

**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A. C.**

**"COMPARACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE  
CULTIVOS MONOESPECÍFICOS Y  
POLIESPECÍFICOS DE LOS COPÉPODOS  
CALANOIDE *Pseudodiaptomus euryhalinus* Y  
HARPACTICOIDE *Tisbe monozota* A ESCALA  
EXPERIMENTAL".**

**POR:**

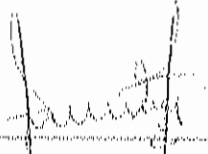
**SOFÍA MEZO VILLALOBOS**

TESIS API 013AIJA POR LA  
UNIDAD MAZATLAN  
EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS

## APROBACIÓN

Los miembros de este comité designado para revisar la tesis de Sofia Mezo Villalobos, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



M. en C. Ana C. Puello Cruz

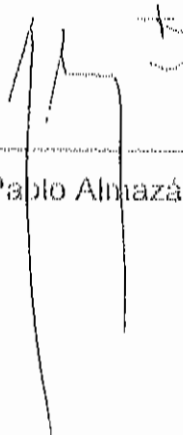
Director de Tesis



Dr. Armando Garcia Ortega



Dr. Bruno Gómez Gil Rodríguez Sola



Dr. Pablo Almazán Rueda

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permite citas breves sin permiso especial del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Se podrá solicitar permiso al Director del Centro o Jefe del Área correspondiente del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. apartado postal 1735, Hermosillo, Sonora CP 83000 México, para citas o consultas más completas con fines académicos. En otras circunstancias, se deberá solicitar permiso del autor.

La publicación en comunidades científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar créditos al CIAD, previa aprobación escrita del director.

---

Dr. Alfonso Antero Gardea Béjar  
Director General del CIAD, A.C.

## AGRADECIMIENTOS

Antes que nada quisiera mencionar a las personas y laboratorios que participaron e hicieron posible que el presente trabajo se llevara a cabo.

Mi agradecimiento al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán, por las facilidades otorgadas durante la realización de este trabajo. Así como a los laboratorios de Nutrición, Química y Productividad Acuática y el Laboratorio de Microalgas. Y a todas las personas que laboran en esta institución, muchas gracias por todo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por las facilidades financieras otorgadas durante los dos años del trabajo.

Mi mas sincero agradecimiento a la directora de esta tesis, Ana C. Puello Cruz por apoyarme, aconsejarme y asesorarme con su amplio conocimiento acerca del tema, además de su amistad de cuatro años. Muchas gracias por ayudarme en todo lo que he logrado. También agradezco a Blanca González, parte importante del laboratorio, por el apoyo en los cultivos y por su desinteresada amistad.

Así mismo, mi agradecimiento a Patricia Domínguez del Laboratorio de Química y Productividad Acuática por permitirme realizar los análisis de calidad de agua y a Elena G. Ruelas Delgadillo por la ayuda técnica durante la realización de los mismos. Y también a Gabriela Velasco del Laboratorio de Microalgas por facilitar el mantenimiento de los cultivos.

Al Dr. Armando García Ortega, Dr. Bruno Gómez Gil Rodríguez Sala y al Dr. Pablo Almazán Rueda por el asesoramiento durante la revisión de este documento.

A mis compañeros de maestría Ricardo Meraz Sánchez, Karina Hernández Mendoza, L. Catherine Soler Jiménez, Aimeé Cervantes y Perla I. Velasco Amaro. Gracias por la compañía y amistad durante los dos años que compartimos.

Y a petición del interesado agradezco nuevamente a Ricardo por la ayuda y sobre todo paciencia en los análisis estadísticos.

Ahora me gustaría mencionar a otras personas que no fueron parte directa del trabajo, pero son amigos que espero conservar durante muchos años y que recordare siempre con cariño.

A mis amigos Ericka López, Zoraida Mora, Elizabeth Saldaña, Miriam y Ericka Meza, Luis Fernando Bedoya, Héctor Nava, Juan José Dorantes, por seguir acompañándome y compartiendo conmigo momentos agradables durante mi estancia aquí en Mazatlán. También a Walter C. Zarate Rodríguez y Leslie Guzmán Beltran, que aunque tengo poco de conocerlos

fueron muy amables conmigo y llegue a apreciar enormemente. A Eric Bautista que me ha escuchado y aconsejado, gracias por todo eso y recuerde que lo quiero mucho.

A Manuel Leonardo Camacho Cruz, una persona especial para mi por estar conmigo en las buenas y en las malas durante este tiempo así que solo me queda decirte nuevamente Gracias.

A las personas a las que dedico este trabajo, a mi familia, a todas ellas gracias por apoyarme en las decisiones que he tomado y por ser constantes conmigo. Y también sin olvidar a mi padre, ya que gran parte de lo que soy lo aprendí de él, ha sido mi mayor ejemplo, que es lo mejor que me pudo haber dejado.

No tengo forma de agradecerles, solo les extemo el cariño y la gratitud que les tengo.

Y a las personas que no he mencionado aquí, pero que saben que agradezco haberlos conocido, muchas gracias a todos.

## DEDICATORIA

*Con amor y respeto los dedico este trabajo a las personas que me  
han apoyado durante este tiempo:*

*A mi madre Leticia Vissalobos López*

*A mi tía Lucía Vissalobos López*

*A mis hermanas*

*Miriam, Marcela y Karla*

## INDICE

ÍNDICE DE TABLAS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iv
RESUMEN .....	vii
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.2 JUSTIFICACIÓN .....	7
1.3 HIPÓTESIS .....	9
1.4 OBJETIVOS .....	9
1.4.1 General .....	9
1.4.2 Particulares .....	9
2. ANTECEDENTES .....	10
3. METODOLOGÍA.....	18
3.1 Condiciones Generales de Cultivo .....	18
3.2 Cultivo de Copépodos .....	20
3.3 Análisis de Calidad de Agua.....	22
3.3.1 Análisis de Amonio.....	22
3.3.2 Análisis de Nitritos.....	23
3.3.3 Análisis de Ortofosfatos .....	24
3.3.4 Análisis de Nitratos .....	25
3.4 Análisis de Datos.....	26
4. RESULTADOS.....	27
4.1 Producción .....	27
4.1.1 Experimento Número 1 .....	27
4.1.1.1 Producción .....	27
4.1.1.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y poliespecíficos .....	29
4.1.1.3 Clasificación por estadios .....	31
4.1.2 Experimento Número 2.....	32
4.1.2.1 Producción .....	32
4.1.2.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y poliespecíficos .....	34
4.1.2.3 Clasificación por estadios .....	36

4.1.3 Experimento Número 3.....	37
4.1.3.1 Producción .....	37
4.1.3.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y poliespecíficos .....	39
4.1.3.3 Clasificación por estadios .....	41
4.1.4 Resultados Generales de los Tres Experimentos .....	42
4.1.4.1 Producción .....	42
4.1.4.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y poliespecíficos .....	44
4.1.4.3 Clasificación por estadios .....	46
4.2 Calidad de Agua .....	48
4.2.1 Análisis General en Niveles de Nutrientes .....	50
4.2.1.1 Concentración de fosfato (PO <sub>4</sub> ) .....	50
4.2.1.2 Concentración de nitratos (NO <sub>3</sub> ) .....	51
4.2.1.3 Concentración de amonio (NH <sub>4</sub> ) .....	52
4.2.1.4 Concentración de nitritos (NO <sub>2</sub> ) .....	53
5.DISCUSIONES .....	55
6.CONCLUSIÓN .....	62
7. RECOMENDACIONES .....	63
8. BIBLIOGRAFÍA .....	64



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) .....	29
<b>Tabla 2.</b> Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) .....	34
<b>Tabla 3.</b> Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) .....	39
<b>Tabla 4.</b> Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) .....	44

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fotografía del sistema utilizado en los experimentos.....	19
<b>Figura 2.</b> Copépodo calanoide <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> macho (Izquierda). Pareja de <i>P. euryhalinus</i> , la hembra carga los sacos ovígeros (Derecha).....	20
<b>Figura 3.</b> Hembra adulta de <i>Tisbe monozota</i> con saco ovígero.....	20
<b>Figura 4.</b> Hembra y macho de <i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i> . En la imagen se aprecia el apéndice copulador especializado con el cual el macho sujeta a la hembra (recuadro izquierdo).....	21
<b>Figura 5.</b> Número promedio total de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de <i>P. euryhalinus</i> ; B, cultivo monoespecífico de <i>T. monozota</i> ; C, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (1:1); D, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (2:1) y E, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas $p < 0.05$ . .....	28
<b>Figura 6.</b> a) Cultivo monoespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y b) Cultivo monoespecífico de <i>T. monozota</i> comparados con los cultivos poliespecíficos C ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:1), D ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 2:1) y E ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:2).....	30
<b>Figura 7.</b> a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y b) Cultivo monoespecífico de <i>T. monozota</i> comparados con los cultivos poliespecíficos C ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:1), D ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 2:1) y E ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.....	32
<b>Figura 8.</b> Número promedio total de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de <i>P. euryhalinus</i> ; B, cultivo monoespecífico de <i>T. monozota</i> ; C, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (1:1); D, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (2:1) y E, cultivo poliespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> (1:2). Tratamiento con letras diferentes tienen diferencias significativas $p < 0.05$ .....	33
<b>Figura 9.</b> a) Cultivo monoespecífico de <i>P. euryhalinus</i> y b) Cultivo monoespecífico de <i>T. monozota</i> comparados con los cultivos poliespecíficos C ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:1), D ( <i>P.</i>	

*eurysalinus* : *T. monozota* 2:1) y E (*P. eurysalinus* : *T. monozota* 1:2)..... 35

**Figura 10.** a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas ..... 37

**Figura 11.** Número promedio total de *P. eurysalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$  ..... 38

**Figura 12.** a) Cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. eurysalinus* : *T. monozota* 1:2)..... 40

**Figura 13.** a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas ..... 42

**Figura 14.** Número promedio total de *P. eurysalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. eurysalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$  ..... 43

**Figura 15.** a) Cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. eurysalinus*: *T. monozota* 1:2) ..... 45

**Figura 16.** a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de *P. eurysalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. eurysalinus*: *T.*

	<i>monozota</i> 1:1), D ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 2:1) y E ( <i>P. euryhalinus</i> : <i>T. monozota</i> 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.....	46
<b>Figura 17.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Amonio (NH <sub>4</sub> ) en los cinco tratamientos del experimento 2. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	49
<b>Figura 18.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Nitritos (NO <sub>2</sub> ) en los cinco tratamientos del experimento 2. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	49
<b>Figura 19.</b>	Análisis de calidad de agua (PO <sub>4</sub> , NO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> y NO <sub>2</sub> ) de los cinco tratamientos en los tres experimentos. Donde: <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E).....	50
<b>Figura 20.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Fosfatos (PO <sub>4</sub> ) en los cinco tratamientos. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	51
<b>Figura 21.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Nitratos (NO <sub>3</sub> ) en los cinco tratamientos. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	51
<b>Figura 22.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Amonio (NH <sub>4</sub> ) en los cinco tratamientos. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	53
<b>Figura 23.</b>	Concentración (mg L <sup>-1</sup> ) de Nitritos (NO <sub>2</sub> ) en los cinco tratamientos. <i>P. euryhalinus</i> (A); <i>T. monozota</i> (B), <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:1 (C); <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 2:1 (D) y <i>P. euryhalinus</i> y <i>T. monozota</i> 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa p<0.05.....	54

## RESUMEN

La larvicultura de peces y crustáceos de importancia comercial es uno de los principales problemas en la industria. Debido a la disponibilidad de nauplios (je *Artemia* a través de los quistes y el tiempo corto de generación sin relativas complicaciones de los rotíferos, hacen de ambos organismos, el alimento vivo más accesible para la acuicultura comercial. Como una respuesta a la variación en la cantidad de quistes de *Artemia* y a la diversificación de nuevos cultivos de especies con larvas mucho más pequeñas, con un tamaño de boca menor y requerimientos nutricionales más específicos, a principios de 1990 el sector acuícola comenzó a enfocar la atención en cultivos de especies específicas de copépodos. El principal problema en los cultivos de copépodos, es la contaminación del cultivo por otro organismo. Aunque cuando se cultivan dos especies de alimento vivo con diferente hábito (bentónico o planctónico) pueden coexistir e interaccionar de forma positiva en un sistema de cultivo. En el presente trabajo se pretende hacer una comparación entre las producciones obtenidas experimentalmente, en cultivos monoespecíficos y poliespecíficos de dos especies de copépodos (*Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Tisbe monozota*), analizando la calidad del agua (niveles de amonio, nitritos, nitratos y ortofosfatos) como un indicador de la interacción de ambas especies. Se encontraron diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (ANOVA,  $p < 0.05$ ,  $n = 75$ ). El cultivo monoespecífico B de *T. monozota* ( $527.63 \pm 77.72$  organismos), fue en el que se encontró la mayor cantidad de organismos cultivados, siendo el cultivo monoespecífico A de *P. euryhalinus*, donde se presentó el menor número total de organismos ( $237.4 \pm 54.31$  organismos). Los tratamientos poliespecíficos con el mayor número de organismos fueron en los tratamientos C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 ( $104.27 \pm 39.41$  organismos) y E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 ( $176.6 \pm 53.30$  organismos) predominando la especie de *T. monozota* (60 % el 69.4%, respectivamente). En el caso de *T. monozota* más del 50% de la población eran organismos adultos (hembras y machos). Para *P. euryhalinus*, no se muestra una tendencia tan marcada como en el caso del harpacticóide. La composición de la población es homogénea. Siendo el cultivo monoespecífico y el poliespecífico C, los que mostraron un comportamiento similar. Los análisis de fosfatos ( $PO_4$ ), nitratos ( $NO_3$ ), amonio ( $NH_4$ ) y nitritos ( $NO_2$ ) realizados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos monoespecíficos y poliespecíficos (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 75$ ).

## 1. INTRODUCCIÓN

La industria acuícola requiere grandes cantidades de larvas de buena calidad, que satisfagan la demanda para producir peces a escala comercial. (Wilcox, *et al.*, 2006).

Las microalgas son el primer alimento que se les proporciona a las larvas después de absorber su saco vitelino, debido a que poseen grandes cantidades de Ácidos Grasos Altamente Insaturados (HUFAs, por sus siglas en inglés) y nutrientes que los organismos necesitan además, su pequeño tamaño las hace idóneas para la boca de los primeros estadios de diversas especies de peces de importancia comercial (Støttrup, 2003).

Las larvas de peces y crustáceos no pueden sobrevivir en cultivos puros de microalgas o dietas de fitoplancton, a diferencia de los bivalvos, por lo que se debe incluir en su dieta, organismos del zooplancton (Støttrup, 2003).

La larvicultura de peces y crustáceos de importancia comercial es uno de los principales problemas en la industria; ya que estos cultivos dependen en su totalidad del alimento vivo, tanto zooplancton como fitoplancton (D'Abramo, 2002; Wilcox, *et al.*, 2006).

En el caso de las primeras fases larvarias con alimentación exógena, las cuales requieren presas de pequeñas dimensiones, se alimentan con rotíferos

*Brachionus plicatilis* (220-300  $\mu$  grandes o Tipo L.) o *B. rotundiformi* (100-210  $\mu$  pequeños o tipo S) y en los estadios más avanzados con nauplios del crustáceo branquiópodo *Artemia* spp. (Torrentera, 1989; Hoff y Snell, 1999).

En el caso de los rotíferos, el potencial de cultivo de estos organismos, reside en que soportan altas densidades de cultivo, poseen una rápida reproducción y se alimentan por filtración natural. Esto último facilita la inclusión en los tejidos musculares de los nutrientes específicos esenciales para larvas depredadoras. Estos organismos deben ser enriquecidos para que el valor nutricional sea el adecuado y cumpla los requerimientos de las larvas marinas (Lavens y Sorgeloos, 1996).

A pesar de no ser parte de la dieta natural de peces o crustáceos, *Artemia* es el alimento convencional comúnmente usado como alimento vivo ya que cumple con el estándar nutricional que las larvas de peces y crustáceos necesitan. Al ser obtenida del medio natural (95 % del suministro mundial proviene del Gran Lago Salado, Utah, E.U.A.), esta sujeta a cambios periódicos no predecibles, teniendo como consecuencia que no se cubra la demanda del sector, provocando alteraciones considerables en el precio. Otro problema ocasionado por las diferencias temporales y espaciales en la colecta, se ve reflejado en las variaciones de la calidad de los nauplios además del costo que representa el

enriquecimiento al que se someten en estadios avanzados (Lavens y Sorgeloos, 2000; D'Abramo, 2002).

Debido a la disponibilidad de nauplios de *Artemia* a través de los quistes y el tiempo corto de generación sin relativas complicaciones de los rotíferos, hacen de ambos organismos, el alimento vivo más accesible para la acuicultura comercial. Además, se considera que el cultivo de estos organismos es el responsable del rápido progreso en las últimas décadas de este sector.

Como una respuesta a la variación en la cantidad de quistes de *Artemia* y a la diversificación de nuevos cultivos de especies (peces y crustáceos) con larvas mucho más pequeñas, con un tamaño de boca menor y requerimientos nutricionales más específicos, que difícilmente pueden ser cultivadas exitosamente con el alimento vivo tradicional, a principios de 1990 el sector acuícola comenzó a enfocar la atención en cultivos de especies específicas de copépodos (Støttrup, 2003).

Los copépodos son organismos con una amplia variedad de nichos y de gran importancia ecológica en el ecosistema acuático, debido a su variedad de especies, tamaños y abundancia; juegan un papel importante con el reciclamiento de nutrientes (Rippingale y Payne, 2001). Pertenecen al *phylum* arthropoda, con aproximadamente 11,500 especies, se dividen en 200 familias



y 1,150 géneros, (Humes, 1994) y los grupos señalados como los mejores candidatos para la producción masiva son los calanoides, harpacticoides y ciclopoideos. Los calanoides son organismos predominantemente pelágicos, se alimentan por filtración y son alimentadores selectivos. Los harpacticoides son organismos bentónicos de vida libre y filtradores no selectivos (Lavens y Sorgeloos, 1996). Mientras que los copépodos ciclopoideos son pelágicos, epibentónicos, bentónicos (Støttrup, 2003).

La reproducción en los copépodos es sexual. El macho deposita un saco con esperma viable (espermatóforo) cerca de la apertura genital de la hembra. El número de huevos desovados en un evento simple puede variar desde unos pocos hasta 50 o más huevos, el desove llega a ocurrir una vez cada 24 horas. El ciclo de vida en estos organismos consta de nauplios (que miden entre 100 a 150  $\mu\text{m}$  variando según la especie) eclosionados de los huevos, pasando por seis fases naupliares (N1 hasta N6) y por seis estadios de copepoditos (C1 a C6) consecutivamente, para finalizar en un organismo adulto que presenta dimorfismo sexual.

El número de huevos por desove en un evento simple, al menos cada 24 horas, puede ir desde unos pocos hasta 50 huevos o más. En algunos harpacticoides, como es el caso de *Tisbe*, algunas hembras son capaces de fertilizar hasta 12 desoves de una simple fertilización. En los organismos calanoides los huevos

no se encuentran contenidos en sacos, pero están adheridos entre ellos como una masa de huevos. (Støttrup, 2003).

Para su cultivo se sugieren varias especies de los géneros *Diaptomus*, *Pseudodiaptomus*, *Eurytemora* y *Gladioferens*, que son organismos que habitan aguas costeras, presentan altas tasas de eclosión y de supervivencia (Rippingale y Payne, 2001). Dentro del grupo de los harpacticoides varios trabajos señalan como mejores candidatos para cultivo a organismos del género *Tisbe* o *Tigriopus* (Støttrup, 2003).

El principal problema en los cultivos de copépodos, es la contaminación del cultivo por otro organismo (bacterias, ciliados, rotíferos u otro copépodo). Los rotíferos desplazan en poco tiempo a los copépodos, colapsando el cultivo rápidamente. La presencia de otra especie de copépodo en un sistema de cultivo, no se puede considerar un problema del todo, ya que en ciertos casos puede representar una ventaja en cuestiones de calidad de agua y reflejarse en los números de producción (Støttrup, 2003).

Cuando se cultivan dos especies de alimento vivo con diferente hábito (bentónico o planctónico) pueden coexistir e interaccionar de forma positiva en un sistema de cultivo. Aunque no se tiene reportes de los efectos en cultivos poliespecíficos de alimento vivo. En el presente trabajo se pretende hacer una comparación entre las producciones obtenidas experimentalmente, en cultivos

monoespecíficos y poliespecíficos de dos especies de copépodos (*Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Tisbe monozota*).

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

Existe la necesidad de mejorar la calidad de los primeros estadios de larvas cultivadas donde se requiere la inclusión de alimento vivo adecuado. Es prioritario desarrollar cultivos alternativos de de alimento vivo para mejorar las dietas que actualmente están disponibles, reuniendo requerimientos nutricionales y características adecuadas para larvas de peces y crustáceos.

Los copépodos han demostrado mejorar los resultados en diversos cultivos larvarios de peces y crustáceos de importancia comercial, reflejándose en números de producción, supervivencia y ayuda a evitar mal pigmentaciones en los organismos cultivados.

No obstante a lo anteriormente señalado, se debe evitar depender del medio natural, ya que puede implicar riesgos de transmisión de enfermedades o introducción de organismos que compitan o desplacen a las especies deseadas, además de no ser económicamente rentable.

A nivel comercial es difícil mantener un cultivo de copépodos puro, siendo la contaminación por otros organismos el principal problema, se deben encontrar las condiciones óptimas para lograr efectos positivos en esta relación. De aquí

la importancia de realizar experimentos de comparación entre diferentes especies de copépodos.

En el presente trabajo se pretende comparar la producción de cultivos mono y poliespecíficos de dos especies de copépodos cultivadas en las instalaciones del CIAD, Unidad Mazatlán. Así mismo se analiza la calidad del agua como un indicador de la interacción de ambas especies.

### 1.3 HIPÓTESIS

Los cultivos combinados de las especies del copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* y del copépodo harpacticoide *Tisbe monozota* presentan una mejor producción (organismos mL<sup>-1</sup>) y calidad de agua con respecto a los cultivos monoespecíficos de los mismos bajo condiciones controladas.

### 1.4 OBJETIVOS

#### **1.4.1 General:**

Comparar los resultados de producción (organismos mL<sup>-1</sup>) y calidad de agua en cultivos monoespecíficos y poliespecíficos de dos copépodos (*Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Tisbe monozota*).

#### **1.4.2 Particulares:**

- Comparar la producción de diferentes estadios entre los cultivos monoespecíficos y poliespecíficos de *T. monozota* y *P. euryhalinus*.
- Analizar la calidad de agua (Nitritos, Nitratos, ortofosfatos y Amonio) de los cultivos mono y poliespecíficos.

## 2. ANTECEDENTES

Una de las principales áreas de la investigación en acuicultura ha sido el desarrollo de nuevas técnicas para el cultivo de alimento vivo adecuado para la larvicultura. Se ha demostrado que para diversas especies de peces marinos, la inclusión de nauplios de copépodo durante la primera alimentación resultan en mejor desarrollo, crecimiento y supervivencia de larvas comparadas con aquellas a las que únicamente se les proporciona rotíferos y/o *Artemia* (Wilcox, *et al.*, 2006).

Además, los copépodos, tienen buena aceptación como alimento para los primeros estadios larvales debido a la relación depredador-presa donde influyen factores tales como agudeza y umbral visual; contraste, forma y movilidad de la presa, cantidad y presencia de estímulos químicos. Pero el que es considerado como factor determinante es la relación entre tamaño de boca del pez y tamaño de la presa (Cunha y Planas, 1999; Støttrup y Jensen, 1990).

Støttrup (2000) presenta algunas de las ventajas del uso de estos crustáceos como alimento para larvas de peces: (a) el valor nutricional es superior, de forma natural, al alimento vivo convencional, lo que ayuda a un buen desarrollo y a una pigmentación normal, además, elimina la necesidad de enriquecerlo; (b) el contenido de lípidos y proteína que presentan, promueve el crecimiento de las larvas de peces; (c) al presentar varios estadios naupliares y copepoditos,

proporcionan mayor cantidad de tamaños y formas incrementando la posibilidad de ser ingeridos por las larvas de peces en la primera alimentación; (d) en el caso de los harpacticoides, promueven la limpieza de tanques, mejorando las condiciones del sistema en general; (e) debido a su movimiento, estimulan el comportamiento de caza a través del estímulo químico y/o visual; (f) son fuentes exógenas de enzimas digestivas, las cuales mejoran la digestión en las etapas tempranas de larvas de peces cuando el intestino y otros órganos no son completamente funcionales.

Se ha reportado que durante las etapas naupliares o de copepoditos, las cantidades de DHA:EPA que estos organismos poseen son las necesarias para cubrir los requerimientos nutricionales de diversas larvas de peces (Velez, 2002).

McEvoy, *et al.*, (1998) realizaron estudios comparativos con larvas de *Hippoglossus hippoglossus*, donde el mayor índice de pigmentación se dio en larvas alimentadas con copépodos (99.2%) comparado con aquellas alimentadas únicamente con *Artemia* (66.4 %). En los análisis de contenido de ácidos grasos, las larvas alimentadas con copépodos contenían niveles más altos de ácido docosahexaenoico (DHA) que su contraparte. El mismo resultado se obtuvo en las proporciones de DHA y eicosapentaenoico (EPA); además, se



ha reportado que en larvas de dorado ayuda a incrementar la resistencia al estrés (Kraul *et al.*, 1993).

Otro ejemplo positivo en el uso de los copépodos, es con larvas de *Glaucosoma hebraicum* donde el crecimiento fue significativamente más grande en larvas alimentadas con una dieta combinada de copépodos y rotíferos, con supervivencia de 37% comparada con un 5% en larvas alimentadas únicamente con rotíferos (Payne *et al.*, 2001).

Dentro del grupo de los signátidos, se han realizado trabajos con el pez pipa (*Stigmatopora argus*) y caballito de mar (*Hippocampus subelongatus*), obteniéndose resultados similares con altos niveles de supervivencia y mejor crecimiento cuando en su dieta se incluían nauplios de copépodos (Payne *et al.*, 1998; Payne y Rippingale, 2000).

Los reportes de los efectos en cultivos poliespecíficos de alimento vivo para larvas son escasos. (Wilcox *et al.*, 2006). Person-Le Ruyet (1975), señala ventajas por contaminación por otra especie. Se trabajó durante un año, con cuatro especies de copépodos calanoides; *Acartia clausi*, *Centropages typicus*, *C. hamatus* y *Temora longicornis* (mantenidos a 20° C y alimentados con *Tetraselmis suecica*). El introducir al harpacticoide *Tisbe furcata* al cultivo de *A. clausi* incrementó la producción del calanoide, ya que el primero ayudó a

mantener limpio el tanque de forma natural, manteniendo óptima la calidad del agua.

Hernández y Álvarez-Lajonchère (2003) realizaron policultivos experimentales semi continuos y un sistema a escala piloto del cyclopoide *Oithona oculata* y rotífero *Brachionus rotundiformis*, con buenos resultados en producción, para ambas especies. En el sistema experimental se encontraron 50-120 rotíferos mL<sup>-1</sup> y de 1-8 copépodos mL<sup>-1</sup>. El sistema a escala piloto se mantuvo durante un año ( $7 \pm 2.5$  copépodos mL<sup>-1</sup> y  $100 \pm 14$  rotíferos mL<sup>-1</sup>), demostrando que estas especies pueden coexistir sin llegar a eliminar una de ellas. Dentro de este experimento se trabajó también a escala experimental y piloto con larvas de *Eugerres brasiliensis*. Los autores reportan una supervivencia del 6% en larvas alimentadas con rotíferos y 12.5 % en aquellas alimentadas con copépodos. La supervivencia a escala piloto de larvas alimentadas con copépodos fue mayor (30 para larvas alimentadas con rotíferos y 50% en larvas alimentadas con copépodos) comparada con el tanque control (sin copépodos) en el que se reporta una supervivencia del 12 y 18%.

Wilcox *et al.*, (2006), presentaron resultados con larvas de *Paralichthys lethostigma* con mayor supervivencia cuando fueron alimentadas con la dieta mixta de copépodos y dos diferentes cepas del *Brachionus rotundiformis* ( $71 \pm 7\%$ ) respecto a aquellas alimentadas únicamente con los rotíferos tipo S ( $23 \pm$

8%) y Tipo SS ( $31 \pm 12\%$ ). Los resultados de longitud, ancho y peso en las larvas fueron similares y en los tres casos, mayores en las larvas alimentadas con la dieta mixta.

Teniendo en cuenta la relevancia de los estudios anteriores, diversos autores han comenzado a estudiar las condiciones de cultivo óptimas para ciertas especies de copépodos, con la finalidad de optimizar las técnicas para realizar cultivos a escala comercial (Støttrup y Jensen, 1990).

Los copépodos calanoides comúnmente estudiados son aquellos de zonas costeras, algunos ejemplos de esto son los géneros *Acartia*, *Centropages*, *Pseudodiaptomus*, *Eurytemora*, *Gladioferens* y *Temora* (Støttrup y McEvoy, 2003).

De los ejemplos anteriormente citados se tiene el trabajo realizado por Payne y Ripplingale (2000) con el copépodo calanoide *Gladioferens imparipes*, el cual posee un gran potencial de cultivo. En este estudio se probaron cinco diferentes dietas a dos diferentes temperaturas (20 y 25° C), con el fin de incrementar la producción del mismo, registrando supervivencia, tiempo e índice de maduración, producción de nauplios y estabilidad de hembras. Se encontró la supervivencia más grande en organismos alimentados con *Isochrhysis galbana* a 20° C, atribuyendo este resultado a su tamaño y digestibilidad, así mismo el

mayor porcentaje de maduración se encontró a 20° C. Mientras que a 25° C, se observó la mayor producción de nauplios en una dieta de *Chaetoceros muelleri*. Con la dieta de *Nannochloropsis oculata* y la levadura de pan se obtuvieron los valores más bajos.

Por otra parte, la mayor parte de las investigaciones han sido dirigidas sobre aspectos de nutrición, reproducción o fisiológicos (Ikeda 1973) y existen pocos reportes de la influencia de factores ambientales en el desarrollo y reproducción de copépodos.

Sin embargo, Battaglia (1970) menciona que algunas especies del género *Tisbe* son fáciles de cultivar en condiciones de laboratorio. Ya que se adaptan a una amplia variedad de dietas naturales y artificiales. Nanton y Castell (1998) y Nosker y Støttrup (1994, 1997) apoyan lo anterior, y mencionan, que estos organismos tienen la facilidad de sintetizar ácidos grasos esenciales (DHA y EPA) a partir de ácido graso linoléico (18:3n-3) que se encuentra presentes en algunas especies de microalgas tal es el caso de *Dunaliella tertiolecta*.

Miliou (1996) en un estudio realizado con *Tisbe holothuriae* encontró que la temperatura es el parámetro que más influye en el tiempo de vida de este organismo, mientras que la salinidad influye principalmente en la proporción de sexos. Williams y Jones (1999) establecieron también el efecto que tiene la

temperatura y la concentración de alimento en la reproducción del copépodo harpacticóide *Tisbe battagliai*.

Para *Tisbe monozola* se ha reportado tipo y concentración de alimento óptimo (mezcla de microalgas a una concentración de 320 cells  $\mu\text{L}^{-1}$ ), así como también sustrato ideal para optimizar su reproducción (sustrato hecho a base de nylon en el interior de tubos de PVC). Además, esta especie ha sido probada exitosamente como alimento vivo para larvas de botete (*Sphoeroides annulatus*), pargo flamento (*Lutjanus guttatus*) y larvas de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei* (Puello Cruz, et al., 2004, 2006, com. per.).

Otra ventaja que se ha señalado en el caso de los harpacticóides, es por sus hábitos bentónicos, se presume que puede usarse para limpiar los tanques de cultivos de rotíferos o copépodos planctónicos e incluso de las mismas larvas de peces (Person-Le Ruyet, 1975; Støttrup y Norsker 1997).

Støttrup (2000) menciona que el cultivo extensivo de copépodos es biológica y económicamente factible, y señala que el perfeccionar las pequeñas escalas para llevarlas a sistemas intensivos ha resultado complicado y hasta el momento no está comprobado el desarrollo de sistemas de cultivo de gran escala económicamente viables para calanoides y harpacticóides.

La mayoría de las técnicas de cultivo sólo se han desarrollado a escala experimental para proveer pocas densidades de organismos en cultivos de duración limitada (Ikeda 1973). En 1999, Schipp *et al* desarrollaron y describieron un método de cultivo en grandes volúmenes para el calanoide tropical *Acartia* spp. El cultivo fue realizado en tanques de 100 y 1 000 L, los organismos fueron alimentados con una mezcla de microalgas (*Rhodomonas baltica*, *Isochrysis galbana* y *Tetraselmis* sp.) y condiciones óptimas para su desarrollo (aireación, salinidad y temperatura). El método fue mantenido por 6 meses, con producciones suficientes para ser usados en el cultivo larvario de *Lutjanus johnii*, con una supervivencia del 40% a los 21 días después de la desove, comparado con el 30% obtenido usando plancton recolectado del medio.

### 3. METODOLOGÍA

Los organismos que se utilizaron durante el desarrollo de los experimentos fueron tomados de los cultivos continuos de mantenimiento (*Pseudodiaptomus euryhalinus* y *Tisbe monozotia*) del laboratorio de Nutrición y Larvicultura del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Unidad Mazatlán.

#### 3.1 Condiciones Generales de Cultivo

Los experimentos se llevaron a cabo en esferas de vidrio con fondo redondo en un volumen de 500 mL (Figura 1).

Las esferas fueron llenadas con agua de mar, previamente filtrada por un cartucho de 5 $\mu$ m y esterilizada por luz UV. Manteniendo condiciones controladas de cultivo a 28° C, 35 ‰ y fotoperiodo de 12 luz / 12 oscuridad. No se realizaron recambios de agua en el tiempo que duraron los experimentos. La duración de cada uno de los experimentos fue de 15 días.

Todos los tratamientos fueron distribuidos en el sistema de forma aleatoria, cada tratamiento por quintuplicado.

Los organismos fueron alimentados cada tercer día con una dieta monoalgal de *Isochrysis galbana* a una densidad de 320 cel  $\mu$ L<sup>-1</sup>. Previo a la alimentación, se contaron el número de células de microalgas presentes en cada esfera, para suministrar únicamente la cantidad necesaria para mantener una densidad constante (320 cel  $\mu$ L<sup>-1</sup>) en cada sistema.



Figura 1. Fotografía del sistema utilizado en los experimentos

Al término de los quince días se cosecharon todos los organismos, utilizando un estereoscopio se cuantificaron y clasificaron según los siguientes estadios: hembras grávidas, adultos, copepoditos, nauplios y en el caso de los calanoides también se contabilizaron las parejas copulando (Figuras 2 y 3).



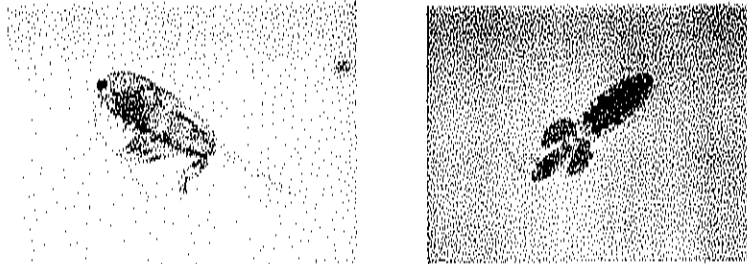


Figura 2. Copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* macho (Izquierda). Pareja de *P. euryhalinus*, la hembra carga los sacos ovígeros (Derecha).

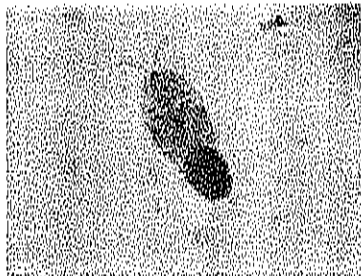


Figura 3. Hembra adulta de *Tisbe monozota* con saco ovígero.

Se tomó una muestra de agua al inicio y al final de cada experimento para realizar los análisis correspondientes en calidad de agua. Los análisis de calidad de agua se realizaron en el Laboratorio de Química y Productividad Acuática (LQy PA), del CIAD Unidad Mazatlán.

### 3.2 Cultivo de Copépodos.

A continuación se especifican los tratamientos que se llevaron a cabo.

Cultivos monoespecíficos:

Tratamiento A: copépodo calanoide *P. euryhalinus*.

Tratamiento B: copépodo harpacticolide *T. monozota*.

#### Cultivos poliespecíficos

Tratamiento C: *P. euryhalinus*: *T. monozota* proporción 1:1, respectivamente.

Tratamiento D: *P. euryhalinus*: *T. monozota* proporción 2:1, respectivamente.

Tratamiento E: *P. euryhalinus*: *T. monozota* proporción 1:2, respectivamente.

En el caso de los calanoides se tomaron las parejas como una unidad, debido a que los machos poseen un apéndice copulador especializado (Figura 4) con el que sujetan a la hembra y en condiciones naturales no se desprenden, a excepción de que alguno de los dos muera. Para el caso de *T. monozota* se tomaron hembras grávidas con sacos ovígeros similares.

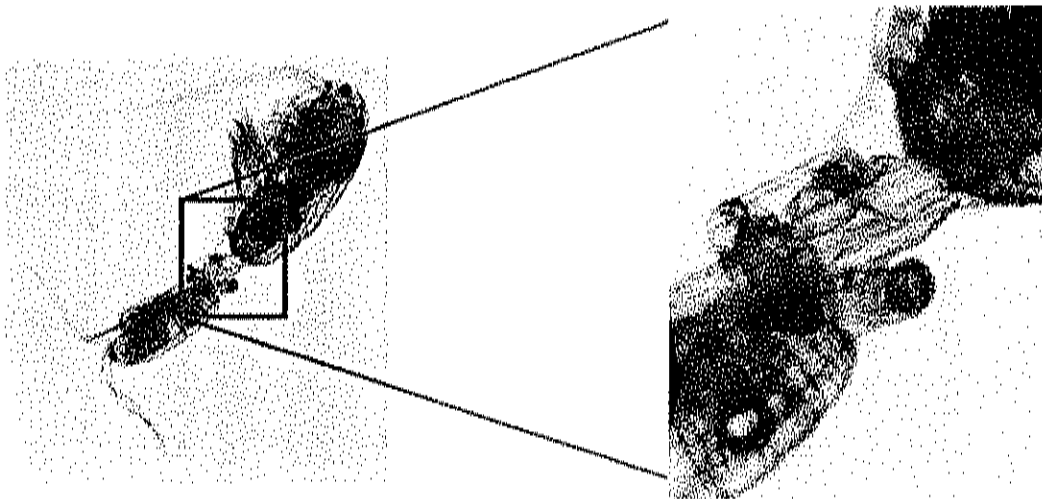


Figura 4. Hembra y macho de *Pseudodiaptomus euryhalinus*. En la imagen se aprecia el apéndice copulador especializado con el cual el macho sujeta a la hembra (recuadro izquierdo).

### 3.3 Análisis de Calidad de Agua.

En el Laboratorio de Química y Productividad Acuática (LQyPA) del CIAD se realizaron análisis de nitrito, nitratos, amonio y ortofosfatos en una muestra inicial del agua que se utilizó en el sistema y al final en cada uno de todos los tratamientos y réplicas. Cada muestra se realizó por triplicado.

Al término de los experimentos, las muestras de agua se tomaron de la siguiente manera: de cada tratamiento se tomaron 200 mL de agua. Con ayuda de una bomba de vacío el agua fue filtrada a través de un filtro GF/F de 47 mm (Whatman). Esto con el objetivo de eliminar los residuos de microalgas u otra partícula. Los reactivos utilizados eran puros y de la marca J.T. Baker.

#### **3.3.1 Análisis de Amonio.**

Este análisis se basa en la técnica descrita por Parsons *et al.* 1984.

Para el análisis de amonio se utilizó un estándar de cloruro de amonio (0.2 mg /L).

En 5 mL de muestra se agregó 0.2 mL de fenol, 0.2 mL de nitroprusiato y 0.5 mL de solución oxidante (80% Solución alcalina y 20% hipoclorito). La muestra se homogenizó y se colocó en la oscuridad durante 1 hora.

Para realizar la lectura de la absorbancia se utilizó una celda de cristal, y se leyó en un espectrofotómetro Agilent Modelo 8453 a 640 nm.

A continuación se realizaron los cálculos correspondientes:

A través del blanco se obtuvo la curva de calibración para amonio.

$$y = ax + b$$

$$x = (y-b)/ a$$

Donde:

x = Concentración en mg/L

y = Absorbancia leída en cada muestra

a = Pendiente

b = Ordenada al origen

### 3.3.2 Análisis de Nitritos.

Esta técnica se basa en la norma NMX-AA-099-1987 "Protección al Ambiente- Calidad del Agua - Determinación de Nitrógeno de Nitritos en Agua".

Se utilizó el estándar de 0.1 mg/L

En 5 mL de muestra se agregó 0.1 mL de Sulfanilamida y 0.1 mL de N-naphtil.

Las muestras se homogenizaron y se leyeron en una celda cristal, con el espectrofotómetro Agilent 8453, su absorbancia a 543 nm.

A continuación se realizaron los cálculos correspondientes:

A través del blanco se obtuvo la curva de calibración para ortofosfatos.

$$y = ax + b$$

$$x = (y-b)/ a$$

Donde:

x = Concentración en mg/L

y = Absorbancia leída en cada muestra

a = Pendiente

b = Ordenada al origen

### 3.3.3 Análisis de Ortofosfatos.

Este análisis se basa en la técnica descrita por Parsons *et al.* 1984.

Se utilizó un estándar de 0.5 mg/L.

Se realizó una mezcla de soluciones y las cantidades dependieron del volumen que se requería utilizar.

La mezcla consistió en molibdato, ácido sulfúrico, ácido ascórbico y tartrato.

En 5 mL de muestra se agregó 0.5 mL de la mezcla y se homogenizó.

La lectura se realizó en una celda de cristal y en el espectrofotómetro Agilent 8453, su absorbancia fue de 885 nm.

A continuación se realizaron los cálculos correspondientes:

A través del blanco se obtuvo la curva de calibración para ortofosfatos.

$$y = ax + b$$

$$x = (y-b)/ a$$

Donde:

x = Concentración en mg/L

y = Absorbancia leída en cada muestra

a = Pendiente

b = Ordenada al origen

#### 3.4.4 Análisis de Nitratos.

La técnica se basa en la norma NMX-AA-081-1986. "Contaminación del agua. Determinación de Nitrógeno de nitrato en agua marina. Método de reducción de nitrato a nitrito en columna de cadmio".

Se utilizó una solución estándar de nitrato de potasio (0.2 mg/L).

100 mL de la muestra que fueron colocados en un matraz, y se le agregó 2 mL de cloruro de amonio concentrado, se homogenizó y se transfirió de 25 a 50 mL de muestra a una columna de cadmio y se dejó drenar, agregando posteriormente el resto de la muestra a la columna de cadmio.

Se recuperaron 50 mL de la muestra y se colocó en un matraz.

Se adicionó 1 mL de sulfanilamida y 1 mL de N-naphtil. Se homogenizó y leyó su absorbancia en una celda de cristal. En el espectrofotómetro (Agilent 8453) se leyó a 543 nm.

Antes de sustituir en la fórmula se debe obtener:

Factor de Verificación =  $20 / \text{Absorbancia de la columna}$

Absorbancia corregida =  $\text{Absorbancia de la muestra} - \text{Absorbancia del blanco}$

Y transformar los valores de nitritos a  $\mu\text{g} - \text{at N/L}$ .

$\mu\text{g} - \text{at N/L} = (\text{conc. promedio de la muestra}) (1000)/14$

Donde 14 es la masa atómica del nitrógeno, y por lo tanto constante.

Ya que se tienen los datos de nitritos se utiliza la siguiente fórmula para calcular los niveles de nitratos en la muestra:

$$\mu\text{g - at N/L} = [(F \cdot A) - 0.95 (C)]$$

Donde:

F: Factor de verificación

A= Absorbancia de la muestra

C= Valor de nitritos.

Los datos se reportan en mg / L, por lo que se requiere realizar la transformación:

$$\text{mg/ L} = (\text{Valor de la muestra } \mu\text{g - at N/L} \cdot 14) / 1000$$

### 3.4. Análisis de Datos.

Se realizaron pruebas de normalidad de Kolmogorv-Smirnov, Comprobada su normalidad se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para verificar si existieron diferencias entre los tratamientos, finalmente un análisis de comparaciones múltiples (Tukey).

Los datos fueron analizados por el paquete estadístico "Statistica versión 6.0".

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Producción

#### **4.1.1 Experimento Número 1**

##### 4.1.1.1 Producción.

Se encontraron diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (ANOVA,  $P < 0.05$ ,  $n = 25$ ). El tratamiento mono específico de *Tisbe monozota* B, fue el de mayor número de organismos ( $518.6 \pm 94.27$  organismos, Figura 5). Dentro de los tres cultivos poliespecíficos manejados, el mayor valor se encontró en el tratamiento E de *Pseudodiaptomus euryhalinus* y *T. monozota* 1:2, ( $271.8 \pm 53.85$  organismos). El valor más bajo de los cinco tratamientos se encontró con el poliespecífico C, *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 ( $145.8 \pm 41.02$  organismos).



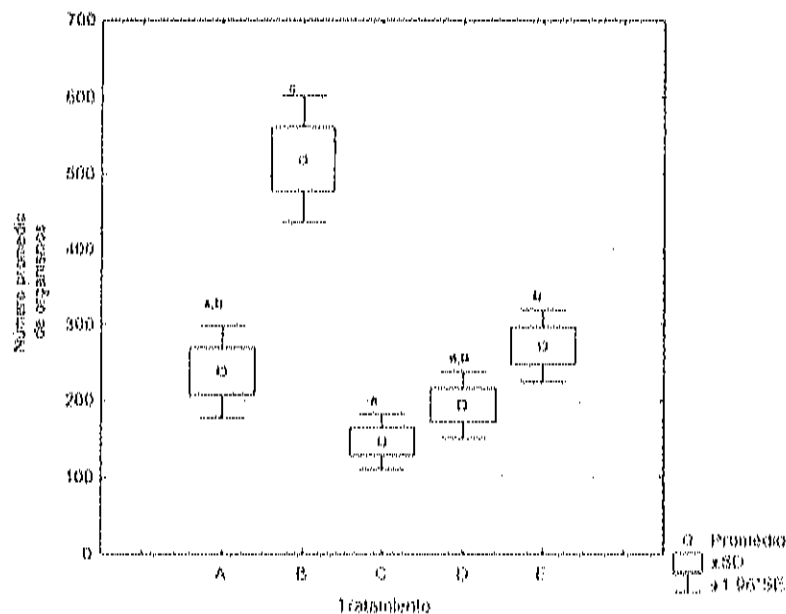


Figura 5. Número promedio total de *P. euryhalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$ .

En este primer experimento se muestran dos grupos sin diferencias entre ellos (Tabla 1). El primer grupo está formado por los tratamientos C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1, D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 y A de *P. euryhalinus* (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ), y el segundo grupo los tratamientos D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, A de *P. euryhalinus* y E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ). El tratamiento B de *T. monozota* demostró ser significativamente diferente del resto de los tratamientos (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n = 25$ ).

Tabla 1. Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

	{1} M=237.40	{2} M=518.6	{3} M=145.8	{4} M=194.0	{5} M=271.8
<b>A {1}</b>		0.000137	0.200984	0.820415	0.912664
<b>B {2}</b>	0.000137		0.000132	0.000132	0.000174
<b>C {3}</b>	0.200984	0.000132		0.758952	0.040038
<b>D {4}</b>	0.820415	0.000132	0.758952		0.341916
<b>E {5}</b>	0.912664	0.000174	0.040038	0.341916	

#### 4.1.1.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y cultivos poliespecíficos.

Los resultados comparativos de las proporciones entre los cultivos mono y poliespecíficos no incluyen el número de nauplios, debido a que no fue posible identificar las especies en este estadio.

En los cultivos poliespecíficos ninguna de las proporciones iniciales fue constante al término de los quince días, ni tampoco igualaron o superaron el número de organismos que se obtuvo en los cultivos monoespecíficos.

El tratamiento E (*P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2) obtuvo el mayor número de organismos totales ( $60.9 \pm 49.75$  organismos, Figura 6a y 6b) predominando *T. monozota*; el menor valor se encontró en el tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:1) con  $13.4 \pm 17.93$  organismos.

En los tratamientos C y E predominó el harpacticóide, siendo el tratamiento D, de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (2:1), el único donde predominó el calanoide.

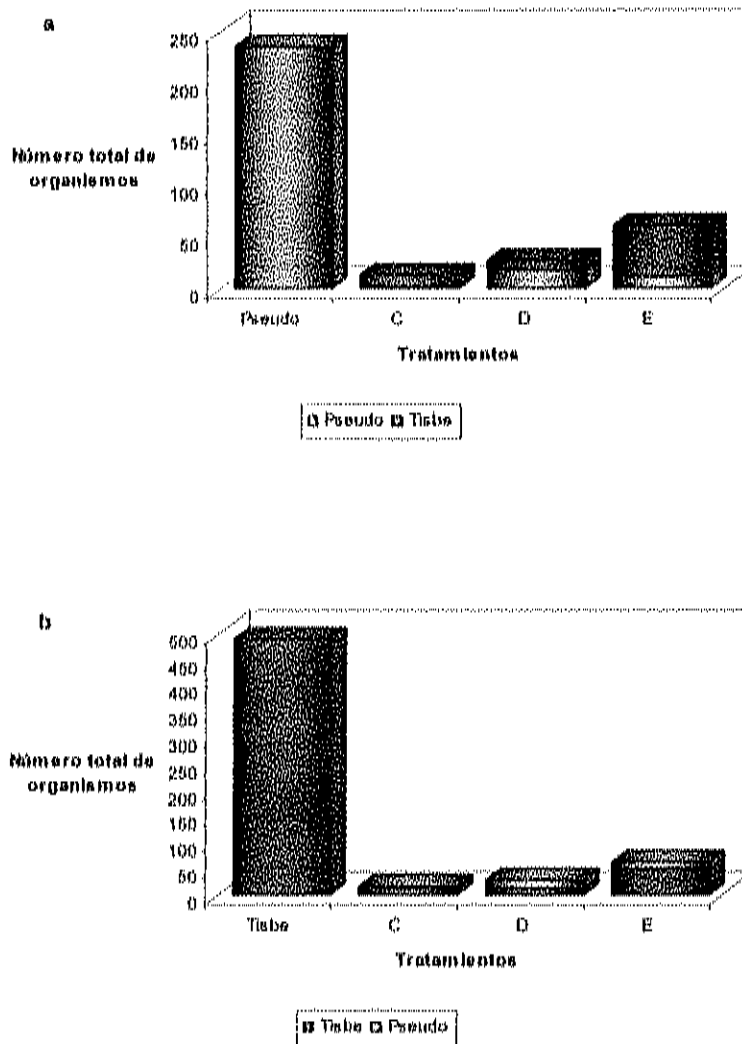


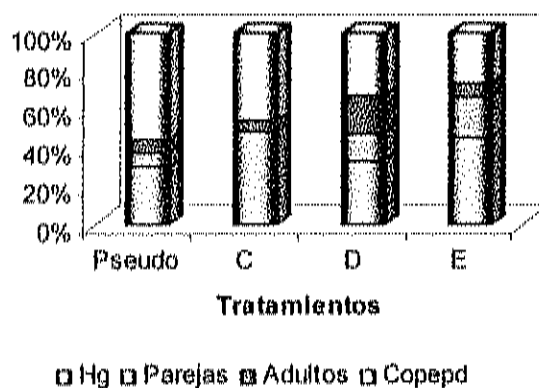
Figura 6. a) Cultivo mono-específico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo mono-específico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2).

#### 4.1.1.3 Clasificación por estadios

En el caso del tratamiento monoespecífico de *P. euryhalinus* (A) la población fue en su mayoría de copepoditos (55%), y la de menor porcentaje fue en los adultos (7%). En el tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2), predominaron las hembras grávidas (48 y 46% respectivamente) y en menor porcentaje los adultos (6 y 7% respectivamente); en el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, el mayor porcentaje se encontró con los adultos (34%) y el menor en las parejas con un 14% (Figura 7a).

En el tratamiento monoespecífico de *T. monozota* (B) el estadio de copepoditos presentó mayor porcentaje (51%), mientras que las hembras grávidas fueron en menor cantidad (18%). El tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2) presentaron mayor porcentaje de adultos (56 y 58% respectivamente) y el menor con los copepoditos (13 y 2% respectivamente); mientras que en el tratamiento D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) el mayor porcentaje fue de hembras grávidas (45%) y el menor se encontró con los copepoditos con un 25% (Figura 7b).

(a)



(b)

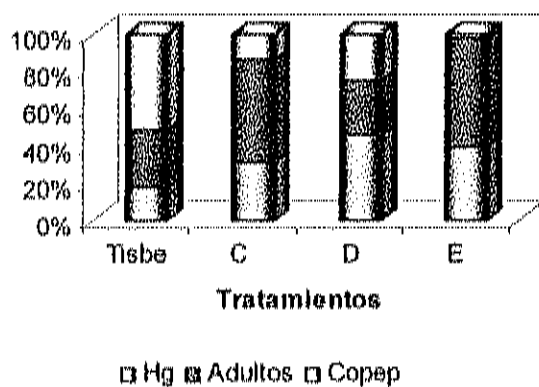


Figura 7 a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.

#### 4.1.2 Experimento Número 2.

##### 4.1.2.1 Producción.

Se encontraron diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (ANOVA,  $P < 0.05$ ,  $n = 25$ ). El mayor número de organismos fue con el tratamiento

monoespecífico B de *T. monozota* ( $598.4 \pm 26.92$  organismos). De tres cultivos poliespecíficos manejados, el mayor valor se encontró en el tratamiento C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 ( $310.6 \pm 105.95$  organismos) y el menor fue en el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 ( $266.4 \pm 66.89$  organismos). De los cinco tratamientos el valor más bajo se encontró en el cultivo monoespecífico A de *P. euryhalinus* ( $237.4 \pm 69.11$  organismos, Figura 8).

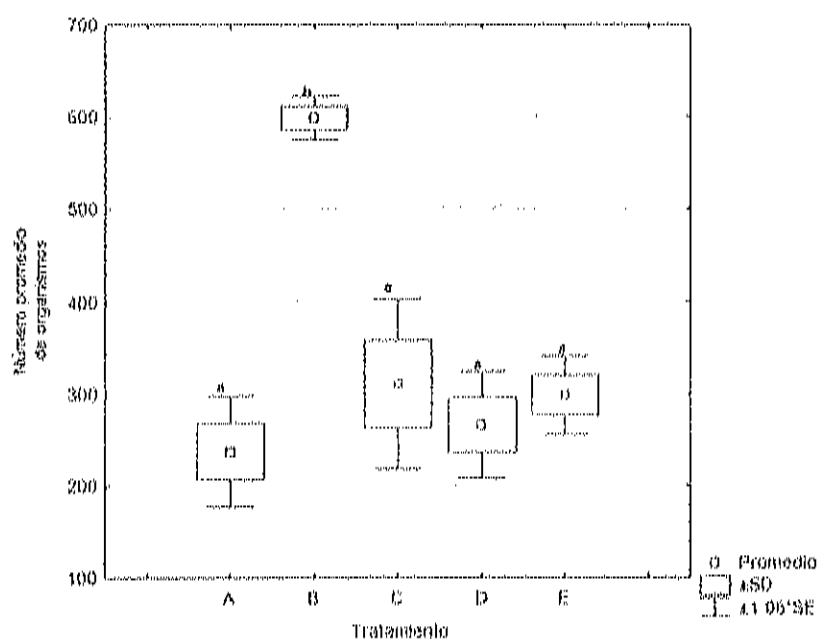


Figura 8. Número promedio total de *P. euryhalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamiento con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$ .

En este segundo experimento los datos se muestran más homogéneos que en el primer caso (Tabla 2). No se encontraron diferencias entre los tratamientos de *P. euryhalinus* (A), *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:1 (C), *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2 (E) (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n=25$ ), el tratamiento B (*T. monozota*) fue significativamente diferente del resto de los tratamientos (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n=25$ ).

Tabla 2. Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

	{1} M=237.40	{2} M=598.4	{3} M=310.6	{4} M=266.4	{5} M=299.2
A {1}		0.000132	0.464611	0.961175	0.620951
B {2}	0.000132		0.000143	0.000133	0.000137
C {3}	0.464611	0.000143		0.844354	0.998902
D {4}	0.961175	0.000133	0.844354		0.940425
E {5}	0.620951	0.000137	0.998902	0.940425	

#### 4.1.2.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y cultivos poliespecíficos.

Las proporciones iniciales, de los cultivos poliespecíficos, no se mantuvieron al término del experimento ni igualaron o superaron el número de organismos obtenidos en los cultivos monoespecíficos.

En el tratamiento E (*P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2) se obtuvo el mayor número de organismos en total ( $65.1 \pm 30.28$  organismos); el menor valor se

encontró en el tratamiento C de *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:1 ( $48.8 \pm 21.2$  organismos).

En los tratamientos C y E predominó la especie *T. monozota*, mientras que en el tratamiento D, de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, predominó la especie *P. euryhalinus* (Figura 9a y 9b).

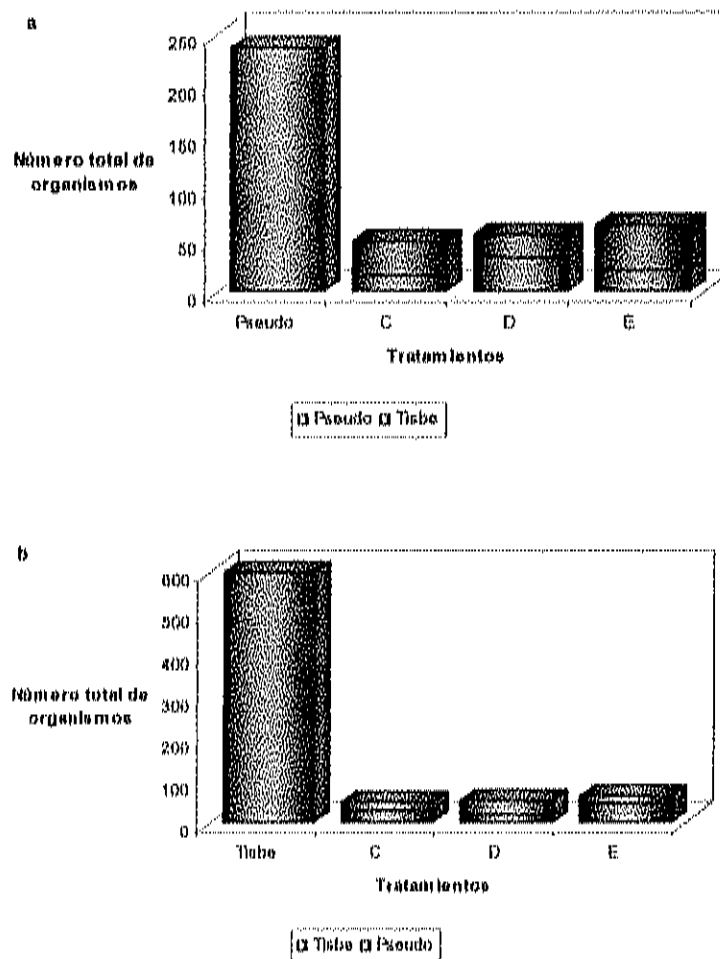


Figura 9. a) Cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 1:2).

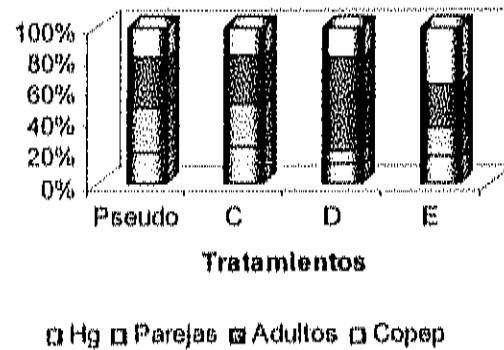


#### 4.1.2.3 Clasificación por estadios.

En el caso del tratamiento monoespecífico de *P. euryhalinus* (A) y el tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) los adultos presentaron mayor porcentaje en la población (33 y 32% respectivamente) y los copepoditos se encontraron en menor porcentaje (19 y 18% respectivamente). En el tratamiento D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1), los adultos tuvieron mayor porcentaje (60%) y las parejas el menor (8%); en el tratamiento y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2), predominaron los copepoditos (36%) y en menor porcentaje las hembras grávidas con un 17% (Figura 10a).

El tratamiento B (*T. monozota*), C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2) presentaron mayor porcentaje de adultos (55, 66 y 63% respectivamente) y el menor con las hembras grávidas (18, 13 y 18% respectivamente); mientras que en el tratamiento D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) el mayor porcentaje fue de adultos (75%) y el menor se encontró en los copepoditos con 9% (Figura 10b).

(a)



(b)

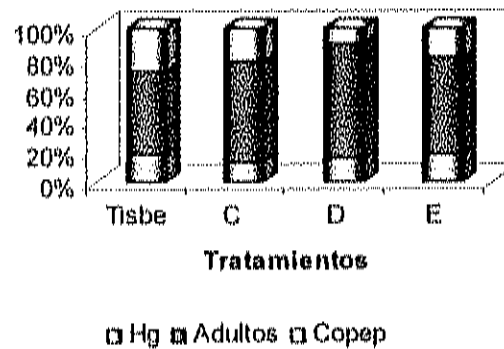


Figura 10 a) Gráfica de estadios del cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos pollespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.

### 4.1.3 Experimento Número 3.

#### 4.1.3.1 Producción

Se encontraron diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (ANOVA,  $p < 0.05$ ,  $n = 25$ ). El mayor número de organismos se encontró en el

tratamiento monoespecífico B de *T. monozota* ( $533 \pm 56.24$  organismos). De tres cultivos poliespecíficos manejados, el mayor valor se encontró en el tratamiento E de *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2 ( $465 \pm 103.16$  organismos) y el menor fue en el tratamiento D de *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 2:1, ( $413.8 \pm 74.28$  organismos). El menor número de organismos se encontró en el cultivo monoespecífico A de *P. euryhalinus*, ( $249.4 \pm 25.46$  organismos, Figura 11).

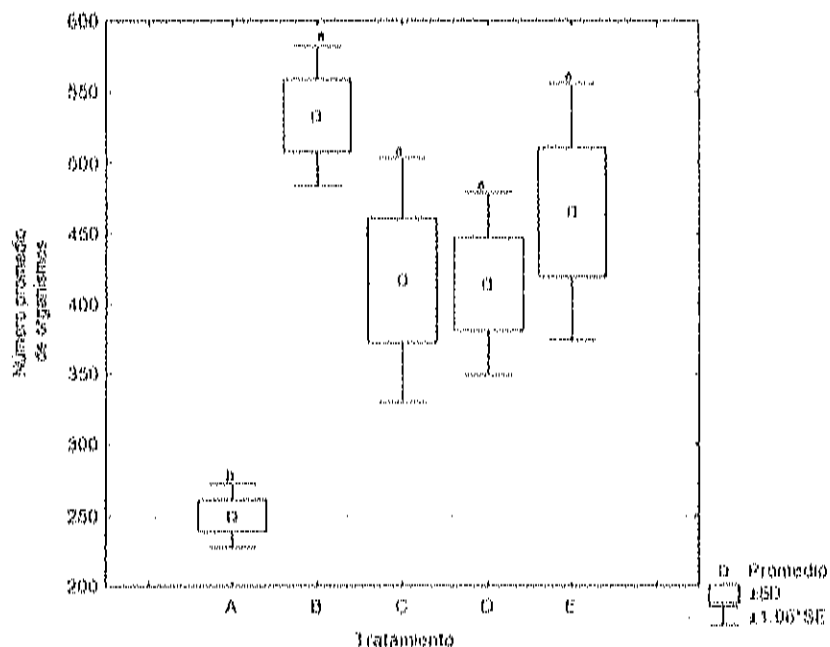


Figura 11. Número promedio total de *P. euryhalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$ .

Entre los tratamientos B (*T. monozota*), C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2) no se encontraron diferencias significativas (Tukey  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ). Y fue en el tratamiento A de *P. euryhalinus* donde se encontraron diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n = 25$ , tabla 3).

Tabla 3. Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

	(1) M=249.4	(2) M=533.0	(3) M=416.4	(4) M=413.8	(5) M=465.0
A (1)		0.000218	0.020242	0.022693	0.002292
B (2)	0.000218		0.158993	0.144577	0.638371
C (3)	0.020242	0.158993		0.999998	0.853983
D (4)	0.022693	0.144577	0.999998		0.829402
E (5)	0.002292	0.638371	0.853983	0.829402	

#### 4.1.3.2 Comparación de proporciones entre cultivos mono-específicos y cultivos poliespecíficos.

El cultivo E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2, obtuvo el mayor número de organismos de los tratamientos poliespecíficos con un valor de  $138.9 \pm 73.75$  organismos.

De los tres cultivos poliespecíficos el menor valor se encontró en el tratamiento C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 ( $94.2 \pm 27.99$  organismos).

En este caso en los tres cultivos poliespecíficos predominó el copépodo harpacticolide *T. monozota* (Figura 12a y 12b).

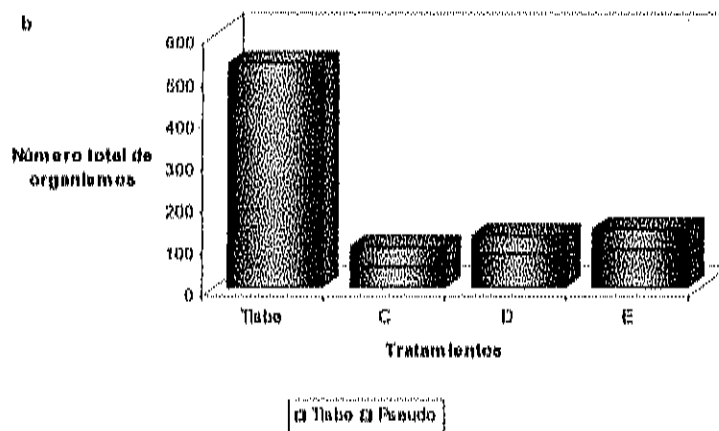
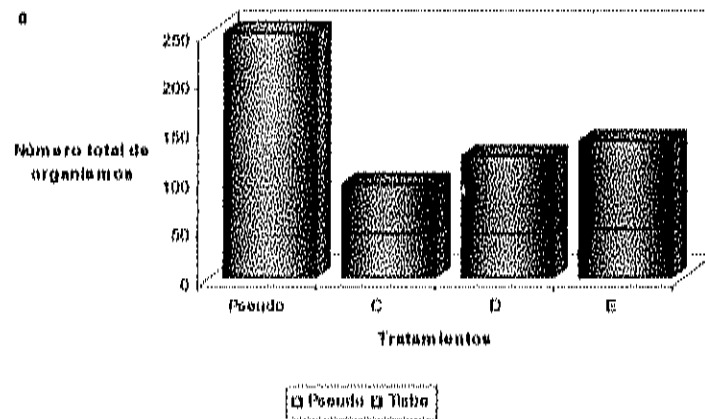


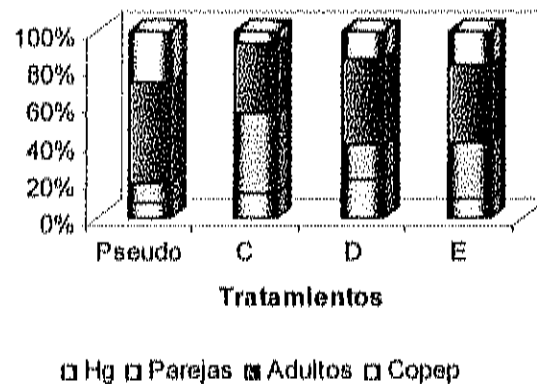
Figura 12 a) Cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus* : *T. monozota* 1:2).

#### 4.1.3.3 Clasificación por estadios.

En el tratamiento monoespecífico de *P. euryhalinus* (A) el mayor porcentaje fue de organismos adultos (54%), y en menor porcentaje se encontraron con las parejas (11%). En el tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) en su mayor parte estuvo compuesta por parejas (42%) y en menor cantidad por copepoditos (6%); en el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, los adultos se encontraron en mayor cantidad (45%) y los copepoditos fueron los de menor porcentaje (15%) y en el tratamiento E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2), predominaron los adultos (42%) y en menor porcentaje las hembras grávidas con un 10% (Figura 13a).

El tratamiento B (*T. monozota*), C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2) presentaron mayor porcentaje de adultos (68, 69 y 83% respectivamente) y el menor porcentaje se encontró con las hembras grávidas (7,15 y 8% respectivamente); mientras que en el tratamiento D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) el mayor porcentaje fue de organismos adultos (94%) y el menor se encontró en los copepoditos con un 3% (Figura 13b).

(a)



(b)

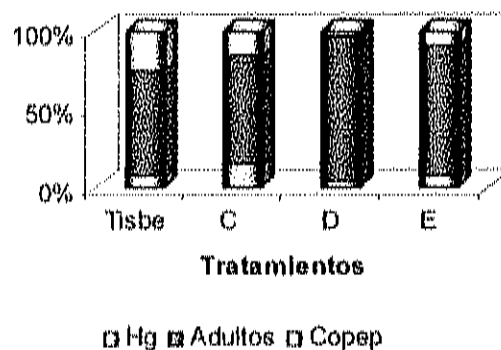


Figura 13 a) Gráfica de estadios del cultivo mono-específico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo mono-específico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.

#### 4.1.4 Resultados Generales de los Tres Experimentos.

##### 4.1.4.1 Producción

Se encontraron diferencias significativas en al menos uno de los tratamientos (ANOVA,  $p < 0.05$ ,  $n=75$ ). Como se aprecia en las gráficas anteriores el

tratamiento en el que se encontró el mayor número de organismos al término de los quince días, en los tres experimentos, fue en el cultivo monoespecífico B de *T. monozota* ( $527.63 \pm 77.72$  organismos), seguido del tratamiento E de *P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2 con  $345.33 \pm 50.55$  organismos. En los tratamientos D (*P. euryhalinus* y *T. monozota*, 2:1) y C (*P. euryhalinus* y *T. monozota*, 1:2) se encontraron valores muy cercanos,  $291.4 \pm 67.13$  y  $290.93 \pm 116.43$  organismos respectivamente. Y fue el cultivo monoespecífico A de *P. euryhalinus*, donde se presentó el menor número total de organismos ( $237.4 \pm 54.31$  organismos, Figura 14).

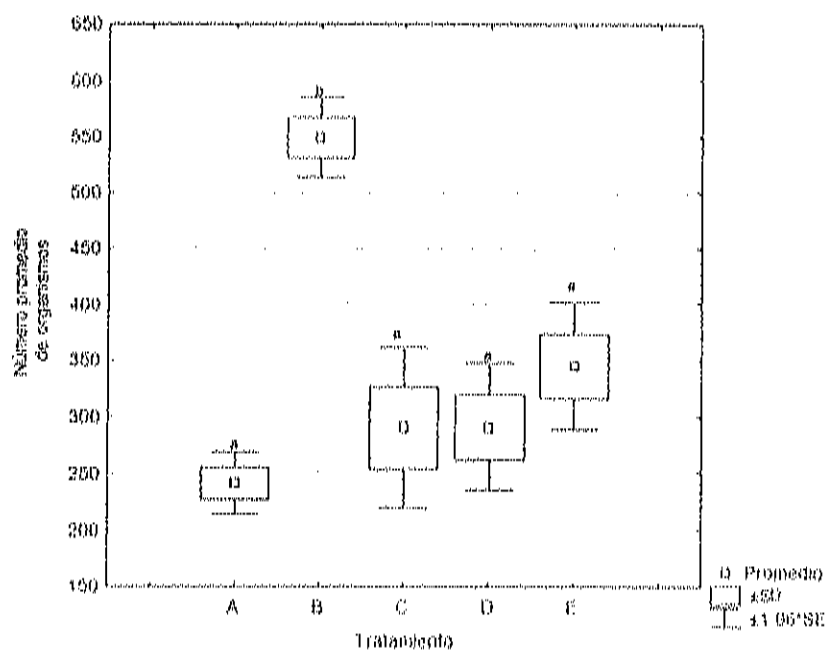


Figura 14. Número promedio total de *P. euryhalinus* y *T. monozota* en cada tratamiento. Donde: A, cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus*; B, cultivo monoespecífico de *T. monozota*; C, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:1); D, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (2:1) y E, cultivo poliespecífico de *P. euryhalinus* y *T. monozota* (1:2). Tratamientos con letras diferentes tienen diferencias significativas  $p < 0.05$ .



En términos generales el tratamiento B de *T. monozota* fue significativamente diferente a los tratamientos A, C, D y E (Tukey,  $P < 0.05$ ,  $n = 75$ ), presentando el mayor número de organismos. Los valores de los cuatro tratamientos restantes no fueron diferentes entre ellos (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación entre los cinco tratamientos, los números marcados en rojo nos muestran las diferencias significativas ( $P < 0.05$ )

	(1) M=237.4	(2) M=527.6	(3) M=290.93	(4) M=291.4	(5) M=345.3
A (1)		0.000125	0.677571	0.669849	0.053029
B (2)	0.000125		0.000125	0.000125	0.000129
C (3)	0.677571	0.000125		1.000000	0.595567
D (4)	0.669849	0.000125	1.000000		0.603523
E (5)	0.053029	0.000129	0.595567	0.603523	

#### 4.1.4.2 Comparación de proporciones entre cultivos monoespecíficos y cultivos poliespecíficos.

Excluyendo a los nauplios en estas gráficas, ninguno de los cultivos poliespecíficos igualo o supero el número de organismos obtenido en los cultivos monoespecíficos tanto de *P. euryhalinus* ( $174.27 \pm 69.85$  organismos) y *T. monozota* ( $358.93 \pm 122.68$  organismos).

Los tratamientos poliespecíficos con el mayor número de organismos fueron en los tratamientos C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 ( $104.27 \pm 39.41$  organismos) y E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 ( $176.6 \pm 53.30$

organismos) predominando la especie de *T. monozota*, este representó el 60 % del número total y el 69.4% en los tratamientos C y E respectivamente.

En el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 ( $124.18 \pm 47.34$  organismos), el copépodo calanoide *P. euryhalinus* (51.3%) superó ligeramente el número de *T. monozota* (48.7%) (Figura 15a y 15b).

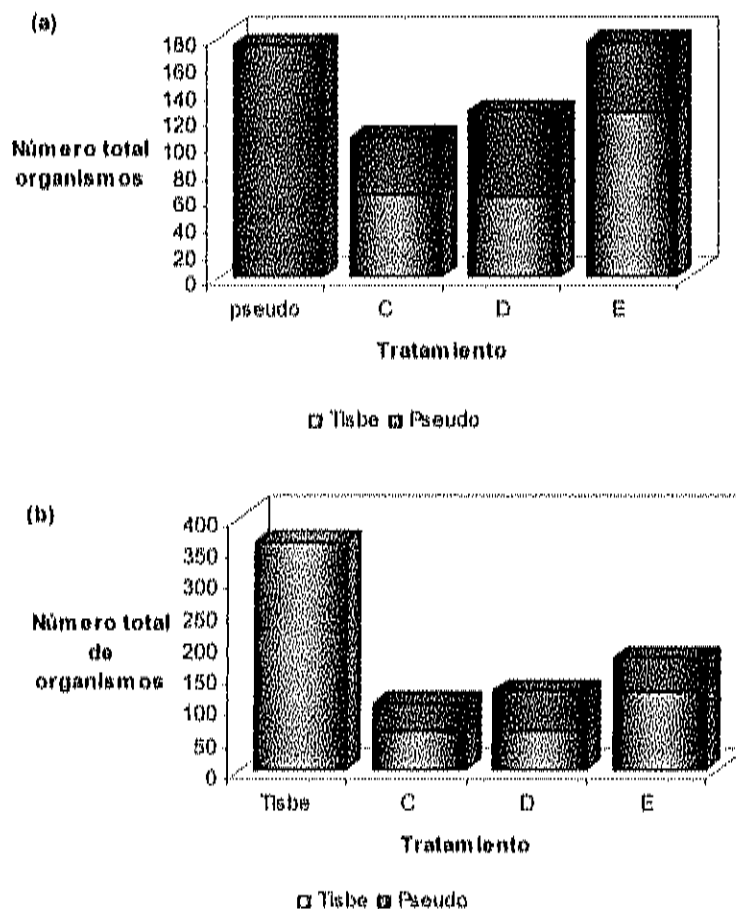


Figura 15 a) Cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo monoespecífico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2).

#### 4.1.4.3 Clasificación por estadios.

A continuación se muestran los resultados, en porcentaje, de la clasificación por estadios en los cinco tratamientos (Figura 16a y 16b).

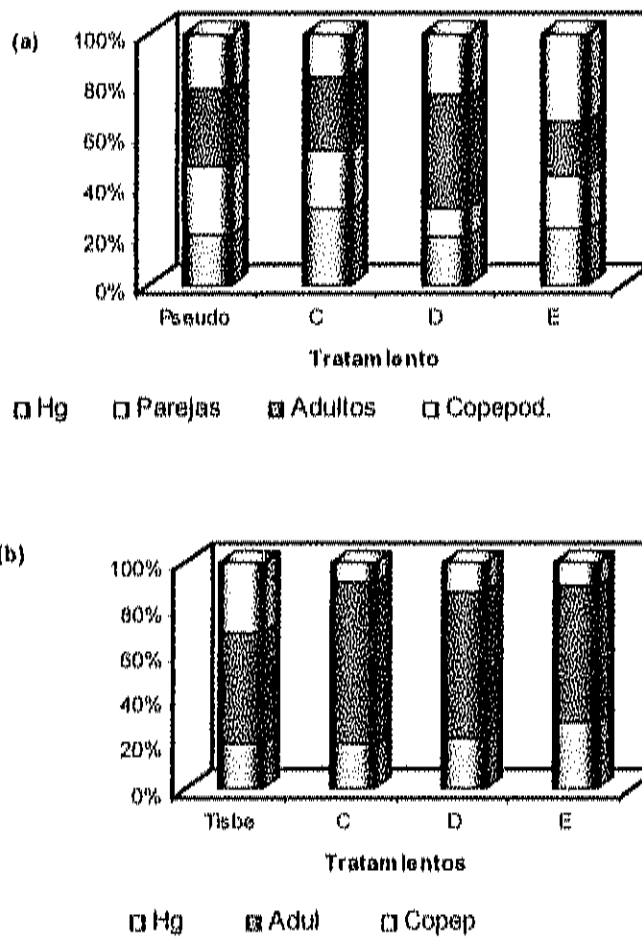


Figura 16 a) Gráfica de estadios del cultivo mono-específico de *P. euryhalinus* y b) Cultivo mono-específico de *T. monozota* comparados con los cultivos poliespecíficos C (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:1), D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1) y E (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 1:2). Donde se muestran: hembras grávidas (Hg), adultos, copepoditos (copep) y parejas.

En el caso de *T. monozota*, más del 50% de la población eran organismos adultos (hembras y machos).

Para *P. euryhalinus*, no se muestra una tendencia tan marcada como en el caso del harpacticoide. La composición de la población es homogénea. Siendo el cultivo monoespecífico y el poliespecífico C, los que mostraron un comportamiento similar.

#### 4.2 Calidad de Agua

En el análisis individual de los experimentos no se encontraron diferencias significativas entre los nutrientes analizados. Únicamente en el experimento número 2 se encontraron diferencias significativas en los niveles de amonio y nitritos, detallados a continuación.

En el caso de amonio ( $\text{NH}_4$ ), el tratamiento B de *T. monozota*, tuvo diferencias significativas (ANOVA= 8.97,  $p < 0.05$ ,  $n = 25$ ) con el resto de los tratamientos con un valor de  $0.196 \text{ mg L}^{-1}$ , (Figura 17). Y en el caso de los nitritos (Figura 18), se encontraron tres grupos: entre los tratamientos E (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2), B (*T. monozota*) y D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) no se encontró diferencia significativa (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ); los tratamientos C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y D (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1) tampoco fueron significativamente diferente entre ellos (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ) y por último, entre el tratamiento C (*P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1) y A (*P. euryhalinus*) no se encontró diferencia (Tukey,  $P > 0.05$ ,  $n = 25$ ).

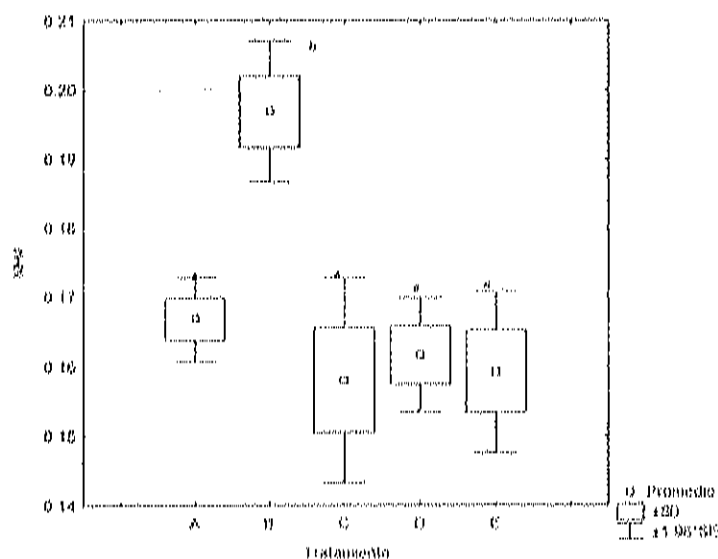


Figura 17. Concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de Amonio ( $\text{NH}_4$ ) en los cinco tratamientos del experimento 2. *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

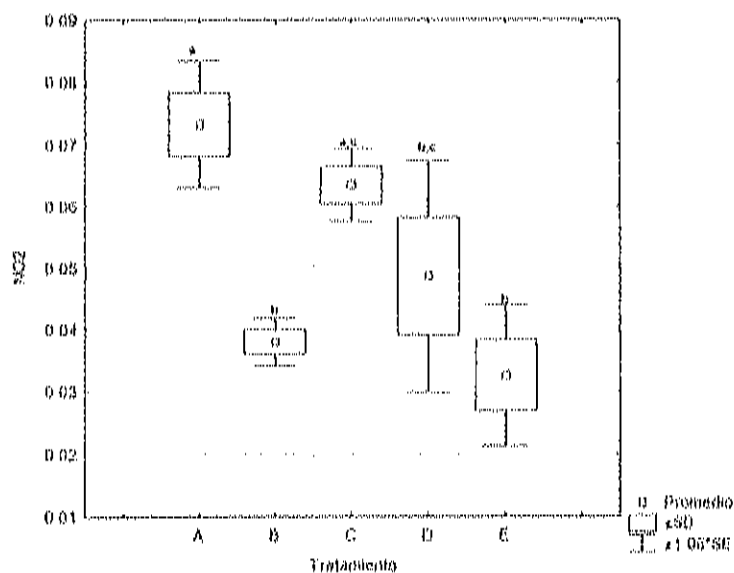


Figura 18. Concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de Nitrilos ( $\text{NO}_2$ ) en los cinco tratamientos del experimento 2. *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

#### 4.2.1 Análisis General en Niveles de Nutrientes.

En los análisis de fosfatos ( $\text{PO}_4$ ), nitratos ( $\text{NO}_3$ ), amonio ( $\text{NH}_4$ ) y nitritos ( $\text{NO}_2$ ) (Figura 19) realizados al agua en los tres experimentos no mostraron diferencias significativas entre las medias (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n = 75$ ).

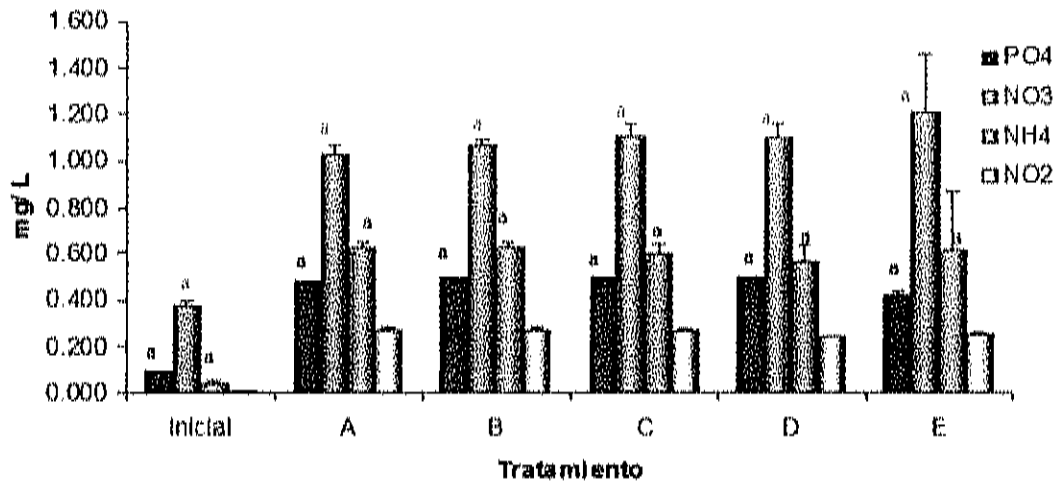


Figura 19. Análisis de calidad de agua ( $\text{PO}_4$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_2$ ) de los cinco tratamientos en los tres experimentos. Donde: *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E).

##### 4.2.1.1 Concentración de fosfato ( $\text{PO}_4$ ).

En el caso de fosfatos, el tratamiento C de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1, mostró la concentración más alta ( $0.499 \pm 0.003 \text{ mg L}^{-1}$ ), mientras que en el tratamiento E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2, se encontró la concentración

de fosfatos más baja ( $0.429 \pm 0.004 \text{ mg L}^{-1}$ ). Los valores de  $\text{PO}_4$  (Figura 20) en los cinco tratamientos no fueron significativamente diferentes (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n=75$ ) entre ellos.

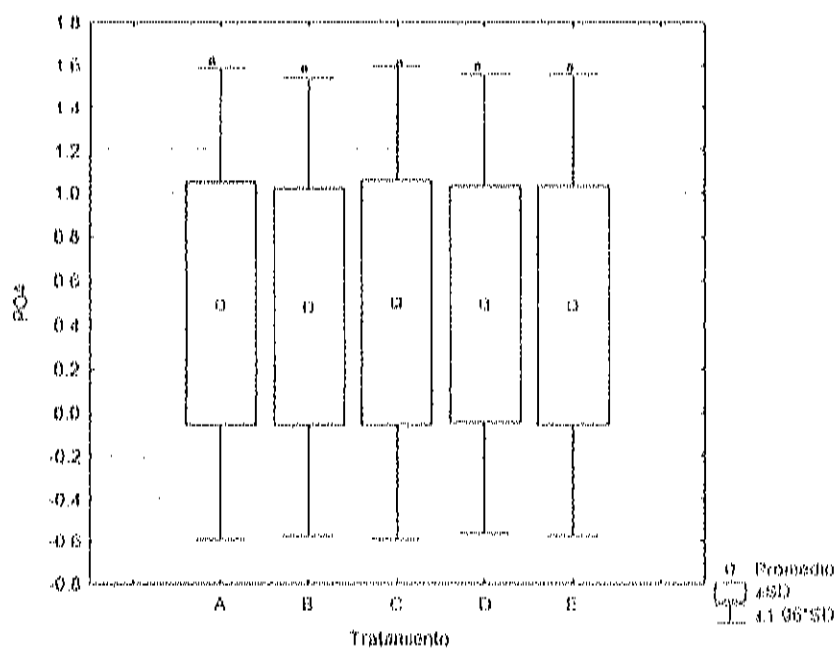


Figura 20. Concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de Fosfatos ( $\text{PO}_4$ ) en los cinco tratamientos. *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

#### 4.2.1.1 Concentración de nitratos ( $\text{NO}_3$ )

El valor más alto se encontró en el tratamiento E de *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 ( $1.196 \pm 0.256 \text{ mg L}^{-1}$ ) y el más bajo en el tratamiento A de *P. euryhalinus* ( $1.032 \pm 0.026 \text{ mg L}^{-1}$ ). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de nitratos (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n=75$ , Figura 21).



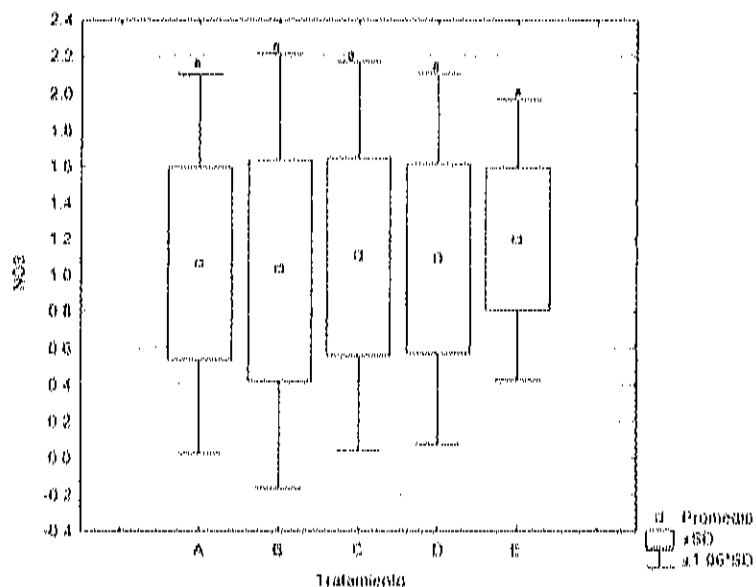


Figura 21. Concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de Nitratos ( $\text{NO}_3$ ) en los cinco tratamientos. *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

#### 4.2.1.3 Concentración de amonio ( $\text{NH}_4$ )

En el caso de concentración de amonio (Figura 22), el tratamiento A de *P. euryhalinus* mostró la concentración más alta con  $0.629 \pm 0.026 \text{ mg L}^{-1}$  y el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, fue en el que se encontró la menor concentración ( $0.568 \pm 0.065 \text{ mg L}^{-1}$ ). No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de amonio (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n=75$ ).

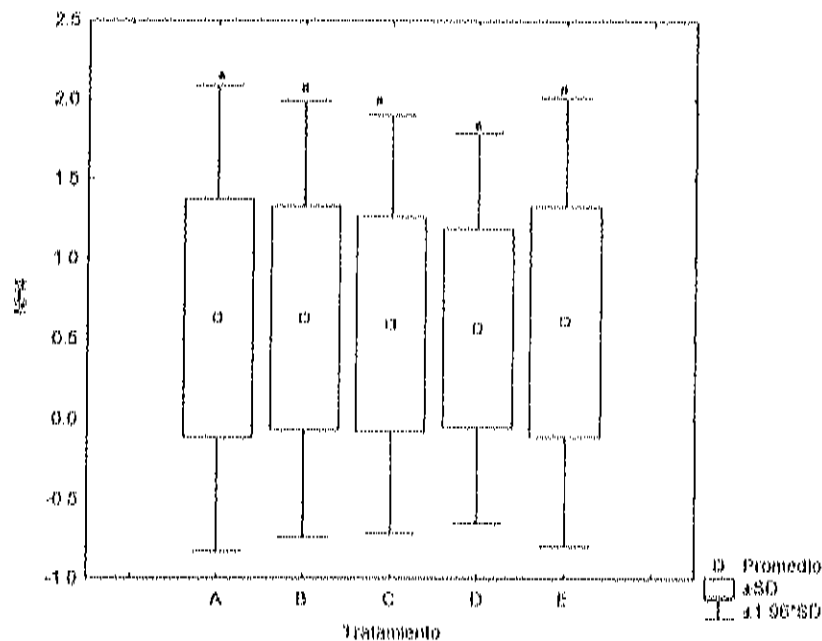


Figura 22. Concentración ( $\text{mg L}^{-1}$ ) de Amonio ( $\text{NH}_4$ ) en los cinco tratamientos. *P. euryhalinus* (A), *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

#### 4.2.1.4 Concentración de nitritos ( $\text{NO}_2$ )

Como se aprecia en la Figura 23 la concentración mas alta de nitritos se encontró en el tratamiento B de *T. monozota* ( $0.277 \pm 0.004 \text{ mg L}^{-1}$ ) y en el tratamiento D con *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1, se registró el valor más bajo ( $0.249 \pm 0.003 \text{ mg L}^{-1}$ ). No se encontraron diferencias significativas en los tratamientos (ANOVA,  $p > 0.05$ ,  $n=75$ ).

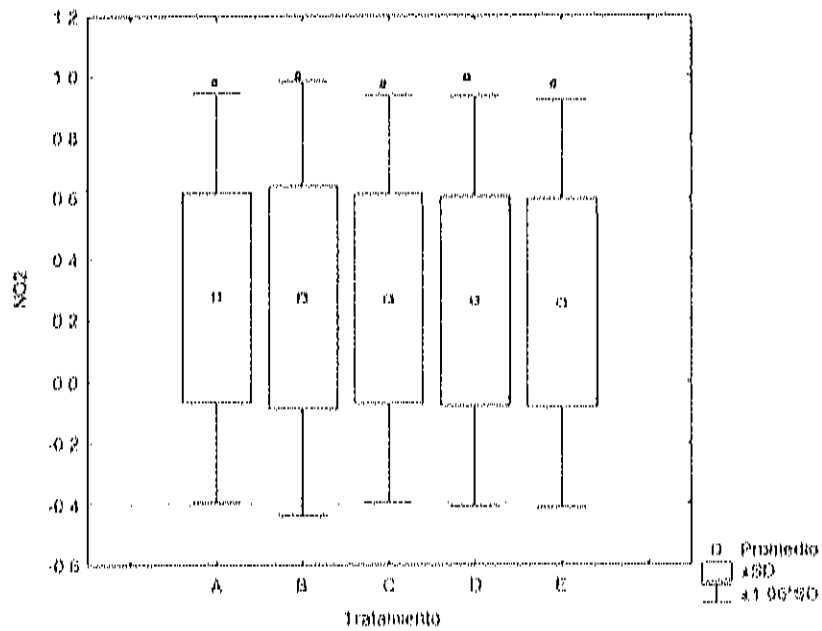


Figura 23. Concentración (mg L<sup>-1</sup>) de Nitrilos (NO<sub>2</sub>) en los cinco tratamientos. *P. euryhalinus* (A); *T. monozota* (B), *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:1 (C); *P. euryhalinus* y *T. monozota* 2:1 (D) y *P. euryhalinus* y *T. monozota* 1:2 (E). Letras diferentes existe diferencia significativa  $p < 0.05$ .

## 5. DISCUSIONES

En el presente estudio se decidió utilizar una sola especie de microalga para alimentar a los organismos con la finalidad de facilitar y estandarizar la metodología. La microalga seleccionada fue *Isocrhysis galbana*, debido a su disponibilidad; además de contener alto valor nutricional. Los copépodos *Acartia tonsa* y *Gladioferens imparipes* alcanzaron sus mejores resultados respecto a ingestión, producción de huevos y supervivencias con esta misma microalga. Støttrup y Jensen (1990) y; Rippingale y Payne (2000) lo atribuyen a la alta cantidad de ácido docosahexaenoico (DHA).

Como se observó al termino del estudio, el cultivo monoespecífico de *Tisbe monozota* obtuvo el mayor número de organismos. Produciendo aproximadamente poco mas de 500 organismos en 500 mL ( $527.63 \pm 77.72$  organismos). Puello *et al.*, (2006) obtuvieron valores similares ( $541.40 \pm 24.01$ ) de adultos y copepoditos, con la misma concentración de alimento ( $320 \text{ cel } \mu\text{L}^{-1}$ ), a diferente volumen de agua y mezcla de microalgas.

Cabe señalar que en los sistemas de cultivo de este estudio, no se utilizaron ningún tipo de sustrato, que como ya se ha demostrado en estudios previos, ayudan a incrementar el número de organismos que se pueden obtener por área. Puello-Cruz *et al.* (2006) encontraron el sustrato óptimo para *T. monozota*, que consiste en filamento de nylon dentro de un tubo de PVC. En este caso se

decidió no utilizar sustrato debido al tamaño de los contenedores y el volumen empleado, sin embargo existe la posibilidad de mejorar los resultados pues en observaciones previas se ha comprobado que *P. euryhalinus* también usa este sustrato.

Por otra parte y en lo que respecta al cultivo monoespecífico de *P. euryhalinus*, éste presentó el menor número de organismos en total ( $237.4 \pm 54.31$ ). Una posible explicación es la limitada columna de agua disponible en el volumen manejado, pues los copépodos calanoides dependen del volumen en el que se contengan (Støttrup, 2003).

Como lo señala Støttrup (2003), los harpacticoides son más tolerantes a variantes en las condiciones de cultivo con respecto a los calanoides, los primeros soportan altas densidades de cultivo, condiciones desfavorables de calidad de agua, poseen una alta capacidad reproductiva (Uhlig, 1984), y dependen del área superficial más que del volumen de agua (Uhlig, 1981; Støttrup y Norsker, 1997). A diferencia de los segundos que únicamente toleran variaciones en salinidad y ven limitada su producción en condiciones desfavorables de calidad de agua y disponibilidad de espacio.

En lo que respecta a los tres tratamientos poliespecíficos, *T. monozota* resultó la especie dominante en dos de los tres cultivos (C y E) con más del 50%.

Mientras que en el tratamiento D (*P. euryhalinus*: *T. monozota* 2:1), donde se observó mayor número de calanoides, los porcentajes fueron similares. Dentro de cultivos con especies de calanoide o harpacticoide frecuentemente dominará el que tome ventaja de algún parámetro del medio ambiente para competir. Sin embargo las referencias al respecto de estos mecanismos de competencia aún no han sido detallados y son muy escasos (Støttrup y McEvoy, 2003).

Es muy probable que haya existido competencia no solo por alimento entre las especies cultivadas, sino también por espacio. Ya que se pudo observar que los adultos de *P. euryhalinus* también se adherían a las paredes o fondo de los matraces (observación personal). Este comportamiento también ha sido reportado en otras especies de calanoides como *Pseudodiaptomus coronatus* y *Gladioferens imparipes*, donde los adultos de ambos sexos y copepoditos tardíos son capaces de adherirse a las superficies (Jürgen, 1961, Rippingale, 1994). El mismo comportamiento se presenta en este calanoide en los tanques de mayor volumen (300 L) que se manejan en el Laboratorio de Nutrición y Larvicultura del CIAD.

Person-Le Ruyet (1975) menciona que un cultivo combinado de un harpacticoide y un calanoide, puede tener un efecto positivo ya que el primero ayuda en la limpieza del tanque y agua, ocasionando un incremento en la producción del calanoide.

En este caso y bajo estas condiciones, ninguno de los cultivos poliespecíficos empleados, pudo igualar o superar, la cantidad de organismos presentes en el cultivo monoespecífico de *T. monozota*. Reflejando que, en condiciones del cultivo poliespecífico y en términos de producción, *T. monozota* y *P. euryhalinus* ven reducido el resultado de producción que puede obtenerse cultivando una sola especie.

Støttrup (2003) menciona que en cultivos combinados con harpacticoides y calanoides, a mayor escala, se observa un comportamiento diferente, ya que, los calanoides tienden a dominar con el tiempo. Probablemente esto sucede debido a que en escalas más grandes (pilotos o intensivos) a las experimentales, ambas especies tienen más ventaja del medio, ya sea más área para sujetarse por parte de los harpacticoides y mayor columna de agua en los calanoides, sin embargo este comportamiento requiere un mayor estudio.

Es importante mencionar que en la población predominaban los nauplios. Sin embargo, éstos no se incluyeron en este estudio ya que no se cuenta con información suficiente para lograr identificar ambas especies durante este estadio. Se ha observado que en algunas especies de harpacticoides los nauplios o primeros estadios tienen un comportamiento planctónico. Por ejemplo los nauplios de *S. canadensis* y *Tisbe* sp. son pelágicos (Hicks y Coull, 1983). Esto dificulta aun más la obtención de resultados confiables a este nivel.

En cuanto a los parámetros de calidad de agua, no se tiene establecido los valores óptimos para el cultivo de estas especies. Calidad de agua deficiente provoca estrés en los organismos afectando la reproducción (Støttrup, 2003).

No se encontraron diferencias significativas en los valores de las medias en fosfatos, nitratos, nitritos y amonio entre los tratamientos monoespecíficos y poliespecíficos (ANOVA,  $P > 0.05$ ) Sin embargo, la desviación estándar de los datos iniciales fue amplia. Para fosfatos ( $0.429 \pm 0.004 \text{ mg L}^{-1}$ ), amonio ( $0.568 \pm 0.065 \text{ mg L}^{-1}$ ) y nitritos ( $0.249 \pm 0.003 \text{ mg L}^{-1}$ ) los valores más bajos se encontraron en un cultivo poliespecífico (tratamiento E para fosfatos y D para amonio y nitritos), pero no fueron significativos comparados con el resto de los tratamientos.

Støttrup (2003) reporta que los calanoides son sensibles a altas concentraciones de amonio y fue en el tratamiento A, que consistió en el cultivo monoespecífico del calanoide *P. euryhalinus*, donde se obtuvo el valor más alto en concentración de amonio ( $0.629 \pm 0.026 \text{ mg L}^{-1}$ ). Coincidiendo además, en que fue en este mismo tratamiento donde se presentó el valor de producción más bajo. Así mismo en el tratamiento poliespecífico D, en el que se encontró el nivel de amonio más bajo, fue el tratamiento donde *P. euryhalinus* es la especie dominante en la mezcla.



Buttino (1994) reporta que en el cultivo del calanoide *Acartia clausi*, las concentraciones de amonio de 0.12 ppm, se reflejan en un incremento en la producción de huevos, así mismo, produce un efecto negativo en la viabilidad de los mismos. Payne y Ripplingale (2000) encontraron también la concentración más alta de amonio y nitratos en cultivos de *G. imparipes*, pero estos autores, no examinaron el punto en el cual éstos afectan la fecundidad. Con el fin de controlar la calidad de agua en estos cultivos Støttrup y Norsker (1997) señalan la importancia de utilizar sistemas con un flujo continuo de agua o de recirculación. En nuestra experiencia se ha logrado controlar la calidad de agua e inclusive disminuir los niveles de bacterias con recambios de agua del 50-100% (Puello *et al.*, 2006) lo cual puede ser comparable con niveles óptimos de calidad de agua para futuros trabajos.

En el caso de los harpacticoides, el rango de concentración de amonio es más alto, debido a sus hábitos alimenticios (se alimenta también del detritus). La concentración de amonio en cultivos a altas densidades de *T. holothuriae* varía desde 1.2 a 1.8 ppm después de la alimentación (Støttrup y Norsker, 1997). El valor mas alto obtenido en el tratamiento de *P. euryhalinus*  $0.629 \pm 0.026 \text{ mg L}^{-1}$ , en este estudio tampoco se examinó el efecto de los niveles de amonio en la fecundidad, sin embargo deja la pauta para futuras investigaciones.

Es importante considerar que si los copépodos serán incorporados en los tanques de larvas de peces, los niveles de fosfatos, amonio, nitritos y nitratos deben ser controlados con la intención de no alterar el sistema.

## 6. CONCLUSIÓN

No se cumplió la hipótesis planteada en este trabajo ya que los cultivos monoespecíficos del copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* y harpacticoide *Tisbe monozota* presentaron en todos los casos la mayor producción comparado con los cultivos poliespecíficos.

No se encontraron diferencias significativas en la calidad de agua (amonio, nitritos, nitratos y fosfatos) entre cultivos monoespecificos y poliespecificos de *P. euryhalinus* y *T. monozota*.

## 7. RECOMENDACIONES

Realizar más estudios puntuales en el cultivo mixto de estas especies (*Tisbe monozota* y *Pseudodiaptomus euryhalinus*), estableciendo las condiciones óptimas y determinando efectos tales como reproducción, competencia.

Comparar los efectos de producción entre dietas monoalgales y polialgales.

Con la información existente sobre condiciones óptimas para ambas especies realizar cultivos en mayores escalas y observar la relación entre ambos. Ya que como se ha mencionado en la literatura, el comportamiento de estos organismos tiende a ser diferente del reportado en este trabajo en un mayor volumen.

Determinar los niveles óptimos de los niveles de fosfatos, amonio, nitritos y nitratos, así como su efecto en el cultivo y los organismos (fecundidad, número de huevos).

Se recomienda comparar el perfil nutricional de los organismos en los cultivos mono y poliespecíficos.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

Battaglia, B., 1970. Cultivation of marine copepods for genetic and evolutionary research. *Helgoländer Meeresunters.* 20, 385-392.

Bergmans, M., 1981. A demographic study of the life cycle of *Tisbe furcata* (Baird, 1937) (Copepoda: Harpacticoida). *J. Marine Biology Assoc. UK*, 61, 691-705.

Buttino, I., 1994. The effect of low concentrations of phenol and ammonio on egg production rates, fecal pellet production and egg viability of the calanoid copepod *Acartia clausi*. *Marine Biology*, 119, 629-634.

Cunha, I., Planas, M., 1999. Optimal prey size for early turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.) based on mouth and ingested prey size. *Aquaculture* 175, 103-110.

D'Abramo, R.L., 2002. Challenges in developing successful formulated feed for culture of larval fish and crustaceans. En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortés, M.G., Simoes, N. (Eds.). *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposio Internacional de Nutrición Acuicola.* 3 al 6 de Septiembre del 2002. Cancún, Quintana Roo, México.

Hernández Molejon, O.G., Alvarez-Lajonchère, I., 2003. Culture experiments with *Oithona oculata* Farran, 1913 (Copepoda:Cyclopoida), and its advantages as food marine fish larvae. *Aquaculture* 219, 471-483.

Hicks, G.R.F. y Coull, B.C., 1983. The ecology of marine meiobenthic harpacticoide copepods. *Oceanogr. Marine Biology. Annu* 21, 67-175.

Hoff, F.H. y Snell, T.W., 1999. Plankton culture manual, 5a Ed. Florida Aqua Farms, Inc. 33418 Old Saint Joe Rd., Dade city, Florida. 160 pp.

Humes, A.G., 1994. How many copepods? *Hydrobiologia* 292/293, 1-7.

Ikeda, T., 1973. On the criteria to select copepod species for mass culture. *Bulletin of the Plankton Society of Japan*. 20, 41-48.

Jürgen J., 1961. Laboratory cultivation of the marine copepod *Pseudodiaptomus coronatus* Williams. *Limnology and Oceanography* Vol. 6 No.4 443-446

Kleppel, G.S. y Burkart, C.A., 1995. Egg production and the nutritional environment of *Acartia tonsa*: the role of food quality in copepod nutrition. *ICES Journal of Marine Science*. 52, 297-304.

Kraul, S., Brittain, H., Cantrell, R., Nanago, T., Ako, H., Ogasawara, A. y Kitagawa, H., 1993. Nutritional factors affecting stress resistance in the larval mahimahi *Coryphaena hippurus*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 24, 186-193.

Lavens, P., Sorgeloos, P., 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361. 265 pp.

McEvoy, L. A., Naess, T. y Lie, O., 1998. Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented atlantic halibut (*Hipoglossus hopoglossus*) fed enriched Artemia: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*. 163, 237-250.

Miliou, H., 1996. The effect of the temperature, salinity and diet on final size of female *Tisbe holothuriae* (Copepoda:Harpacticoida). *Crustacean*. 69, 743-754.

Miliou, H. y Moraitou-Apostolopoulou, M., 1991. Effect of seven diets on the population dynamics of laboratory cultured *Tisbe holothuriae* Humes (Copepoda Harpacticoida). *Hegoländer. Meeresunters*. 45, 345-356.

Nanton D. A. y Castell J. D., 1998. The effects of dietary fatty acids on the fatty acid composition of the harpacticoid copepod, *Tisbe* sp for use as a live food for marine fish larvae. *Aquaculture*. 163, 251–261.

Norsker, N. H. y Støttrup, J.G., 1994. The importance of dietary HUFA's for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. *Aquaculture*. 125, 155–166.

Payne, M.F., Ripplingale, R.J., Longmore, R.B., 1998. Growth and survival of juvenile pipefish (*Stigmatopora argus*) fed live copepods with high and low HUFA content. *Aquaculture*. 167, 237-245.

Payne, M.F. y Ripplingale, R.J., 2000. Rearing west australian seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. *Aquaculture*. 188, 353-361.

Payne, M.F., Ripplingale, R.J. y Cleary, J.J., 2001. Culture copepods as food for west australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*. 194, 0137-150.



- Person-Le Ruyet, J., (1975). Elevage de copepods calanoids. Biologie et dynamique des populations: premies resultats. Ann. Inst. Oceanogr. 51, 203-221.
- Puello-Cruz, A.C., González-Rodríguez, B., García-Ortega, A. y Gómez, S., 2004. Use of the tropical harpacticoid copepod *Tisbe monozota* Bowman, 1962 (Copepoda: Harpacticoida: Tisbidae) as live food in marine larviculture. Contributions to the study of East Pacific Crustaceans. 3, 177-187.
- Puello-Cruz, A.C., Yen-Ortega, E., González-Rodríguez, B., Velasco-Blanco, G., Nieves-Soto, M., Gómez-Gil, B., 2006. Recent advances in the productions and use of *Tisbe monozota* Bowman, 1962 (Copepoda: Harpacticoida: Tisbidae) in high-density cultures, and maintained under control conditions. Contributiones to the study of East Pacific Crustaceans. Vol 4 (1) 13-24.
- Rippingale, R. J., Payne, M. F., 2001. Intensive cultivation of a calanoid copepod *Glabidocera imparipes*. A guide to procedures. Department of Environmental Biology. Curtin University of Technology.
- Schipp, G. R., Bosmans, J. M. P. y Marshall, A. J., 1999. A method for hatchery culture of tropical calanoide copepods, *Acartia* spp. Aquaculture 174, 81-88.

Støttrup, J. G. y Norsker, N. H., 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 155, 231-247.

Støttrup, J.G. y Jensen, J., 1990. Influence of algal diet on feeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. *Aquaculture*. 141, 87-105.

Støttrup, J. G., 2000. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. *Aquaculture Research*. 31, 703-711.

Støttrup J.G. y McEvoy L.A., 2003. Live feed in marine aquaculture. Editorial Blackwell publishing.

Torrentera, B.L., 1989. La producción de alimento vivo y su importancia en acuíicultura. Programa Cooperativo Gubernamental FAO-Italia. Documento de campo No. 12. Brasil.

Uhlig, G., 1981. Microfaunal food organisms for mariculture. European Mariculture Society, Special Publication, 6, 93-195.

Uhlig, G., 1984. Progress in mass cultivation of harpacticoids copepods for mariculture purposes. European Mariculture Society, Special Publication, 8, 261-273.

Velez, 2002 <http://www.aqua sur.cl/conferencias/Antonio%20Velez.ppt>.

Wilcox, J.A. Tracy, P.L. y Marcus, N.H., 2006. Improving live feeds: Effect of a mixed diet of copepod nauplii (*Acartia tonsa*) and rotifers on the survival and growth of first-feeding larvae of the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. Journal of the world Aquaculture society. Vol. 37 No. 1 113-120

Wen Y.-L., Zhang, X. K., Van Baalen, C. y Arnold, C. R., 1985. Feeding and reproductive of the harpacticoid *Tisbe carolinensis* (Copepoda: crustacea) in four algal cultures. Marine Ecology: Progress Series. 24, 273-279.

Williams, T.D. y Jones, M.B., 1999. Effects of temperature and food quantity on the reproduction of *Tisbe battagliai* (Copepoda: Harpacticoida) J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 236, 273-290.

Uhlig, G., 1984. Progress in mass cultivation of harpacticoids copepods for mariculture purposes. European Mariculture Society, Special Publication, 8, 261-273.

Velez, 2002 <http://www.aqua sur.cl/conferencias/Antonio%20Velez.ppt>.

Wilcox, J.A. Tracy, P.L. y Marcus, N.H., 2006. Improving live feeds: Effect of a mixed diet of copepod nauplii (*Acartia tonsa*) and rotifers on the survival and growth of first-feeding larvae of the southern flounder, *Paralichthys lethostigma*. Journal of the world Aquaculture society. Vol. 37 No. 1 113-120

Wen Y.-L., Zhang, X. K., Van Baalen, C. y Arnold, C. R., 1985. Feeding and reproductive of the harpacticoid *Tisbe carolinensis* (Copepoda: crustacea) in four algal cultures. Marine Ecology: Progress Series. 24, 273-279.

Williams, T.D. y Jones, M.B., 1999. Effects of temperature and food quantity on the reproduction of *Tisbe battagliai* (Copepoda: Harpacticoida) J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 236, 273-290.