

Comparación de la densidad poblacional de copépodos del Orden Cyclopoida Burmeister, 1834 alimentados con microalgas más levadura activa seca, en recipientes de 200 L.

Castro-Mejía J*, Castro-Mejía G, Castañeda-Trinidad H, Ocampo-Cervantes JA, Monroy-Dosta MC, Ramírez-Torrez JA. Orozco-Rojas DI.

Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento El Hombre y su Ambiente. Calzada del Hueso No. 1100. Colonia Villa Quietud. México, CP.04960. D.F. Delegación Coyoacán. Tel. (5255) 5483 7151.

*Email: camj7509@correo.xoc.uam.mx.

RESUMEN

Los copépodos constituyen el primer nexo entre productores primarios (algas) y consumidores secundarios (peces), lo cual los hace muy importantes como alimento vivo en la larvicultura comercial, principalmente de peces marinos, donde han mostrado ser el alimento adecuado y preferido por las larvas. Es por ello que se determinó la densidad poblacional de estos organismos, en un cultivo por triplicado en recipientes de plástico de 200 L, a una temperatura de $25\pm 2^\circ\text{C}$, un pH entre 7-8, con luz y aireación continua. Cada cilindro se sembró a una densidad de 700 org 100 mL^{-1} . Los organismos se alimentaron cada tercer día con 600 mL de un cultivo de microalgas a una densidad de 500×10^3 cél mL^{-1} . Las dietas fueron: *C. vulgaris*, *H. pluvialis*, *Sphaerocystis* sp. y Combinada (las tres microalgas a partes iguales 200 mL cada una). Cada tercer día se tomó una muestra de 100 mL, de la cual se extrajeron 10 alícuotas para determinar la densidad de la población. Las dietas de *H. pluvialis* y *Shpaerocystis* sp. se pudieron cultivar tan solo 33 días, mientras que las dietas con *C. vulgaris* y la Combinada alcanzaron 45 días de cultivo. La dieta con *C. vulgaris* fue la que alcanzó las mayores densidades ($> 6,000$ org 100 mL^{-1}); mientras que la menor se encontró en la dieta Combinada con un intervalo de 300-900 org 100 mL^{-1} , aunque la densidad fue constante a lo largo del experimento. Las fórmulas de las curvas de tendencia del crecimiento fueron polinomiales grado cuatro. El conocimiento del efecto de diferentes densidades de varias especies de microalgas unicelulares sobre poblaciones de zooplancton como alimento vivo, permite generar criterios para la mejor selección de éstas; de acuerdo a la facilidad de obtención y su cultivo, para inducirlos a la producción masiva y consecuentemente su disponibilidad para la acuicultura.

Palabras claves: copépodos, microalgas, densidad poblacional, curvas de tendencia

INTRODUCCIÓN

Una de las actividades productivas que ha crecido en el sector económico, es la acuicultura. Se calcula que esta biotécnica ha mostrado un crecimiento de más del 10% anual para el consumo humano (White et al. 2004). Pero para ello ha sido importante el desarrollo tecnológico en la producción de alimento que se proporciona tanto a peces, crustáceos o moluscos de importancia comercial, pero sobre todo a los primeros estadios como alevines y larvas, a los cuales se le suministra el alimento de forma viva o inerte (hojuelas o peletizado). En el caso del alimento inerte, persisten deficiencias en las propiedades físicas del alimento, tales como su estabilidad en el agua, su flotabilidad y su sabor, no así el alimento vivo, el cual tiene movimiento, que estimula al depredador, el olor que es atractivo para su captura, puede contener o se puede modificar la cantidad y la calidad de nutrimentos indispensables para el adecuado crecimiento de las especies en cultivo (Castro et al. 2003).

Las primeras etapas de muchos alevines de peces marinos o dulceacuícolas, así como de larvas de crustáceos, no tienen un sistema digestivo bien desarrollado y los organismos como los copépodos pasan más rápidamente por el intestino y se digieren

mejor que otros organismos. Su movimiento en zigzag típico, es un importante estímulo visual para estos estadios en cultivo que los prefieren sobre rotíferos (Lavens y Sorgeloos 1996; Ruiz et al. 2012).

En general los copépodos tienen un alto contenido de proteínas (44-52%) y un buen perfil de aminoácidos, con la excepción de la metionina e histidina, así como altas concentraciones de ácidos grasos esenciales, dependiendo del tipo del alga que haya consumido en la dieta el copépodo (Lavens y Sorgeloos 1996). Su ciclo de vida es complejo, antes de llegar a ser adultos, estos organismos pueden presentar hasta seis etapas de nauplio (fase larval característica de los crustáceos) y cinco etapas de copepodito (fase juvenil) (Morales y Pérez 2012). Las hembras tienen un ciclo de vida mucho más largo que los machos, la duración de su vida es de entre 50 y 55 días, mientras que en los machos es de entre 17 y 22 días; el desarrollo hasta el último estadio de copepodito tarda entre 15 y 16 días en hembras y de 10 a 11 días en machos (García et al. 2007).

Los copépodos son organismos generalmente acuáticos, marinos en su mayoría y de distribución cosmopolita (Calbet y Landry 2004). Se adaptan para sobrevivir en los distintos ambientes, aunque en general muchas especies tienen intervalos estrechos de tolerancia a variaciones de los factores ambientales (Suárez 2000). Se alimentan de organismos unicelulares como algas y ciliados (Calbet y Landry 2004), por lo que esta dieta se emplea en los cultivos de copépodos (Lavens y Sorgeloos 1996).

Por lo anterior, es importante determinar el potencial de cultivo que tienen estos organismos en forma masiva, a nivel laboratorio. Ya que en este se pueden controlar las condiciones ambientales necesarias para su cultivo, así como la producción y suministro constante de microalgas verdes unicelulares, que permitan obtener densidades altas y así utilizarlo para dar de comer a los alevines y larvas en cultivo. Para ello se utilizaron tres microalgas verdes unicelulares dulceacuícolas: *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis* y *Sphaerocystis* sp., así como la combinación de las tres microalgas en partes iguales. Para asegurar los requerimientos nutricionales de los copépodos, se

añadió una solución de levadura activa seca como complemento de carbohidratos y vitamínico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención de los organismos. Los organismos se obtuvieron de una muestra de agua de los estanques de cultivo de peces del Centro de Investigaciones Biológicas Acuícolas de Cuernavaca. La muestra de agua fue filtrada por un tamiz de luz de malla de 0.1 mm y el agua se puso en un recipiente de 20 L de capacidad y se le agregaron 600 mL de alimento (combinación de las tres algas experimentales), con una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, un pH entre 7-8, con luz y aireación constante. Bajo estas condiciones se mantuvo el cultivo de organismos durante dos semanas para que se aclimataran. Pasado este tiempo, se colectaron todos los organismos presentes con un tamiz de luz de malla de 250 μm y se colocaron en un recipiente de 2 L, a partir del cual se tomaron muestras de 5 mL para separar los copépodos presentes, mediante micromanipulación. Estos organismos se colocaron en recipientes de 4 L de capacidad bajo las condiciones ambientales y de alimentación antes descritas, para que incrementaran su densidad y así poder inocular los cilindros de 200 L de capacidad.

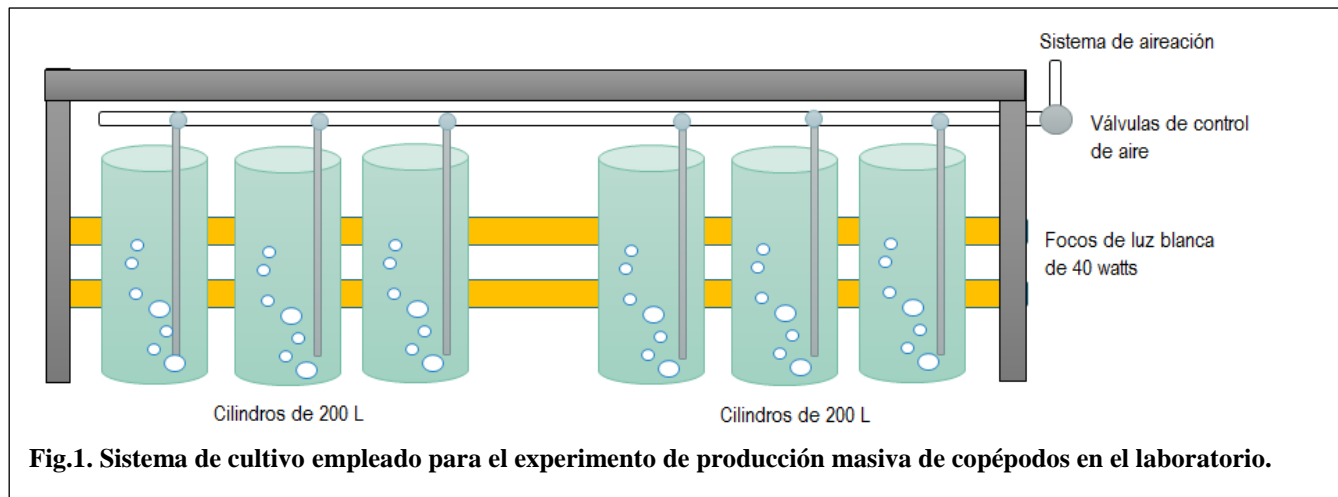
Cultivo de microalgas. Las tres microalgas verdes unicelulares que se emplearon para la experimentación fueron: *C. vulgaris*, *H. pluvialis* y *Sphaerocystis* sp. las cuales se mantuvieron por separado en garrafones de 20 L con 19 L de agua previamente filtrada, desionizada y sin cloro. La cual fue fertilizada con 10 mL de Triple 17 ($50 \text{ g } 500 \text{ mL}^{-1}$) y 5 mL de Urea foliar ($1 \text{ Kg } 4 \text{ L}^{-1}$ de agua). Cada semana, los garrafones fueron desdoblados para mantener una concentración de $500 \times 10^3 \text{ cél mL}^{-1}$.

Diseño experimental. Se inocularon copépodos, por triplicado, en cilindros de plástico a una concentración de $700 \text{ org } 100 \text{ mL}^{-1}$, a una temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, un pH entre 7-9, con luz y aireación constante (Fig.1). Se probaron cuatro dietas experimentales: 1) *C. vulgaris*, 2) *H. pluvialis*, 3) *Sphaerocystis* sp. y 4) Combinada (de las tres microalgas en partes iguales). De cada dieta, se agregaron al cilindro cada tercer día 600 mL del cultivo a una concentración de $500 \times 10^3 \text{ cél mL}^{-1}$.

Densidad poblacional de copépodos ciclopoideos

Castro-Mejía J*, Castro-Mejía G, Castañeda-Trinidad H, Ocampo-Cervantes JA, Monroy-Dosta MC, Ramírez-Torrez JA, Orozco-Rojas DI.

27



En el caso de la dieta combinada, de cada microalga se tomaron 200 mL de cada cultivo. Los cultivos se mantuvieron en estas condiciones hasta que se observó que los cultivos no presentaron ningún organismo vivo.

Toma de muestras y procesamiento de datos. Cada tercer día se tomó una muestra de 100 mL, de la cual se tomaron 10 submuestras de 2 mL a partir de las cuales se realizaron los conteos de organismos con ayuda de un microscopio estereoscópico Olympus y determinar la densidad poblacional de los cultivos. Los valores fueron capturados en una base de datos en Excel 2010 y procesados para determinar el promedio y su desviación estándar. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) de una sola vía, para determinar diferencias significativas ($P < 0.05$) tanto por dieta entre los muestreos, así como por los muestreos entre las dietas, por medio del programa estadístico SYSTAT 13, habiendo diferencias significativas se procedió a realizar una prueba de medias múltiples por la técnica de Tukey. Además, a los valores por muestreo se les determinó su curva de tendencia de crecimiento de densidad poblacional.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan los valores promedio (\pm D.S.) de las densidades poblacionales de los copépodos cultivados con las cuatro dietas experimentales. Como se puede observar, la dieta

que presentó un mejor resultado fue la dieta con *C. vulgaris*, ya que después de 45 días de cultivo, en las cuales las otras dietas disminuyen su densidad, este cultivo va en aumento hasta alcanzar $6,161 \pm 36$ org 100 mL^{-1} . Las dietas con *H. pluvialis* y *Sphaerocystis* sp. decaen totalmente 12 días antes que las otras dos dietas. La dieta con menor densidad poblacional fue la Combinada, ya que su densidad máxima fue de 950 ± 44 org 100 mL^{-1} .

En la Fig.2 se muestra el análisis de varianza presente por muestreo en cada una de las dietas experimentales.

En la Fig.3 se presentan las curvas de tendencia de crecimiento de la densidad poblacional con las dietas experimentales. Las cuatro son curvas polinómicas, pero dos de ellas son de cuarto grado (*Haematococcus pluvialis* y *Sphaerocystis* sp.), mientras que las otras dos (*Chlorella vulgaris* y Combinada) son de tercer grado.

DISCUSIÓN

La densidad de los copépodos en un cultivo a nivel laboratorio puede variar grandemente, ya que depende del tipo de alimento, de la calidad de los mismos y sobre todo, de la forma de alimentación predominante del copépodo que se esté cultivando. Es por eso que se puede observar que en este experimento el incremento de la densidad poblacional fue de 134% para la dieta Combinada, de 224% para la dieta con *H. pluvialis*, de 243% para *Sphaerocystis* sp. y para *C. vulgaris*

Tabla 1. Valores promedio (\pm D.S.) de la densidad poblacional de copépodos por día de cultivo y dieta experimental.

Días de cultivo	Diets experimentales			
	<i>Haematococcus pluvialis</i>	<i>Sphaerocystis sp.</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	Combinada
0	700 \pm 58	700 \pm 57	700 \pm 58	700 \pm 53
3	1,061 \pm 41	887 \pm 56	799 ^a \pm 20	714 ^a \pm 49
6	1,238 ^a \pm 46	1,217 ^a \pm 57	836 \pm 22	682 \pm 37
9	1,314 \pm 46	1,330 \pm 41	815 \pm 24	688 \pm 20
12	1,356 \pm 58	1,232 \pm 59	763 ^a \pm 51	721 ^a \pm 26
15	1,405 \pm 32	1,129 \pm 36	708 \pm 49	771 \pm 46
18	1,471 \pm 38	1,137 \pm 33	679 \pm 27	829 \pm 52
21	1,541 \pm 31	1,286 \pm 46	702 \pm 58	885 \pm 44
24	1,571 \pm 34	1,522 \pm 49	807 \pm 46	928 \pm 23
27	1,493 \pm 28	1,701 \pm 37	1,022 \pm 41	950 \pm 44
30	1,207 \pm 23	1,594 \pm 22	1,373 \pm 53	939 \pm 33
33	591 \pm 59	885 ^a \pm 46	1,889 \pm 35	887 ^a \pm 43
36	0	0	2,598 \pm 28	782 \pm 42
39	0	0	3,528 \pm 30	617 \pm 21
42	0	0	4,706 \pm 27	379 \pm 29
45	0	0	6,161 \pm 36	61 \pm 15

Letras iguales por filas, indican no diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las dietas por muestreo.

de 880%. Es obvio que esta variación se da por la calidad nutricional de la microalga, así como por la cubierta que tiene (Fryer 2014), ya que en todas existe un crecimiento, entendiendo que este copépodo ciclopoide es herbívoro.

De Mott (1986), menciona que los copépodos seleccionan su alimento de acuerdo al tamaño de partícula y no por su sabor o dureza.

Estos organismos presentan una mayor capacidad para discriminar partículas a diferencia de los cladóceros, ya que utilizan los quimio receptores que se encuentran en sus antenas y partes de la boca para realizar esta actividad. Los copépodos no forman corrientes para atrapar las partículas o las microalgas, sino que utilizan receptores mecánicos o químicos que les permiten

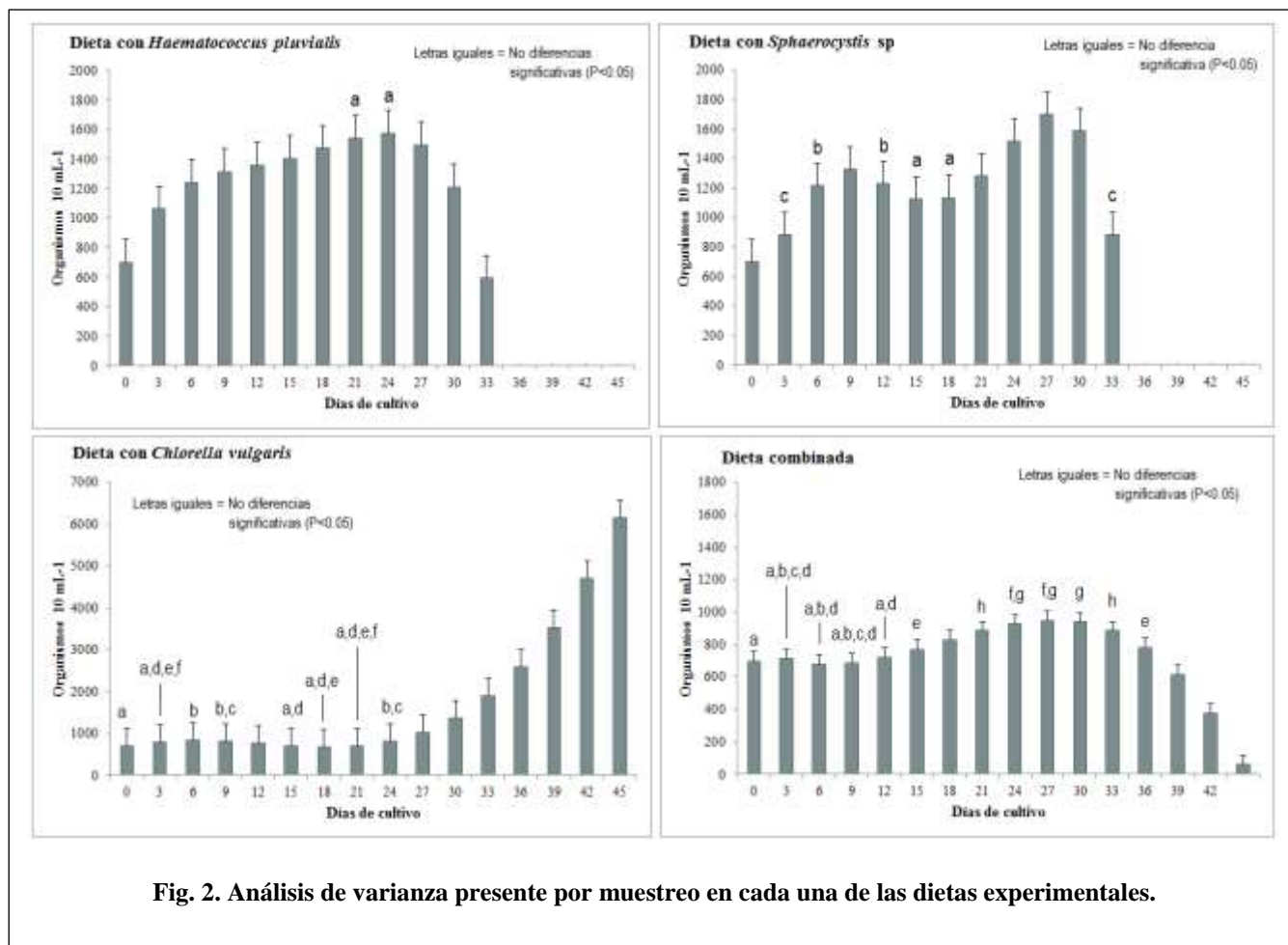


Fig. 2. Análisis de varianza presente por muestreo en cada una de las dietas experimentales.

encontrar y obtener el alimento disponible. Además menciona que en cultivos en donde se utiliza microalga como alimento, los copépodos dejan de ingerir alimento inerte, sobre todo cuando lo que se incorpora a la dieta que son diatomeas. De Mott (1988), también menciona que los copépodos encuentran, atrapan e ingieren mejor, cuando la partícula, sea viva o inerte, tienen 6 µm de diámetro, ya que es más fácil manipularla. Leising y Franks (2000), señalan que los ojos de los copépodos son poco desarrollados y es por eso que la quimio o mecano recepción son muy importantes, sobre todo cuando el alimento forma conglomerados, lo cual facilita su localización e ingesta.

Kang y Poulet (2000), encontraron en su investigación con *Calanus helgolandicus* alimentados con diatomeas y dinoflagelados, que en

los cultivos, cuando la concentración de las microalgas o del alimento inerte no es la adecuada, se da el canibalismo, sobre todo en el estadio de huevo de los copépodos, ya que los organismos deben de buscar un alimento altamente nutricional y energético y los huevos presentan esta característica. En el caso de los copépodos calanoides no ingieren selectivamente entre alimento inerte y vivo (microalgas), siempre y cuando la concentración de los mismos sea óptima. Varios copépodos calanoides omnívoros, se vuelven carnívoros cuando la disminución en la concentración del fitoplancton se da en los cultivos. Es por ello que la concentración de las microalgas o de partículas inertes deben de mantenerse en los cultivos de copépodos entre 10³-10⁵ cel mL⁻¹, concentración que se mantuvo en el presente experimento realizado con el copépodo ciclopoide y

Densidad poblacional de copépodos ciclopoideos

Castro-Mejía J*, Castro-Mejía G, Castañeda-Trinidad H, Ocampo-Cervantes JA, Monroy-Dosta MC, Ramírez-Torrez JA, Orozco-Rojas DI.

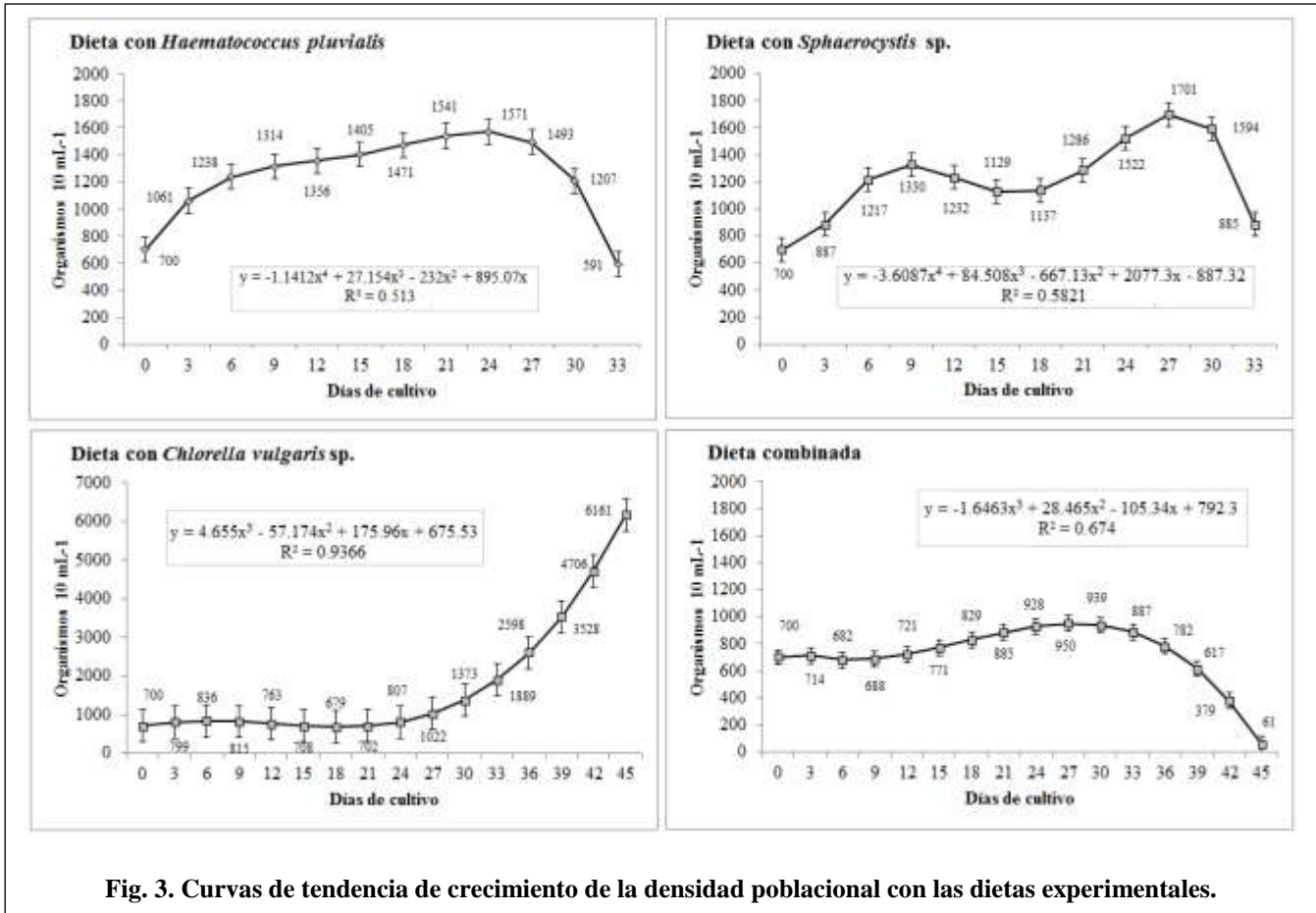


Fig. 3. Curvas de tendencia de crecimiento de la densidad poblacional con las dietas experimentales.

las tres microalgas (5×10^5 cel mL⁻¹).

Peterson (2001) y Castro-Longoria (2003), mencionan en sus trabajos que los copépodos marinos crecen más rápidamente que los de agua dulce, esto es debido a la temperatura y la concentración del alimento, independientemente del tamaño que tenga el organismo. Si el alimento utilizado no tiene la concentración adecuada, así como la cantidad de energía disponible para el crecimiento y formación de huevos, en los cultivos se puede presentar altas mortalidades. Por lo que se puede afirmar, que la dieta con *C. vulgaris* en esta investigación presenta estas dos características (concentración adecuada y niveles energéticos altos), que permiten el incremento de la densidad poblacional más allá de los 45 días de cultivo.

Calliari y Tiselius (2005), que trabajaron con el copépodo *Acartia clausi*, alimentados con la microalga *Thalassiosira weissflogii*, *Rhodomonas*

sp. y *Tetraselmis* sp. encontraron en sus cultivos que es mejor realizar mezclas de microalgas que utilizar un monocultivo, debido a que la calidad del alimento, así como su nivel energético puede verse incrementado significativamente para el crecimiento y reproducción del copépodo en cultivo. Con respecto a esta investigación, la información encontrada presenta resultados mejores con dietas monoalgales (*H. pluvialis*; *Sphaerocystis* sp, y *C. vulgaris*), que cuando se utilizan de forma combinada.

Vengadeshperumal et al. (2010), quienes trabajaron con un copépodo calanoide utilizando tres microalgas: *Chlorella* sp, *Nannochloropsis salina* e *Isochrysis galbana*, obtuvieron densidades de 41, 603 org L⁻¹ totales, siendo 6,196 org L⁻¹ de adultos. En esta investigación se obtuvieron valores diez veces mayor (61, 160 org L⁻¹). Estos valores de organismos son posibles cuando se mantienen los

cultivos cercanos a la saturación de oxígeno. Santhaman et al. (2011), obtuvieron densidades de copépodos entre 6,232-8,569 org adultos L⁻¹, alimentados con *Chlorella* sp. marina a una concentración de 3 x10⁵ cél mL⁻¹, valores por debajo de los encontrados en esta investigación (9,390-61,160 L⁻¹), aunque la diferencia está en la concentración de alimento suministrado (5 x 10⁶ cél mL⁻¹).

Por último es importante resaltar que en este tipo de cultivos con copépodos, se debe considerar el tipo de alimentación, ya que estos organismos no son 100% herbívoros, sino que presentan una tendencia a ser carnívoros, sobre todo cuando la concentración del alimento no es suficiente o la calidad nutricional y energética es muy baja para cubrir los requerimientos del animal para su crecimiento y reproducción, recomendándose, que además de las microalgas, sean suministrados rotíferos de tamaño pequeño (< 6 µm) o estadios muy pequeños de *Daphnia* sp. que sirvan como alimento y no como competidores de las microalgas o alimento inerte utilizado para la producción de los mismos (Fryer, 2014). Este autor también señala que la microalga *Chlorella* sp. está conformada en su pared por celulosa de cadena corta y carbohidratos, lo que le permite ser digerida con mayor facilidad por los copépodos y ser canalizada como nutriente o energía al resto del cuerpo; además recomienda el uso de diatomeas ricas en lípidos y carbohidratos, que cubran, junto con las microalgas verdes, los rotíferos o nauplios de *Daphnia* sp. los requerimientos nutricionales y energéticos necesarios para un óptimo crecimiento y reproducción de los copépodos en cultivo a nivel laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

- White K, O'Neill B, Tzankova Z. (2004). At a Crossroads: Will Aquaculture Fulfill the Promise of the Blue Revolution? Sea web. Available from: www.seaweb.org/resources/documents/reports/crossroads.pdf.
- Castro BT, De Lara AR, Castro MG, Castro MJ, Malpica SA. (2003). Alimento vivo en la acuicultura. ContactoS 48. 27-33 pp.
- Lavens P, Sorgeloos P. (1996). Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper No. 361. Rome. 295 pp.
- Ruiz-Guzmán JA, Jiménez-Velázquez CA, Gomes-Romero C, Prieto-Guevara MJ. (2012). Experimental culture of Cyclopina sp with different microalgae's species. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 25:97-105.
- Morales SMF, Pérez PG. (2012). Los copépodos parásitos: componentes importantes de la biodiversidad. Biodiversitas 104: 1-5.
- García-Chicote J, Rojo C, Rodrigo MA. (2007). Alimentación de *Acanthocyclops robustus*: un caso de canibalismo. Limnetica 2(26): 265-276.
- Calbet A, Landry MR. (2004). Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. Limnology and Oceanography 49 (1): 51-57.
- Suárez-Morales E. (2000). Copépodos, Seres ubicuos y poco conocidos. Biodiversitas 29: 7-11.
- DeMott WR. (1986). The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. Oecologia 69: 334-340.
- DeMott WR. (1988). Discrimination between algae and artificial particles by freshwater and marine copepods. Limnol. Oceanogr. 33(3): 397-408.
- Leising AW, Franks PJS. (2000). Copepod vertical distribution within a spatially variable food source: a simple foraging-strategy model. Journal of Plankton Research 22(6): 999-1024.
- Kang HK, Poulet SA. (2000). Reproductive success in *Calanus helgolandicus* as a function of diet and egg cannibalism. Mar. Ecol. Prog. Ser. 201: 241-250.
- Peterson WT. (2001). Patterns in stage duration and development among marine and freshwater calanoid and cyclopoid copepods: a review of rules, physiological constraints, and evolutionary significance. Hydrobiologia 453/454: 91-105.
- Castro-Longoria E. (2003). Egg production and hatching success of four *Acartia* species Under different temperature and salinity regimes. Journal of Crustacean Biology 23(2): 289-299.
- Calliari D, Tiselius P. (2005). Feeding and reproduction in a small calanoid copepod: *Acartia clausi* can compensate quality with quantity. Mar. Ecol. Prog. Ser. 298: 241-250.

Vengadeshperumal N, Damotharan P, Rajkumar M, Perumal P, Vijayalakshmi S, Balasubramanian T. (2010). Laboratory Culture and Biochemical Characterization of the Calanoid Copepod, *Acartia southwelli* Sewell, 1914 and *Acartia centrura* Giesbrecht, 1889. *Advances in Biological Research* 4 (2): 97-107.

Santhanam APP, Nandakumar R, Ananth S, Jothiraj K, Dinesh SK, Balaji BP, Jayalakshmi T. (2011).

Production and Utilization of Marine Copepods as Live feed for Larval Rearing of Tiger Shrimp *Penaeus monodon* with Special Emphasis on Astaxanthin Enhancement. *Indian Journal Of Natural Sciences* 1(8): 494-503.

Fryer G. (2014). The Food of Some Freshwater Cyclopoid Copepods and its Ecological Significance. *Journal of Animal Ecology* 26(2): 263-286.