



Aquarium Finisterrae: Proyecto DIVERSIFY y
Protocolarización del cultivo del copépodo
Tisbe sp. (Copepoda: Harpacticoida)

Aquarium Finisterrae: DIVERSIFY Project and
Protocolarization of copepod culture *Tisbe* sp.
(Copepoda: Harpacticoida)

Aquarium Finisterrae: Proxecto DIVERSIFY e
Protocolarización do cultivo do copépodo *Tisbe*
sp. (Copepoda: Harpacticoida)



Máster Oficial en Acuicultura
UDC USC UVIGO

Doctorado con MENCIÓN DE EXCELENCIA

Sergio Codesal García

Trabajo de Fin de Máster

Febreo 2017

ÍNDICE

| | |
|---|---------|
| 1. Aquarium Finisterrae..... | pág. 1 |
| 1.1. Introducción..... | pág. 1 |
| 1.2. Distribución del acuario..... | pág. 2 |
| 1.2.1. Sala Nautilus..... | pág. 2 |
| 1.2.2. Sala Humboldt..... | pág. 3 |
| 1.2.3. Sala Maremagnum..... | pág. 5 |
| 1.2.4. Piscinarium..... | pág. 6 |
| 1.2.5. Cuarentenas..... | pág. 7 |
| 1.2.6. Sala de cultivos auxiliares..... | pág. 7 |
| 1.2.7. Tanques exteriores..... | pág. 9 |
| 1.2.8. Exposición de fotografía..... | pág. 10 |
| 2. Proyecto DIVERSIFY..... | pág. 10 |
| 2.1. Introducción..... | pág. 10 |
| 2.2. Proyecto DIVERSIFY..... | pág. 10 |
| 2.3. DIVERSIFY en el Aquarium Finisterrae..... | pág. 12 |
| 2.3.1. La cherna..... | pág. 12 |
| 2.3.2. Tareas de DIVERSIFY en Aquarium Finisterrae..... | pág. 13 |
| 2.3.3. Alimentación de chernas..... | pág. 14 |
| 3. Protocolarización del cultivo del copépodo Tisbe sp..... | pág. 15 |
| 3.1. Introducción..... | pág. 15 |
| 3.2. Objetivos del estudio..... | pág. 17 |
| 3.3. Materiales y métodos..... | pág. 18 |
| 3.3.1. El copépodo Tisbe sp..... | pág. 18 |
| 3.3.2. Técnica de aislamiento y concentración..... | pág. 19 |
| 3.3.3. Técnica de elaboración de stock..... | pág. 19 |
| 3.3.4. Cultivo de microalgas..... | pág. 19 |
| 3.3.5. Diseño experimental..... | pág. 20 |
| 3.3.6. Método de recuento..... | pág. 22 |
| 3.4. Resultados y discusión..... | pág. 22 |
| 3.4.1. Fases del ciclo de vida..... | pág. 22 |
| 3.4.2. Resultados del experimento..... | pág. 23 |
| 3.4.3. Contaminación..... | pág. 26 |
| 3.4.4. Discusión..... | pág. 26 |
| 3.5. Conclusiones..... | pág. 27 |
| 4. Bibliografía..... | pág. 28 |

1. Aquarium Finisterrae (<http://mc2coruna.org/aquarium/>)

1.1. Introducción

El Aquarium Finisterrae es un centro de divulgación científica interactiva situado en la ciudad de A Coruña, y que abarca diferentes ramas del conocimiento como pueden ser la biología marina, la oceanografía y, en los últimos años, la acuicultura.

Fue inaugurada el 5 de junio de 1999 con el principal objetivo de prestar educación acerca del mar y los ecosistemas litorales gallegos. Forma parte, junto a la Casa del Hombre y la Casa de las Ciencias, de los Museos Científicos Coruñeses (mc²). Está situado en la zona del Paseo Marítimo, entre la Casa del Hombre y la Torre de Hércules. Está dotada de unas instalaciones y colección biológica adaptada tanto para la divulgación como para la investigación (Fig. 1).



Fig. 1 Fotografía aérea del emplazamiento del Aquarium Finisterrae. Tomado de https://www.tripadvisor.es/LocationPhotoDirectLink-g187507-d609612-i52127652-Aquarium_Finisterrae-La_Coruna_Province_of_A_Coruna_Galicia.html

El acuario está dividido en diferentes módulos, cada uno con unas características diferenciales. Así, se puede ver la sala *Nautilus*, la sala *Humboldt*, la sala *Maremagnum*, el *Piscinarium*, las salas de cuarentena, sala de cultivos auxiliares, el tanque de exteriores y alguna exposición de fotografía en la zona de la entrada para visitantes.

Todos los seres vivos que viven en el acuario tienen un cuidado tanto en limpieza como en alimentación. Además, cada día se realiza un estricto control de la calidad del agua, comprobando ciertos parámetros críticos como pueden ser la temperatura, el pH, la salinidad, los nitritos y nitratos, la dureza o el calcio. Estos valores, dependiendo del tanque que se esté midiendo, deben estar en un rango de valores, en caso contrario se clasifican como alerta, teniendo que actuar ante este problema (Fig. 2).

The image shows a handwritten data table from the Aquarium Finisterrae. The table is titled 'AGUARIUM FINISTERRAE' and 'CONTINENTE DA CALDEIRAS DA ALTA'. It contains several columns of data, including numerical values and categorical labels. Several cells are circled in red, indicating out-of-range values. The table is organized into rows and columns, with some rows having sub-headers. The data appears to be related to water quality or tank parameters.

Fig. 2 Tabla de parámetros del Aquarium Finisterrae. Rodeado con círculos se muestran las alertas de los parámetros que están fuera del rango de valores.

1.2. Distribución del acuario

1.2.1. Sala *Nautilus*

Esta sala se caracteriza principalmente por estar inmersa en las profundidades del mar. Está constituido por un gran tanque de 4,4 millones de litros, donde cohabitan una gran variedad de especies de peces propias del océano Atlántico. Desde el interior del tanque, se pueden observar a los peces en una cámara decorada de una manera similar al gabinete del Capitán Nemo en el submarino Nautilus.

Las condiciones del agua de este tanque deberían ser similares a las del agua del mar en el océano abierto, ya que el único tratamiento que se le realiza al agua es el filtrado.

En cuanto a las ejemplares que se contienen en esta sala, la especie más emblemática es un tiburón toro (*Carcharias taurus*) de unos 400kg de peso y unos 3 metros de longitud llamado Gastón. Otra de las especies singulares es un angelote (*Squatina squatina*) de un tamaño considerable, que es otro tipo de tiburón muy difícil de ser observado por la gran capacidad que tiene para mimetizarse con el fondo. También se pueden encontrar otras especies de tiburones como pueden ser las musolas (*Mustelus mustelus*).

Además de los tiburones, hay otras muchas especies de peces como pueden ser besugos (*Pagellus bogaraveo*), lubinas (*Dicentrarchus labrax*), doradas (*Sparus aurata*), sargos (*Diplodus sargus*), caballas (*Scomber scombrus*), chernas (*Polyprion americanus*), corvinas (*Argyrosomus regius*), rodaballos (*Psetta máxima*), mero del Mediterráneo (*Epinephelus marginatus*), rayas (*Raja clavata* y *Raja undulata*) (Fig. 3).



Fig. 3 Fotografías de la sala *Nautilus*. **A:** Visión general del tanque. **B:** Tiburón toro (*Carcharias taurus*). **C:** Angelote (*Squatina squatina*).

Las tareas principales que se realizan en esta sala son de limpieza y alimentación. La limpieza y gran parte de la alimentación de esta sala es llevada a cabo por buzos profesionales desde el interior del tanque, que se encargan de limpiar los metacrilatos que separan el tanque de la cámara. En cuanto a la alimentación, los buzos se encargan de dar de comer a los tiburones (tiburón toro y angelote) y a las especies que viven en profundidad (rayas, rodaballos, corvina, etc.) y hay un acuarista encargado de la alimentación de los peces de superficie (besugos, sargos, etc.). Un caso especial es el de las chernas, que se intentan separar en un tanque de aislamiento para dar su alimentación por separado y así no molesten a los buzos mientras realizan su actividad (Tabla 1).

Tabla 1 Alimentación de las principales especies de la sala *Nautilus*.

| Contenido | Alimentación |
|--------------|--|
| Tiburón toro | Merluza toro entero. Calamar entero. Caballa entera |
| Angelote | Merluza toro entero. Calamar entero. Caballa entera |
| Fondo | Merluza toros. Calamar trozos. Caballa tercios |
| Superficie | Mejillón entero. Gamba entera. Calamar picos. Merluza trozos. Caballa trozos |
| Chernas | Pienso especial chernas. Calamar trozos |

1.2.2. Sala *Humboldt*

La sala *Humboldt* está dedicada a exposiciones de especies de peces de otros hábitats y ecosistemas. Así, esta sala está compuesta por diez tanques de un contenido muy variado en cada uno de ellos. La denominación de los tanques es con una H (*Humboldt*) y el número que corresponda, por ejemplo H1, H2,...

La mayoría de los tanques de esta sala están funcionando con un circuito cerrado o semiabierto, con un proceso de recirculación, por lo que hay que tener especial atención de que los parámetros estén en los valores adecuados.

Además, en esta sala también hay un espacio dedicado a la cuarentena (Q3) de las especies que posteriormente se trasladan a los tanques de exposición (Fig. 4).



Fig. 4 Ejemplos de tanques de la sala *Humboldt*. A: Tanque de peces tropicales. B: Tanque de orejas de mar (*Haliotis*). C: Tanque de truchas (*Salmo trutta*).

- H1: Tanque de agua dulce que está a temperatura ambiente en donde se encuentran anguilas (*Anguilla anguilla*).
- H2: Tanque de agua salada y temperatura de aproximadamente 25°C en donde se encuentran peces tropicales como el pez payaso (familia *Amphiprioninae*), pez cirujano (*Paracanthurus hepatus*) o pez cardenal pijama (*Sphaeramia nematoptera*) entre otros.
- H3: Tanque de agua salada que está a temperatura ambiente donde se encuentran las orejas de mar (*Haliotis*).
- H4: Tanque de agua dulce que está a temperatura ambiente en donde se encuentran tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*).
- H5: Tanque de agua salada que está a temperatura ambiente donde se encuentran lubinas y doradas.
- H6: Tanque de forma circular dividido en tres, de agua salada y a temperatura ambiente donde se encuentran juveniles de lubina, juveniles de rodaballo y un bogavante (*Homarus gammarus*).
- H7: Tanque de agua dulce que esta a una temperatura aproximada de 14°C en donde se encuentran peces gato (*Hypostomus plecostomus*) y percas (*Perca fluviatilis*).
- H8: Tanque de agua dulce que está a una temperatura aproximada de 12°C en donde se encuentran truchas (*Salmo trutta*).
- H9: Tanque de agua salada que está a una temperatura de 12°C en donde se encuentran peces bioluminiscentes.
- H10: Tanque de agua salada que está a una temperatura aproximada de 25°C en donde se aloja un ecosistema tropical típico.

Las principales tareas de la sala son de limpieza de los tanques (metacrilatos y cicloramas) y alimentación.

Para la alimentación, hay que tener en cuenta el contenido de cada tanque, dando un tipo de alimenta que se adecúe a la dieta del pez y al tamaño de su boca. La comida de esta sala se suele repartir tres días a la semana (lunes, miércoles y viernes), pero además de esta comida, a algunos tanques se les añade pienso también adecuado al tamaño de la boca del animal (D2, D4 o D6).

Así, según el tanque habrá un tipo diferente de alimentación (Tabla 2):

Tabla 2 Alimentación de los tanques de la sala *Humboldt*.

| Tanque | Alimentación |
|--------|--------------|
|--------|--------------|

| | |
|-----|---|
| H1 | Pienso D4 y D6 |
| H2 | Pienso especial tropicales. Espinaca picada, mejillón picado y gamba picada |
| H3 | Algas troceadas |
| H4 | Pienso miga y D4. Mejillón picado |
| H5 | Gambas enteras, mejillones enteros y merluza en trozos |
| H6 | Pienso D4. Gamba picada, gamba entera y mejillón picado |
| H7 | Pienso D4. Espinaca picada y mejillón picado |
| H8 | Pienso D4 y D6. Mejillón picado |
| H9 | Pienso D2. Mejillón picado |
| H10 | Pienso especial tropicales. Espinaca picada, mejillón picado y gamba picada |

1.2.3. Sala *Maremagnum*

Esta es una gran sala interactiva que está formada por 33 tanques con diferentes volúmenes, aunque principalmente se pueden clasificar en dos grupos. Los tanques de pequeño volumen y los tanques de gran volumen. Para la designación de los tanques, se utiliza la M (*Maremagnum*) y el número correspondiente, por ejemplo M1, M2,...

Las características del agua en esta sala es que está en circuito abierto, por lo que son tanques de agua salada que están a temperatura ambiente.

El contenido de los tanques es muy variado y diverso, ya que hay tanques de pequeño volumen con una gran diversidad de especies entre los que destacan peces pulmonados (*Neoceratodus forsteri*), ajolote (*Ambystoma mexicanum*), erizos de mar (*Paracentrotus lividus*), cigalas (*Nephrops norvegicus*), caballitos de mar (*Hippocampus guttulatus*), paramolas (*Paramola cuvieri*), peces trompeteros (*Macroramphosus scolopax*) o corales del género *Dendrophyllia*.

En los tanques de gran volumen de esta sala se encuentran especies de un tamaño mayor como pueden ser lubinas (*Dicentrarchus labrax*), doradas (*Sparus aurata*), pulpos (*Octopus vulgaris*), morenas (*Muraena helena*), san martiños (*Zeus faber*), centollas (*Maja squinado*) entre otros (Fig. 5).

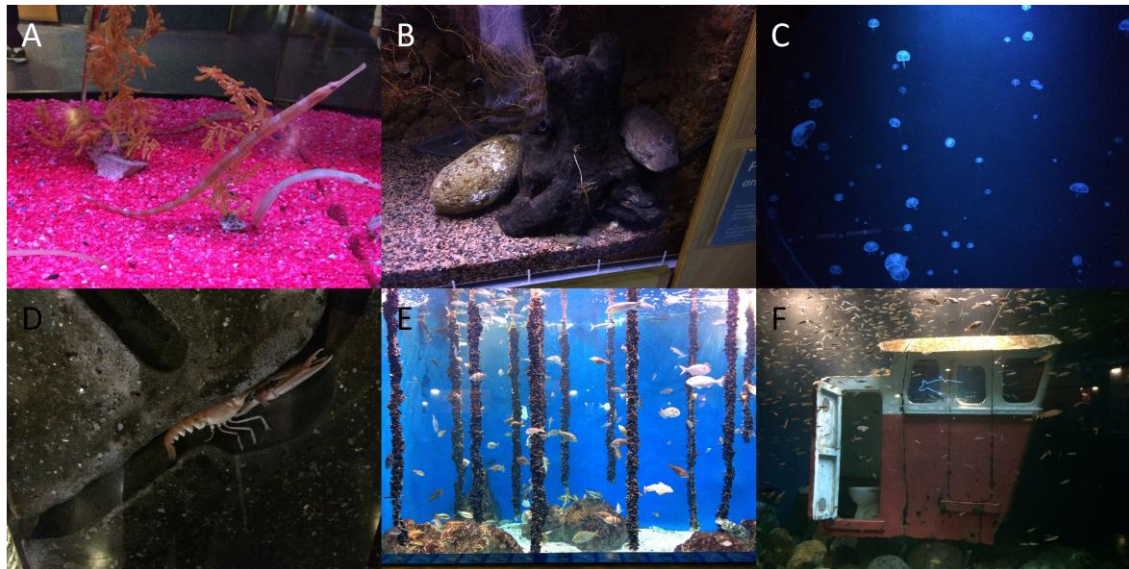


Fig. 5 Ejemplos de tanques de la sala Maremagnum. A: Caballitos de mar. B: Pez pulmonado (*Neoceratodus forsteri*). C: Medusas. D: Cigala (*Nephrops norvegicus*). E y F: Tanques de gran volumen.

Las tareas principales realizadas en la sala son de limpieza y alimentación. La limpieza consiste, en los tanques de un volumen menor en los metacrilatos y cicloramas. En los tanques de gran volumen, los buzos son los encargados de la limpieza de los metacrilatos y de una parte de la alimentación.

La alimentación de los tanques, va en función del tamaño de la boca de los animales, por lo que es necesario conocer el contenido de cada tanque para dar un alimento adecuado.

La preparación del alimento se realiza dividiendo los tanques de pequeño volumen, para los que se prepara mejillón picado y entero, gamba picada y entera, merluza en trozos pequeños y algas para los erizos. Para los tanques de gran volumen, como el tamaño de los ejemplares es mayor, el alimento proporcionado debe ser de mayor tamaño, preparando mejillón entero, gamba entera, caballas enteras y en trozos grandes y merluza en trozos grandes.

1.2.4. *Piscinarium*

El Piscinarium es una zona exterior que está formada por dos grandes tanques que tienen una conexión directa con el agua de mar del exterior, por lo que en estas piscinas no existe ningún tipo de tratamiento del agua. En estos tanques se alojan varios ejemplares de focas atlánticas (*Phoca vitulina*) (Fig.6).



Fig. 6 Fotografía de una de las focas (*Phoca vitulina*) del acuario.

- Machos: Gregor, Altair, Hansy y Fermín.
- Hembras: Deneb, Bine, Lucía, Antía, Petra, Vega, Sabela, Lara y Paula.

Las focas están separadas en las dos piscinas según el sexo entre machos y hembras. En este momento hay nueve hembras y cuatro machos.

La principal tarea de esta zona es la alimentación de las focas, llevando un estricto control del peso del alimento que ingieren y, cada cierto tiempo, el peso de las focas para comprobar si concuerda con el alimento ingerido. La alimentación de las focas se realiza a base de caballa, arenque y capelín.

1.2.5. Cuarentenas

Las salas de cuarentena son zonas dedicadas al acondicionamiento de las diferentes especies a las condiciones propias del acuario. En esta sala se realizan diferentes funciones como son:

- Registro de altas, bajas y traslados.
- Acondicionamiento de altas a las condiciones del agua.
- Tratamientos paliativos o preventivos a las especies.
- Alimentación

Para todo esto, en el acuario hay dos zonas habilitadas para realizar cuarentenas, que son cuarentena 1 (Q1) y cuarentena 2 (Q2).

Además de estas tareas, diariamente se realiza una revisión de que haya un flujo continuo de agua y aire en todos los tanques, ya que en todos los casos los tanques permanecen con un circuito de agua semiabierto.

1.2.6. Sala de cultivos auxiliares

La sala de cultivos auxiliares está dedicada al cultivo de ciertos organismos que forman parte del zooplancton o fitoplancton y que son utilizados para la alimentación de otros organismos. Esta sala está dividida en tres grandes zonas: en primer lugar está la zona de cultivo de microalgas, en segundo lugar la zona de cultivo de rotífero y en tercer lugar la zona de cultivo de *Artemia*. Toda la sala de cultivos está acondicionada para la temperatura óptima para los cultivos que se sitúa en 18 °C (Fig. 7).



Fig. 7 Cultivo de diferentes microalgas en botellones y botellas.

La zona de cultivo de microalgas está basada en un proceso de escalado partiendo de cepas de diferentes especies hasta llegar a bolsas de 70 L. Para llevar a cabo este escalado se inoculan de cepas que están en matraces de 200 mL a botellas de 1L, de ahí se realiza un inóculo en botellas de 5 L que posteriormente se inoculan en una bolsa que tiene una madurez óptima a los siete días de crecimiento. Las microalgas necesitan tener aireación fuerte, iluminación con fotoperíodo 16:8 y una cantidad adecuada de nutrientes para obtener un crecimiento óptimo. Los nutrientes se adicionan al agua previamente al inoculado de las microalgas y está formado a base de una preparación comercial llamada ALGAL. Todas las algas cultivadas en el Aquarium Finisterrae son de agua salada (Tabla 3), teniendo una salinidad de 35 ‰.

Tabla 3 Especies de microalgas cultivadas en la sala de cultivos auxiliares.

| Especie |
|---------------------------------|
| <i>Tetraselmis suecica</i> |
| <i>Nannochloropsis gaditana</i> |

Dunaliella salina
Isochrysis galbana
Phaeodactylum tricornutum
Rhodomonas salina

La zona de cultivo de rotífero es una zona que aún está en investigación y se usa para la alimentación de larvas de algunos peces. Las condiciones del cultivo de rotífero son de aireación suave, iluminación con fotoperíodo 16:8 y alimentación a base de microalgas. La característica principal del cultivo es la salinidad, ya que el rotífero cultivado, que pertenece al género *Brachionus*, necesita una salinidad alrededor de 20 ‰. Para conseguir esta salinidad se mezcla el agua salada que se le añade con las microalgas con agua dulce desclorada. Se realizan recuentos diarios de la concentración de rotíferos totales y rotíferos ovados. Llegando a unas concentraciones de 300 rotíferos totales/mL y 100 rotíferos ovados/mL.

La zona de cultivo de *Artemia* es una de las bases de alimentación de muchas especies marinas alojadas en el acuario (Fig. 8), sobre todo en las primeras fases del ciclo vital o para especies que tienen un tamaño reducido en su fase adulta. Para el cultivo, se comienza con la descapsulación de cistes de *Artemia*, mediante un proceso llevado a cabo con lejía. A continuación se recogen los nauplios vivos descapsulados y se recuenta para conocer la concentración. El cosechado de los nauplios se lleva a cabo gracias a una propiedad que tiene que es el fototactismo positivo, por lo tanto se la acerca una fuente de luz al fondo del tanque troncocónico y se cosechan abriendo la válvula. Se lleva una concentración conocida de nauplios a un tanque troncocónico de 200L y se inocula. Se le añaden una gran cantidad de microalgas para que tenga un mecanismo de alimentación ad libitum y su crecimiento sea óptimo. Una vez que llegan a la etapa de adulto y alcanzan una talla adecuada se cosechan para alimentación. Las condiciones del cultivo son de aireación fuerte, alta concentración de microalgas, salinidad de 35 ‰, iluminación con fotoperíodo 16:8.



Fig. 8 Sala de cultivo de *Artemia salina*.

1.2.7. Tanques exteriores

Además de las piscinas de las focas, en la zona exterior del acuario también hay un tanque de un gran volumen en el que actualmente se encuentra rodaballos y rayas de gran tamaño.

Las principales tareas que se realizan en este tanque son de limpieza del fondo y los metacrilatos y alimentación a base de caballa en toros y merluza en trozos grandes.

1.2.8. Exposición de fotografía

En la zona de la entrada para visitantes del acuario se localiza una zona habilitada para exposiciones que cambian periódicamente, actualmente la exposición que se puede ver y que ha sido renovada recientemente trata acerca de la temática del Mejillón de Galicia.

2. Proyecto DIVERSIFY

([http://www.fundacionoesa.es/proyectos+i+destacados/diversify?tmpl=component 4](http://www.fundacionoesa.es/proyectos+i+destacados/diversify?tmpl=component+4))

2.1. Introducción

Como se ha visto en el último informe de APROMAR en 2016 y es tendencia en los últimos años, la acuicultura se está convirtiendo en el principal suministro de pescado, debido a que es una fuente segura, saludable y sostenible de los productos acuáticos. Por primera vez en la historia, los productos procedentes de la acuicultura han superado a los productos procedentes de la pesca extractiva.

Con motivo de la promoción de la acuicultura, han sido numerosos los proyectos que se han iniciado a nivel europeo como son AquaSpace (www.aquaspace-h2020.eu), FISHBOOST (<http://www.fishboost.eu/>), AQUAFAT (www.nutrigroup-iats.org/aquafat) o DIVERSIFY (<http://www.diversifyfish.eu/>) entre otros.

El Aquarium Finisterrae, desde hace unos años ha iniciado la participación en el proyecto DIVERSIFY, en colaboración con muchas otras empresas o instituciones.

2.2. Proyecto DIVERSIFY

El proyecto DIVERSIFY es un proyecto europeo que está financiado por la Comisión Europea, formado por 38 participantes de 12 países de Europa, con el fin de optimizar el cultivo de ciertas especies que pueden tener interés en la acuicultura. Tiene una duración de cinco años y cuenta con un presupuesto de 11.838.018 €.

Todos los integrantes de este proyecto europeo común son:

-
- Aarhus Universitet (AU), Dinamarca
 - Aquaculture Forkys AE (FORKYS), Grecia
 - Argosaronikos Fish Farms S.A. (ARGO), Grecia
 - Asialor SARL (ASIALOR), Francia
-

-
- Asociación Empresarial de Productores de Cultivos Marinos (APROMAR), España
 - Asociación Nacional de Fabricantes de Conservas y Pescados y Mariscos Centro
 - Técnico Nacional
-

-
- de Conservación de Productos de la Pesca (ANFACO), España
 - Ayuntamiento de A Coruña (MC2), España
 - Azienda Agricola Ittica Caldoli (ITTICAL), Italia
 - Bundesverband Der Deutschen Fischindustrie und des Fischgrosshandels E.V. (BVF), Alemania
 - Canarias Explotaciones Marinas SL (CANEXMAR), España
 - Conselleria do MarXunta de Galicia, España
 - CTAQUA, Aquaculture Technological Center of Andalusia (CTAQUA), España
 - Culmárex Group (CILMAREX), España
 - Danmarks Tekniske Universitet (DTU), Dinamarca
 - Dor Dgey Yam LTD (DOR), Israel
 - European Food Information Council (EUFIC), Bélgica
 - Federation of Greek Mariculture (FGM), Grecia
 - Fundación Canaria Parque Científico Tecnológico de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (FCPCT), España
 - Hellenic Center for Marine Research (HCMR), Grecia
 - Hellenic Research House (HRH), Grecia
 - Hungarian Aquaculture Association (MASZ), Hungría
 - Institut de Recerca i Tecnologia Agralimentàries (IRTA), España
 - Instituto Español de Oceanografía (IEO), España
 - Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), Francia
 - Institute of Marine Research (IMR), Noruega
 - IOLRNational
 - Center for Mariculture (IOLR), Israel
 - Irida S.A. Feed production (IRIDA), Grecia
-
- LEI Wageningen
 - UR (DLO/LEI), Holanda
 - Nasjonal Institutt for Enaerings Og Sjomatforskning (NIFES), Noruega
 - Skretting Aquaculture Research Center (SARC), Noruega
 - Sterling White Halibut (SWH), Noruega
 - Technische Universiteit Eindhoven (TU/e), Holanda
 - The University of Aberdeen (UNIABDN), Reino Unido
 - Universidad de La Laguna (ULL), España
 - Università degli Studi di Bari Aldo Moro (UNIBA), Italia
 - Université de Lorraine (UL), Francia
 - Université de Namur ASBL (FUNDP), Bélgica
 - Vas. Geitonias & CqLTD EE (GEI), Grecia
-

En este proyecto se han interesado por seis especies de peces, debido a su interés, tanto biológico como comercial. En cuanto al interés biológico, se tratan de especies que tienen un rápido crecimiento y por lo tanto alcanzan rápidamente un tamaño adecuado para su comercialización (Tabla 4).

Tabla 4 Especies integrantes del proyecto DIVERSIFY.

| Especie | Cultivo |
|---|--|
| Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) | Jaulas de aguas cálidas |
| Seriola (<i>Seriola dumereli</i>) | Jaulas de aguas cálidas |
| Lucioperca (<i>Sander lucioperca</i>) | Cultivo intensivo en agua dulce con sistema de recirculación |
| Fletán (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>) | Cultivo en aguas frías |
| Mero (<i>Polyprion americanus</i>) | Jaulas de aguas cálidas y frías |
| Múgil (<i>Mugil cephalus</i>) | Cultivo extensivo en estero |

Este proyecto es muy amplio y abarca diferentes disciplinas científicas como pueden ser genética, nutrición, cultivo larvario, pre engorde y engorde. Además también se realizan estudios socioeconómicos del mercado de las especies de interés.

Por esto, los principales objetivos del proyecto son:

- Desarrollar técnicas científicas y metodológicas que aseguren el cultivo exitoso de las especies seleccionadas y que contribuyan a la expansión de la industria.
- Identificar los aspectos clave para la aceptación en el mercado de nuevos alimentos con el fin de posicionar el sector acuícola europeo como líder en la producción de alimentos acuáticos.

2.3. DIVERSIFY en el Aquarium Finisterrae

Como muchos otros organismos, el Aquarium Finisterrae ha entrado a colaborar con el proyecto DIVERSIFY con una de las especies de interés como es la cherna (*Polyprion americanus*), teniendo diferentes tareas con el fin de comprobar el crecimiento y calidad de las puestas de este animal en relación a la dieta ingerida.

2.3.1. La cherna

La cherna (*Polyprion americanus*, Bloch & Schenider) es una especie de la familia *Polyprionidae* (Tabla 5).

Tabla 5 Clasificación taxonómica de la cherna.

| | |
|--------------|----------------|
| Reino | Animalia |
| Filo | Chordata |
| Clase | Actinopterygii |

| | |
|----------------|-----------------------------|
| Orden | Perciformes |
| Familia | <i>Polyprionidae</i> |
| Género | <i>Polyprion</i> |
| Especie | <i>Polyprion americanus</i> |

En cuanto a su biología, las chernas tienen dos fases completamente diferenciadas. En la primera fase juvenil, estos animales viven en superficie y se alimentan sobre todo de caballa. Esta fase de su ciclo dura aproximadamente unos dos años. Una vez que alcanzan una talla de entre 56-65 cm, cambian su hábitat y descienden a zonas profundas, donde además de la alimentación de peces óseos como la caballa, se nutren de calamares que encuentran en las profundidades del mar. El desove de las hembras tiene lugar entre finales de junio y principios de octubre, las chernas se agrupan y las hembras liberan sus huevos naturalmente. Se pueden realizar varios desoves en una misma época reproductiva. Las chernas son unos animales de gran longevidad, de hecho, la cherna más longeva conocida era un macho que tenía 81 años y una hembra de 64 años.

Tienen un color gris-azulado, con la parte inferior plateada y las aletas negras. El cuerpo es áspero y aplastado lateralmente, con una aleta caudal redondeada y con el borde blanco. Se caracteriza por tener una boca grande, en la que la mandíbula inferior es considerablemente mayor que la superior. Posee una cresta ósea que sobresale de la cubierta de las branquias y once espinas en la aleta dorsal con muchos radios. Las aletas pélvicas son más largas que las pectorales y en la aleta anal tiene tres espinas con ocho radios. Su cuerpo puede alcanzar los dos metros de longitud (Fig. 9).



Fig. 9 Fotografía de la morfología externa de una cherna (*Polyprion americanus*).

La cherna tiene una amplia distribución, pero discontinua, sobre todo en el Océano Atlántico, pero que también se extiende por los Océanos Índico y Pacífico y por el mar Mediterráneo.

2.3.2. Tareas de DIVERSIFY en el Aquarium Finisterrae

Las chernas que habitan en el Aquarium Finisterrae están marcadas con un microchip que se la implantado vía intramuscular además de un código de dos colores implantado en la superficie de la piel, lo que hace más sencillo su reconocimiento.

Las tareas principales realizadas en el acuario son de alimentación y mantenimiento de la buena salud del animal. Además, cuando se llega a la época reproductiva, se realizan extracciones tanto de ovocitos como de esperma.

La alimentación de las chernas sigue un procedimiento específico, ya que existe un cierto control en la alimentación.

2.3.3. Alimentación de chernas

El protocolo diseñado para la alimentación de las chernas que están situadas habitualmente en la sala *Nautilus*, consiste en primer lugar en una fase de aislamiento y en segundo lugar, de una fase de alimentación.

La fase de aislamiento se realiza antes de la bajada de los buzos para las tareas de mantenimiento. Para ello, las chernas han realizado un trabajo de aprendizaje previo por las que han sido adiestradas para asociar los golpes de una varilla de metal con la alimentación y, por lo tanto, su entrada en el tanque de aislamiento. Este tanque consta a su entrada de dos compuertas fabricadas con tramex que se pueden subir y bajar fácilmente con la ayuda de una polea.

Por lo tanto, la tarea de aislamiento se realiza de la siguiente manera:

- Abrimos las dos compuertas del tanque de aislamiento.
- Se realiza la llamada de las chernas utilizando la varilla de metal.
- Una vez que algunas chernas entran al tanque de aislamiento, se cierra la compuerta interior, dejando la exterior abierta.
- Cuando vuelva a entrar otra cherna, se cierra la compuerta exterior y se abre la compuerta interior hasta que la cherna entre al tanque de aislamiento y así sucesivamente.

Además de esta técnica de aislamiento, se le puede añadir algún trozo de comida, por ejemplo calamar, para llamar la atención y que sea más sencillo el proceso.

La fase de alimentación es muy importante, ya que los reproductores de cherna necesitan una mejor calidad del alimento con el fin de obtener una mayor calidad en las puestas. Para llevar a cabo esta tarea se utiliza un complemento a la dieta habitual a base de un pienso llamado Fish breed – M de la proveedora Inve®. En esta fase se lleva a cabo en primer lugar, la preparación del alimento que se realiza en forma de bolas, y en segundo lugar la ingestión del mismo por parte de los peces.

Para la preparación del pienso hay que llevar a cabo el siguiente procedimiento (para 10 bolas):

- Pesar con la ayuda de una báscula 300 g de pienso Fish breed – M.
- Añadir 200 mL de agua dulce.
- Mezclar bien hasta que queda una masa homogénea similar a la plastilina.
- Pesar esa masa conjuntamente y dividir entre el número de bolas a realizar (en este caso 10) para saber el peso que tiene cada bola.
- Coger la mezcla y pesar cada bola hasta que tenga el peso calculado.

Para el proceso de alimentación de los peces con el pienso:

- Aplastar la bola para que quede con forma de pastilla.
- Lanzar la pastilla de pienso enérgicamente al tanque para que suene al contacto con el agua.
- Observar el ejemplar que ingiere la pastilla.
- Intentar que se alimenten el mayor número de ejemplares.
- Al finalizar la alimentación, se le premia a todos los ejemplares de cherna con calamar.

3. Protocolarización del cultivo del copépodo *Tisbe* sp.

3.1. Introducción

Los copépodos son los organismos pluricelulares más abundantes del planeta, incluso por encima de los insectos (Suárez-Morales, 2000). Son unos organismos zooplanctónicos que tienen una función ecológica como consumidores primarios y productores secundarios en el ecosistema marino. Los copépodos se alimentan de fitoplancton y sirven de alimento para organismos de niveles tróficos superiores, incluyendo entre otros, los peces (Santhanam *et al.*, 2012). Son unos animales principalmente marinos, aunque también existen especies de agua dulce o ambientes estuáricos. Este grupo está formado por unas 11500 especies agrupadas en 1650 géneros de 200 familias (Støttrup, 2003).

Estos animales pertenecen al subfilo de los crustáceos y tienen pequeño tamaño, con unas dimensiones que varían desde menos de 1 mm hasta varios milímetros en fase adulta (Ruppert *et al.*, 2004). Presentan una morfología diversa dependiendo del grupo taxonómico en el que se encuentre.

En cuanto a la taxonomía, los copépodos están agrupados en diez órdenes (Tabla 6), de los cuáles tres tienen una gran importancia para la acuicultura, que son Calanoida, Harpacticoida y Cyclopoida (Fig. 10).

Tabla 6 Órdenes de la subclase Copepoda.

| Orden |
|----------------|
| Platycopioidea |
| Calanoida |
| Misophrioida |
| Cyclopoida |
| Gelyelloida |
| Mormonilloida |

Harpacticoida
Poecilostomatoida
Siphonostomatoida
Monstrilloida



Fig. 10 Principales grupos de copéodos con interés en acuicultura.

Los copéodos son, en la gran mayoría de los casos, organismos de vida libre que ocupan un gran número de hábitats, desde copéodos planctónicos que viven en la columna de agua hasta especies bentónicas que viven en la superficie de macroalgas o entre los sedimentos (Støttrup, 2003). La distribución de este grupo es muy cosmopolita en todo el mundo, siendo más abundantes en las zonas más tropicales por sus condiciones climáticas (Razouls *et al.*, 2017).

La morfología de los copéodos suele ser de cuerpo cilíndrico, siendo más amplio y aplanado dorsoventralmente en especies bentónicas (Støttrup, 2003). La mayor parte de los copéodos son de pálidos o transparentes. El tronco está formado por diez segmentos divididos en tórax y abdomen. La cabeza se sitúa en la parte anterior y en ella se sitúan las antenas y anténulas, siendo las primeras antenas unirrámeas y visibles y las segundas más pequeñas. No presentan ojos compuestos pero destaca por su coloración el ojo naupliar medio (Ruppert *et al.*, 2004).

El ciclo de vida de los copéodos es similar para los grupos de interés en acuicultura, se inicia con los huevos, que son esféricos y se ponen libremente al agua o mediante un saco, la larva sale en forma de nauplio, en la que se pueden observar diferentes fases hasta pasar a la etapa de copepodito, donde se genera un adulto de una morfología similar y diferenciados en machos y hembras (Willians and Jones, 1994) (Fig. 11).

Copepod Life Cycle

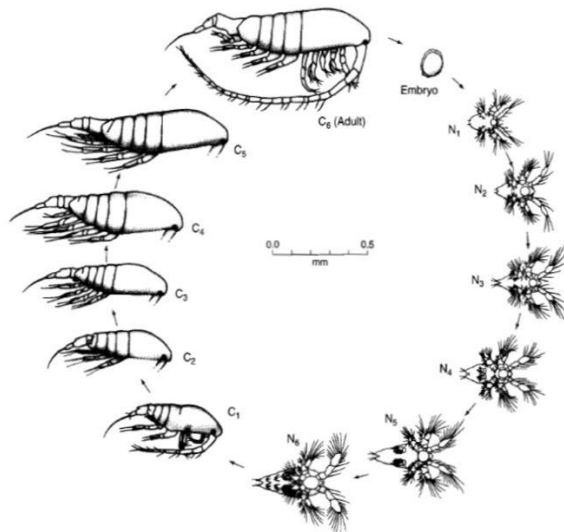


Fig. 11 Ciclo de vida estándar de un copépodo.

Estos pequeños animales constituyen la mayor parte de la dieta de las larvas de los peces en el medio natural, esto puede ser debido a que los requerimientos nutricionales de estas larvas son los contenidos de los copépodos. Por esto, el cultivo de copépodos es uno de los objetivos principales de la acuicultura, ya que tienen unos aportes nutricionales que otros organismos utilizados como organismo vivo para larvas de peces que pueden ser *Artemia* o rotífero (Evjemo *et al.*, 2003). Esto se ha comprobado en numerosos estudios, por ejemplo, la alimentación con nauplios de copépodos en caballitos de mar (*Hippocampus subelongatus*) provoca un mayor crecimiento y supervivencia que con nauplios de *Artemia* (Payne and Rippingale, 2000). Otro estudio muestra que una combinación de nauplios de rotífero y copépodos aumentan el crecimiento y la supervivencia en *Psetta máxima*, *Glaucosoma hebraicum* y *Pagrus auratus* comparados con los resultados de alimentación con nauplios de rotífero (Payne *et al.*, 2001).

Estas mejoras en el crecimiento y supervivencia de las larvas de peces con los copépodos son debidas a niveles altos de ácidos grasos poliinsaturados como DHA, EPA o ácido araquidónico (Sargent *et al.*, 1997). Por ejemplo, el nivel de DHA en copépodos salvajes puede ser hasta diez veces mayor que en *Artemia* enriquecida (McEvoy *et al.*, 1998).

En el estudio que se presenta a continuación se intenta optimizar el cultivo de un copépodo llamado *Tisbe* sp. susceptible de interés para la alimentación de larvas de peces en acuicultura. Para ello se realiza un experimento para conseguir resultados acerca de temperaturas con mayor crecimiento y utilización de diferentes dietas.

3.2. Objetivos del estudio

- Descripción de técnicas de elaboración del stock.
- Descripción de técnicas para aislamiento y concentración.
- Identificación taxonómica y determinación de la especie.

- Caracterización y descripción detallada de las fases del ciclo vital.
- Determinación de la temperatura óptima del cultivo y rangos de temperatura.
- Determinación de la dieta de microalgas adecuada.
- Concentración máxima de cultivo.

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. El copépodo *Tisbe* sp.

El copépodo *Tisbe* sp. es un crustáceo zooplanctónico que pertenece al orden Harpacticoida (Tabla 7), es un organismo marino de vida libre y de hábito bentónico (Fig. 12).

Tabla 7 Clasificación taxonómica de la especie *Tisbe* sp.

| | |
|-----------------|------------------|
| Reino | Animalia |
| Filo | Arthropoda |
| Subfilo | Crustacea |
| Clase | Maxillopoda |
| Subclase | Copepoda |
| Orden | Harpacticoida |
| Familia | Tisbidae |
| Género | <i>Tisbe</i> |
| Especie | <i>Tisbe</i> sp. |



Fig. 12 Morfología externa de *Tisbe* sp.

En el medio acuático tiene una dieta amplia que va desde algas u hongos hasta detritus. Se caracteriza por tener una alta fecundidad y cortas generaciones. Además, nutricionalmente es positivo para la utilización en larvicultura debido a su capacidad de biosintetizar ácidos grasos esenciales (Støttrup and Norsker, 1997). Otra característica importante es una técnica para el cosechado en grandes volúmenes, ya que este copépodo presenta una fototaxia positiva.

En cuanto a su identificación taxonómica, el cuerpo de *Tisbe* sp. Tiene el cuerpo ciclopiforme, con el cefalotórax aplanado dorsoventralmente y comprimiéndose posteriormente a través del urosoma. Presenta cinco pares de patas birrámeas, de la primera a la cuarta son patas nadadoras mientras que el quinto par de patas está modificado con una función sexual diferenciándose entre machos y hembras (Boxshall and Halsey, 2004).

La composición bioquímica de *Tisbe* sp. hace que sea interesante en acuicultura, ya que esta especie es capaz de sintetizar con facilidad PUFAs como DHA o EPA, que tiene respuesta en los peces en un aumento del crecimiento, reducción de la mortalidad, disminución del estrés y reducción de deficiencias físicas (Marshall, 2002).

3.3.2. Técnica de aislamiento y concentración

Se ha diseñado un protocolo para el aislamiento y reconcentración de copépodos harpacticoides.

Para realizar el aislamiento, se lleva a cabo en el paraíso marino del Aquarium Finisterrae, con la ayuda de un salabre con una luz de malla de 200 μm . Se mete el salabre en el agua y se arrastra por las paredes del medio marino y por las rocas tocando las macroalgas, que es el lugar donde se encuentran los copépodos. El contenido recogido se vacía en un cubo con agua, recolectando también, en el caso de que sea posible, algunas hojas de la macroalga como puede ser *Ulva lactuca*. Posteriormente se lleva el cubo al laboratorio para proceder al reconcentrado.

El reconcentrado se realiza en el laboratorio. En primer lugar se lavan las *Ulva lactuca* recogidas con agua salada sin mucha presión para recoger los copépodos. Una vez que tenemos los copépodos en un volumen determinado, se necesita reducir el volumen hasta 500 mL con la ayuda de un sifón con malla de 50 μm ya que todos los tamaños de todas las fases se quedarán retenidas y no pasarán por la malla. Después se pasan a placas petri y se van seleccionando los copépodos de interés con la ayuda de pipetas Pasteur de plástico, pasando los copépodos a agua salada limpia y ultrafiltrada.

3.3.3. Técnica de elaboración del stock

Una vez aisladas y reconcentradas, los copépodos tendrán que ser traspasados a botellones de 6 L, al que se le añade una mezcla de microalgas (*Rhodomonas salina* y *Tetraselmis suecica*), permaneciendo con una iluminación con fotoperíodo natural y una aireación muy suave. Cada 2-3 días se homogeniza el contenido del botellón y se pueden realizar recuentos utilizando mallas de 20 o 50 μm dependiendo de la fase del ciclo vital que queramos recontar. A los 7 días se realiza un recuento global del botellón reduciendo el volumen. Conociendo la concentración, se puede proceder a inocular tanques troncocónicos de 200 L, de donde se obtienen las densidades máximas de cultivo.

3.3.4. Cultivo de microalgas

Las microalgas utilizadas para el cultivo de copépodos son suministradas por la sala de cultivos del Aquarium Finisterrae. Se utilizan una criptófita llamada *Rhodomonas salina* y una clorófita llamada *Tetraselmis suecica* (Tabla 8). Ambas microalgas son de vida libre y poseen flagelos

para una natación activa. La principal diferencia entre ambas es el tamaño, ya que *Tetraselmis* tiene un tamaño de 14 μm mientras que *Rhodomonas* tiene un tamaño mayor de 50 μm (Fig. 13).

Tabla 8 Clasificación taxonómica de las dos especies de microalgas utilizadas en el experimento.

| | | |
|-----------------|----------------------------|--------------------------|
| Reino | Plantae | Chromista |
| División | Chlorophyta | Cryptophyta |
| Clase | Chlorophyceae | Cryptophyceae |
| Orden | Volvocales | Pyrenomonadales |
| Familia | Chlamydomonaceae | Pyrenomonadaceae |
| Género | <i>Tetraselmis</i> | <i>Rhodomonas</i> |
| Especie | <i>Tetraselmis suecica</i> | <i>Rhodomonas salina</i> |

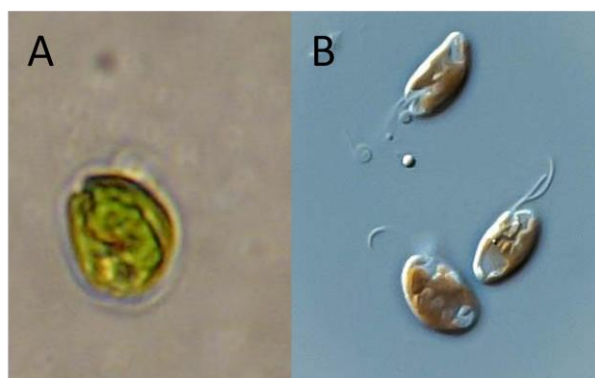


Fig. 13 Fotografía de las dos especies de microalgas utilizadas para la experimentación de la dieta. A: *Tetraselmis suecica*. B: *Rhodomonas salina*.

Las condiciones de cultivo de estas microalgas son $18 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura, un fotoperíodo de 16:8, una aireación fuerte y nutrientes de la marca comercial ALGAL. Las microalgas son cultivadas en grandes bolsas de 70 L y cosechadas cada semana.

3.3.5. Diseño experimental

Para optimizar el cultivo del copépodo *Tisbe* sp. se ha realizado un pequeño experimento que consistía en comprobar las mejores temperaturas (7, 17 y 30°C) para el cultivo y se han utilizado dos dietas diferentes para saber con cual se obtiene un mayor crecimiento (*Tetraselmis suecica* y *Rhodomonas salina*). La duración total del experimento ha sido de 36 días. Para conseguir las temperaturas de experimentación, en la de 7°C se ha utilizado un enfriador que bombea agua a dicha temperatura a un tanque de 100 L donde se introducen las jarras por el método de baño, la temperatura de 17°C es la temperatura de la sala donde se realiza el experimento y la temperatura de 30°C se obtiene por el calentamiento de agua de un tanque de 100 L con una resistencia de 300 W de potencia y se introducen las jarras por el método de baño (Fig. 14).

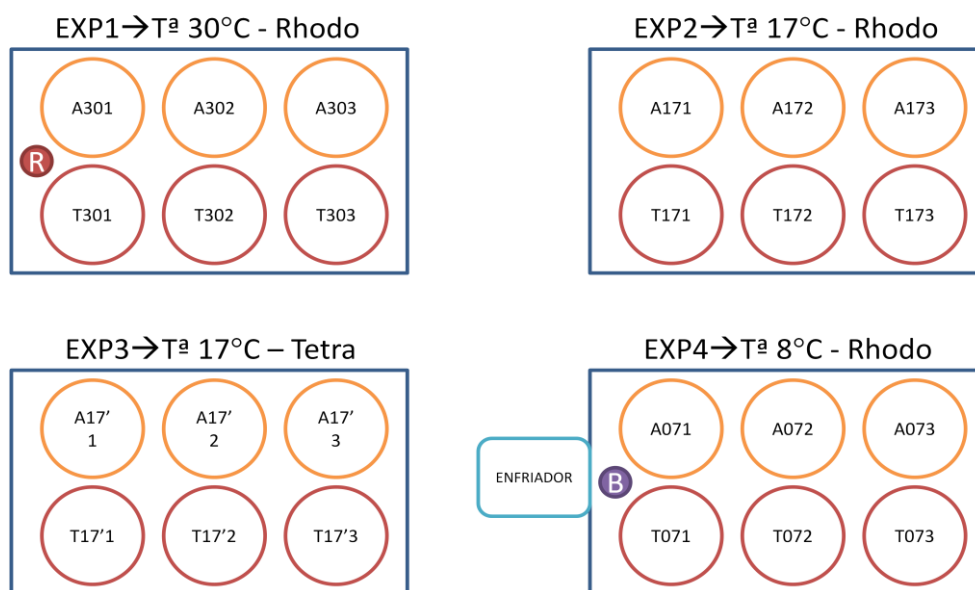


Fig. 14 Esquema del diseño experimental.

El experimento se ha llevado a cabo en unas jarras de plástico de 1 L (Fig. 15) y se ha realizado cada tratamiento por triplicado. Las condiciones del experimento que permanecen fijas para todos los tratamientos son una iluminación con fotoperíodo 16:8 y una aireación suave en cada una de las jarras. A lo largo de todo el experimento se midieron los parámetros de temperatura, pH y salinidad con el objetivo de observar si estos datos podían tener efecto en el resultado de los recuentos.



Fig. 15 Jarra de plástico utilizada para la experimentación.

En cada una de las jarras de experimentación han sido inoculados 50 copépodos seleccionados individualmente para evitar posibles problemas de contaminación.

Para nombrar las jarras se ha utilizado un código alfanumérico como sigue (Tabla 9):

Tabla 9 Condiciones y códigos de las jarras de experimentación.

| Condición | Código |
|---|--------|
| Temperatura: 7 °C Alimentación: <i>Rhodomonas</i> | T071 |
| | T072 |
| | T073 |
| Temperatura: 17 °C Alimentación: <i>Rhodomonas</i> | T171 |
| | T172 |
| | T173 |

| | |
|----------------------------------|-------|
| Temperatura: 17 °C | T17'1 |
| Alimentación: <i>Tetraselmis</i> | T17'2 |
| | T17'3 |
| Temperatura: 30 °C | T301 |
| Alimentación: <i>Rhodomonas</i> | T302 |
| | T303 |

3.3.6. Método de recuento

El procedimiento utilizado para el recuento de los copépodos del experimento se basa en la recogida de una muestra representativa, concentración por reducción de volumen y recuento en la lupa binocular.

- El primer paso es la recogida de una muestra representativa, para ello se homogeniza la jarra con la varilla de aireación y se recoge un volumen de 40 mL en un vaso de plástico graduado.
- El segundo paso es la concentración de la muestra, mediante un sistema por sifonado con una malla de 20 µm, para así no perder el contenido de ninguna de las fases vitales (Fig. 16).
- El tercer paso es el recuento que se realiza en la lupa y se cuentan cada una de las fases del ciclo (adultos, nauplios y adultos ovados).



Fig. 16 Instrumento utilizado para la reducción del volumen de agua en el contaje.

Una vez realizado el recuento, se puede realizar una extrapolación del contenido total de la jarra de un litro de la siguiente manera:

$$\text{Copépodos/jarra} = (\text{Recuento copépodos}/40\text{mL}) \times 1000\text{mL}$$

Los recuentos del número de copépodos han sido realizados dos veces por semana cada 3-4 días para comprobar la evolución de las fases del ciclo vital.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Fases del ciclo de vida

El ciclo de vida del copépodo *Tisbe* sp. posee las características esenciales del modelo típico de un copépodo. Diferenciándose en la fase adulta entre machos y hembras, que tras la fecundación salen los huevos que son incubados por la madre y se quedan adheridos a ella hasta que llega el momento en el que son liberados en forma de nauplios. Estos nauplios pasaran a los pocos días al estado de copepodito que tiene la morfología similar a la de un adulto (Fig. 17).

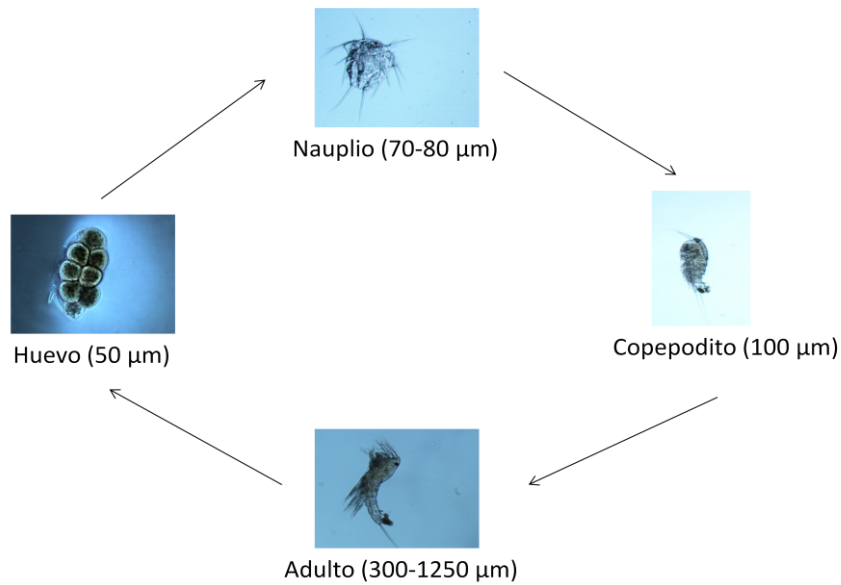


Fig. 17 Ciclo de vida del copépodo *Tisbe* sp.

3.4.2. Resultados del experimento

El experimento dio lugar a una serie de resultados. El primer paso consiste en observar cómo fueron variando los parámetros de las condiciones de cultivo, que deben permanecer constantes a lo largo de toda la experiencia. Para ello se hicieron las medias de las réplicas de cada una de las condiciones del experimento. En la gráfica de temperatura se puede observar que dependiendo del tratamiento, hay una temperatura que permanece constante durante el tiempo. El único caso excepcional fue el día 24/12, donde se produjo un problema con el enfriador y la temperatura del tanque subió hasta los 13,2 °C. En la gráfica de pH, permanece en todo el experimento en un rango adecuado, que para especies de agua salada se sitúa entre 7,9-8,4. En la gráfica de salinidad se observa una gran uniformidad en los valores, el único problema que se produjo fue en el tanque de 30 °C, que al ser la temperatura tan alta, había mayor evaporación y la salinidad puede presentar algo más de fluctuación. Lo que se hizo para que se mantuviese constante fue contrarrestar la salinidad con pequeñas cantidades de agua dulce desclorada (Fig. 18).

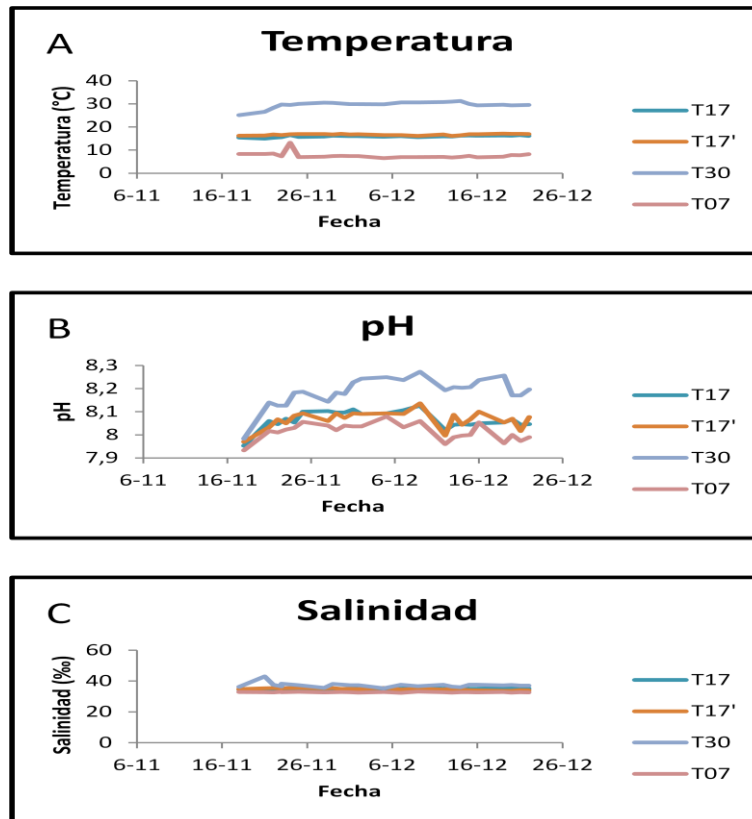


Fig. 18 Gráficas de los parámetros medidos durante el experimento.

Los resultados obtenidos con los recuentos nos dieron una idea general de las temperaturas y dietas que pueden ser más adecuadas para el crecimiento de este copépodo. Todas las gráficas se realizaron utilizando las medias de los recuentos de las tres réplicas de cada tratamiento.

Para la determinación de la mejor temperatura de cultivo se realizaron gráficas con las tres temperaturas diferentes (7, 17 y 30 °C) en cada una de las fases vitales. En las gráficas se puede ver que el número de huevos es muy reducido, siendo prácticamente nulo para todas las temperaturas. En el caso del nauplio, crece muy bien a 7 °C y bastante bien a 17 °C, mientras que a 30 °C no hay apenas contaje de nauplios. Los adultos crecen bien a 7 °C, y se mantienen a temperaturas de 17 y 30 °C. Es muy importante que a una temperatura elevada de 30 °C, este género de copépodos sea capaz de sobrevivir (Fig. 19).

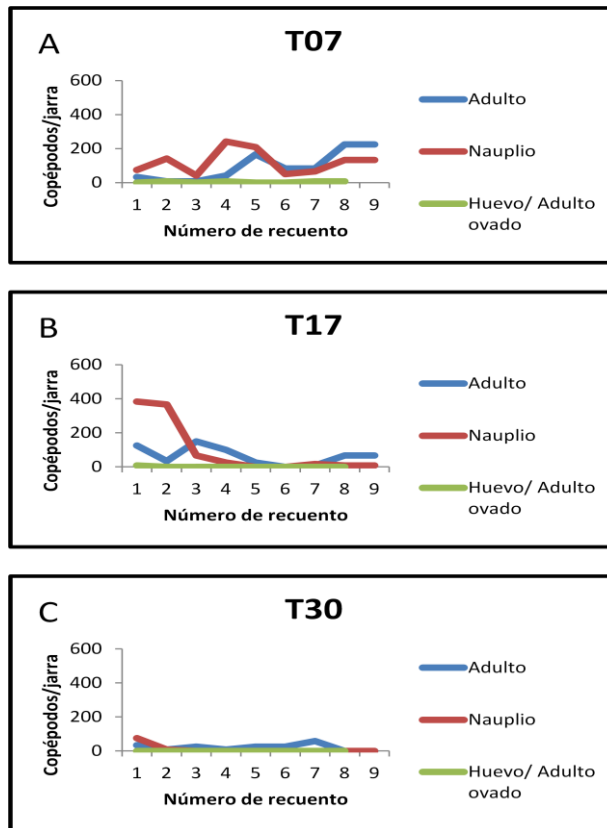


Fig. 19 Gráficas comparativas del crecimiento de las diferentes fases del ciclo de vida a tres temperaturas diferentes.

Para la determinación de la dieta más adecuada para el cultivo, se realizaron gráficas con las dietas a base de *Rhodomonas* y *Tetraselmis* para cada una de las fases vitales. En las gráficas se puede ver que para ambas dietas el número de huevos es prácticamente nulo. Los nauplios parece que hay una mejor tendencia de crecimiento en la dieta con *Tetraselmis*, igual que en los adultos, donde a pesar de que con la dieta de *Rhodomonas* se observa crecimiento, es mayor con *Tetraselmis* (Fig. 20).

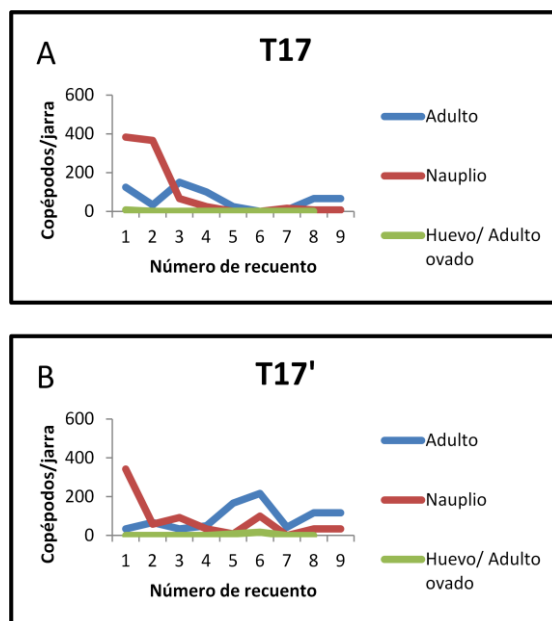


Fig. 20 Gráficas comparativas del crecimiento de las diferentes fases del ciclo con dos dietas diferentes.

3.4.3. Contaminación

Durante el experimento se observó que las jarras contenían unos ciliados que se habrían introducido en forma de cistes durante el proceso de selección. Se realizó la identificación de este ciliado llegando a la especie, denominada *Uronychia transfuga* (Fig. 21), que no afectaría a los resultados ya que la dieta de estos ciliados se basa principalmente en detritus.



Fig. 21 Fotografía del ciliado *Uronychia transfuga* que se encontró en las jarras de *Tisbe* sp.

3.4.4. Discusión

Paralelamente con el estudio realizado en *Tisbe* sp. se llevó a cabo un estudio con las mismas características que se presentan en este, utilizando en este caso un copépodo del orden Calanoida llamado *Acartia tonsa*. Este copépodo tiene unas características diferentes, ya que tiene un hábito de vida planctónico, siendo nadador activo en la columna de agua, además presenta una morfología diferente a *Tisbe* sp. tanto en fase adulto como en fase naupliar. Los resultados de esta experiencia, al contrario que en el estudio con *Tisbe* sp. muestran que la mejor temperatura para llevar a cabo el cultivo es de 17 °C, siendo algo inferior el crecimiento en 7 °C y total mortalidad en 30 °C. En cuanto a la dieta, es ligeramente mejor una

alimentación a base de *Rhodomonas*, sin embargo, el crecimiento de nauplio es mayor con *Tetraselmis*, aunque no hay demasiada diferencia (Fig. 22).

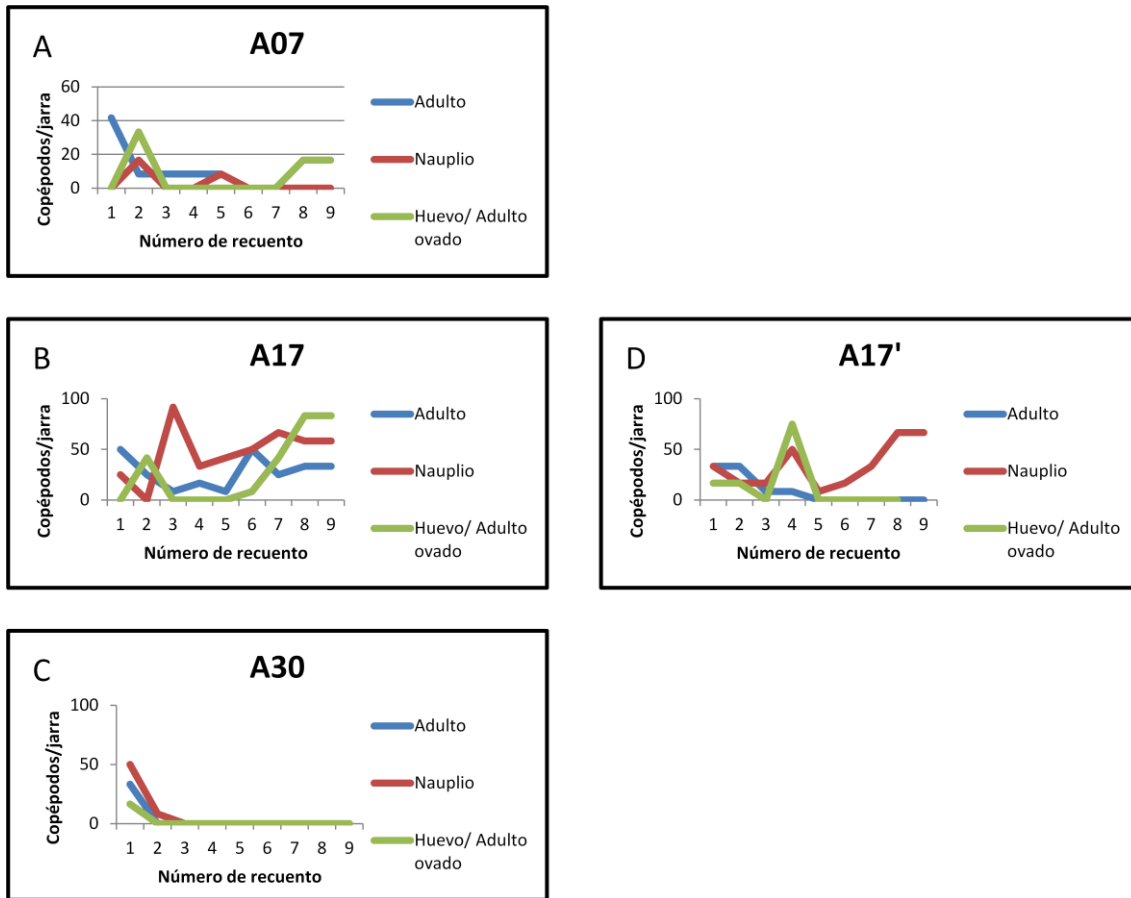


Fig. 22 Gráficas comparativas según la fase del ciclo de vida con tres temperaturas diferentes y dietas con dos microalgas.

Los resultados obtenidos en las diferentes temperaturas nos dan a entender que el copépodo *Tisbe* sp. tiene su mayor crecimiento a 7 °C, aunque es capaz de sobrevivir a temperaturas de hasta 30 °C, lo que puede ser interesante para su cultivo.

Los resultados obtenidos con respecto a la dieta se pueden explicar en función del tamaño de las microalgas, ya que *Rhodomonas* tiene un tamaño mejor, por lo que en teoría será mejor para individuos adultos y de mayor tamaño, mientras que *Tetraselmis*, con un tamaño menor, será más apropiado para las fases iniciales del cultivo.

3.5. Conclusiones

El copépodo *Tisbe* sp. tiene unas características interesantes para ser utilizado como alimento para larvas de diferentes peces, ya que presenta la cualidad de sintetizar ácidos grasos poliinsaturados beneficiosos para los peces.

Se ha identificado el ciclo de vida del copépodo siguiendo el modelo estándar de los copépodos marinos.

Los mejores resultados obtenidos para el cultivo de este copépodo han sido una temperatura de 7 °C y una dieta basada en la microalga *Tetraselmis suecica*.

4. Bibliografía

Ayuntamiento de A Coruña. Aquarium Finisterrae. Available at <http://mc2coruna.org/aquarium/> [Accessed January, 19, 2017]

Boxshall AG and Halsey HS. (2004). *An introduction to copepod diversity*. The Ray Society, London. 996pp.

Evjemo JO, Reitan KI and Olsen Y. (2003). Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. *Aquaculture*. 227:191-210.

Marshall AJ. (2002). *The culture of copepods as live food for marine fish larvae*. Doctorado. University of Tasmania.

McEvoy LA, Næss T, Bell JG and Lie O. (1998). Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched *Artemia*: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*. 163:235-248.

Payne MF and Rippingale RJ. (2000). Rearing West Australian Seahorse, *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched *Artemia*. *Aquaculture*. 188:353-361.

Payne MF, Rippingale RJ and Cleary JJ. (2001). Cultured copepods as food for West Australian dhufish (*Glaucosoma hebraicum*) and pink snapper (*Pagrus auratus*). *Aquaculture*. 194:137-150.

Proyecto DIVERSIFY. Available at <http://www.fundacionoesa.es/proyectos+i+destacados/diversify?tmpl=component+4> [Accessed January 10, 2017]

Razouls C, de Bovée F, Kouwenberg J and Desreumaux N. (2005-2017). *Diversity and Geographic Distribution of Marine Planktonic Copepods*. Available at <http://copepodes.obs-banyuls.fr/en> [Accessed January 25, 2017].

Ruppert EE, Fox RS and Barnes RD (2004). *Invertebrate zoology: a functional evolutionary approach*. Belmont, CA, Thomson-Brooks/Cole.

Santhanam P, Nandakumar R, Ananth S, Jeyalakshmi T, Raju P, Ananthi P, Shenbaga Devi A, Dinesh Kumar S and Balaji Prasath B. (2012). A need for marine copepods culture. In Live feed production for marine hatchery operation. Rajiv Gandhi Centre for Aquaculture (India). 74-88.

Sargent JR, McEvoy LA and Bell JG. (1997). Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*.155:117-127.

Støttrup JG and Norsker HN. (1997). Production and use of copepods in marine fish larviculture. *Aquaculture*. 155:231-247.

Støttrup JG. (2003). Production and nutritional value of Copepods. In Støttrup JG and McEvoy LA. *Live feeds in marine aquaculture*. Blackwell Science. 145-205.

Suárez-Morales E. (2000). Copépodos, seres ubicuos y poco conocidos. *CONABIO-Biodiversitas*. 29:7-11.

Willians TD and Jones MB. (1994). Effects of temperature and food quantity on postembryonic development of *Tisbe battagliai* (Copepoda: Harpacticoida). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 183:283-298.