépodos calanoideos marinos del género *Acartia* y mantenerlos como stock de alimento vivo para el cultivo de peces marinos. Cambefort (2009), llevó a cabo un estudio en conjunto con el Laboratorio Achotines (Panamá). El trabajo se concentra específicamente en cuanto a la alimentación y reproducción de los copépodos. Se divide en tres partes: la primera detalla los efectos de diferentes dietas de algas sobre el volumen de desove en copépodos adultos, la segunda evalúa el crecimiento larval y la supervivencia en nauplios de *Acartia* alimentados con diferentes dietas, y la tercera verifica la efectividad de un cultivo estático. Los resultados de la investigación brindan una buena base para futuras investigaciones sobre el cultivo de copépodos marinos de la localidad y para el desarrollo de la piscicultura marina de Panamá.

Martínez-Córdova *et al.* (2010), ejecutaron una revisión actualizada sobre la importancia, manejo y aprovechamiento del alimento natural en acuacultura, en donde se incluyen tanto experiencias propias de los autores, como trabajos de otros investigadores a nivel mundial en los diferentes ámbitos de la acuacultura. La revisión incluye un panorama general sobre el alimento natural y su importancia para diferentes especies acuícolas y luego profundiza sobre los grupos mayormente utilizados en este contexto, incluyendo organismos del zooplancton, microorganismos autótrofos y heterótrofos, macroalgas y organismos bentónicos. En algunos casos se presentan datos específicos en forma de tablas y gráficas, resultantes de las experiencias propias y ajenas; en otros casos la información es un poco más general.

Por otro lado Martínez-Córdova *et al.* (2011), realizaron un experimento durante siete semanas para evaluar el efecto del suministro de copépodos (*Acartia* sp y *Calanus pacificus*), como alimento exógeno durante la pre-engorda intensiva de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), en los parámetros de producción y la calidad del agua. Se probaron cinco tratamientos en los que el camarón fue alimentado con dieta formulada más la adición de 0 (control), 1, 2, 4 u 8 copépodos/mL. En los tratamientos con 1 y 4 copépodos/mL se observaron niveles de nitrógeno amoniacal total superiores al resto

de los tratamientos (>4 mg/L). El nivel de nitritos fue significativamente más alto en el tratamiento con 8 copépodos/mL, mientras que el de nitratos fue más elevado en todos los tratamientos en comparación con el control. La concentración de fosfatos fue superior en los tratamientos con 4 y 8 copépodos/mL. Los camarones en los tratamientos con 2, 4 y 8 copépodos/mL presentaron mayor supervivencia (>93%), peso (>3.1 g) y biomasa final (>77 g). El tratamiento con 2 copépodos/mL presentó el mejor factor de conversión alimenticia (1.19) en comparación con el resto (>1.7). Los resultados sugieren que la adición de copépodos como alimento natural exógeno durante la pre-engorda intensiva del camarón puede tener un efecto negativo sobre la calidad del agua, aunque esto no afectó la supervivencia; sin embargo, el efecto en los parámetros de producción fue positivo y se considera viable el uso de copépodos como alimento vivo para la etapa de pre-engorda en el cultivo de camarón blanco.

Con el fin de evaluar el desempeño del copépodo marino Cyclopina sp alimentado con diferentes especies de microalgas, Ruiz-Guzmán et al. (2012), realizaron cultivos experimentales en acuarios con volumen útil de 10 litros, a densidad inicial de 2 copépodos/ml, con aireación y luz constante. Combinaciones de microalgas (proporción 70:30) en concentración 4x10<sup>5</sup> cel/ml. Se usaron como tratamientos: T1= Tetraselmis suecica + Isochrysis galbana, T2= I. galbana + Nannochloropsis oculata, T3= N. oculata + T. suecica, T4= Levadura (Saccharomyces cerevisiae). Diariamente se registró la temperatura (°C), salinidad (‰), oxígeno disuelto (mg/L), pH y se evaluaron cada 2 días el crecimiento y la composición poblacional durante el tiempo de cultivo. Obteniendo la mayor densidad de copépodos totales (10±3 copépodos/ml) y el mayor número de nauplios (6±2 nauplios/ml), se registraron el día 15 en T1, mostrando diferencias significativas (p<0.05) respecto a los demás tratamientos. Concluyendo que el mejor crecimiento y composición poblacional, se registró en las poblaciones alimentadas con la combinación de las microalgas T. suecica e I. galbana (T1).

#### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo general

Cultivar copépodos marinos pelágicos bajo condiciones controladas de Laboratorio, con miras a su masificación y uso potencial en acuacultura de la provincia de Santa Elena y del país; en Mar Bravo-Salinas, provincia de Santa Elena.

#### 3.2. Objetivos específicos

- 1. Aislar especies de copépodos marinos pelágicos salvajes, recolectados mediante arrastres marinos, empleando redes zooplanctónicas en la zona costera peninsular.
- 2. Implementar un protocolo para el cultivo de copépodos marinos bajo condiciones controladas de laboratorio.
- 3. Valorar El desempeño de los copépodos marinos alimentados con diferentes especies de microalgas, con el fin de seleccionar la mejor dieta y la especie de copépodo para su posterior masificación.

#### 4. HIPÓTESIS

Los copépodos marinos aislados en las pruebas se adaptarán a las condiciones controladas de cultivo como temperatura, salinidad y alimento, reflejándose lo mencionado en la supervivencia de los individuos, logrando su producción en laboratorio.

**CAPÍTULO II** 

5. MARCO TEÓRICO

A partir de enero del 2015 en el laboratorio CULTRIANZA S.A., se viene

desarrollando el cultivo de copépodos marinos pelágicos, con el fin de tener en un

futuro el complemento ideal o sustitutivo del alimento vivo tradicional (Artemia)

proporcionado a las larvas de camarón blanco que allí se desarrollan. A continuación

una breve descripción de las especies de copépodos cultivadas en el Laboratorio.

5.1. Descripción de las principales especies de copépodos identificadas, con

miras a su uso en el cultivo

Reino: Animalia.

Ammana.

Filo: Arthropoda.

**Subfilo:** Crustacea Brisson, 1756.

Clase: Maxillopoda

Subclase: Copepoda Milne-Edwards, 1834.

**Órden:** Calanoida G. O. Sars, 1849.

Familia: Acartiidae.

3/ A ..

**Género**: Acartia.

Especie: Acartia tonsa.

**5.1.1.** *Acartia tonsa* (Dana, 1849)

Hembra: Cabeza ligeramente redondeada y fusionada con el primer segmento

abdominal, último segmento con los bordes póstero-laterales redondeados. Primeras

antenas presentes simétricas (ornamentadas con pequeñas espínulas). Abdomen con 3

segmentos, segmento genital pequeño con filas de espínulas pequeñas en los lados

dorsales y ventrales, P5 presentes, en forma de un proceso redondeado en los márgenes

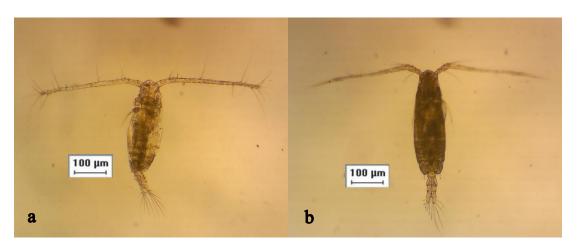
distales, con una larga espina gruesa dentada basal y con cerdas pequeñas delgadas en

los extremos, otra seta plumosa delgada en el exopodo. Muchas cérdulas en los

segmentos del urosoma (Imagen 1).

24

Macho: Cabeza ligeramente redondeada y fusionada con el primer segmento abdominal. Cuerpo pequeño y robusto. Ultimo segmento con los bordes pósterolaterales redondeados. Primeras antenas simétricas. Abdomen con 5 segmentos, el antepenúltimo por lo general es corto y poco definido. P5 presentes y asimétricas. P5 derecha con 4 segmentos, el primero con una seta larga plumosa, el segundo con una pequeña protuberancia en el borde lateral interno de donde parte una espina, el tercer segmento presenta una proyección lobular mayor y el último segmento está modificado a manera de una garra, con una proyección en la parte superior con pequeñas setas sobre su superficie, terminado finalmente en una pequeña espina apical gruesa. P5 izquierda trisegmentada, el primer segmento más ancho que largo con una seta larga plumosa, el tercer artejo con una espina apical y una proyección digitiforme.



**Imagen 1.** Acartia tonsa, **a)** vista ventral, **b)** vista dorsal (Fotos del autor).

Órden: Cyclopoida

**Familia**: Oithonidae **Género**: Oithona

Especie: Oithona nana

### 5.1.2. Oithona nana (Giesbrecht, 1892)

**Hembra:** Cabeza truncada, no fusionada con el primer segmento toráxico. Sin rostro aguzado, cuerpo corto robusto y ensanchado, un poco semitransparente. Primeras antenas largas y elongadas alcanzando el segmento genital. El último segmento toráxico está reducido. P5 presentes simétricas, modificadas a manera de una seta que sale de cada lado. Abdomen asimétrico con 5 segmentos, segmento genital largo, ramas caudales pequeñas del mismo tamaño que el segmento genital (**Imagen 2**).

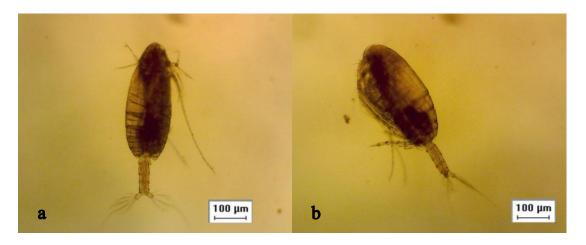


Imagen 2. Oithona nana, a) vista ventral, b) vista lateral (Fotos del autor).

**Órden**: Harpacticoida

Familia: Familia Tachydiidae (G. O. Sars, 1909).

Género: Euterpina

Especie: Euterpina acutifrons.

#### 5.1.3. Euterpina acutifrons (Dana, 1848)

Hembra: Cuerpo con aspecto vermiforme, con los somitas toráxicos ensanchados. Frente puntiaguda en vista lateral, estrechada, alargada y encorvada. Rostro prolongado hacia delante. Primeras antenas muy cortas, con siete segmentos. Segundas antenas trisegmentadas; exopodito corto, no segmentado. Mandíbula con el palpo birrámeo, monosegmentado. Úrosoma con cinco somitas, algo más estrechos que los del prosoma. Furca pequeña, con setas terminales alargadas. Exopodito y endopodito del primer par de patas, bisegmentados; del segundo, tercero y cuarto pares de apéndices, trisegmentados. Quinto par de apéndices, en forma de placa rectangular, monosegmentado, con cuatro setas terminales espinosas. Portan un saco ovígero en forma de racimo de uvas durante la reproducción (Palomares-García *et al.*, 1998). (Imagen 3)

**Macho:** Primeras antenas geniculadas terminadas en un gancho afilado. Úrosoma con los seis somitas más estrechos que los del prosoma. Quinto par de apéndices en forma de placas pequeñas, redondeado, monosegmentado, con dos setas terminales espinosas



**Imagen 3.** Euterpina acutifrons (Hembra ovada) a) vista lateral (Foto del autor).

## **CAPÍTULO III**

## 6. MARCO METODOLÓGICO

## 6.1. Descripción del Área de estudio

Este trabajo se efectuó en el Laboratorio CULTRIANZA S.A. (**Imagen 4**), que está ubicado en la vía Punta Carnero-Anconcito, sector "La Diablíca" cuyas coordenadas geográficas son Latitud 2° 30' 41.09" S y Longitud 80° 90' 27.96" O. Dedicado al cultivo y desarrollo de larvas de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* BOONE 1931), Donde se adecuó un pequeño laboratorio para ejecutar las pruebas de este proyecto.



**Imagen 4.** Laboratorio de Larvicultura CULTRIANZA S.A., sitio donde se efectuó el trabajo.

#### 6.2. Aislamiento y acondicionamiento de copépodos

#### 6.2.1. Zona de recolecta

Los copépodos utilizados en este trabajo, se recolectaron en las zonas costeras de Punta Carnero, a aproximadamente 200 metros cerca del Puente "Punta Carnero", en el sector conocido como "la playita" (**Imagen 5**), y en Ballenita a unos 40 metros aproximadamente del Mirador Francisco Pizarro, sector "la glorieta" (Imagen 6).

La playa de Punta Carnero está ubicada en el cantón Salinas, denomina así por la punta rocosa del mismo nombre situada al extremo sureste de la playa. Playa de fina arena y mar azul, oleaje que va de moderado a fuerte. En sus más de 2500 metros de litoral se aprecia frondosa vegetación. Punta Carnero es una hermosa playa que brinda a los turistas paz y tranquilidad, junto a sus paisajes maravillosos y la brisa acogedora. Su clima es seco y su temperatura oscila entre 24° C a 29° C. Las coordenadas del punto de muestreo (arrastre zooplanctónico) en esta playa son: Latitud 2° 11' 31.22" S y Longitud 81° 00' 15.16" O. Mientras que la Playa de Ballenita está ubicada unos 20 minutos de Salinas y a 10 minutos de La Libertad, cuenta con una longitud de 1.600 metros de playa (incluidos 200 metros de zona rocosa y 300 metros de arena y roca). Su clima es seco, su temperatura promedio anual es de 25 grados centígrados. Las coordenadas del punto de muestreo (arrastre zooplanctónico) en esta playa son: Latitud 2° 12' 10.60" S y Longitud 80° 52' 05.85" O.

La zona costera de Punta Carnero, fue seleccionada por su cercanía al Laboratorio donde se ejecutó el cultivo, y la zona costera de Ballenita, se seleccionó como segunda alternativa, conociendo la variabilidad de las condiciones oceanográficas en la primera zona, caracterizada por sus "aguas peligrosas".



**Imagen 5.** Zona de recolecta de copépodos zona costera de Punta Carnero. Imagen Satelital Google Maps (10/05/2015).



**Imagen 6.** Zona de recolecta de copépodos playa de Ballenita. Imagen Satelital Google Maps (10/05/2015).

#### 6.2.2. Aislamiento

La recolección de zooplancton se realizó en los meses de enero, febrero y marzo del 2015, durante la mañana (entre 10 a 12 am), debido a que en este periodo se encuentra un gran número de organismos en las zonas de recolección. La captura del zooplancton se efectuó con una red cónica de 0.30 m de diámetro de boca y una abertura de malla de 300µ. Los arrastres se efectuaron horizontalmente a una velocidad de aproximadamente 1 a 2 nudos en la superficie a unos 20-40 m de la costa, con una duración de 10 minutos. Se midieron las variables de Temperatura, Salinidad, pH, y Oxígeno disuelto con un equipo multiparámetro YSI 556 MPS.

El material biológico vivo se depositó en recipientes plásticos de 500 ml, para luego ser transportados al laboratorio donde se ejecutaron las pruebas. Se efectuó el aislamiento de copépodos mediante un filtrado por tamices de 300 μ para eliminar organismos mayores y posteriormente a 100μ para eliminar organismos menores (**Imagen 7**). Los individuos contenidos entre 300 y 100 μ fueron enjuagados con agua de mar a 33 ups, previamente filtrada por mallas de 5μ y esterilizada en autoclave.



**Imagen 7.** Tamices de diferentes micrajes (µ) usados en el trabajo de laboratorio.

Se procedió a colocar en cajas de Petri de cristal la biomasa separada, se aislaron los copépodos elegidos al azar mediante pipetas pasteur y un microscopio estereoscópico BOECO BTB-3D (**Imagen 8**).



**Imagen 8.** Materiales utilizados para el aislamiento de copépodos marinos (cajas petri), conteo de algas (cámara de Neubauer) y toma de variables (Termómetro, Salinómetro y tiras de pH).

#### 6.2.3. Acondicionamiento

Posterior a su aislamiento los copépodos seleccionados se acondicionaron a las condiciones de laboratorio, se colocaron en fiolas de vidrio de 500 mL, que contenían 200 mL de agua de mar filtrada y esterilizada (33 ups, 27.5 °C, 7 pH), y la(s) microalga(s) usadas en los tratamientos.

#### 6.3. Cultivo de copépodos

#### 6.3.1. Siembra

Los copépodos fueron sembrados en fiolas de 500 ml, con 200 ml de agua de mar a 33 ups previamente filtrada y esterilizada en autoclave. Se colocaron en las pruebas entre 40-50 copépodos elegidos al azar en las fiolas, de las cuales se separaron en varios tratamientos. A estas se les proporcionó aireación suave (**Imagen 9**).



**Imagen 9.** Siembra de copépodos aislados de las zonas costeras, en fiolas de vidrio de 500mL.

Además se separaron y colocaron preferentemente hembras con sacos ovígeros en tubos de ensayo de 20 ml, con 10ml de agua de mar filtrada y esterilizada, con alimento para conocer el éxito reproductivo, número de individuos por generación, adaptabilidad y tiempo de vida en cultivo (**Imagen 10**).



**Imagen 10.** Siembra de copépodos preferentemente (hembras con sacos ovigeros) en tubos de ensayo de 20mL.

#### 6.3.2. Pruebas de alimentación

Se evaluó la diferencia en adaptación, desarrollo y crecimiento de copépodos salvajes recolectados y aislados en dos zonas costeras de la provincia de Santa Elena, alimentados con las microalgas *Tetraselmis suecica y Thalassiosira* sp, proporcionadas como alimento individual y como dietas mixtas.

Con la finalidad de comparar la calidad y la cantidad de las especies de microalgas para estimar las tasas poblacionales de diversas especies de copépodos, se trabajó con varias concentraciones de microalgas en los tratamientos, por lo que se establecieron las siguientes pruebas (basados en zonas de recolección de zooplancton) y de ellas varios tratamientos.

En la **primera prueba** con organismos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (09/02/15) se separaron 9 fiolas, sembradas con un promedio de 40

copépodos/fiola, en agua de mar a 32.5 ups, 27.5°c y 7.5 de pH, y posteriormente fueron divididas en 3 tratamientos (3 fiolas c/u) basados en dos dietas unialgales y una mixta. Los tratamientos evaluados se muestran en la **Tabla II**.

**Tabla II.** Características de los Tratamientos (T1, T2 y T3), de la Prueba N° 1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febrero-2015).

Tratamiento	Microalgas (Dieta)	Concentración promedio de algas en cada Tratamiento (cel/mL)	
1 (T1)	Tetraselmis suecica	5.54*10 <sup>3</sup>	
2 (T2)	Thalassiosira sp	$2.38*10^3$	
3 (T3)	Tetraselmis suecica y Thalassiosira sp (2:1)	3.5*10 <sup>3</sup> y 1.73*10 <sup>3</sup>	

(2:1) = Relación entre las concentraciones de algas en los recipientes

En la **segunda prueba** con organismos recolectados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (04/03/15) se logró aislar y separar 3 fiolas, cada una sembrada con un promedio de 50 copépodos/fiola. Los cuales sirvieron para evaluar un tratamiento (T4) **Tabla III**, basado en una dieta monoalgal, con agua de mar a 33ups, 27°C y un pH de 7.

**Tabla III.** Característica del Tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015).

Tratamiento		Microalga (Dieta)	Concentración promedio de algas en el Tratamiento (cel/mL)	
	4 (T4) Tetraselmis suecica		1.24*10 <sup>3</sup>	

Un día después (05/03/15) inició la **tercera prueba**, con individuos recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Elena. Se logró aislar y sembrar copépodos en 9 fiolas, con un número de 50 copépodos/fiola, estas contenían 200 ml de agua de mar (33ups)

filtrada. Las mismas sirvieron para evaluar 3 tratamientos (**Tabla IV**), apoyados en resultados previos se analizó el efecto de distintas concentraciones de alimento (cel/mL) de la microalga *Tetraselmis suecica* en la supervivencia de los copépodos.

**Tabla IV.** Características de los Tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba N° 3: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Febrero-2015).

Tratamiento	Microalga	Concentración promedio de algas en cada Tratamiento (cel/mL)	
5 (T5)		6.16*10 <sup>3</sup>	
6 (T6)	Tetraselmis suecica	1.36*10 <sup>4</sup>	
7 (T7)		$2.38*10^4$	

En la **cuarta prueba** (06/04/15) se utilizó 3 cepas puras de copépodos marinos, que se logró aislar, adaptar y mantener en el laboratorio, estas cepas son: *Acartia tonsa*, *Oithona nana y Euterpina acutifrons*, estas fueron separadas en 3 tratamientos (**Tabla V**), y sembradas en 200 mL de agua de mar (32ups) filtrada y esterilizada, a una densidad promedio de 65, 32 y 49 ind/200mL para cada especie respectivamente.

**Tabla V.** Características de los Tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba N° 4: Copépodos aislados como cepas puras: *Acartia tonsa*, *Oithona nana* y *Euterpina acutifrons* (Abril-2015).

Tratamiento	Cepa copépodo.	Microalga	Concentración promedio de algas en cada Tratamiento (cel/mL)	
8 (T8)	Acartia tonsa	T 1 ·		
9 (T9)	Oithona nana	Tetraselmis suecica	5.39*10 <sup>3</sup>	
10 (T10)	Euterpina acutifrons	Suecica		

#### 6.4. Cultivo de microalgas

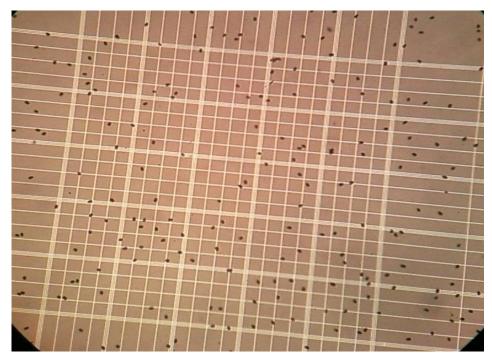
#### 6.4.1. Origen de las cepas y condiciones de cultivo

Previo al inicio de los ensayos, se llevaron a cabo diversos cultivos de microalgas para asegurar la constante disponibilidad de un buen stock de alimento. Las cepas *Tetraselmis suecica y Thalassiosira* sp se obtuvieron en primera instancia del laboratorio de larvas CORPAQUAR S.A, ubicado en Punta Carnero (sector Puerto Aguaje) y luego del laboratorio CULTRIANZA S.A., (Departamento de algas)., las cuales fueron cultivadas con agua marina previamente filtrada por mallas de 5  $\mu$ , esteriliza en autoclave, y enriquecida con medio de cultivo Guillard f/2 (**Anexo 1**), en estos cultivos las variables tomadas fueron: temperatura de 30 ± 2 °C, salinidad de 32.5  $\pm$  1 ups y con fotoperiodo natural de 12 h luz y 12 h oscuridad (**Imagen 11**).



**Imagen 11.** Cultivo de microalga para asegurar la constante disponibilidad de un buen stock de alimento. Las cepas *Tetraselmis suecica y Thalassiosira* sp.

Cada día se realizaron conteos celulares (cel/mL) de cada especie de microalga de los cultivo para ajustar los volúmenes de suministro. Los conteos se efectuaron con un hemocitómetro tipo Neubauer y un microscopio (**Imagen 12**).



**Imagen 12.** Conteo de microalgas realizado con un hemocitómetro tipo Neubauer y un Microscopio.

#### 6.5. Identificación de especies de copépodos recolectados

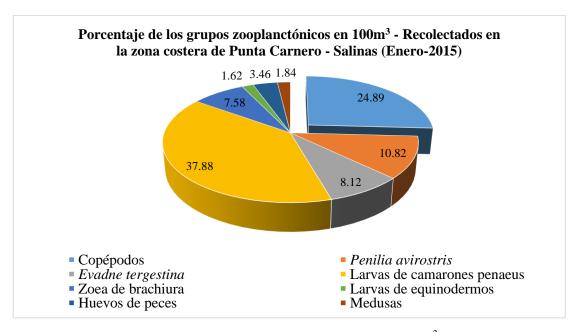
De los arrastres zooplanctónicos realizados en las dos zonas costeras elegidas como sitios de recolección de material biológico de este trabajo (zona costera de Punta Carnero y zona costera de Ballenita) se identificó las especies de copépodos para cada sitio y mes de recolecta, con la ayuda de claves de identificación de Dawson y Knatz (1980); Hulsemann (1996) y Salinas (2005) y Tutasi (2005).

### CAPÍTULO IV

## 7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

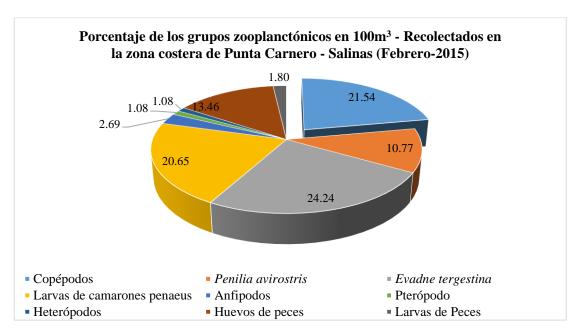
#### 7.1. Recolección y Aislamiento de copépodos marinos

Se efectuaron 4 arrastres zooplanctónicos, desde el mes de enero hasta marzo del 2015 se analizó la biomasa zooplanctónica y el porcentaje de cada grupo en las muestras recolectadas (**Tabla VI, ver anexos**), con énfasis al grupo de los copépodos. El primer arrastre realizado en el mes de enero (22/01/15), sirvió para conocer el área de recolección y la existencia de grupos zooplanctónicos, en particular los copépodos marinos que servirían para el trabajo en el laboratorio (**Gráfico No 1**). Las variables ambientales tomadas fueron: la temperatura que ese día estuvo a 25,79 °C; salinidad (33,27 ups), pH (9.7) y Oxigeno con 7.5 mg/L. En las muestras zooplanctónicas se presenta un 24.89% de copépodos (1045 ind/100m³), aunque el grupo que predomina en las muestras fue las larvas de camarones con un 37.88% (1591 ind/100m³). Otro grupo predominante fueron los cladóceros (*Penilia avirostris* y *Evadne tergestina*) con un 20% entre ambas especies.



**Gráfico No 1.** Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m<sup>3</sup>; Recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Enero-2015).

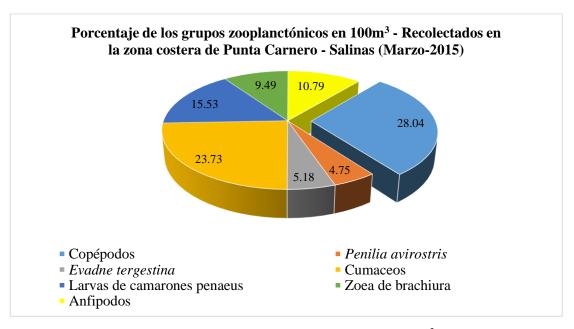
En el mes de febrero (09/02/15) se recolectó y aisló el primer grupo de copépodos salvajes (Prueba N°1), para realizar los tres (3) tratamientos dentro del laboratorio, las variables registradas en el arrastre zooplanctónico fueron, 28°C, 33 ups, 8 de pH y 7.5 mg/L de oxígeno (Estas variables se consideraron en tratamientos, por ende en la siembra se trató de no variar dichos valores). Los cladóceros ocuparon el mayor porcentaje de las muestras con un 35 % (entre las especies *P. avirostris* y *E. tergestina* con 136 y 307 ind/10m³), mientras que los copépodos (21.54 %) y las larvas de camarones (20.65%), con 273 y 261 ind/100m³ respectivamente. abarcan los otros grupos predominantes (**Gráfico No 2**).



**Gráfico No 2.** Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m<sup>3</sup>; Recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febreo-2015).

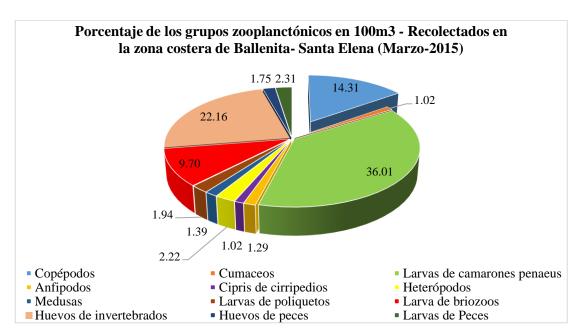
En marzo se realizaron dos arrastres zooplanctónicos, uno en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (04/03/15), de donde se aislaron copépodos para la prueba N°2 y en ella el cuarto tratamiento (T4). En este arrastre las variables físicas tomadas fueron: 27.8°C de temperatura, 32.4 ups, 7.9 de pH y 6.95 mg/L de oxígeno. En cuanto al análisis de la biomasa de los grupos en las muestras, los copépodos (28.04% com 739 ind/100m³) y cumaceos (23.73% con 625 ind/100m³) abarcaron los grupos predominantes en las muestras. Mientras que las larvas de camarones (15.53%), los

cladóceros (9.9% en las especies *P. avirostris* y *E. tergestina*) y anfípodos (10.79%) tuvieron una representatividad en las muestras recolectadas (**Gráfico No 3**).



**Gráfico No 3.** Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m<sup>3</sup>; Recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015).

Mientras que en la zona costera de Ballenita-Santa Elena (05/03/15), se efectuó el segundo arrastre de ese mes, de donde se aisló el tercer grupo de copépodos (prueba N°3 y en esta los tratamientos 5, 6 y 7); los valores de temperatura, salinidad, pH y oxígeno en este arrastre fueron: 26.5°C, 32.6 ups. 7.5 y 6.7 mg/L en su orden. Se recolectó una muestra más biodiversa en cuanto a grupos zooplanctónicos, es así que las larvas de camarones con 36% (1773 ind/10m³) fue el más predominante, aparecen también los huevos de invertebrados con un 22% (1091huevos/10m³) y los copépodos con 14.31% de las muestras (705 ind/100m³) fueron el tercer grupo representativo en el análisis (**Gráfico No 4**).



**Gráfico No 4.** Porcentaje de los grupos zooplanctónicos en 100m<sup>3</sup>; Recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Marzo-2015).

#### 7.2. Identificación de especies de copépodos

Se identificó un total de 13 especies de copépodos planctónicos diferentes (7 del órden Calanoidea, 3 del órden Harpacticoida; 2 del órden Poecilostomatoida y 1 del órden Cyclpoidea), fluctuando su presencia entre los 4 arrastres efectuados para las zonas costeras elegidas para el trabajo (zona costera de Punta Carnero y zona costera de Ballenita (**Tabla VII**), siendo *Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina acutifrons* las especies encontradas en todos los arrastres realizados, Se resalta además la presencia de las especies *Pseudodiaptomus acutus* (Calanoida) y *Microstella rosea* (Harpacticoida), se presentaron en una zona de muestreo y en un mes distinto (Punta Carnero en enero/2015 y Ballenita en marzo/2015 respectivamente), acción por la cual se deben realizar estudios sobre dicha presencia de estas especies, ya que pudiesen ser (Hipotéticamente hablando), dos especies bioindicadoras de algún fenómenos físico-químico u oceanográfico en el medio marino.

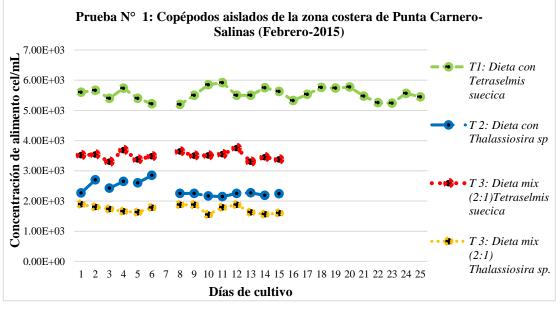
**Tabla VII.** Lista de especies de copépodos identificadas para las zonas costeras de Punta Carnero-Salinas y Ballenita-Santa Elena, identificadas de los arrastres con red de 300  $\mu$ .

Zonas de arrastres	Zona costera de Punta Carnero-Salinas			Zona costera de Ballenita-Santa Elena
Meses de muestreos	Arrastre Enero/2015	Arrastre Febrero/2015	Arrastre Marzo/2015	Arrastre Marzo/2015
Órden Calanoidea				
Acartia tonsa (Dana, 1849)	X	X	X	X
Centropages velificatus (Dana, 1852)	X		X	X
Eucalanus attenuatus (Dana, 1849)	х	Х	X	
Labidocera detruncata (Dana, 1849)	х			x
Nannocalanus minor (Claus, 1863)	х	Х	X	X
Pseudodiaptomus acutus (Dalh, 1894)	Х			
Rhincalanus cornutus (Dana, 1849)	Х	X		
Órden Cyclpoidea				
Oithona nana (Giesbrecht, 1892)	х	Х	X	x
Órden Harpacticoidea				
Euterpina acutifrons (DANA, 1848).	x	X	X	Х
Macrostella gracilis (Dana, 1852).	X		X	x
Microstellas rosea (Dana, 1852).				X
Órden				
Poecilostomatoida				
Corycaeus giesbrecht (Dahl, 1894)	Х		X	
Oncaea venusta (Philippi, 1843)	X	X		
$N^{\circ}$ de especies.	12	7	8	8

# 7.3. Prueba N° 1. Copépodos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febrero-2015)

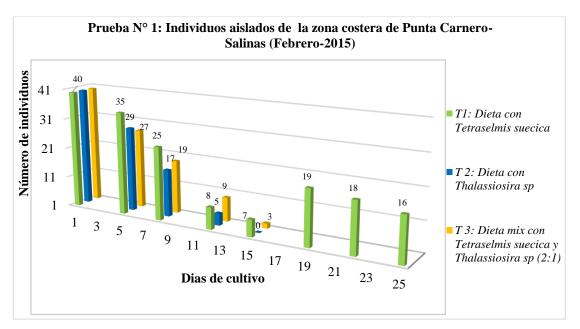
Las 9 (nueve) fiolas separadas, todas con 40 copépodos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (09/02/15). Colocadas en agua de mar a 32.5 ups, 27.5°c y 7.5 de pH, fueron separadas en 3 tratamientos (3 fiolas c/u) basándolos en dos dietas unialgales y una mixta, y relacionando estas con la supervivencia (número de ind/día) de los copépodos. En esta prueba, la duración de los tratamientos varió, pues el T1 duró 25 días, mientras que las dos restantes (T2 y T3) solo abarcaron 15 días, debido a la disminución de individuos en los tratamientos.

En el **Gráfico No 5**, se presenta las concentraciones diarias de alimento (cel/mL) proporcionadas en cada tratamiento, donde se muestra lo constante que fue dicho suministro, manteniéndose las concentraciones planteadas en el trabajo (T1=5.54\*10<sup>3</sup> cel/mL de *Tetraselmis suecica*; T2= 2.38\*10<sup>3</sup> cel/mL de *Thalassiosira* sp y T3= 3.5\*10<sup>3</sup> y 1.73\*10<sup>3</sup> cel/mL de *Tetraselmis suecica* y *Thalassiosira* sp en relación 2:1)



**Gráfico No 5.** Concentraciones diarias de alimentación para los tratamientos (T1, T2 y T3) de la Prueba N° 1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febrero-2015).

Se tomó el número de individuos para esta prueba, y fue notoria la mortalidad en los tratamientos, en el **gráfico No 6**, se indica la disminución paulatina del número de individuos en los tres tratamientos, iniciando con 40 ind/tratamiento (día 1: siembra) y llegando al día 15 con un número menor a 10 individuos en todos los tratamientos, sin embargo se resalta el aumento en el T1, este fue el que mejores resultados mostró, con un aumento en el día 18 de cultivo con un promedio de 19 ind en 200mL, manteniéndose estos hasta la finalización de la prueba. En esta prueba se reporta el éxito reproductivo de *Acartia tonsa*, pues lo demuestra el aumento de individuos y el análisis de los nauplios generados en el tratamiento 1.



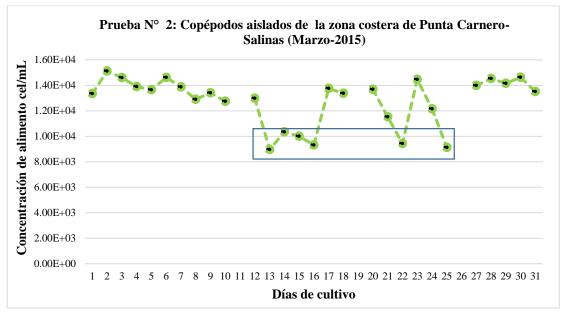
**Gráfico No 6.** Número de individuos en los tratamientos (T1, T2 y T3) de la Prueba N° 1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febrero-2015).

Se registró diariamente variables como temperatura, salinidad y pH, las cuales se presentan en la **Tabla VIII (ver anexos).** 

## 7.4. Prueba N° 2. Copépodos recolectados en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015)

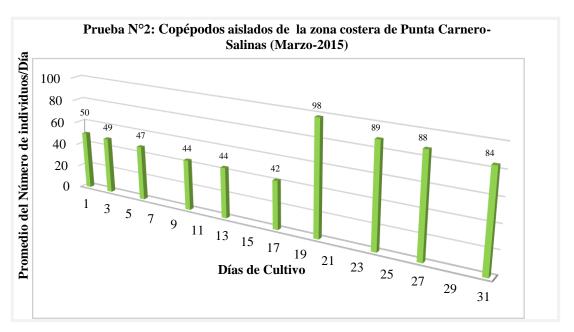
Para la segunda prueba se realizó un nuevo arrastre zooplanctónico en la zona costera de Punta Carnero-Salinas (04/03/15), de donde se recolectaron y posteriormente aislaron copépodos que fueron sembrados en 3 fiolas (cada una con 50 individuos), con 200 mL de agua de mar a 33ups, 27°C y un pH de 7. Estas sirvieron para un tratamiento, que tuvo una duración de 31 días, el tratamiento en mención fue designado como (T4) dieta monoalgal usando *Tetraselmis suecica*, con una concentración promedio de 1.24\*10<sup>3</sup> cel/mL.

En el **gráfico No 7**, se muestra la concentración diaria de alimentación suministrada (cel/mL), se trató ser constante, no obstante hubo días entre el 12 y 25 de cultivo (rectángulo) donde tal concentración proporcionada estuvo por debajo del promedio planteado, a pesar de ello, esto no influyó en el desarrollo de los individuos.



**Gráfico No 7.** Concentración diaria de alimentación dieta con *Tetraselmis suecica* para el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015).

Además se registró el número de individuos para este tratamiento (**Gráfico No 8**), presentándose una baja mortalidad en el tratamiento, pues se comenzó con 50ind/200mL (día 1) y en el día 17 se presentó un promedio de 42 ind/200mL, y luego fue notorio el aumento de individuos, reportándose para el día 20 un promedio de 98 individuos/Tratamiento. Se reporta en el desarrollo de esta prueba el éxito reproductivo de *Euterpina acutifrons*, demostrándose en el aumento de individuos y el análisis de los nauplios generados en el tratamiento, además de la presencia de hembras con sacos ovigeros en el aislamiento). Asimismo se registra la presencia de la especie de copépodo *Oithona nana* en mayor número dentro del tratamiento, estos se mantuvieron pero no presentaron reproducción, sirviendo los mismos para ser aislados en una nueva prueba (tomándose como cepa pura).



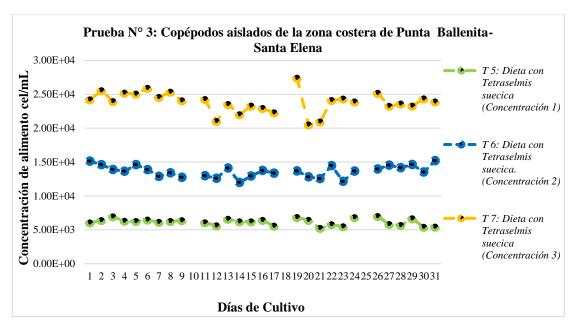
**Gráfico No 8.** Número de individuos en el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015).

De igual manera se tomó diariamente variables como temperatura, salinidad y pH, estas se muestran en la **Tabla IX** (**ver anexos**).

# 7.5. Prueba N° 3. Copépodos recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Marzo-2015)

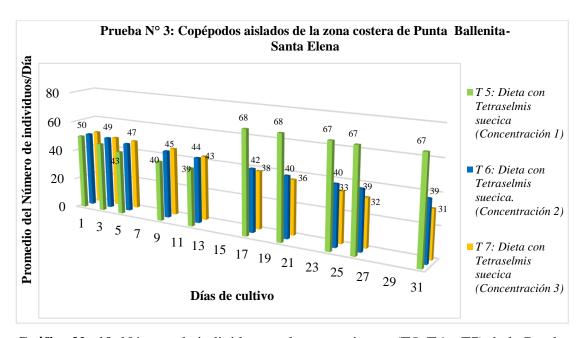
Para esta nueva prueba se realizó un arrastre en la zona costera de Ballenita - Santa Elena (05/03/15), donde los copépodos aislados fueron usados en tres nuevos tratamientos (T5; T6 y T7), sembrados a una densidad de 50cop/200mL de agua de mar a 33ups, 27.5°C y un pH de 7. Durante 31 días se evaluó el efecto que tienen distintas concentraciones de alimento (cel/mL) de la microalga *Tetraselmis suecica*, en la supervivencia de los copépodos en los tratamientos.

En el **gráfico No 9,** se muestra las concentraciones diarias suministradas en los tratamientos, las cuales se trató de que sean constantes y estables, para mantener lo plantado en el estudio, cuyas concentraciones promedios fueron (T5 =  $6.16*10^3$  cel/mL), (T6 =  $1.36*10^4$  cel/mL) y (T7 =  $2.38*10^4$  cel/mL.).



**Gráfico No 9.** Concentraciones diarias de alimentación con la dieta *Tetraselmis suecica* para los tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba N° 3: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Febrero-2015).

En cuanto al número de individuos para estos tratamientos (**Gráfico No 10**), se muestra la baja mortalidad de los copépodos (con las tres concentraciones de *Tetraselmis suecica*). Además se reporta un incremento en el T5 cuya concentración de alimento fue  $6.16*10^3$  cel/mL al existir la presencia de nauplios de copépodos (principalmente de la especie *Euterpina acutifrons* en los recipientes de cultivo, mostrando una eficaz adaptación a las condiciones de cultivo y por ende el éxito reproductivo de individuos dentro de los tratamientos). Fue en este periodo en que se aisló cepas de copépodos puras de esta especie; debido al tamizado de los individuos (< 200  $\mu$ ) y separados en nuevos tratamientos.



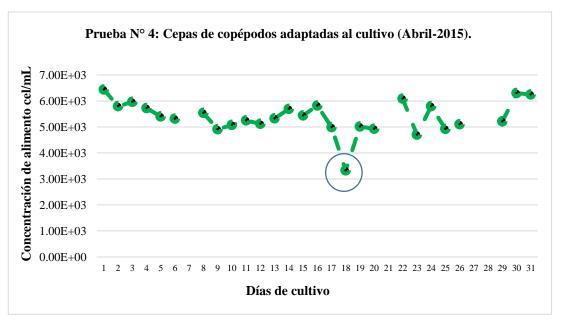
**Gráfico No 10.** Número de individuos en los tratamientos (T5, T6 y T7) de la Prueba N° 3: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Febrero-2015).

Además se registró diariamente variables como temperatura, salinidad y pH, las que se muestran en la **Tabla X** (**ver anexos**).

#### 7.6. Prueba N° 4. Cepas de copépodos, adaptadas al cultivo. (Abril-2015)

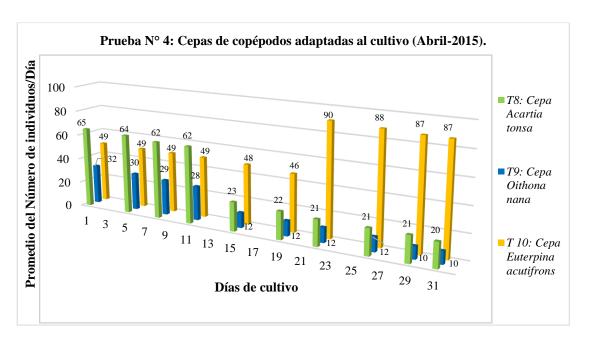
La prueba N° 4 consistió en el uso de 3 cepas puras de copépodos marinos, que se logró aislar, adaptar y mantener en el laboratorio de las pruebas (1, 2 y 3), estas cepas son: *Acartia tonsa, Oithona nana y Euterpina acutifrons*, las cuales fueron separadas en 3 tratamientos T8, T9 y T10 para cada especies respectivamente. Se evaluó una sola concentración de alimento, con la microalga *Tetraselmis suecica*, con un promedio de 5.39\*10<sup>3</sup>cel/mL.

Se muestra las concentraciones diarias de alimento (cel/mL de *Tetraselmis suecica*) en los tres tratamientos (**Gráfico No 11**), donde se remarca (circulo) que en el día 18 de cultivo dicha concentración estuvo por debajo del promedio diario de alimentación con  $3.33*10^3$  cel/mL, a pesar de ello no influyó en gran medida en el cultivo, al demostrarse que no hubo mortalidad en los tratamientos para ese día.



**Gráfico No 11.** Concentración de alimento (cel/mL/Día) dieta *Tetraselmis suecica* con promedio de 5.39\*10<sup>3</sup>cel/mL en los Tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba N° 4: Copépodos aislados como cepas puras: *Acartia tonsa*, *Oithona nana* y *Euterpina acutifrons* (Abril-2015).

En cuanto al número de individuos dentro de los tratamientos los resultados obtenidos por la cepa *Euterpina acutifrons* muestran una mayor relevancia (**Gráfico No 12**). Donde se reporta el éxito reproductivo de esta especie, generándose nuevos individuos en el tratamiento (T10). Más, sin embargo, las 2 cepas restantes disminuyó el número de individuos en los tratamientos entre los día 11 al día 15, debido a un recambio de agua efectuado en el día 11 en los dos tratamientos (día en que además se cuantifico el # de individuos), se asume tal conclusión pues las fiolas analizadas en el día 15, mostraron la presencia de protozoarios que afectaron la calidad del agua, que influyó en la mortalidad de los individuos en el cultivo, a partir de ello se realizó un nuevo recambio de agua para así eliminar los organismos no deseados.



**Gráfico No 12.** Número de individuos en los tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba N° 4: Copépodos aislados como cepas puras: *Acartia tonsa*, *Oithona nana* y *Euterpina acutifrons* (Abril-2015).

Los valores promedios de las variables en el cultivo fueron 29.28 °C de temperatura. 31.46 ups y 7.36 de pH, los valores diarios de estas variables se presentan en la **Tabla XI** (ver anexos).

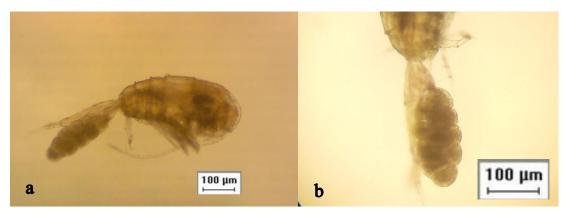
### 7.7. Otros resultados alcanzados

### 7.7.1. Tasa de producción de huevos (TPH)

De las hembras ovadas aisladas de manera individual, se calculó la tasa de producción de huevos (TPH), basándose en la cantidad de huevos registrados en una hembra. Se determinó que las hembras de *Acartia tonsa* portan dos sacos con ovigeros y (producen entre 25-40 huevos/hembra (**Imagen 13**), Por lo que este registro se asemeja e integra a los ya reportados por; Kiørboe *et al.* (1985); Cervetto *et al.* (1993); Kiørboe y Nielsen (1994); Jónasdóttir (1994); Gaudy *et al.* (1996) y Castiglioni (2010), resultados que se muestran en la **Tabla XII.** 

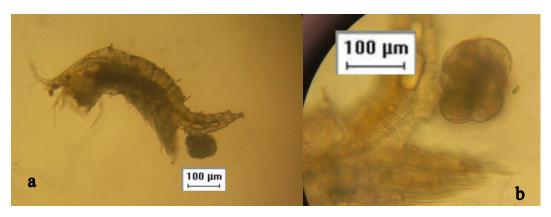
**Tabla XII.** Tasa de producción de huevos (TPH) de *Acartia tonsa* reportada en varios estudios.

Especie	Tasa de producción de huevos (TPH) Huevos/hembra	Fuente	
	1-21 huevos	Kiørboe et al. (1985)	
	9-39 huevos	Cervetto et al. (1993);	
Acartia tonsa	1-24 huevos hembra	Kiørboe y Nielsen (1994)	
	10-70 huevos	Jónasdóttir (1994)	
	5-18 huevos	Gaudy et al. (1996)	
	88 huevos	Castiglioni (2010)	



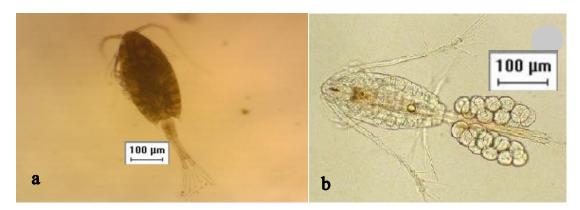
**Imagen 13. a**) Hembra de *Acartia tonsa* con su sacos ovigeros, **b**) huevos en un saco ovigero de *Acartia tonsa* (Fotos del autor).

Para *Euterpina acutifrons* las hembras portan entre de 24-30 huevos/hembra (**Imagen 14**), resultado que comparado con el trabajo de Pérez (2005), donde registró 33 huevos/hembra en promedio para esta especie, está dentó de un rango normal. No se presentó mortalidad en la etapa de eclosión, por lo que se generaron tantos nauplios como huevos producidos, apareciendo los copepoditos I a los 6-7 días después de la eclosión y los adultos aproximadamente a los 22 días.



**Imagen 14.** a) Hembra de *Euterpina acutifrons* con su sacos ovigeros, b) Huevos en un saco ovigero de *Euterpina acutifrons* (Fotos del autor).

En cuanto a *Oithona nana*, no se logró cuantificar el número de huevos/hembra, pero apoyados del trabajo realizado por Temperoni (2008), se conoce que generan entre 18 a 30 huevos/hembra (de 9 a 15/saco).



**Imagen 15.** a) *Oithona nana* (Foto del autor). b) Hembra de *Oithona nana* con sus sacos ovigeros. Imagen tomada de Temperoni (2008).

### **CONCLUSIONES**

- Se logró aislar e identificar 13 especies de copépodos marinos pelágicos salvajes (7 del órden Calanoidea, 3 del órden Harpacticoida; 2 del órden Poecilostomatoida y 1 del órden Cyclopoida), recolectados mediante arrastres superficiales en dos zonas costeras de la provincia de Santa Elena (Punta Carnero y Ballenita), usando redes zooplanctónicas de 300 μ. Resaltando que las especies *Pseudodiaptomus acutus* (Calanoida) y *Microstella rosea* (Harpacticoida), se presentaron en una zona de muestreo y en un mes distinto (Punta Carnero en enero/2015 y Ballenita en marzo/2015 respectivamente), acción por la cual se deben realizar estudios sobre dicha presencia de estas especies, ya que pudiesen ser (Hipotéticamente hablando), dos especies bioindicadoras de algún fenómenos físico-químico u oceanográfico en el medio marino.
- ➤ En este estudio se logró establecer, un protocolo para realizar un cultivo de copépodos marinos pelágicos, además se lograron cultivar tres (3) especies en el laboratorio (*Acartia tonsa*, *Oithona nana y Euterpina acutifrons*), teniendo una particularidad muy interesante, cada especie pertenece a un órden específico (Calanoida, Cyclopoida y Harpacticoida respectivamente).
- ➤ Se reporta que la mejor dieta suministrada en las pruebas fue con la microalga *Tetraselmis suecica*, y que las concentraciones diarias de 6.16\*10³, 1.36\*10⁴ y 2.38\*10⁴ cel/mL de esta especie, suministradas en los tratamientos no presentaron diferencias puntuales en la mortalidad de copépodos cultivados, por lo que se establece que dichas concentraciones son óptimas para mantener las especies en un sistema controlado.

➤ De las especies de copépodos que se logró adaptar al cultivo, *Euterpina acutifrons* es la que mayor número de individuos generó en las pruebas, que junto a *Acartia tonsa* generaron un aumento en producción de nauplios en el cultivo, ya que las hembras *A. tonsa* portan entre 25-40 huevos en dos sacos ovigeros, mientras que las hembras de *E. acutifrons* portan entre 24-30 huevos.

# DISCUSIÓN

Con la única finalidad de generar un cultivo de copépodos marinos pelágicos bajo condiciones controladas, se trabajó teniendo en nuestra mentalidad que estos organismos (abundantes en el medio natural), en el futuro serán parte del cambio en el campo acuícola, específicamente en la alimentación de larvas de especies de interés comercial en especial de la provincia de Santa Elena y del País

Se evaluó el desempeño de los copépodos marinos alimentados con diferentes especies de microalgas (*Tetraselmis suecica* y *Thalassiosira* sp), con el propósito de seleccionar la mejor dieta (concentración de algas cel/mL), por tal razón en el cultivo se realizaron 4 pruebas, dividiéndose en 10 tratamientos.

Sin embargo nos permitimos considerar como dieta a la microalga *Tetraselmis suecica*, que en concentraciones diarias de 6.16\*10<sup>3</sup>, 1.36\*10<sup>4</sup> y 2.38\*10<sup>4</sup> cel/mL permiten un desarrollo normal en las especies de copépodos cultivadas sin que exista una disminución en el número de individuos, pues se puede mantener dichas concentraciones diarias estandarizadas. A pesar de las concentraciones reportadas por Rosas *et al.* 2007 y Cambefort, 2009, que son mayores (3-5\*10<sup>5</sup> y 5x10<sup>4</sup> cel/mL) este trabajo no reporta una diferencia marcada.

Consideramos además se tomen en consideración las distintas fases que conllevan al desarrollo de un sistema de cultivo estandarizado

O Zona de recolección de copépodos: En primer lugar debe hacerse una buena selección del lugar donde se realizara la extracción de material zooplanctónico, en nuestro caso la zona costera de Punta Carnero era la óptima (por su cercanía al laboratorio donde se trabajó en los cultivos), sin embargo esta zona no es segura

- debido a sus "aguas peligrosas", se planteó tener una segunda opción. (En este trabajo, la zona costera de Ballenita).
- Aislamiento: Este proceso debe ser rápido, pues los organismos salvajes recolectados, tienden a morirse luego de su extracción (entre 4 a 6 horas fuera del agua), existe depredación entre organismos dentro de un recipiente que contenga las muestras. ya que no están narcotizadas o fijadas (con formalina al 4%).
- Siembra de copépodos: Durante todo el proceso se trabajó con un promedio de (40 ind/200mL de agua de mar) en la primera prueba, (50 ind/200mL de agua de mar) en la segunda y tercera prueba) y (entre 30-50 ind/200mL de agua de mar. Dependió de la especie) en la cuarta prueba.
- Pruebas de alimentación: la experiencia ganada, muestra que la microalga Tetraselmis Suecica, fue la que mejores resultados dio, se puede trabajar con las concentración entre 5-7\*10<sup>3</sup> cel/mL/Día como óptimas.
- **Tiempo de pruebas:** el número de días de trabajo depende generalmente del investigador, en este trabajo las pruebas variaron entre 15, 25 y 31 días dependiendo de la presencia de individuos en los tratamientos. Para la especie *Euterpina acutifrons* el ciclo de vida completo fue de 22 días.

### RECOMENDACIONES

- ➤ Se recomienda continuar con los estudios de copépodos en el campo acuícola, debido al uso potencial de estos organismos en larvicultura como una alternativa de alimento vivo.
- Con el desarrollo de nuevos estudios pretendemos lograr en un futuro una masificación de copépodos marinos, siendo *Euterpina acutifrons* la especie que visualizamos como objetivo, dado que el desarrollo de esta especie se logra en condiciones controladas.
- ➤ Ejecutar nuevas pruebas (nuevos tratamientos) evaluando la alimentación con otras especies de microalgas y la adaptación de copépodos en sistemas controlados, para así mejorar la calidad nutricional e incrementar la supervivencia de copépodos en los cultivos. Además de continuar evaluando nuevas técnicas y tecnologías que sean aplicables en el mejoramiento de la calidad y cantidad de copépodos en un medio de cultivo controlado.
- ➤ Nos permitimos sugerir el desarrollo y/o mejoramiento de convenios de cooperación entre la Universidad y Laboratorios privados (dedicados a la acuacultura), pues la única manera de poner en práctica las enseñanzas de los docentes en las aulas de clases y continuar con un proceso de aprendizaje es hacer realidad nuestras ideas innovadoras, y así generar trabajos de investigación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- **Amat-Domènech, F., 1993.** Producción de zooplancton. En: F. Castelló-Orvay (Ed). Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción. Universidad de Barcelona, España. pp. 331-358.
- Arcos, F., 1978. Distribución de la Biomasa Planctónica y Copépodos en la parte interior del Golfo de Guayaquil. Rev. Com. Perm. Pacífico. Sur. Vol. 9. pp. 41-50.
- **Arcos, F. y Fleminger, A., 1986.** Distribution of filter-feeding Calanoid Copepds in the eastern equatorial Pacific. En: CalCoFI Rep. Vol. XXVII. pp. 170-187.
- Asencio, G., Clasing, E., Herrera, C., Stead R. y Navarro, J., 1993. Copépodos Harpacticoídeos de las comunidades de *Venus antiqua* y *Mulinia* sp., en la planicie mareal de Yaldad, Quellón, Chiloé, Chile. Revista Chilena de Historia Natural 66. pp. 455-465.
- **Asturnatura., 2015.** Página principal. Tema: Los Copépodos. Consultado el (03/02/2015). http://www.asturnatura.com/articulos/artropodos/copepod.php
- **Bonilla, D., 1983.** El Zooplancton de las Islas Galápagos. Acta Oceanográfica del Pacífico. INOCAR, Vol 2. No 1. Ecuador. pp 119-130.
- **Bonilla-Coello, M. A., 1992.** Efectos de El Niño 1982-1983 en la Distribución de Copépodos del Pacífico Ecuatorial Oriental. Tesis de Maestría, Concepción, Chile. pp 1-94.
- **Bonilla-Coello, M. A., 2003.** Distribución de Copépodos en una estación Fija en el Estuario interior del Golfo de Guayaquil: 2000 2002. Revista Tecnológica. Vol 16. No1. Informe Proyecto RIBEN. pp 84-89.

- **Björnberg, T., 1981.** Copépoda. En D. Boltovskoy. (ed) Atlas del Zooplancton del Atlantico Sudoccidental. Publ. Espa. Inst. Nal. Inv. Desarr. Pesq. Mar del Plata, Argentina. pp 587-579.
- Bowman, T. E. y Abele, L. G., 1982. Classification of the Recent Crustacea, En: D.E. Bliss (Ed). The biology of crustacea. Vol. 1. Systematic, the fossil record and biogeography. Academic Press, Inc., New York, E.U.A. pp 1-27.
- Cabrera, T., Rosas, J., Velásquez, A. y Millán, J., 2002. Cultivo de copépodos en Venezuela. Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Universidad de Oriente, Venezuela. Consultado el (13/11/2014).

  <a href="http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2002/07/01/cultivo\_de\_copepodos\_en\_venezuela\_.htm">http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2002/07/01/cultivo\_de\_copepodos\_en\_venezuela\_.htm</a>
- Cambefort, S., 2009. Efecto de las Microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis sp.*, e *Isochrysis galbana* sobre la Reproducción y Desarrollo Naupliar en Copépodos Calanoideos Marinos Tropicales, *Acartia spp.* Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL). Tesis de Grado. pp. 10-70.
- Cardona-Pascual, L., 1993. Alimentación larvaria en peces- En: F. Castelló-Orvay
  (Ed). Acuicultura marina: Fundamentos biológicos y tecnología de la producción.
  Universidad de Barcelona, España. pp 357-36.
- Castiglioni, R. 2010., Abundancia, estructura poblacional, tasas de herbivoría y producción de *Acartia tonsa* en la costa de Montevideo durante un ciclo anual. Universidad de la república de Uruguay. Tesis de grado para optar por el grado de licenciado en ciencias biológicas. pp 11-27.
- **Caswell, H., 1989.** Matrix population models: Construction, analysis, and interpretation. Sinauer Associates, Inc. E. U. A. pp 328.

- Cervetto, G., Gaudy, R., Pagano, M. y Saint-Jean, L., 1993. Dial variations in Acartia tonsa feeding, respiration and egg production in a Mediterranean coastal lagoon. Journal of Plankton Research Vol. 1 No 11. pp 1228-1207.
- Chong-Carrillo, O. y Vega-Villasante, F., 2003. El dicamarón: Diccionario de camaronicultura. Versión 1.0, CIBNOR-Universidad de La Habana.
- **Coll, M. J., 1999.** Acuicultura marina animal. Ediciones mundi prensa, segunda edición. Madrid, España.
- **Coull, B. C., 1999.** Role of meiofauna in estuarine soft-boton habitats. Aust. J. Ecol. 24. pp 327-343.
- Dawson, J. y Knatz, G., 1980. Illustrated Key to the Planktonic Copepod of San Pedro Bay, California: Published by the Allan Hancock Foundation and the Institute for Marine and Coastal Studies university of Southern California. Los Angeles, California. Vol 2. No 2. pp 1-106.
- **Delbare, D., Dhert, P. y Lavens, P., 1996.** Zooplankton. In: Lavens, P., Sorgeloos, P., (Eds.), Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture, FAO Fisheries Technical Papers 361, Rome. pp 252-282.
- **Diccionario esencial de la ciencias, 2000.** Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. ESPASA, Madrid, España. p 1022.
- FAO-Food and Agriculture Organization / Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura., 2015. La producción de alimento vivo y su importancia en acuicultura. Departamento de pesca. Consultado el (03/02/2015). http://www.fao.org/docrep/field/003/ab473s/ab473s05.htm
- Gasca, R. y Suárez., E. 1996. Introducción al estudio del zooplancton marino. Colegio de la frontera sur (ECOSUR-CONACYT) consejo nacional de ciencia y tecnología. México. pp 1-771.

- Gaudy, R., Pagano, M., Cervetto, G., SaintJean, L., Verriopoulos, G. y Beker, B., 1996. Short term variations in feeding and metabolism of *Acartia tonsa* (pelagic copepod) in the Berre lagoon (France). Oceanol Acta 19. pp 635–644.
- **Hicks, G. R. F. y Coull, B. C., 1983.** The ecology of marine meiobenthic harpacticoid copepods. Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Ver. 21. pp 67-175.
- **Hulsemann, K., 1966.** Copépoda. En. Gasca, y Suárez. . Introducción al estudio del Zooplancton Marino. El Colegio de la Frontera Sur Ecosur. Conacyt. México. pp 248-295.
- Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador-INOCAR., 2015. Página principal. Tema: Publicaciones-Actas Oceanográficas. Consultado el (05/05/2015). http://www.inocar.mil.ec/web/index.php/publicaciones
- **Izquierdo, M. S., 1996.** Essential fatty acid requirements of cultured marine fish larvae. Aquaculture Nutrition 2. pp 183-191.
- Jaume, D., Conradi, M. y López-González, P., 2001. Curso práctico de entomología, Capitulo Copépodos. Sevilla. pp 303-331.
- **Jonasdottir, S. H., 1994.** Effects of foodquality on the reproductive success of *Acartia tonsa* and *Acaria hudsconica*: laboratory observation. Marine Biology 121. pp 67-81.
- **Kiørboe, T., Moholenberg, F. y Hamburger, K., 1985.** Bioenergetics of the planktonic copepod *Acartia tonsa*: relayion betwen feeding, egg production and respirarion, and composition of especific dynamic action. Mar Ecol Prog. Ser 26. pp 85-97.
- **Kiørboe, T. y Nielsen, T. G., 1994.** Regulation of zooplankton biomass and production in a temperate, coastal ecosystem. I Copepods. Limnology and Oceanography 39. pp 493-507.

- **Koga, I., 1979.** Culture methods of the marine Copepods. Bull. Japan. Soco Sci. Fish., 17(21). pp 32-52.
- **Krebs, C. J., 1985**. Ecología: estudio de la distribución y la abundancia. Ed. Harla, México. p 753.
- Lally, C. M. y T. R., Parsons. 1993. Biological oceanography: an introduction. Pergamon Press. Walton Hall, Milton Keynes. Oxford, Britain. p 301.
- Margalef, R., 1983. Limnologia. Barcelona: Ediciones Omega S. A. p 1010
- Martínez-Córdova, A., Campaña-Torres, A. y Martínez-Parchas, M., 2011. Efecto del suministro de cuatro densidades de copépodos (*Acartia* sp. y *Calanus pacificus*) en la respuesta productiva de *Litopenaeus vannamei* preengordado intensivamente a nivel microcosmos. *Ciencias Marinas* (2011), 37(4A). pp 415-423.
- Martínez-Córdova, L., Martínez-Porchas, M., López-Elías, J., Campaña-Torres, A., Miranda-Baeza, A., Ballester, E. y Porchas-Cornejo, M., 2010. Alimento Natural en Acuacultura: una revisión actualizada. En: Cruz-Suarez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J. (Eds), Avances en Nutrición Acuícola X Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 8-10 de Noviembre, San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 668-699.
- Mckinnon, A., Duggan, S., Nichols, P., Rimmer, M., Semmens, G. y Robino, B., 2003. The potential of tropical paracalanid copepods as live feeds in aquaculture. Aquaculture 2003 (223), pp 89-106.

- Mujica, A., Carvajal, C. y Miranda, O., 1995. Cultivo experimental de *Tigriopus sp*. (Copepoda: Harpacticoidea). Invest. Mar., Valparaíso, 23. pp 75-82.
- **Nanton, D. A. y Castell, J. D., 1999.** 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. Aquaculture 199 (175), pp 167-181.
- **Palma, G. y K, Kaiser., 1993**. Plancton Marino de Aguas Chilenas. Universidad Católica de Valparaíso. Fac. rec. Nat. Esc del Mar. Montemar. Chile. pp 87-92.
- **Palomares-García, J. R., 1996.** Estructura espacial y variación estacional de los copépodos en la ensenada de La Paz. Oceánides 11(1), pp 29-43.
- **Payne M, y Rippingale R. 2001**. Intensive cultivation of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Aquaculture 2001 (201), pp 329-342.
- **Payne, M., Rippingale, R. y Cleary, J., 2001**. Cultured copepods as food for West Australian dnufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*) larvae. Aquaculture 2001 (194), pp 137-150.
- **Pedersen, B. H., 1984.** The intestinal evacuation rates of larval herring (*Clupea harengus* L.) predating on wild plankton. Dana (3), pp 21-30.
- Pérez, A., 2005. Efecto de diferentes microalgas en las tasas vitales de Euterpina acutrifons (DANA, 1848) (Copepoda: Harpacticoida) en condiciones controladas. Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur. Tesis de Maestría. pp 19-55.
- **Prieto, M., Castaño, F., Sierra, J., Logato, P. y Botero, J., 2006.** Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y Mesocosmos. Rev.MVZ Córdoba 11 Supl (1), pp 30-36.
- **Prieto, M. y Atencio, V., 2008.** Zooplancton en la larvicultura de peces Neotropicales. Rev.MVZ Córdoba 13 Supl (2), pp 1415-1425.

Puello-Cruz, A., González-Rodríguez, B. y Yen-Ortega, E., 2004. Latinoamérica: Cultivo de copépodos tropicales como alimento vivo alternativo para larvicultura de especies marinas. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad en Acuicultura y Manejo Ambiental. Sabalo Cerritos s/n Estero del Yugo C.P.82010 Apdo. Postal 711 Mazatlán, Sinaloa, México. Consultado el (11/08/2014).

http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2004/03/29/latinoamerica\_cultivo\_de\_copepodos\_tropicales\_como\_alimento\_vivo\_alternativo\_para\_larvicultura\_de\_especies\_marinas\_br\_por\_ana\_puello\_cruz\_blanca\_gonzalez\_rodriguez\_y\_eloy\_yen\_ortega\_.html#sthash.6L8EvCJt.dpuf

- **Raymont, J. E. G., 1980.** Plankton and productivity in the oceans: Zooplankton. Oxford, New York, Toronto. Pergamon Press, p 824.
- **Reid, J. W., 1985.** Clave de identificación y lista de referencias bibliográficas para las especies continentales sudamericanas de vida libre del órden Cyclopoida (Crustacea, Copepoda). *Boletim de Zoología, Universidade de São Paulo, Brazil* 9, pp 17-143.
- Rosas, J., Cabrera, G., Velásquez, A. y Cabrera, T., 2007. Crecimiento poblacional y valor nutricional del copépodo *Oithona ovalis*, Herbst 1955 (Copepoda: Cyclopoida) alimentado con cuatro especies de microalgas. Maracaibo, Venezuela. CIENCIA 15(2), pp 141–149.
- Ruiz-Guzmán, J. A., Jiménez, C. A., Gomes, C. y Prieto, M. J., 2012. Cultivo experimental de *Cyclopina sp* con diferentes especies de microalgas. Rev Colomb Cienc Pecu 2012; 25, pp 97-105.
- Salinas, M., 2005. Abundancia, distribución y variación temporal de copépodos marinos (calanoideos, harpacticoideos, cyclopoideos, poecilostomatoideos y monstrilloideos), en aguas costeras de la bahía de Santa Elena: La Libertad

- durante octubre 2004/ octubre 2005. Universidad Estatal Península de Santa Elena. Tesis de grado. pp 38-52
- **Schipp, G. R., Bosmans, J. M. P. y Marshall, A. J., 1999**. A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. Aquaculture 199 (174), pp 81-88.
- **Sipaúba–Tavares, L. H., 1993**. Análise da seletividade alimentar em larvas de tambaqui (*Colossoma macropoum*) e tambacu (híbrido, pacu *Piaractus mesopotamicus* e tambaqui *Colossoma macropomum*) sobre os organismos Zooplantônicos. Acta Limnologica Brasiliensia, 6, pp 114-132.
- **Sipaúba-Tavares, L. H., Bachion, M. A. y de Souza-Braga, F. M., 2001.** Effects of food quality on growth and biochemical composition of a calanoid copepod, *Argyrodiaptomus furcatus*, and its importance as a natural food source for larvae of two tropical fishes. Hydrobiologia 453/454, 393-401.
- **Sipaúba–Tavares, L. H. y Rocha, O., 2003.** Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. RiMa, São Carlos.
- **Støttrup, J.G., 2000.** The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. Aquacult. Res. 31, pp 703-711.
- **Temperoni, B., 2008**. Variación estacional de la producción secundaria de *Oithona nana* (Copépoda: Cyclopoida) en aguas costeras bonaerenses. Universidad Nacional de Mar del Plata, Laboratorio de zooplancton Instituto Nacional de Investigaciones y desarrollo pesquero (IINIDEP). Tesis de grado. pp 12-58.
- **Tutasi, P., 2005.** Identificación de copépodos (Crustacea: Zooplancton), en aguas costeras ecuatorianas con relación al evento La Niña (Septiembre del 2001. Universidad de Guayaquil. Tesis de grado. pp 25-186.
- Velásquez, A., Rosas, J., Cabrera, T., Millán, J. y Hernández, M., 2001. 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. Revista de Biología Marina y Oceanografía 36 (2): pp 189-197.

**Yúfera, M., Rodriguez, A. y Lubian, M., 1984.** Zooplancton ingestión and feeding behavior of *Penaeus kerathurus* larvae reared in the laboratory. Aquaculture., 42, 217-224.

## **ANEXOS**

**Anexo I.** Preparación del Medio de cultivo F/2 de Guillard y Ryther 1973.

MACRONUTRIENTES					
Reactivos	Cantidad (g/L)				
Nitrato de Sodio	75 g				
Fosfato de Sodio	5 g				

Disolver los reactivos en un litro de Agua Destilada. Usar 1 ml por cada litro de agua marina para cultivo.

SILICATOS					
Reactivos	Cantidad (g/L)				
Silicato de Sodio	25 g				

Disolver el reactivo en un litro de agua destilada, en un recipiente por separado. Usar un ml por cada litro de agua marina para cultivo.

MICRONUTRIENTES					
Reactivos	Cantidad (g/L)				
Solución stock de metales traza					
Sulfato cúprico	0,98 g				
Sulfato de zinc	2,2g				
Cloruro de Cobalto	1,0 g				
Cloruro de Manganeso	18,0 g				
Molibdato de Sodio	0,63 g				
Disolver en 100ml de agua destilada cada un preparar las soluciones stock de metales traz	1 1				

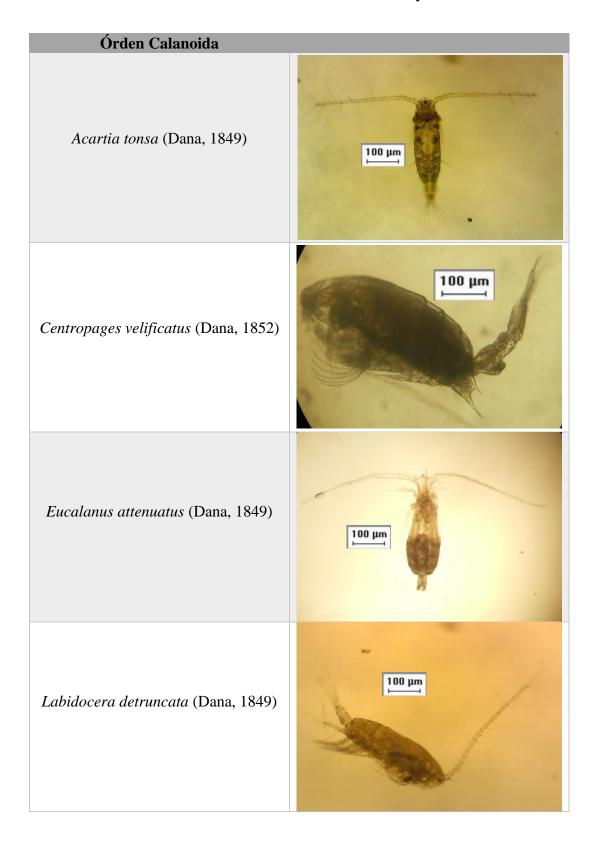
Cloruro férrico	3,15 g
EDTA disódica	4,36 g

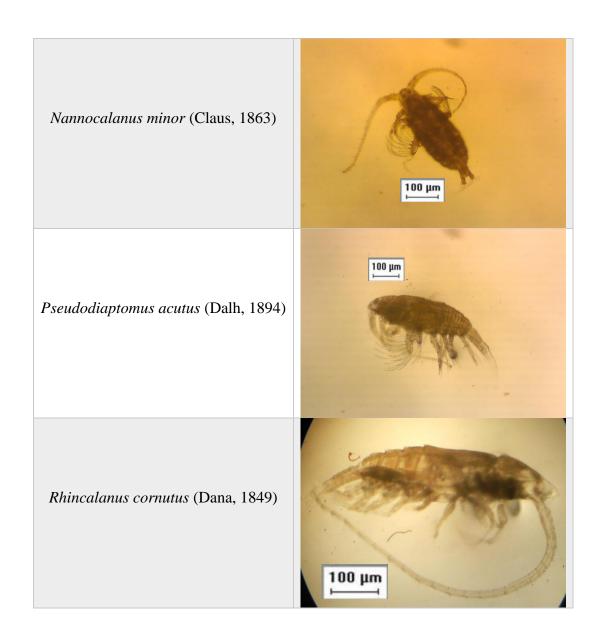
Para preparar la solución de trabajo de micronutrientes, primero disolver en su totalidad el EDTA disódica, agregar el cloruro férrico hasta que se disuelva; finalmente agregar 1 ml de cada una de las soluciones stock de metales traza; aforando a 1000 ml de agua destilada. Usar 1 ml de esta solución por cada litro de agua marina para cultivo.

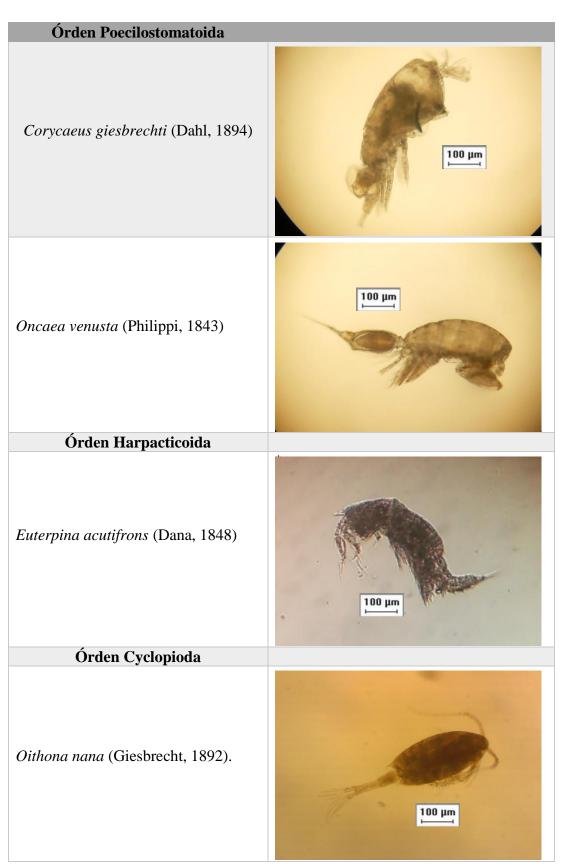
VITAMINAS						
Reactivos	Cantidad (g/L)					
Solución Stock de Vitaminas						
Biotina (B6)	<b>0.1 g</b> disolver en 100 ml de agua destilada					
Cianocobalamina (B12)	<b>0,1 g</b> disolver en 100 ml de agua destilada					
Pesar y hacer soluciones separadas de cada una Conservarse en refrigeración						
Tiamina 0,2 g						

Para preparar la solución de trabajo de Vitaminas se disuelve la Tiamina y se adiciona 1 ml de la solución Stock de B6 y 1 ml de B12 y aforar a 1 litro de agua destilada. Usar 0,5 ml por litro de agua marina para cultivo.

**Anexo II.** Imágenes de las especies encontradas en las muestras zooplanctónicas recolectadas en las zonas costeras de Punta Carnero-Salinas y Ballenita-Santa Elena.







<sup>\*</sup>Fotos del Autor.

**Tabla VI.** Biomasas y porcentajes mensuales de los grupos zooplanctónicos recolectados en las zonas de Punta Carnero-Salinas y Ballenita-Santa Elena, de donde se aislaron los copépodos para las pruebas en el laboratorio.

Meses	Enero	del 2015	Febrero	del 2015	Marzo del 2015		Marzo del 2015	
Zonas de Arrastres	Zona de Pu	nta Carnero	Zona de Pu	nta Carnero	Zona de Pu	inta Carnero	Zona de Pu	nta Ballenita
Organismos Zooplanctónicos	Biomasa ind/100m <sup>3</sup>	Porcentaje del grupo en 100m³	Biomasa ind/100m <sup>3</sup>	Porcentaje del grupo en 100m³	Biomasa ind/100m³	Porcentaje del grupo en 100m³	Biomasa ind/100m <sup>3</sup>	Porcentaje del grupo en 100m³
Copépodos	1045	24,89	273	21,54	739	28,04	705	14,31
Megalopa	0	0	0	0	2	0,09	5	0,09
Penilia avirostris	455	10,82	136	10,77	125	4,75	5	0,09
Evadne tergestina	341	8,12	307	24,24	136	5,18	45	0,92
Cumaceos	0	0	0	0	625	23,73	50	1,02
Larvas de camarones	1591	37,88	261	20,65	409	15,53	1773	36,01
Zoea de brachiura	318	7,58	11	0,90	250	9,49	45	0,92
Anfípodos	5	0,11	34	2,69	284	10,79	64	1,29
Cipris de cirrípedos	18	0,43	2	0,18	7	0,26	50	1,02
Pterópodo	14	0,32	14	1,08	0	0	5	0,09
Heterópodos	41	0,97	14	1,08	0	0	109	2,22
Larva de bivalvos	14	0,32	0	0	25	0,95	45	0,92
Larva de cefalópodos	0	0	0	0	0	0	5	0,09
Larvas de equinodermos	68	1,62	0	0	0	0	9	0,18
Medusas	77	1,84	2	0,18	0	0	68	1,39
Sifonóforos	9	0,22	0	0	0	0	36	0,74
Doliolum	0	0	0	0	0	0	5	0,09
Larvas de poliquetos	14	0,32	7	0,54	0	0	95	1,94
Quetognatos	18	0,43	0	0	0	0	23	0,46
Foraminíferos	14	0,32	0	0	5	0,17	14	0,28
Larva de briozoos	9	0,22	2	0,18	0	0	477	9,70
Huevos de invertebrados	0	0	9	0,72	0	0	1091	22,16
Huevos de peces	145	3,46	170	13,46	23	0,86	86	1,75
Larvas de Peces	5	0,11	23	1,80	5	0,17	114	2,31
Total	4200	100	1266	100	2634	100	4923	100

**Tabla VIII.** Variables tomadas en los tratamientos (T1, T2 y T3) de la Prueba  $N^{\circ}$  1: Copépodos recolectados y aislados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Febrero-2015).

	Prueba 1: Individuos recolectados en la zona costera de Punta Carnero (Febrero-2015)								
Días	Variables (T	Toda la pruel	oa)	Concentración de alimento (cel/mL)					
de				T1 T2		7	Г3		
cultivo	Temperatura (°T)	Salinidad (ups)	pН	Tetraselmis suecica	Thalassiosira sp	Tetraselmis suecica	Thalassiosira sp		
1	29	32.5	7.5	5.60E+03	2.27E+03	3.52E+03	1.89E+03		
2	31.5	32.5	8	5.66E+03	2.70E+03	3.54E+03	1.80E+03		
3	32	33	7.5	5.40E+03	2.43E+03	3.30E+03	1.73E+03		
4	31	33	7.5	5.73E+03	2.65E+03	3.68E+03	1.66E+03		
5	32	33.5	7.5	5.40E+03	2.60E+03	3.38E+03	1.63E+03		
6	29.5	33.5	7.5	5.22E+03	2.85E+03	3.48E+03	1.78E+03		
7	*	*	*	*	*	*	*		
8	30	33.5	7	5.20E+03	2.25E+03	3.64E+03	1.88E+03		
9	28.3	33.5	7	5.50E+03	2.25E+03	3.50E+03	1.88E+03		
10	28.5	33.5	7	5.85E+03	2.17E+03	3.51E+03	1.55E+03		
11	29	33.5	7	5.92E+03	2.15E+03	3.55E+03	1.79E+03		
12	27.5	33.5	7	5.50E+03	2.25E+03	3.75E+03	1.88E+03		
13	27.8	33.5	7.5	5.50E+03	2.28E+03	3.30E+03	1.63E+03		
14	27	33	7.5	5.75E+03	2.19E+03	3.45E+03	1.56E+03		
15	27	33	8	5.63E+03	2.24E+03	3.38E+03	1.60E+03		
16	27.5	33	7	5.33E+03					
17	27	33	7	5.53E+03					
18	27	33	7.5	5.76E+03					
19	27.8	33	7.5	5.74E+03					
20	28	33	7	5.77E+03					
21	27.5	33	7	5.48E+03	Prueba Finalizada	Prueba I	Finalizada		
22	26.8	33	7.5	5.26E+03					
23	26.5	33	7.5	5.24E+03					
24	27	33	7	5.56E+03					
25	27.5	33	7	5.45E+03					
25	28.45	33.13	7.31	5.54E+03	2.38E+03	3.50E+03	1.73E+03		

<sup>\*</sup> Día en el cual no se registró datos de las variables físicas, ni de la concentración de alimento.

**Tabla IX.** Variables tomadas para el tratamiento 4 (T4) de la Prueba N° 2: Copépodos recolectados de la zona costera de Punta Carnero-Salinas (Marzo-2015).

Prueba 2	Prueba 2: Individuos recolectados en la zona costera de Punta Carnero (Marzo-2015)									
		Tratamiento	4. Dieta <i>Tetr</i>	aselmis	suecica					
Días de	Concentración de alimento en	Var	Variables				Número de individuos			
cultivo	Recipiente (cel/mL)	Temperatura (°T)	Salinidad (ups)	pН	Fiola 1	Fiola 2	Fiola 3	Promedio		
1	1,34E+04	27	33	7	50	50	50	50		
2	1,51E+04	27,5	33	7						
3	1,46E+04	26,5	33	7	49	48	49	49		
4	1,39E+04	27	33,5	8,5						
5	1,37E+04	27	33,5	8						
6	1,46E+04	27,5	33,5	7,5	48	47	47	47		
7	1,39E+04	28	33,5	7,5						
8	1,29E+04	27,5	33,5	7,5						
9	1,34E+04	28,5	33,5	7,5						
10	1,27E+04	30	33,5	7,5	42	45	44	44		
11	*	*	*	*						
12	1,30E+04	29,5	33,5	7,5						
13	8,97E+03	30	33,5	7,5	42	45	44	44		
14	1,03E+04	29	33,5	8,5						
15	1,00E+04	30	34	8,5						
16	9,31E+03	31	33	8						
17	1,38E+04	31,5	33	7,5	40	43	42	42		
18	1,34E+04	31	33	7,5						
19	*	*	*	*						
20	1,37E+04	31,5	34	7,5	102	98	95	98		
21	1,15E+04	32	34	8						
22	9,42E+03	32,5	34,5	8						
23	1,45E+04	32	34	8						
24	1,22E+04	33	32,5	8	94	87	86	89		
25	9,14E+03	29	32,5	8,5						
26	*	*	*	*						
27	1,40E+04	29,8	32,5	7,5	92	86	85	88		
28	1,45E+04	30,2	32	7,5						
29	1,42E+04	30,5	32	7,5						
30	1,46E+04	32	32	7,5						
31	1,35E+04	33	32	8,5	90	85	78	84		
31	1,28E+04	29,89	33,17	7,72						

<sup>\*</sup> Días en los cuales no se registraron datos de las variables físicas, ni de la concentración de alimento.

**Tabla X.** Variables tomadas en los tratamientos T5, T6 y T7. Prueba 3 copépodos recolectados en la zona costera de Ballenita-Santa Elena (Marzo-2015).

Prueba	Prueba 3. Individuos recolectados en la zona costera de Ballenita – Santa Elena (Marzo-2015)								
	Variables	(Toda la pru	eba)	Concentración	de alimento Tetr (cel/mL)	aselmis suecica			
Días de	T	C-1111		T5	T6	T7			
cultivo	Temperatura (°T)	Salinidad (ups)	pН	Concentración	Concentración	Concentración			
	(1)	(ups)		1	2	3			
1	27.5	33	7	6.05E+03	1.51E+04	2.42E+04			
2	26.5	33	7	6.39E+03	1.46E+04	2.56E+04			
3	27	33.5	8.5	6.95E+03	1.39E+04	2.39E+04			
4	*	*	*	6.30E+03	1.37E+04	2.52E+04			
5	27.5	33.5	7.5	6.26E+03	1.46E+04	2.51E+04			
6	28	33.5	7.5	6.48E+03	1.39E+04	2.59E+04			
7	27.5	33.5	7.5	6.14E+03	1.29E+04	2.46E+04			
8	28.5	33.5	7.5	6.26E+03	1.34E+04	2.53E+04			
9	30	33.5	7.5	6.37E+03	1.27E+04	2.41E+04			
10	*	*	*	*	*	*			
11	29.5	33.5	7.5	6.06E+03	1.30E+04	2.42E+04			
12	30	33.5	7.5	5.60E+03	1.26E+04	2.10E+04			
13	29	33.5	8.5	6.58E+03	1.41E+04	2.35E+04			
14	30	34	8.5	6.20E+03	1.20E+04	2.20E+04			
15	31	33	8	6.21E+03	1.29E+04	2.33E+04			
16	31.5	33	7.5	6.42E+03	1.38E+04	2.29E+04			
17	31	33	7.5	5.57E+03	1.34E+04	2.23E+04			
18	*	*	*	*	*	*			
19	31.5	34	7.5	6.84E+03	1.37E+04	2.74E+04			
20	32	34	8	6.41E+03	1.28E+04	2.05E+04			
21	32.5	34.5	8	5.23E+03	1.26E+04	2.09E+04			
22	32	34	8	5.78E+03	1.45E+04	2.41E+04			
23	33	32.5	8	5.47E+03	1.22E+04	2.43E+04			
24	29	32.5	8.5	6.83E+03	1.37E+04	2.39E+04			
25	*	*	*	*	*				
26	29.8	32.5	7.5	6.99E+03	1.40E+04	2.52E+04			
27	30.2	32	7.5	5.81E+03	1.45E+04	2.33E+04			
28	30.5	32	7.5	5.66E+03	1.42E+04	2.36E+04			
29	32	32	7.5	6.65E+03	1.46E+04	2.33E+04			
30	33	32	8.5	5.41E+03	1.35E+04	2.43E+04			
31	32.5	32	8.5	5.43E+03	1.52E+04	2.39E+04			
31	30.09	33.13	7.78	6.16E+03	1.36E+04	2.38E+04			

<sup>\*</sup> Días en los cuales no se registraron datos de las variables físicas, ni de la concentración de alimento.

**Tabla XI.** Variables tomadas en los tratamientos (T8, T9 y T10) de la Prueba  $N^{\circ}$  4: Copépodos aislados como cepas puras: *Acartia tonsa*, *Oithona nana* y *Euterpina acutifrons* (Abril-2015).

	Prueba 4. Individuos adaptados como cepas puras (Abril-2015)								
Días	Variable	s (Toda la pri	ueba)	Concentraci	ón de alimento (cel/mL)	Tetraselmis suecica			
de	Temperatura	Salinidad		Т8	Т9	T10			
cultivo	(°T)	(ups)	pН	Acartia tonsa	Oithona nana	Euterpina acutifrons			
1	32.5	32	7		6.44E+03	3			
2	32	31	7		5.80E+03	}			
3	29.5	31	7		5.96E+03	3			
4	30	31	7		5.73E+03	}			
5	31.5	31	7.5		5.40E+03	3			
6	30	31	7.5		5.32E+03	}			
7	*	*	*		*				
8	30.5	34	7.5		5.54E+03	}			
9	31	34	7.5		4.91E+03	3			
10	29.5	34	7.5		5.08E+03	}			
11	28	31	7.5		5.25E+03	}			
12	28.5	31	7.5		5.12E+03	3			
13	29	31	7		5.33E+03	}			
14	29.5	31	7.5		5.69E+03	3			
15	29	31	7.5		5.44E+03	3			
16	29.5	31	7.5		5.82E+03	3			
17	29.5	31	8.5		4.99E+03	3			
18	29	32	8		3.33E+03	3			
19	28.5	30	7.5		5.01E+03	}			
20	28	30	7.5		4.93E+03	3			
21	*	*	*		*				
22	27	30.2	7.5		6.08E+03	3			
23	29	30.5	7		4.70E+03	3			
24	29	30.5	7		5.80E+03	3			
25	29.5	31	7		4.93E+03	3			
26	29.5	31	7		5.10E+03	3			
27	27.5	31	7		*				
28	27.5	31	7		*				
29	29	33	7.5	5.21E+03					
30	28.6	33	7.5		6.30E+03	3			
31	27.5	33	7.5		6.24E+03	3			
31 * D	29.28	31.46	7.36		5.39E+03	<i>f</i> (2) 2 2 2 1 1 1 1 2			

<sup>\*</sup> Días en los cuales no se registraron datos de las variables físicas, ni de la concentración de alimento.

**Tabla XIII.** Porcentaje de supervivencia y mortalidad de copépodos efectuados en las 4 pruebas y sus respectivos tratamientos.

Prueba	Tratamiento	Duración Tratamiento (Días)	Número de individuos (Inicio)	Número de individuos (Final)	Supervivencia (%)	Mortalidad (%)
	(T1)	25	40	16	40.00	60.00
Prueba N° 1.	(T2)	15	40	0	0.00	100.00
	(T3)	15	40	3	7.50	92.50
Prueba N° 2.	(T4)	31	50	84	168.00	0
	(T5)	31	50	67	134.00	0
Prueba N° 3.	(T6)	31	50	39	78.00	22.00
	(T7)	31	50	31	62.00	38.00
	(T8)	31	65	20	30.77	69.23
Prueba N° 4.	(T9)	31	32	10	31.25	68.75
	(T10)	31	49	87	177.55	0