PRODUCCIÓN DE HUEVOS DEL COPÉPODO *Acartia tonsa:* PROTOTIPO DE CULTIVO

DIOMER FABIO DORIA FABRA
ISMAEL JOSÉ GAVIRIA DEL TORO

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
PROGRAMA DE ACUICULTURA
MONTERÍA,2023

PRODUCCIÓN DE HUEVOS DEL COPÉPODO *Acartia tonsa:* PROTOTIPO DE CULTIVO

DIOMER FABIO DORIA FABRA
ISMAEL JOSÉ GAVIRIA DEL TORO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar el título de Profesional en Acuicultura

Director(a): MARTHA JANETH PRIETO GUEVARA, PhD.
Director: GUSTAVO ALFONSO TORRES VALENCIA, PhD.
Director: CESAR AUGUSTO JIMENEZ VELASQUEZ MSc.

UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ACUÍCOLAS
PROGRAMA DE ACUICULTURA
MONTERÍA, 2023

El jurado calificador no será responsable de las ideas emitidas por el autor
(Artículo 46, acuerdo 006 del 29 de mayo de 1997 del Consejo Superior)

NOTA DE ACEPTACIÓN

_____

_____

_____

PRESIDENTE DEL JURADO

_____

JURADO NOMBRE APELLIDO

_____

JURADO NOMBRE APELLIDO

Montería, 2023

DEDICATORIAS

Gracias a Dios, en primera instancia, por ser mi protector y apoyo, por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi carrera, para optar como profesional y lograr una meta más en mi vida.

A mis abuelos, que en paz descansen desde el cielo, mismos los cuales me enseñaron y me formaron a ser quien soy hoy en día, ya que gracias por escuchar de ellos, por sus consejos, por el amor que me han dado y por su apoyo incondicional en mi vida, personas que me inspiraron a luchar por lo difícil en la vida. Es por eso que hoy les dedico este trabajo de tesis. Gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de culminar esta etapa.

A mis Padres, por ser ese motor de ayuda y apoyo incondicional, me han ayudado a crecer, gracias porque a pesar de todo están para mí en la lucha contra la adversidad, por más que hay momentos difíciles siempre me han estado apoyando y brindándome todo su amor y motivación para seguir adelante y mostrarme una razón y brindarme lo que ellos nunca pudieron tener.

A mi hermana por estar ahí cuando más la necesito.

Gracias a todos aquellos familiares, amigos y profesores que me ayudaron a que este gran esfuerzo se hiciera completamente real.

Diomer Fabio Doria Fabra.

DEDICATORIAS

A Dios, por permitirme llegar hasta este gran éxito en mi vida, por construir una persona insistente ante tantas adversidades y no dejarme rendir.

A mis padres, Esther del Carmen del Toro Atencio y Julio Manuel Gaviria del toro, a mis hermanos quienes gracias a su gran esfuerzo, dedicación y apoyo mantuvieron los ánimos de seguir adelante y llegar hasta este gran triunfo. A todos aquellos familiares y amigos que de otra manera me han apoyado y motivado para la culminación de mis metas.

A los maestros, aquellos que marcaron cada etapa de mi camino universitario.

A la comunidad de Jaraquiel en especial a todos los mototaxistas que siempre me ayudaron en el transporte y motivación a seguir adelante en momentos difíciles a insistir por mi carrera profesional.

A todos muchas gracias.

Ismael José Gaviria del toro

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos:

Al instituto de Investigación de la Universidad de Córdoba (CINPIC), por haber permitido la realización de toda la parte experimental de este proyecto en el laboratorio de Alimento Vivo.

A la doctora **MARTHA JANETH PRIETO GUEVARA,** por su dirección y apoyo constante en la realización de este trabajo.

Al profesor **CESAR AUGUSTO JIMÉNEZ VELÁSQUEZ**, profesional universitario del laboratorio de alimento vivo y nutrición acuícola por su asesoría en el trabajo.

Al doctor **GUSTAVO ADOLFO TORRES VALENCIA** por su asesoría en el trabajo.

Al estudiante de Acuicultura **CARMELO HERNÁNDEZ CASARRUBIA** por su apoyo.

Por último, a todas aquellas personas que de otra forma fueron de gran apoyo en el transcurso del estudio

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	**XIII**
ABSTRACT	**XV**
INTRODUCCIÓN	**17**
1. OBJETIVOS	**20**
1.1 Objetivo general	**20**
1.2 Objetivos específicos	**20**
2. MARCO TEÓRICO	**21**
2.1 Bioecología de los copépodos	**21**
2.2 Importancia de los copépodos en acuicultura	**23**
2.3 Tecnología de cultivo de calanoides	**24**
3. ANTECEDENTES	**27**
4. MATERIALES Y MÉTODOS	**29**
4.1 Localización	**29**
4.2 Tipo de estudio	**29**
4.3 Biomasa de la microalga *Isochrysis galbana*	**29**
4.4 Biomasa del copépodo *Acartia tonsa*	**30**
4.5 Diseño del prototipo de cultivo	**31**
4.6 Unidades experimentales	**33**
4.7 Producción específica y relativa de huevos *A. tonsa*	**33**
4.8 Mortalidad de adultos *A. tonsa*	**34**
4.9 Porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa*	**34**
4.10 Parámetros de calidad de agua	**35**
4.11 Análisis estadísticos	**35**
5. RESULTADOS	**36**
5.1 Producción específica de huevos (PEH)	**36**
5.2 Producción relativa de huevos (PRH)	**36**
5.3 Mortalidad de adultos *A. tonsa*	**37**
5.4 Porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa*	**38**

5.5 Parámetros de calidad de agua **39**

6. ANALISIS Y DISCUSIÓN **44**

6.1 Producción específica y relativa de huevos *A. tonsa* **44**

6.2 Mortalidad de adultos *A. tonsa* **46**

6.3 Porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa* **48**

6.4 Parámetros de calidad de agua **50**

CONCLUSIONES **56**

RECOMENDACIONES **57**

BIBLIOGRAFÍA **58**

LISTA DE ABREVIATURA Y SIGLAS

cop.ml^{-1}	Copépodo por mililitro
µm	Micrómetros
µgCL^{-1}	Picogramos de carbono
ups	Unidades prácticas de salinidad
mg. L^{-1}	Miligramos por litro
mL^{-1}.min^{-1}	Mililitro por minuto
Huevos hembra^{-1} día^{-1}	Producción específica de huevos (SEP)
Huevos L^{-1} día^{-1}	Producción relativa de huevos (REP)
M (%)	Porcentaje de mortalidad de adultos *A. tonsa*
Hs (%)	Porcentaje de eclosión de huevos de *A. tonsa*
UN	Unidad de nivel
UC	Unidad de cultivo
URH	Unidad recolectora de huevos
UB	Unidad de la bomba sumergible
D	Diámetro del tubo en cm
R	Tasa de recambio por día^{-1}
V	Volumen de cultivo en cm^3
Lp	Longitud del prosoma de *A.tonsa* en µm
Vf	Velocidad corporal en Lp.min^{-1}
Luz UV	Radiación ultravioleta
mL/pz	Mililitros por pozos
Df	Densidad final en un día
Di	Densidad inicial
Nf	Número de nauplios
No	Número total de huevos y nauplios

LISTA DE FIGURAS

Pág

Figura 1. Ubicación del Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC). Fuente: Autor & Google Earth (2022).……**29**

Figura 2. Prototipo de cultivo *A. tonsa* A: Unidad de cultivo, B: Unidad de recolección y C: Unidad de bombeo y caja de nivel. Las flechas indican la dirección del flujo de agua de cultivo……...**32**

Figura 3. Producción especifica (SEP) de huevos del copépodo *A. tonsa* generados por adultos específicamente (huevos hembra^{-1} día^{-1}); evaluados en tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05)……**36**

Figura 4. Producción relativa de huevos (REP) del copépodo *A. tonsa* generados por adultos específicamente (huevos mL^{-1} día^{-1}); evaluados en tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05)……**37**

Figura 5. Mortalidad de adultos del copépodo *A. tonsa* en cultivo con tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05). ……..**38**

Figura 6a. Porcentaje de eclosión de huevos del copépodo *A. tonsa* (24 horas). Huevos colectados en fresco durante 8 días en tres tasas de recambios: (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresados como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05) ……..…..**39**

Figura 6b. Porcentaje de eclosión de huevos del copépodo *A. tonsa* (48 horas). Huevos colectados en fresco durante 8 días en tres tasas de recambios: (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresados como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05) ……..…..**39**

Figura 7. Comportamiento diario de la temperatura durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1};

T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD. ……..……**40**

Figura 8. Comportamiento diario de la salinidad durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD. ……..……**40**

Figura 9. Comportamiento diario del porcentaje de saturación de oxígeno durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD. ……..……**41**

Figura 10. Comportamiento diario del oxígeno disuelto durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD. ……..……**42**

Figura 11. Comportamiento diario de pH, amonio total, nitrito y nitrato durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD. ……..……**43**

RESUMEN

Los copépodos son una gran alternativa como presa viva para la alimentación de las larvas de peces marinos; entre ellos el calanoide *A. tonsa.* es una especie con gran potencial, gracias a su perfil nutricional, diferentes tallas de crecimiento, capacidad de producir huevos en reposo y mantener viabilidad luego de ser almacenados en frío. Sin embargo, la producción de huevos en este microcrustáceo a gran escala en cultivo es un desafío en la acuicultura. Por tanto, se deben desarrollar tecnologías de cultivo para *A. tonsa* con el fin de optimizar su producción. El presente estudio evaluó en un prototipo de cultivo que permita establecer el efecto de las tasas de recambio sobre la producción de huevos; al mantener la misma velocidad corporal (115 $Lp.min^{-1}$) en las unidades de cultivo, y proporcionar así una separación continua de huevos. Este estudio fue realizado en el Laboratorio de Alimento Vivo de la Universidad de Córdoba. Tres tratamientos con tres replicas en el tiempo (T1=100, T2=150 y T3=200 volúmenes dia^{-1}) se implementaron en el prototipo diseñado; en ellas se distribuyeron en total 90000 copépodos, cada vez 30000 en los tres tanques (10000/tanque) plásticos de 5 L, alimentados con la microalga *I. galbana* (1500 µg $C.L^{-1}$). Experimento 1. La producción específica SEP ($huevos.hembra^{-1}.dia^{-1}$) y relativa REP ($huevos.mL^{-1}.día^{-1}$) se determinó con la cosecha y conteo de los huevos producidos cada 24 horas, durante ocho días consecutivos; el mayor registro (18±1,1 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$ con 200 volúmenes dia^{-1} y 15±0,5 huevos mL^{-1} $día^{-1}$ con 150 volúmenes dia^{-1}). Experimento 2. La mortalidad de adultos (M%) se estimó diariamente en submuestras de *A. tonsa* de cada tratamiento, en el día siete la M% fue máxima en todos los tratamientos (33-44%). Experimento 3. El porcentaje de eclosión de los huevos Hs (%) se determinó en los tratamientos; en 24 horas se registró superior a 75% sin diferencia significativa ($p \leq 0,05$) entre tratamientos; en 48 horas solo se presentó diferencia significativa en el día cinco, con mayor Hs en T2 (94,7±1,9%). El promedio diario de temperatura (23,3 a 24,4 °C), salinidad (30 ups), pH (7,5 a 7,6), O_2 (6,4 y 7,6 mg L^{-1}), saturación de oxígeno (85,5 a 102,3%), amonio total (0,25 mg L^{-1}), nitrito (0 mg L^{-1}) y nitrato (0 mg L^{-1}) fue registrado. En conclusión, las tasas de recambio del

prototipo diseñado tienen efecto sobre el desempeño reproductivo de este copépodo, la producción se maximiza con 150 volúmenes dia^{-1}. Este trabajo es un aporte biotecnológico para la producción de huevos de *A. tonsa* con miras a la alimentación de larvas de peces marinos en acuicultura.

Palabras claves: Acuicultura, alimento vivo, calanoides, tasas de recambio.

ABSTRACT

Copepods are a great alternative as live prey for feeding marine fish larvae; among them the calanoid *A. tonsa*. It is a species with great potential, thanks to its nutritional profile, different growth sizes, ability to produce eggs at rest and maintain viability after being stored cold. However, egg production in this microcrustacean on a large scale in culture is a challenge in aquaculture. Therefore, cultivation technologies for *A. tonsa* must be developed in order to optimize its production. The present study evaluated a culture prototype that allows establishing the effect of turnover rates on egg production; by maintaining the same body speed (115 $Lp.min^{-1}$) in the culture units, and thus providing continuous egg separation. This study was carried out in the Live Food Laboratory of the University of Córdoba. Three treatments with three replicates over time (T1=100, T2=150 and T3=200 $volumes.day^{-1}$) were implemented in the designed prototype; In them, a total of 90,000 copepods were distributed, each time 30,000 in the three 5 L plastic tanks (10,000/tank), fed with the microalgae *I. galbana* (1500 µg $C.L^{-1}$). Experiment 1. The specific production SEP ($eggs.female^{-1}.day^{-1}$) and relative REP ($eggs.mL^{-1}.day^{-1}$) were determined by harvesting and counting the eggs produced every 24 hours, for eight days. in a row; the highest record (18±1.1 female $eggs^{-1}$ day^{-1} and 15±0.5 eggs mL^{-1} day^{-1} respectively) was with 200 $volumes\ day^{-1}$. Experiment 2. Adult mortality (M%) was estimated daily in subsamples of *A. tonsa* from each treatment, on day seven the M% was maximum in all treatments (33-44%). Experiment 3. The hatching percentage of Hs eggs (%) was determined in the treatments; In 24 hours, more than 70% was recorded with no significant difference ($p \leq 0.05$) between treatments; In 48 hours, a significant difference was only present on day five, with higher Hs in T2 (94.7±1.9%). Daily average temperature (23.3 to 24.4 °C), salinity (30 ups), pH (7.5 to 7.6), O2 (6.4 and 7.6 mg L^{-1}), saturation of oxygen (85.5 to 102.3%), total ammonium (0.25 mg L^{-1}), nitrite (0 mg L^{-1}) and nitrate (0 mg L^{-1}) was recorded. In conclusion, the replacement rates of the designed prototype have an effect on the reproductive performance of this copepod, production is maximized with 150

volumes.day^{-1}. This work is a biotechnological contribution for the production of *A. tonsa* eggs with a view to feeding marine fish larvae in aquaculture.

Keywords: Aquaculture, live food, calanoids, replacement rates.

INTRODUCCIÓN

Los copépodos son los principales constituyentes del plancton marino, dentro de las redes tróficas acuáticas actúan como el principal eslabón entre los productores primarios y los organismos heterótrofos (Márquez et al., 2021; Ratnarajah et al., 2021) ya que constituyen aproximadamente el 97% de la biomasa de zooplancton (Puelles et al., 2014) siendo la principal presa viva natural para la mayoría de larvas de peces marinos (Rocha et al., 2017; Santhanam et al., 2019; Blanda et al., 2017), ocupan del 50 al 80% del contenido de estomacal de estas (Støttrup, 2000; Okazaki et al., 2019).

Actualmente la industria de la larvicultura de peces marinos a nivel mundial ha confiado en el uso de rotíferos debido a su facilidad de producción a altas densidades utilizando menor espacio a bajo costo (Yoshimura et al., 2003; Torres et al., 2016; Torres et al., 2019;) así como nauplio de *Artemia*, que se adquieren fácilmente en forma comercial a través de huevos en estado de reposo (Islam et al., 2019; Rahman et al., 2022; Ogburn et al., 2023). Entre estas presas, los copépodos han generado resultados prometedores como alimento vivo mostrando notables índices de producción y sobrevivencia en la primera etapa crucial de larvicultura (Øie et al., 2017; Zeng et al., 2018; Chan et al., 2020), al inicio de la alimentación exógena y el bajo desarrollo de su sistema digestivo (Prieto et al., 2006; Vu & Huynh., 2019). Para algunas larvas de peces con bocas pequeñas, como el mero moteado anaranjado (*Epinephelus coioides*), mandarín verde *Synchiropus splendidus* (Zeng et al., 2018), la damisela nublada *Dacyllus carneu*s (Anzeer et al., 2019), el atún rojo del Atlántico *Thunnus thynnus* (Yúfera et al., 2014) y el bacalao del Atlántico *Gadus morhua* (Puvanendran et al., 2022).

los copépodos, principalmente sus nauplios, presentan características deseables en comparación a otras presas vivas con amplia variedad en tallas para ser ingeridas (Conceição et al., 2010; Lindley et al., 2011; Hagiwara et al., 2014). Además, los copépodos cuentan con un excelente perfil nutricional sin enriquecimiento adicional

(Matsui et al., 2021; Mejri et al., 2021), y patrones de movimiento atractivo (Abate et al., 2015; Hansen, 2017; Herstoff et al., 2019; Burbano et al., 2020), gran digestibilidad y corto tiempo de desarrollo en relación con la temperatura (Abate et al., 2015; Hojgaard et al., 2017).

Lo anterior ha motivado la búsqueda de especies de copépodos con mayor viabilidad biológica para incrementar las posibilidades de lograr una óptima factibilidad tecnológica del cultivo de estos organismos como alimento vivo en la acuicultura marina (Hansen, 2017). Algunos copépodos tienen la capacidad de producir huevos en un estado de quiescencia (Holm et al., 2018; Marcus, 2005), uno de los más estudiados es la especie *A. tonsa* (Hansen et al., 2012; Hansen et al., 2016; Nilsson & Hansen, 2018). Es una especie cosmopolita que comúnmente puede producir huevos capaces de entrar en estado de reposo vistos como un modelo de negocio análogo a los cistos de *Artemia* presentando enfoques alternativos para la producción, conservación, posterior eclosión y finalmente ser ofertada como presa viva (Kaviyarasan & Santhanam, 2019; Pan et al., 2020; Wilson et al., 2021). No obstante, los esfuerzos realizados no han sido suficientes, la producción en criaderos aún es limitada, en gran parte debido a las dificultades para desarrollar una tecnología eficiente para su cultivo (Franco et al., 2017; Sarkisian et al., 2018; Jepsen et al., 2020).

Los aspectos críticos para desarrollar estas tecnologías de cultivos en copépodos giran en torno al alto costo económico de las aproximaciones tecnológicas, la dificultad de alcanzar altas densidades de adultos en cultivo (Drillet & Lombard, 2015; Franco et al., 2017). Otros argumentos expuestos consideran en la especie el largo tiempo generacional, alto canibalismo de huevos, el necesario uso de microalgas vivas o frescas como alimento y la perturbación física entre adultos (Vu et al., 2014; Drillet et al., 2015; Abate et al., 2015; Hammervold et al., 2015; Vu et al., 2017); así como, la incapacidad de producir nauplios de manera constante en cantidades suficientes para sustentar los cultivos a gran escala (Sarkisian et al., 2019), por lo que surge el interés en desarrollar y validar prototipos o sistemas de

producción masiva que garanticen una mejor producción y cosecha óptima de huevos del copépodo *A. tonsa* (Abate et al., 2015; Franco et al., 2017; Torres et al., 2019; Torres et al., 2022).

Visto como alternativa, la creación de prototipos pilotos (experimental) garantizan la separación continua de huevos por medio de un flujo de agua para transportarlos por advección hacia redes de cosecha (Sarkisian et al., 2018; Torres et al., 2022) o cámaras de recolección (Drillet et al., 2015; Toledo et al., 2005), dado que son el producto final de un sistema (Abate et al., 2015), no obstante, no se conoce en estos sistemas de cultivo de flujo continuo información que relacione el efecto de las tasas de recambio de agua sobre los índices productivos (Producción específica, relativa y eclosión de huevos) y mortalidad en adultos. Por tanto, el presente estudio tiene como finalidad evaluar distintas tasas de recambio sobre la producción de huevos viables del copépodo *A. tonsa* en un prototipo de cultivo.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar en un prototipo de cultivo tres tasas de recambio sobre la producción de huevos viables del copépodo *A. tonsa*

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la producción específica y relativa de huevos (SEP y REP, huevos hembra^{-1} día^{-1} y huevos mL^{-1} día^{-1}) bajo diferentes tasas de recambios (100,150 y 200 volúmenes día^{-1}).

- Establecer la mortalidad de adultos bajo diferentes tasas de recambio (100, 150 y 200 volúmenes día^{-1}).

- Determinar el porcentaje de eclosión de los huevos frescos a las 24 y 48 horas producidos bajo diferentes tasas de recambio (100, 150 y 200 volúmenes dia^{-1}).

- Describir los parámetros de calidad de agua bajo diferentes tasas de recambio (100, 150 y 200 volúmenes dia^{-1}) para el estudio de *A.tonsa*

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Bioecología de los copépodos

Los copépodos (del griego Kope = remar y Podos= pies) son uno de los grupos de microcrustáceos más abundantes en los hábitats acuáticos; representan del 60% al 95% de la biomasa total del zooplancton marino (de Puelles et al., 2014; Rakhesh et al., 2015; Ruíz-Pineda et al., 2016; Steinberg & Landry, 2017; Esquivel-Garrote et al., 2020; Quah et al., 2022). Tienen un papel clave en el ecosistema marino, actuando como herbívoros primarios de microalga y a su vez son una fuente importante de alimento para los niveles tróficos superiores (Chen et al., 2018; Valdés et al., 2018; Plourde et al., 2019; Hussain et al., 2020; Márquez et al., 2021).

Estos microcrustáceos por lo general, se encuentran distribuidos colonizando con éxito en casi todo tipo de hábitats marino y de agua dulce, encontrándose desde arroyos hasta aguas profundas y desde la orilla del mar hasta fuentes hidrotermales profundas (Razouls et al., 2017; Hani & Jayalakshmi, 2023). Miden usualmente 1-2 mm, son muy diversos y considerados los metazoarios más numerosos de la comunidad acuática (Torreblanca et al., 2016). Se han descrito más de 210 familias, 24000 géneros y 24000 especies reconocidas en este grupo (Santhanam et al., 2019; Santhosh et al., 2023).

Los copépodos más representantes para acuicultura son los órdenes de vida libre calanoida cyclopoida y harpacticoida (Støttrup, 2006), son preferibles para las operaciones de cultivo a escala industrial y de laboratorio como alimento vivo de las larvas de peces marinos y otros animales (Chhaba et al., 2019; Santhanam et al., 2019; Burbano et al., 2020; Fernández-Ojeda et al., 2021). En un principio los cyclopoides y harpacticoides presentaron grandes ventajas debido a soportar variaciones de temperatura y salinidad, habilidad de alimentarse de dietas vivas e inertes generando mayor fecundidad y soportar altas densidades de cultivo (100000 org L^{-1}) (Fleeger 2005; Olivotto et al., 2008). Adicionalmente, muchos harpacticoides tienden a permanecer gran parte de su vida en el bento, por lo que son menos

disponibles para las larvas que se alimentan en la columna del agua (Støttrup, 2006; Drillet et al., 2011). Ante esta desventaja, las especies de copépodos calanoides han sido consideradas como mejores candidatos para su aprovechamiento dentro de la crianza de larvas de peces, debido al tamaño pequeño de sus nauplios, ciclo de vida completamente planctónico y su calidad nutritiva (Støttrup, 2006; Conceição et al., 2010; Alajmi et al., 2014).

Los copépodos tienen una amplia variedad de hábitos alimenticios (herbívora, omnívora, detritívora, carnívora) y depende del hábitat (Fernández de Puelles, 2015; Chen et al., 2017). Por lo general, los copépodos son básicamente consumidores de fitoplancton, microzooplancton (Stoecker & Capuzzo, 1990; Calbet & Saiz, 2005), huevos y nauplios de copépodos (Boersma et al., 2014) y detritos (Iversen & Poulsen, 2007). En condiciones de laboratorio se ha demostrado que los copépodos calanoides se alimentan por filtración como: *A. tonsa, A. sinjiensis y P. crassirostris*, que se han cultivado durante múltiples generaciones en laboratorios e instalaciones de acuicultura (Blanda et al., 2015; Kline & Laidley 2015; Hansen, 2017; Torres, et al., 2022).

La optimización del protocolo de las dietas de microalgas utilizadas para alimentar a los copépodos es esencial para mejorar su cultivo masivo e inducir a la máxima fecundidad, desarrollo larval y almacenamiento nutricional (Pan et al., 2014). Varios estudios han observado los efectos beneficiosos de varios grupos de microalgas como criptofitas (*Rhodomonas, Rhinomonas*), diatomeas (*Chaetoceros, Thalassiosira*) y haptofitas (*Isochrysis*), ya sea como dietas mixtas de microalgas son más efectivas que las dietas de una sola especie (Barroso et al*.,* 2013; Zhang et al. 2013; Øie et al., 2017). Los resultados del estudio mostraron que los copépodos alimentados con las microalgas *I. galbana* y *R. salina* son las ideales, ya que aumentan la supervivencia, el crecimiento y la producción de huevos de los copépodos (Zhang et al., 2013; Arndt & Sommer 2014; Rasdi & Qin, 2018).

En general la reproducción de los copépodos es sexual (Mauchline, 1998). Los machos son más pequeños que las hembras (Hirst & Kiørboe, 2014) siendo más numerosas en los ecosistemas marinos (Kiørboe 2006; Gusmão & McKinnon 2009; Hirst et al. 2010; Prusova & Galagovets, 2022). Los copépodos son algunos de los pocos microcrustáceos que forman espermatóforos (Kiørboe, 2007; Ceballos et al., 2014; Burris & Dam 2015; Fernández de Puelles, 2015). Durante la cópula, el macho sujeta a la hembra con uno o ambos pares de antenas que presentan una serie de modificaciones con el fin de abrazar a las hembras durante la transferencia del espermatóforo al urosoma de la hembra (Bagøien & Kiørboe, 2005; Burris & Dam 2015; Fernández de Puelles, 2015), permitiendo que estas puedan desovar varios lotes de huevos antes de requerir otro espermatóforo. (Ceballos & Kiørboe 2010).

2.2. Importancia de los copépodos en acuicultura

Existen varias razones por las cuales se ha considerado a los copépodos como candidatos para dar solución a los problemas de alimentación de ciertas larvas de peces marinos y se utilizan como alimento vivo en criaderos de acuicultura (Rocha et al., 2017; Santhanam et al., 2019; Burbano et al., 2020;Fernández-Ojeda et al., 2021), presentando beneficios nutricionales (van der Meeren et al., 2008; Rayner et al., 2015; Pan et al., 2018); gran palatabilidad (Chesney, 2005; Hojgaard et al., 2017); distribución en tallas y el modo de movimiento (Abate et al., 2015; Hansen, 2017), y corto tiempo de desarrollo dependiente de la temperatura (8-14 días) (Abate et al., 2015).

Los copépodos son una importante fuente de alimento natural para las larvas de peces marinos con alto valor nutricional que los rotíferos y nauplios de *Artemia* (Rønnestad et al., 2013; Abate et al., 2016; Øie et al., 2017; Jepsen et al., 2021), ya que presentan un alto contenido de proteínas y lípidos, principalmente de ácidos grasos esenciales altamente insaturados (HUFA), particularmente ácido docosahexaenoico (DHA); el ácido eicosapentaenoico (EPA); además del ácido araquidónico (ARA) (Pan et al., 2014; Rocha et al., 2017; Kandathil Radhakrishnan et al., 2020; Mejri et al., 2021); antioxidantes naturales y enzimas digestivas (Pan et

al., 2014; Rasdi & Qin 2016; Nogueira et al., 2018), carotenoides y otros compuestos esenciales (van der Meeren et al., 2008; Perumal et al., 2015). Estas características de presa atractiva son deseables debido a su perfil nutricional expresados por diferentes autores para explicar los mejores resultados comparativos con las presas convencionales en términos de crecimiento, supervivencia y desarrollo de las larvas de peces marinos (Hamre et al., 2005; Abate et al., 2015; Rocha et al., 2017). Estos beneficios de los copépodos como alimento vivo en la industria de la acuicultura y la factibilidad biológica del cultivo ya han sido ampliamente documentados (Drillet et al., 2015; Vu et al., 2017; Nogueira et al., 2017; Franco et al., 2017; Jakobsen et al., 2018).

El copépodo *Acartia tonsa* pertenece a la familia calanoide, es una especie cosmopolita que poseen características biológicas deseables como alimento vivo adecuado en varios estudios de larvicultura (Hansen et al., 2016; Øie et al., 2017; Nogueira et al., 2017; Vanacor-Barroso et al., 2017). Este género ha sido reportado en el Caribe Colombiano (Medellín-Mora & Navas, 2010), que presenta fuertes variaciones productivas y bioquímicas (Drillet et al., 2008), tales como una gran producción de huevos (Franco et al., 2013; Torres et al., 2022) y el potencial de almacenar los embriones desde semanas hasta varios meses a bajas temperaturas (2-4°C) y oscuridad (Hansen et al., 2016; Hagemann et al., 2016; Jørgensen et al., 2019), lo cual genera un particular interés, puesto que abre nuevas posibilidades de aplicación y comercialización de los copépodos para acuicultura (Drillet et al., 2011).

2.3 Tecnología de cultivo de calanoides

La recolección continua de copépodos en cantidades significativas es importante tanto en el contexto científico como en el campo fisiológico, ecológico y taxonómico, y en la producción pesquera donde los copépodos se utilizan como primer alimento para la cría de larvas de peces, camarones o moluscos (Vu et al., 2017; Zeng et al., 2018) Por tanto, es necesario saber cultivar y producir copépodos a mayor escala (Wei Li et al.,2021).

En un principio los cultivos estaban basados en métodos extensivos, usando grandes áreas como lagunas, estanques o grandes tanques (Pham, 2014), los cuales son sistemas simples pero que solo alcanzan bajas densidades de copépodos (Stottrup, 2003; Conceição *et al*., 2010), estas tecnologías no permiten un control físico de las condiciones de cultivo y de las variaciones estacionales en términos de composición de la biomasa y especies disponibles (Stottrup, 2003).
Las ventajas y desventajas de la producción intensiva incluyen mayores requisitos tecnológicos de infraestructura y mano de obra (Santhanam et al., 2019).

El cultivo intensivo proporciona bioseguridad mejorada, huella y uso de agua reducidos, y un mayor control sobre las tasas vitales, la estructura de la población, la alimentación y otros factores ambientales (McKinnon et al., 2003; Støttrup, 2000). Los intentos de producir *A. tonsa* de forma intensiva se han basado en métodos de cultivo por lotes en tanques donde producen huevos que luego se separan del cultivo, eclosionan y crecen al tamaño apropiado para alimentar a los peces o repoblar el cultivo de adultos (Støttrup et al., 1986; Marcus y Wilcox, 2007; Abate et al., 2015).

La factibilidad tecnológica del cultivo de copépodos con una base de ingeniería aplicada a la acuicultura es aún limitada, los argumentos giran en torno al alto costo económico de las aproximaciones tecnológicas que han sido abordadas para la producción intensiva y se explican principalmente por el largo tiempo generacional de los copépodos, alto canibalismo, el uso de microalgas vivas o frescas como alimento (Vu et al., 2014; Abate et al., 2015; Hammervold et al., 2015; Vu et al., 2017) la perturbación física entre adultos conduce a menos tiempo de alimentación y menos fertilidad (Drillet et al., 2015). Sin embargo, el canibalismo de *A. tonsa* es el argumento más aceptado para explicar lo anterior ya que los adultos podrían consumir hasta 20 huevos hembra^{-1} (Drillet et al., 2014; Drillet y Lombard, 2015).

De modo que, para evitar el canibalismo, es fundamental separar los huevos de los adultos para así obtener una cosecha óptima (Drillet et al., 2015; Drillett et al., 2011).

Una tendencia tecnológica de cultivos es la validación de prototipos pilotos (experimental y demostrativo) (Abate et al., 2015), diseños que permiten la separación de los huevos: eliminación por sifón diario del fondo del tanque (Støttrup et al., 1986) o utilizando el flujo de agua para transportarlos por advección hacia redes (Sarkisian et al., 2018, Torres et al., 2022) o cámaras de recolección (Drillet et al., 2015, Toledo et al., 2005). Una ventaja de estos prototipos de cultivo es mantener las condiciones ambientales relativamente estables se basa en la automatización y recirculación del agua, esta última es una tecnología de cultivo que facilita la mantención de las condiciones ambientales relativamente estables y además permite la automatización de las operaciones unitarias físicas, químicas y biológicas (Drillett et al., 2011).

3. ANTECEDENTES

Entre las diferentes especies del zooplancton de uso en acuicultura, los copépodos se destacan como organismos de gran importancia en cultivo debido a que presentan características ideales para la primera alimentación de larvas de peces marinos (Sunar & kir, 2021) en especial el tamaño pequeño y el contenido adecuado de nutrientes (Mejri et al., 2021; Chintadaa et al., 2022). Sin embargo, el uso de copépodos como alimento para larvas está limitado por la incapacidad de producirlos de manera constante en cantidades suficientes para sustentar los cultivos a gran escala (Sarkisian et al., 2019; Santhanam et al., 2019). El potenciar tecnologías de cultivo en sistemas de producción de los copépodos permitirá maximizar la producción (Alajmi et al., 2015; Kline et al., 2015).

El estudiar la tasa reproductiva (huevos hembra^{-1} día^{-1}) en copépodos, la cantidad total de huevos que se puede producir por unidad de volumen es de igual o mayor importancia, la cual se puede alcanzar si se desarrollan sistemas de producción con mayores densidades de adultos en cultivo con los mínimos efectos sobre la tasa reproductiva (Franco et al., 2017). La especie *A. tonsa.* ha sido cultivada en sistemas de producción intensiva hasta 320 L con 5 adultos. mL^{-1}, con tasas de 10 huevos hembra^{-1} día^{-1}, para generar 8 millones de huevos diarios (Abate et al., 2015).

En este sentido, Sarkisian et al. (2019) describen un diseño innovador para un sistema intensivo de cultivo por lotes para producir el copépodo *A. tonsa* cuenta con unidades integradas de crecimiento y producción de huevos; donde la producción del sistema fue en promedio de 22 millones de huevos por día con una tasa de eclosión promedio del 49 %, siendo un gran aporte para la investigación en la parte de producción a gran escala del copépodo. Recientemente, Torres et al. (2022) diseñaron un prototipo de alta densidad (7 adultos mL^{-1}) basado en la separación continua de huevos del copépodo *A tonsa* y lo compararon con la recolección diaria de huevos por sifón (sistema de control) donde se determinó la producción específica y la producción relativa de huevos; así mismo la frecuencia respiratoria a cuatro velocidades corporales en el sistema de filtros (57, 115, 173 y 231 PL min^{-1};

PL, longitud del prosoma), correspondientes a cuatro tasas de recambio de agua (50, 100, 150 y 200 volúmenes día^{-1}). La producción fue de 32 ± 1,5 huevos hembra^{-1} día^{-1}, correspondiente a 100 volúmenes día^{-1} y de 105 ± 10 huevos mL^{-1} día^{-1} por lo que un mayor flujo de agua no aumentó la producción de huevos.

Sobre el tema Drillet et al. *(*2014) evaluaron la producción de un sistema convencional de cosecha de huevos del copépodo *A. tonsa*, utilizaron como criterios de valoración la producción de huevos (EP), la producción de huevos de eclosión retardada (DHE), el éxito de eclosión (HS), la mortalidad de los huevos y la calidad del agua. En el sistema actual, con una población >5000 individuos L^{-1} sin afectar la mortalidad, la cosecha de huevos alcanzó un óptimo de 12000 huevos L^{-1} día^{-1} a 2500 individuos L^{-1}; el éxito de eclosión de los huevos producidos a altas densidades de copépodos fue estadísticamente menor que el de los huevos producidos a densidades más bajas.

Jepsen et al. (2007), evaluaron el efecto de la densidad poblacional del copépodo calanoideo *A. tonsa* en un experimento de 96 h, relacionan que la producción de huevos dependiente de la densidad y la viabilidad de los huevos; analizaron densidades de población de 100, 200, 300, 400 y 600 adultos L^{-1}; teniendo en cuenta la temperatura, mantuvieron la saturación de oxígeno y la concentración de algas óptima; reportan una mortalidad de 15-19%, la producción promedio de huevos fue de 22,5± 8,8 huevos hembra^{-1} día^{-1} y el éxito promedio de la eclosión de los huevos fue 84,7± 4,8%. Recomiendan la práctica para la industria acuícola, los cultivos de copépodos con densidades que van desde 100 a 600 adultos L$^{-1.}$

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Alimento Vivo del Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC), Municipio de Montería, departamento de Córdoba, cuyas coordenadas geográficas son 8º 47.5' Latitud Norte y 75º 51.8' Longitud Oeste, a una altitud de 15 metros sobre el nivel del mar, humedad relativa del 80%, precipitación promedio anual de 1100 mm y una temperatura promedio anual de 32.5 ºC (Figura 1).

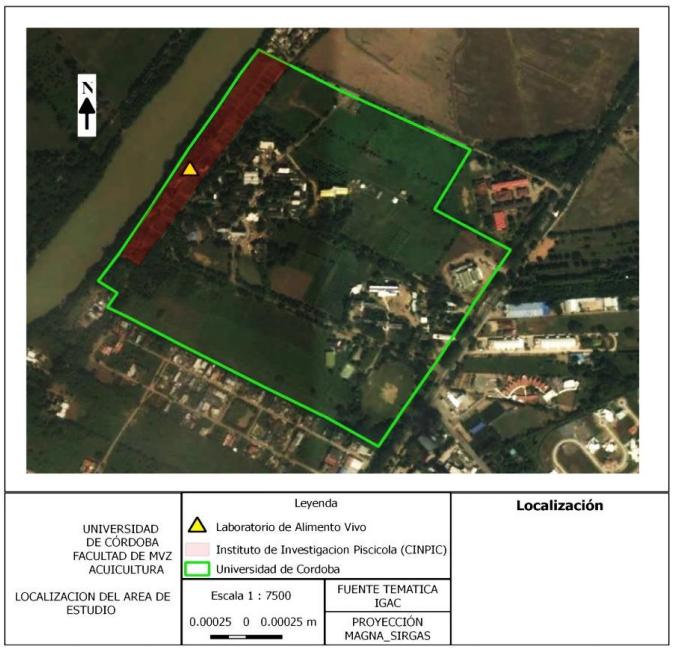

Figura 1. Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC). Fuente: autor & Google Earth (2022)

4.2. Tipo de estudio

El presente estudio es de tipo experimental, se realizó con el fin de evaluar distintas tasas de recambio sobre la producción de huevos viables del copépodo *A. tonsa* en un prototipo de cultivo.

4.3. Biomasa de la microalga *Isochrysis galbana*

La cepa de la microalga *I. galbana*, fue suministrada por el laboratorio de Alimento Vivo del CINPIC. Para generar la biomasa de la microalga se utilizó agua marina

filtrada con malla de 20 µm, esterilizada en autoclave (15 lbp x10 min)**,** enriquecida con F/2 (Guillard & Ryther, 1962). El cultivo se realizó con el método propuesto por Prieto (2005), el cual consiste en cultivos escalonados que emplea diferentes volúmenes, desde manejo de cepas en tubos de ensayo pasando por volúmenes de 250 mL, 500 mL, 1 L, 2 L (Erlenmeyers), 10 L, 20 L y 40 L en bolsas plásticas con aireación constante al interior del laboratorio a temperatura de 23°±0,1 °C (aire acondicionado), salinidad de 30 ups, fotoperiodo de 12:12 h (luz: oscuridad). Los cultivos iniciaron con concentración de 150 µg $C.L^{-1}$ hasta obtener 1500 µg $C.L^{-1}$. La cual fue utilizada para la alimentación de la especie de copépodos *A. tonsa* en su fase experimental.

4.4. Biomasa del copépodo *A. tonsa*

El material biológico del copépodo *A. tonsa*, fue suministrado por el laboratorio de Alimento Vivo del CINPIC. Para generar la biomasa de copépodo se utilizó agua marina filtrada y esterilizada bajo las condiciones anteriores. El cultivo se realizó en volúmenes escalonados partiendo de 250 mL hasta 40 L, bajo las mismas condiciones de temperatura, salinidad y aireación constante (piedra difusora) descrita anteriormente. Diariamente se colectaron huevos los cuales fueron desinfectados con 100 ppm de formol y almacenados en tubos de ensayo, en oscuridad y bajo temperatura de 2 a 4 °C en nevera portátil (Alpicool –FBM, USA), con el fin de eclosionarlos posteriormente obteniendo la cantidad necesaria para producir los adultos requeridos por los experimentos.

Después de un periodo de tiempo se procedió a eclosionar 750000 huevos en recipiente de vidrio con volumen útil de 3 L de agua de mar filtrada con malla de 20 µm, aireada vigorosamente con piedra difusora, 12 h de luz (500 lx) con una lámpara fluorescente a 23°±0,1 y salinidad de 30 ups. A las 24 h de incubación se añadieron 450µg $C.L^{-1}$ de *I. galbana* a la alimentación de los nauplios eclosionados. A las 48 h de incubación se suspendió la aireación por 15 min y se realizó recambio total del volumen. Los nauplios se sembraron en tanque acrílicos de 40 L y se llevaron a la edad adulta. Las condiciones de crecimiento de los copépodos fueron temperatura 28 °C, salinidad 20 ups, fotoperíodo 12:12 h (luz: oscuridad), aireación suave

mediante piedra difusora y 50% de recambio de agua cada tercer día hasta alcanzar el estado adulto de los copépodos. Los copépodos se alimentaron con microalga *I.galbana* (1500µg C.L^{-1}). El agua de mar fue filtrada con malla de 20 µm y esterilizada con luz UV.

4.5. Diseño del prototipo de cultivo

El diámetro de los tubos para el diseño de los filtros del recambio del agua en las unidades de cultivo (UC) a fin de mantener flujos de agua 100, 150 y 200 volúmenes día^{-1} y que permitieran mantener una velocidad corporal de 115 Lp.min^{-1} del copépodo *A. tonsa* para esta especie en cultivo, se utilizó la ecuación y lo establecido por Torres et al. (2022):

$$D = 2\,x\,\sqrt{[(\frac{R\,x\,V}{Vf\,x\,LP\,x\,0{,}288}) \div \pi]}$$

Dónde, "D" representa el diámetro del tubo en cm, "R" tasa de recambio en volúmenes por día, "V" el volumen de cultivo en cm^3, "LP" la longitud del prosoma de *A. tonsa* en µm y "Vf" velocidad en Lp.min^{-1}

La longitud del prosoma (LP) de hembras del copépodo *A. tonsa* se estableció en 870 µm luego de realizar mediciones de 20 hembras adultas en microscopio con ocular micrométrico (LEICA CME, USA-Morrisville). Para las tasas de recambio de 100, 150 y 200 volúmenes.dia^{-1} se logró establecer un caudal constante de 347, 521 y 694 mL^{-1}.min^{-1}, respectivamente. Para lograr las tasas de recambio mencionadas y retener los adultos de copépodos se diseñó un filtro circular con tubos de PVC con malla de 200 µm en ambas caras (figura 2).

El prototipo constaba de tres unidades: 1) Unidad de cultivo (UC): es un tanque circular fondo plano con volumen de 5 L, con aireación constante a través de piedra difusora, en oscuridad y un filtro circular con malla de 200 µm, diseñados con tubos de PVC de 3" (100 Volúmenes dia^{-1} (T1)) y tubos PVC de 4" (150 Volúmenes dia^{-1} (T2) y 200 Volúmenes dia^{-1} (T3)) para mantener la tasa de recambio requerida en cada UC. Este filtro se ubicó en el centro de la UC para retener a los adultos y permitir que los huevos fueran enviados pasivamente a la unidad de recolección de

huevos (Figura 2). Las UC se encontraban por triplicado para cada tasa de recambio. 2) Unidad de recolección de huevos (URH): es un tanque circular de 10 L con un colector de heces en su interior con malla de 120 y 100 µm, uno encima del otro que permita retener heces y el paso de los huevos. Además, la URH tiene un filtro circular con malla de 65 µm para impedir la salida de huevos de la unidad, debajo del filtro se colocó una manguera de 1/8" con aireación fuerte para evitar que se obstruyera el filtro con material particulado.

El filtro se fue anclado al URH a través de un tubo de PVC de ½" (Figura 2). La unidad de bombeo (UB): consiste en un tanque de 35 L con una bomba de agua BDP750 de 3000 L/H (Resun®, China-Shenzhen), que colecta el agua de las URH y la devuelve a un tanque de nivel de 15 L (TN) a través de una manguera de ½" que se encuentra por encima de las UC, este que a su vez envía el agua a las UC a través de tubería de PVC de 1" completando el ciclo en el prototipo (Figura 2).

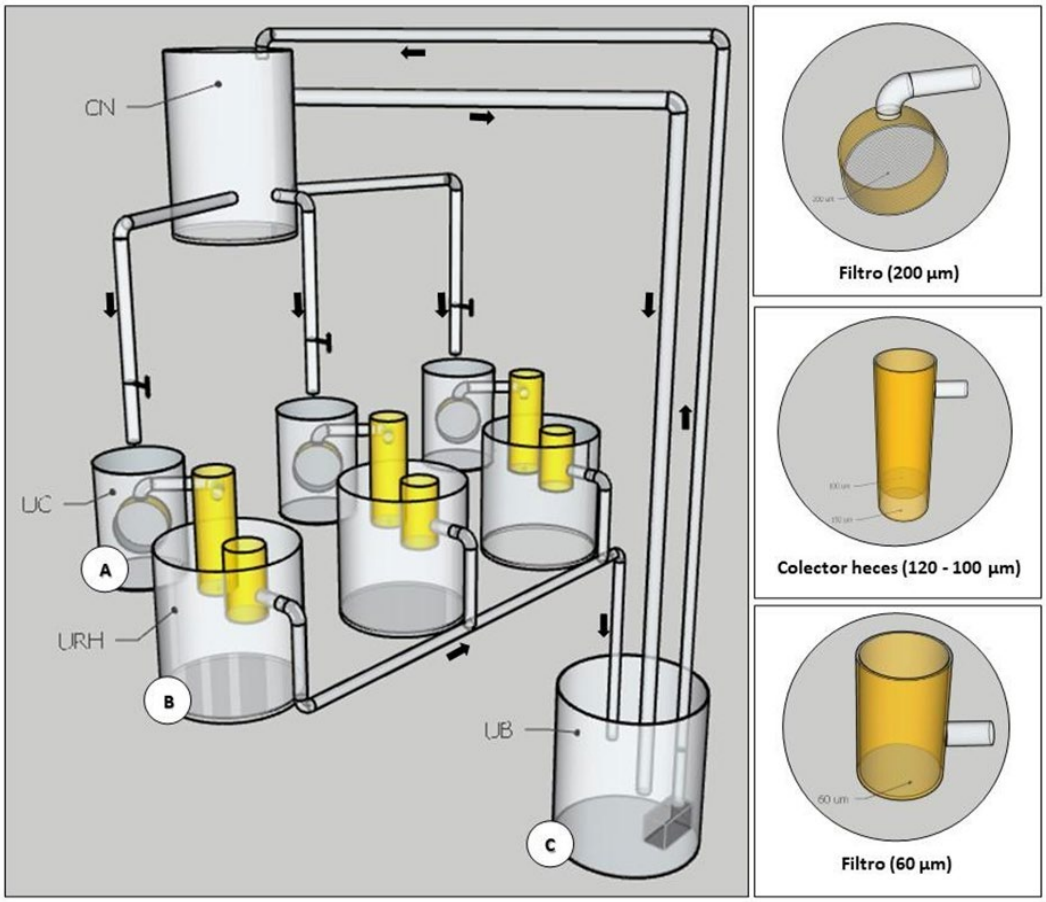

Figura 2. Prototipo de cultivo *A. tonsa*. A: Unidad de cultivo, B: Unidad de recolección y C: Unidad de bombeo y caja de nivel. Las flechas indican la dirección del flujo de agua de cultivo.

4.6. Unidades experimentales

Para evaluar la producción y viabilidad de huevos del copépodo A. *tonsa.* se utilizó el prototipo de sistema de cultivo con tres tasas de recambio de agua por triplicado así: 100 volúmenes dia^{-1} (T1), 150 volúmenes dia^{-1} (T2), y 200 volúmenes dia^{-1} (T3), para un total de nueve unidades de cultivo, descritas anteriormente; se depositaron 10000 copépodos adultos (2 adultos.mL^{-1}), alimentados con la microalga *I. galbana* en concentración de 1500µg C.L^{-1}, durante ocho días consecutivos y cada 24 h, se terminaron los índices productivos: producción de huevos específica (SEP) y relativa (REP) (huevos hembra^{-1} día^{-1} y huevos mL^{-1} día^{-1}, respectivamente).

Los huevos producidos de las poblaciones de *A. tonsa* bajo las diferentes tasas de recambio de agua se cosecharon y contabilizaron bajo microscopio (LEICA DM550, USA) con cámara Sedgwick Rafter. La mortalidad de adultos de *A. tonsa* en cada unidad experimental fue determinada diariamente por muestreo de 40 mL previo al conteo con la ayuda de un estereoscópico (LEICA EZ4, CHINA). El porcentaje de eclosión de huevos (%) se determinó entre 80-100 huevos (84,6±2,4 µm) de cada tratamiento (100,150 y 200 volúmenes dia^{-1}) previo al conteo bajo el microscopio (LEICA DM500, USA) con cámara Sedgwick Rafter. luego fueron depositados en cámaras de 6 pozos (10mL/Pz); posteriormente cada 24 y 48 h fue estimado el porcentaje de eclosión (HS, %) en cada tratamiento.

4.7. Producción específica y relativa de huevos *A.tonsa*

La producción de huevos específica y relativa de *A.tonsa* se determinó mediante huevos colectados diariamente, posteriormente concentrados y contabilizados durante ochos días y se expresaron en las siguientes unidades huevos hembra^{-1} día^{-1} (PEH) y huevos L^{-1} día^{-1} (REP), teniendo en cuenta las siguientes fórmulas propuestas por Franco et al. (2017) y Vu et al. (2017).

- **Producción de huevos específica (SEP)**

$$SEP = \left(\frac{Nh * 2}{D * V}\right)$$

Dónde, “Nh” es el número de huevos cosechados, “D” es la densidad de adultos y “V” es el volumen de cultivo (mL^{-1}).

- **Producción de huevo relativa (REP)**

$$REP = \left(\frac{Nh}{V}\right)$$

Dónde, “Nh” es el número de huevos cosechados y “V” es el volumen de cultivo (mL^{-1}).

4.8. Mortalidad de adultos de *A. tonsa*

Diariamente en las unidades de cultivo con 100, 150 y 200 volúmenes dia^{-1} de recambio de agua, se tomaron muestras de 40 mL con el fin de determinar el número de adultos vivos y muertos. Posteriormente se hacía la reposición del número de muertos para mantener la densidad inicial en cada unidad de cultivo. La mortalidad de adultos se calculó usando la fórmula propuesta por Torres et al. (2022):

$$M = \left(1 - \frac{Df}{Di}\right) * 100$$

Dónde, “Df” es la densidad final en un día y “Di” es la densidad inicial.

4.9. Porcentaje de eclosión de huevos *A. tonsa*

Los huevos frescos de *A.tonsa* fueron concentrados usando un tamiz con malla de 60 µm y se limpiaron con agua de mar estéril (23 °C, 30 ups y filtrado a 20 µm). Luego los huevos se desinfectaron con 100 ppm durante 2 minutos previo al conteo bajo el microscopio (LEICA DM500, USA) con cámara Sedgwick Rafter. Después entre 80 – 100 huevos de cada tratamiento fueron depositados en placas multipozos de 6 pozos (con 10 mL/pozo) con agua de mar estéril (23 °C, 30 ups y filtrado a 20 µm). Luego de 24 y 48 h de inicio se contaron en cámara Sedgwick Rafter los huevos no eclosionados y nauplios presentes bajo el microscopio. El porcentaje de eclosión (HS, %) se calculó usando la fórmula propuesta por Torres et al. (2022):

$$Hs\ (\%) = \left(\frac{Nf}{No}\right) * 100$$

Dónde, “Nf” es el número de nauplios y “No” es el número total de huevos no eclosionados y nauplios

4.10. Parámetros de calidad de agua

Con la finalidad de mantener las condiciones óptimas del prototipo de cultivo con tres tasas de recambios sobre la producción de huevos viables del copépodo *A. tonsa,* diariamente y durante todo el periodo experimental se registraron los parámetros: oxígeno disuelto, saturación de oxígeno y la temperatura empleando un YSI 550A USA. Las concentraciones de pH, amonio total, nitrito y nitrato utilizando un Kit Api Freshwater Master, USA.

4.11. Análisis estadístico

Los valores de las variables evaluadas fueron expresados como promedio más o menos la desviación estándar. Un diseño completamente al azar (DCA) se implementó con tres tratamientos, por triplicado en el tiempo, para un total de nueve unidades experimentales. las pruebas para los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilkp <0.05), homogeneidad de varianza (Bartlett p<0.05) e independencia de los errores (Durbin Watson p<0.05) se realizaron. Las medias de los tratamientos fueron comparadas con ANOVA a una vía de clasificación y prueba de comparación de medias de Tukey, o Kruskal-Wallis para establecer diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Los datos fueron procesados utilizando el software estadístico IBM SPSS Statistic.

5. RESULTADOS

5.1. Producción específica de huevos (SEP)

En la figura 3, se describe la producción específica de huevos *A. tonsa* bajo tres tasas de recambio de agua, donde la mayor producción específica se registró en el día quinto para el T3 (18±1,13 huevos hembra^{-1} día^{-1}) con diferencias significativas con T1 y T2 (10±1,8 y 14±1,6 huevos hembra^{-1} día^{-1}) ($p<0,05$). Para el día sexto se registró la mayor producción en el T2 (17±0,9 huevos hembra^{-1} día^{-1}) con diferencia significativa con T1 (11±0,7 huevos hembra^{-1} día^{-1}) ($p<0,05$). En cuanto al T1 la mayor la producción específica se registró el día séptimo (15±1,77 huevos hembra^{-1} día^{-1}), sin diferencia significativa con los demás tratamientos ($p>0,05$). Cabe señalar que la mejor producción específica de huevos para hembras adultas del copépodo *A. tonsa* se registraron para las tasas de recambio de 150 y 200 volúmenes día^{-1} en los últimos días 5 al 7 del presente estudio.

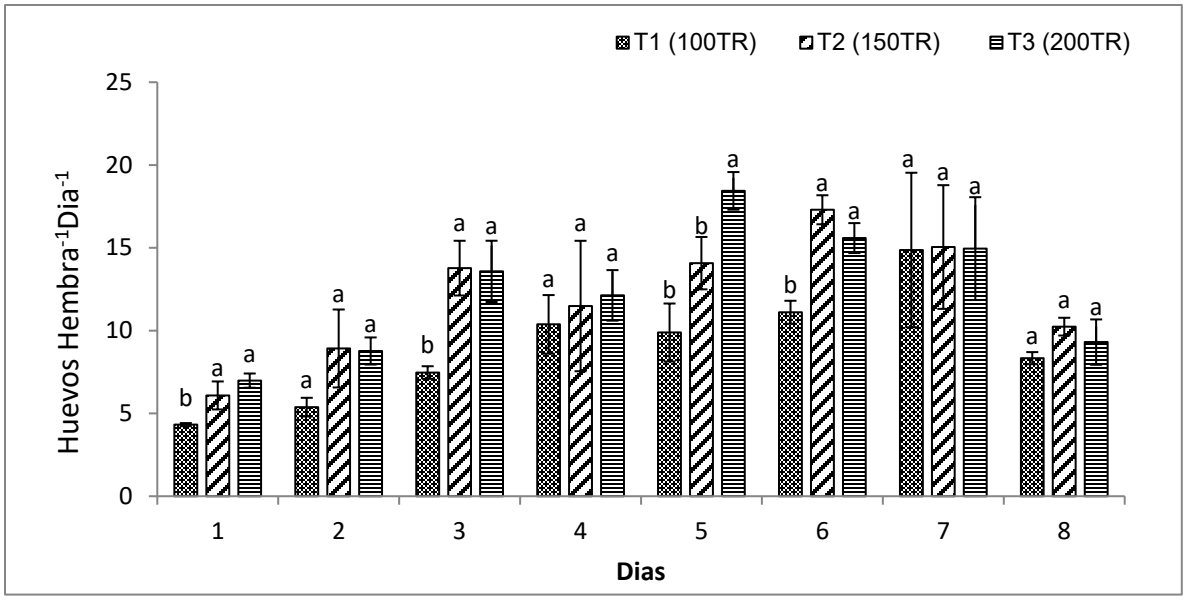

Figura 3. Producción especifica (SEP) de huevos del copépodo *A. tonsa* generados por adultos específicamente (huevos hembra^{-1} día^{-1}); evaluados en tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa ($p<0,05$).

5.2.1. Producción relativa de huevos (REP)

La producción relativa de huevos *A. tonsa* generada bajo tres tasas de recambio de agua se presenta en la figura 4. Todas las tasas de recambios permitieron la producción de huevos con diferencias en la cantidad colectada del copépodo. La mayor producción relativa se registró en el sexto día para el T2 (15±0,1 huevos mL^{-1} $día^{-1}$) con diferencia significativa con T1 (9±1,5 huevos mL^{-1} $día^{-1}$) ($p < 0,05$). Seguidamente la mayor producción relativa se registró en el quinto día para el T3 (15±0,5 huevos mL^{-1} $día^{-1}$) con diferencia significativa con T1 (10±0,2 huevos mL^{-1} $día^{-1}$) ($p < 0,05$). Finalmente, para el T1 (10±1 huevos $mL^{-1}día^{-1}$) sin diferencia significativa con los demás tratamientos ($p < 0,05$).

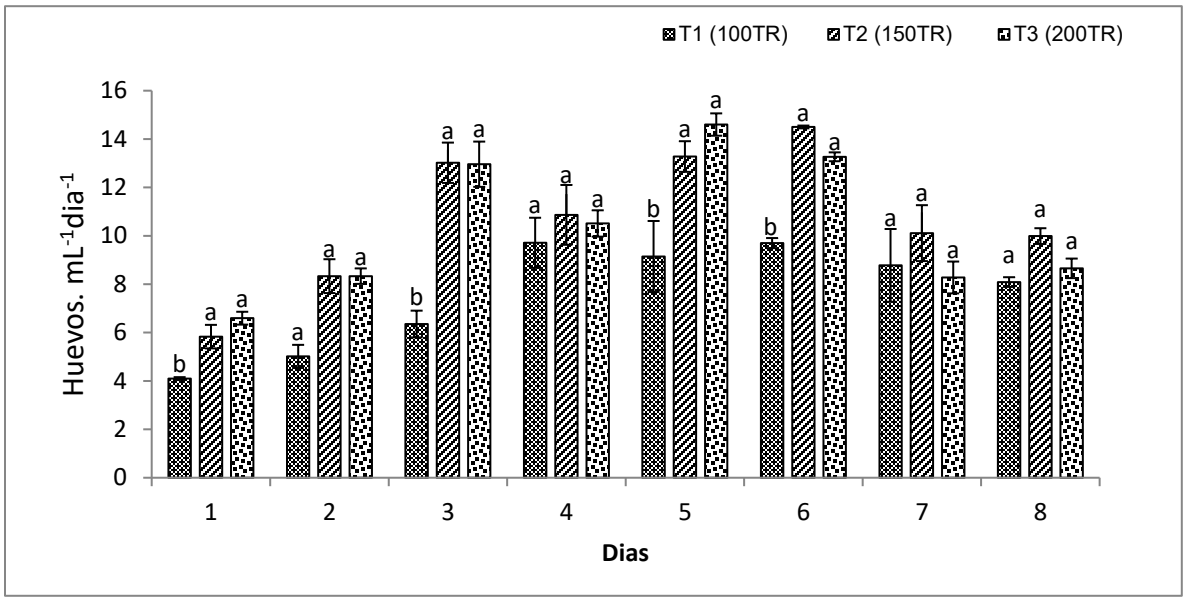

Figura 4. Producción relativa de huevos (REP) del copépodo *A. tonsa* generados por adultos específicamente (huevos mL^{-1} $día^{-1}$); evaluados en tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes $día^{-1}$; T2: 150 volúmenes $día^{-1}$ y T3: 200 volúmenes $día^{-1}$). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa ($p<0,05$).

5.3 Mortalidad de adultos *A. tonsa*

En la figura 5, se presenta el porcentaje de mortalidad de adultos *A. tonsa* generado bajo las distintas tasas de recambio de agua. El mayor porcentaje de mortalidad se presentó para el séptimo día en el T3 (44,17±4,6) seguido del T1 (41,63±5,9) y T2 (33,3±3,8) sin diferencia significativa entre los tratamientos ($p >0,05$). Cabe señalar que la mortalidad diaria inicial para el cuarto día experimental, es mayor en el T3 (13,6±2,8) con diferencias significativas con el T1 y T2 (6,6±1,7y 5,3 ±0,6) ($p<0,05$). La misma tendencia se presenta para el día cinco donde el valor porcentual de la

mortalidad diaria promedio es mayor en el T3 (20,7±5,8) con diferencias significativas con el T1 y T2 (7,5±1 y 5,6 ±1,9) (p<0,05).

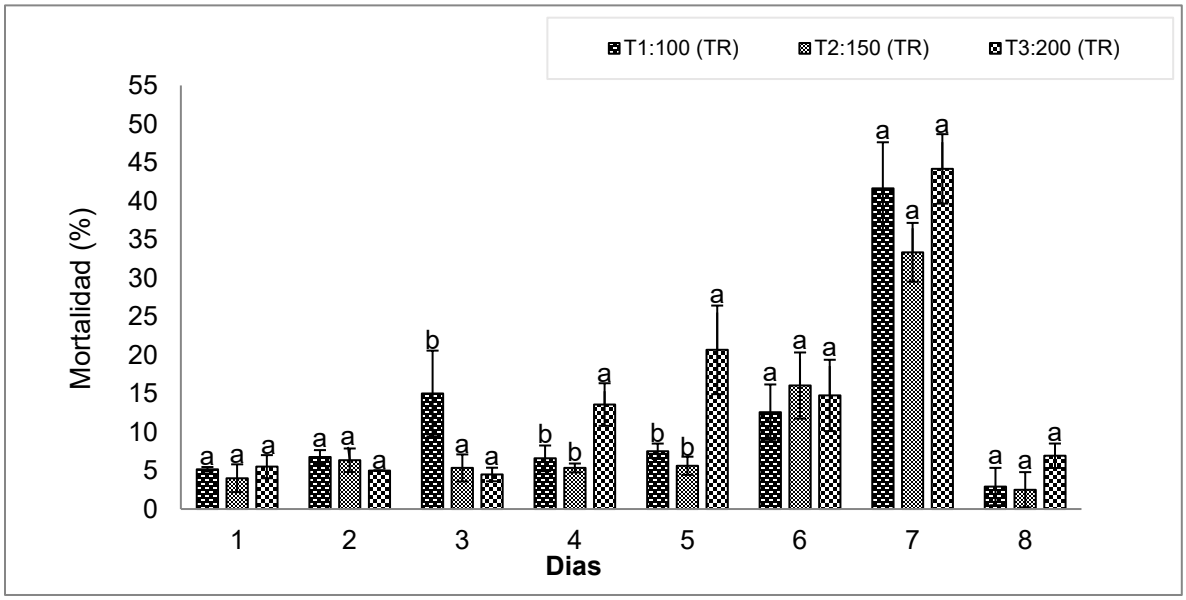

Figura 5. Mortalidad de adultos del copépodo *A. tonsa* en cultivo con tres tasas de recambios (TR): (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresadas como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05).

5.4 Porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa*

El porcentaje de eclosión en huevos (Hs) *A. tonsa* generados bajo tres tasas de recambio de agua se presenta en la figura 6. La eclosión de nauplios de copépodo se registró superior al 70% para todas las tasas de recambio experimentales evaluadas. El mayor porcentaje de eclosión a las 24 h se registra el tercer día para el T2 (90,6± 2,5%), seguido del T1 (88,3 ±3,5%) y T3 (85,1 ±3,8%) sin diferencia significativa entre los tratamientos (p >0,05) (Fig. 6a). Para las 48 horas, el mayor porcentaje de eclosión se registró el día 5 en el T2 (95±2%) con diferencia significativa con T1 (90±3,3%) y T3 (88,3±2,8%) (p <0,05) (Fig. 6b).

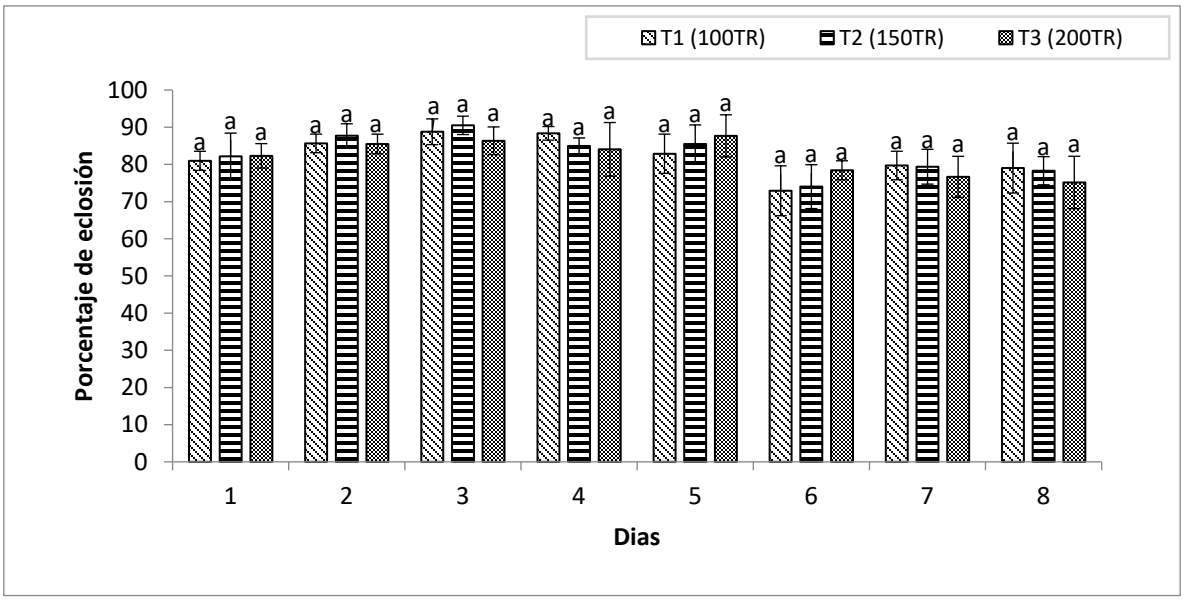

Figura 6a. Porcentaje de eclosión de huevos del copépodo *A. tonsa (*24 horas). Huevos colectados en fresco durante 8 días en tres tasas de recambios: (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3:200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresados como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05).

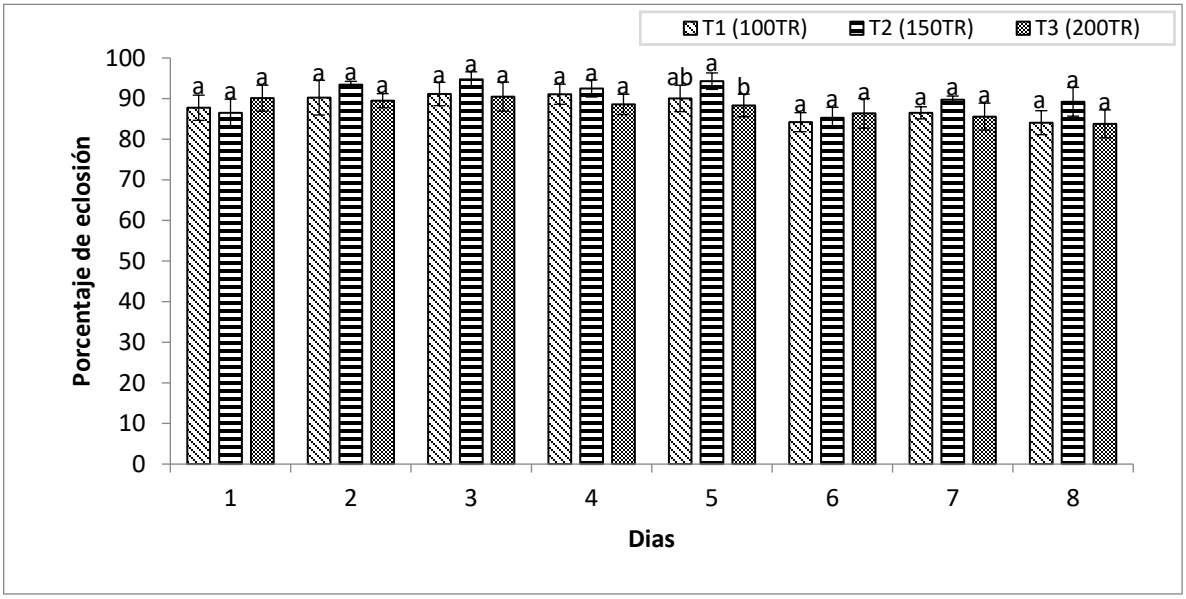

Figura 6b. Porcentaje de eclosión de huevos del copépodo *A. tonsa* (48 horas). Huevos colectados en fresco durante 8 días en tres tasas de recambios: (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}). Comparación de medias expresados como promedio ±SD; Letras diferentes en el mismo día expresan diferencia significativa (p<0,05).

5.5 Parámetros de calidad de agua

Durante el registro de los índices de producción (REP; SEP) y la mortalidad de adultos *A. tonsa* en un prototipo de cultivo, se llevó a cabo el seguimiento de los parámetros de calidad de agua. En la figura 7, se

muestra como la temperatura osciló entre 23,3±0,2°C y 24,4±0,4°C, a partir del segundo y séptimo día experimental. Cabe señalar que la mayor temperatura promedio se registró para el T1 (24,4±0,4°C) seguido del T3 (24,3±0,1 °C) y T2 (24,1±0,3 °C) sin diferencias significativas (p>0,05) (Figura 7). La salinidad del agua en el cultivo del copépodo *A. tonsa* se mantuvo estable (30±0 ppm) para los tres tratamientos sin diferencias significativas p>0,05 (figura 8).

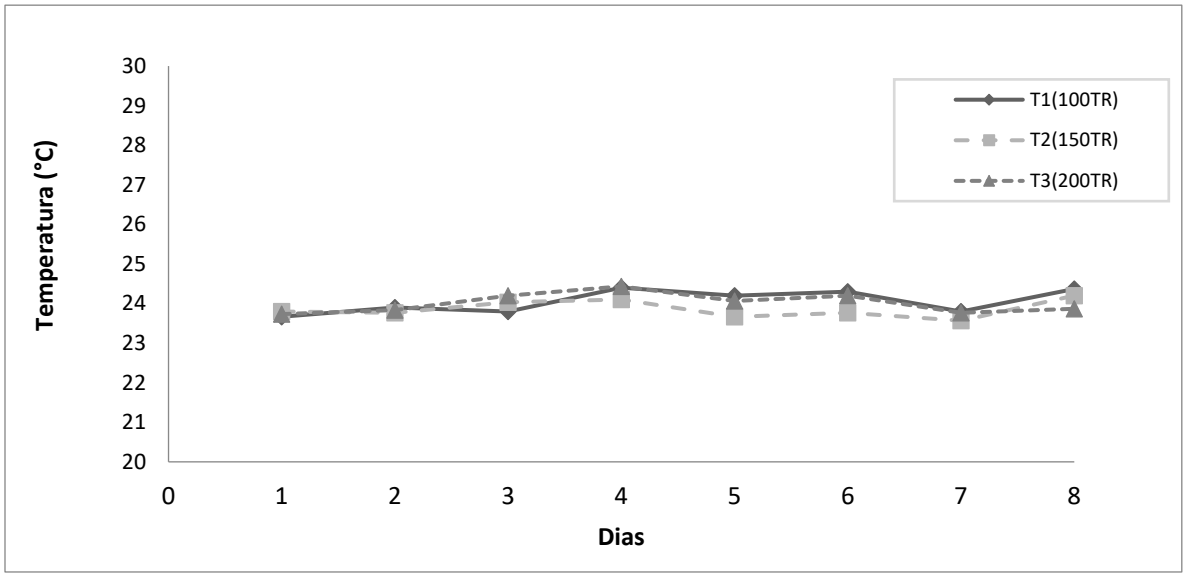

Figura 7. Comportamiento diario de la temperatura durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD.

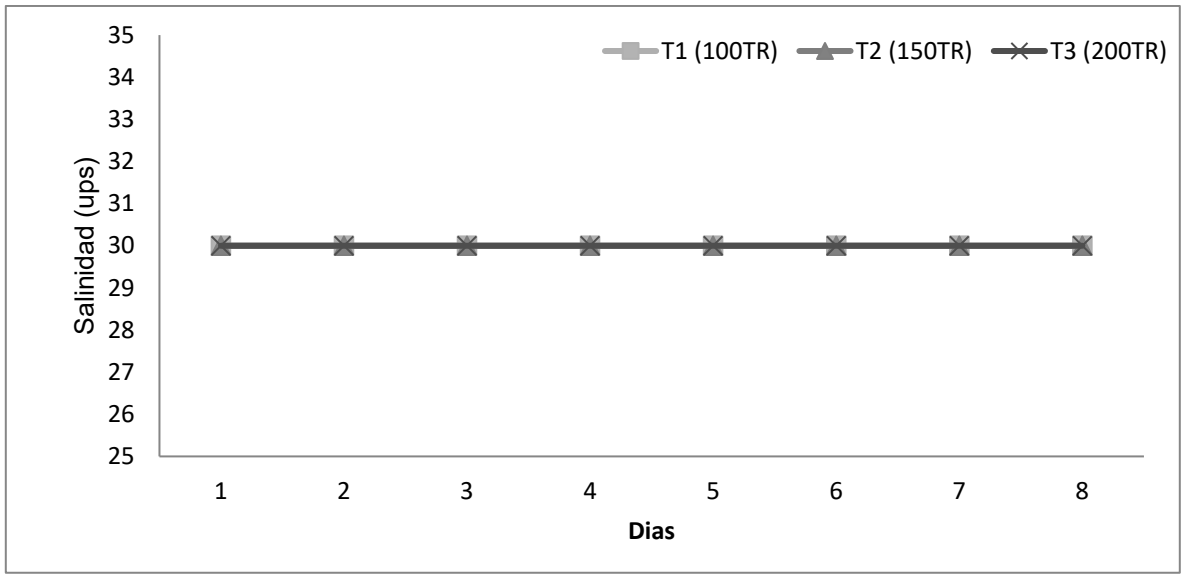

Figura 8. Comportamiento diario de la salinidad durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD.

La saturación de oxígeno registrada se muestra en la figura 9, la saturación de oxígeno más alta se registró el día 8 para el T1 (102,3±2,1%) seguido del T2 (100,4±0,7%) y T3 (99,3±1,1%), sin diferencia significativa entre los tratamientos (p>0,05)

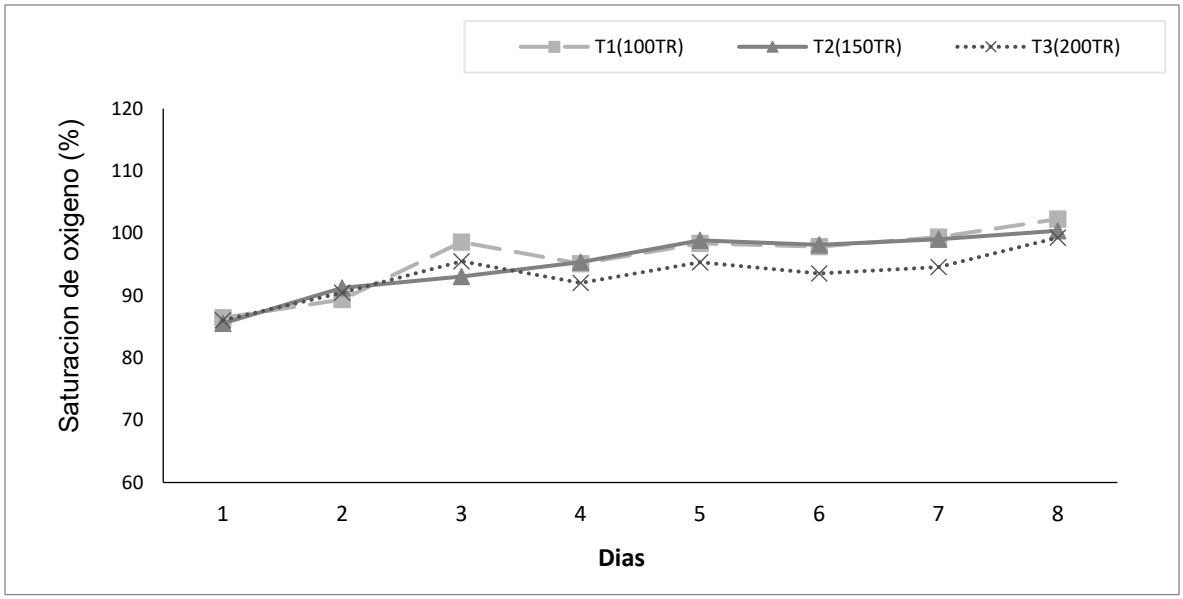

Figura 9. Comportamiento diario del porcentaje de saturación de oxígeno durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD.

En la figura 10, se presenta la concentración de oxígeno disuelto del cultivo. La concentración más baja se registró el día 1 para el T2 (6,7 ±0,13 mg L^{-1}) seguido del T1 (6,6 ±0,13 mg L^{-1}) y T3 (6,4 ±0,23 mg L^{-1}). Cabe mencionar que desde el quinto hasta el séptimo día la concentración de oxígeno para el T1 y T2 (7,3 ±0,1 mg L^{-1} y 7±0,0 mg L^{-1}) muestran diferencias significativas con el T3 (6,7 ±0,0 mg L^{-1}) (p<0,05) (Figura 10).

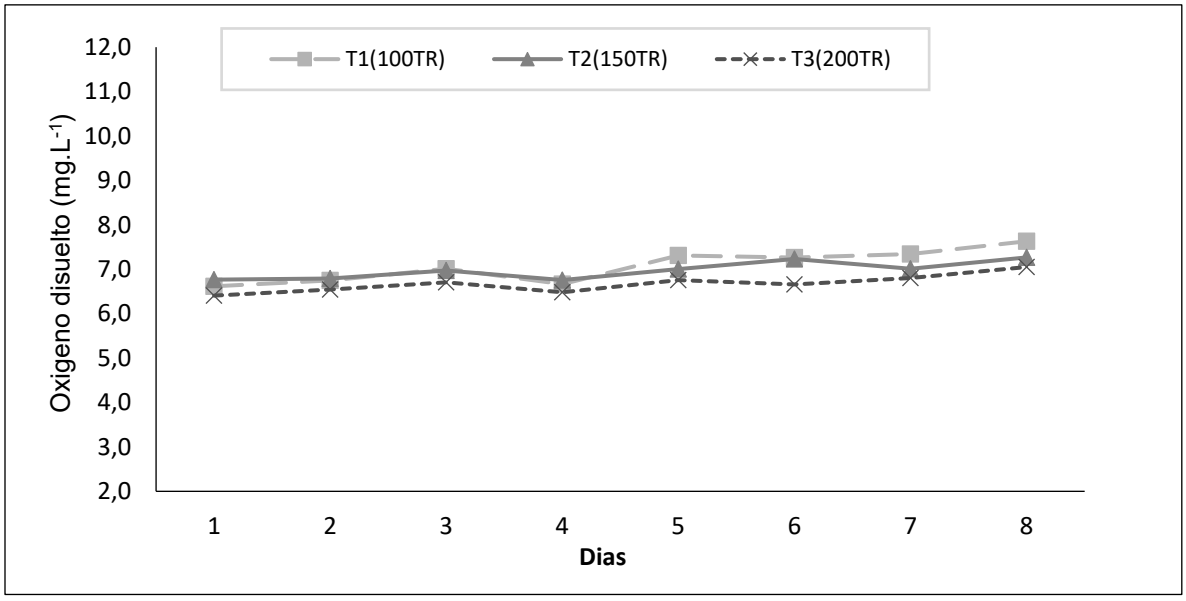

Figura 10. Comportamiento diario del oxígeno disuelto durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD.

En la figura 11, se muestran los resultados del registro diario de los parámetros de calidad de agua durante el cultivo. El pH osciló entre 7,5±0,1 y 7,6±0,1 sin diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0,05$). Los valores de amonio durante los ocho días experimentales del cultivo se mantuvieron estables (0±0,0 mg L^{-1}); los niveles de amonio total (0,25 ±0,0 mg L^{-1}); el nitrito (0±0 mg L^{-1}) y el nitrato (0±0 mg L^{-1}), sin diferencias significativas entre los tratamientos ($p>0,05$).

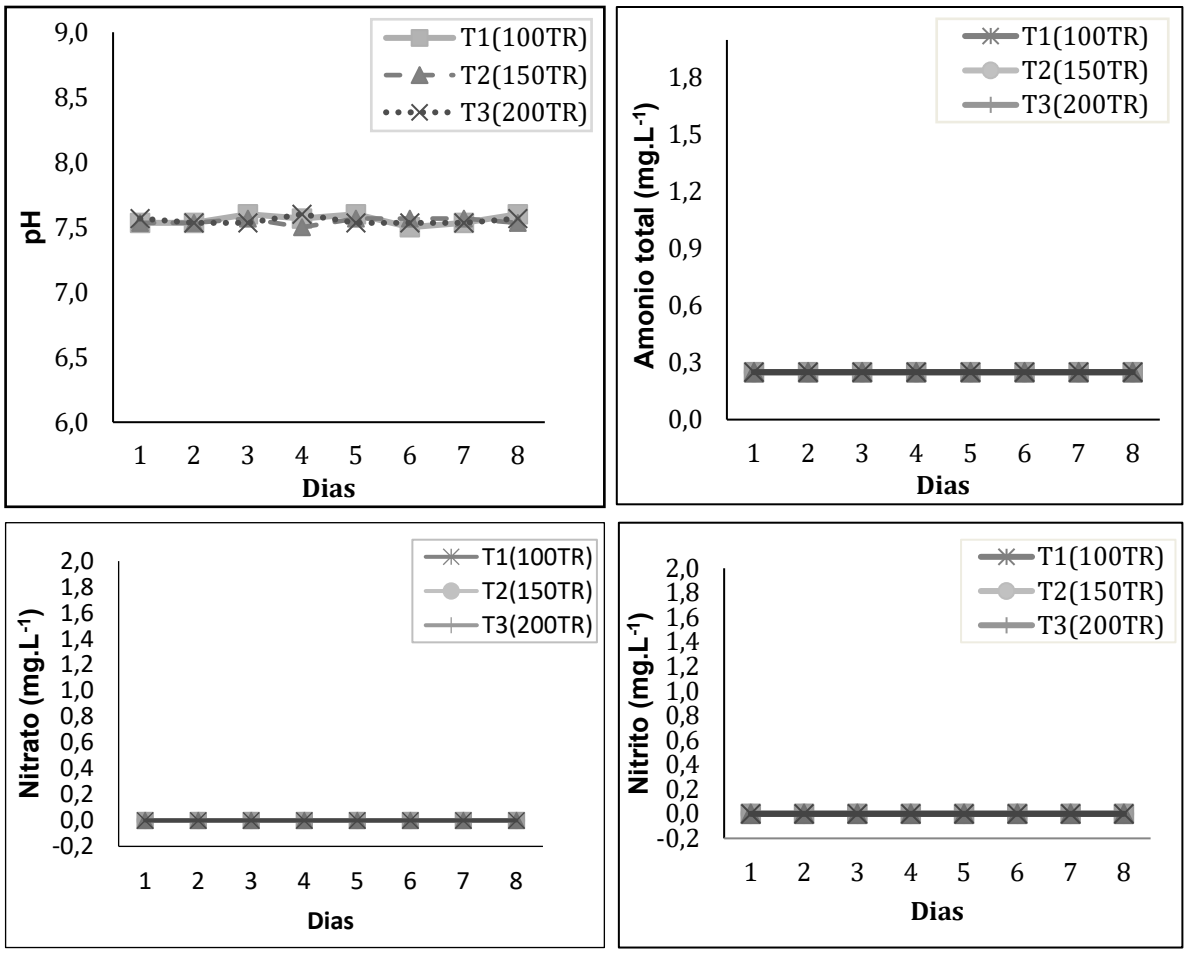

Figura 11. Comportamiento diario de pH, amonio total, nitrito y nitrato durante la fase experimental de producción huevos en el cultivo del copépodo *A. tonsa* (T1: 100 volúmenes día^{-1}; T2: 150 volúmenes día^{-1} y T3: 200 volúmenes día^{-1}) Comparación de medias expresadas como promedio ±SD.

6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

6.1. Producción específica y relativa de huevos *A. tonsa*

En este estudio el prototipo diseñado permitió el desempeño reproductivo por medio de la separación continua de huevos del copépodo *A. tonsa* generado bajo las distintas tasas de recambio de agua (100, 150 y 200 volúmenes dia^{-1}). Las ventajas de este tipo de sistemas de cultivo de flujo continuo en copépodos primordialmente es que permiten un aumento en la producción de huevos con respecto a los cultivos convencionales (Drillet et al., 2015; Franco et al., 2017) dicho de otra forma la separación continúa de huevos de las unidades de cultivo es una estrategia para aumentar los índices de producción (Drillet et al., 2015; Torres et al., 2022), controlar el canibalismo de huevos por parte de los adultos (Drillet et al., 2014; Drillet & Lombard, 2015) por medio de un caudal eficiente para arrastrar los huevos en una unidad de cosecha (Sarkisian et al., 2019; Toledo et al., 2005 ;Torres et al., 2022).

Estos sistemas mantienen las condiciones ambientales relativamente estables ya que se basan en la automatización y recirculación del agua; requiriendo poco espacio y permitiendo más facilidad en las operaciones unitarias físicas, químicas y biológicas (Drillett et al., 2011). Además, la turbulencia mantiene suspendidas las células microalgales (*I. galbana*) con tendencia a sedimentarse, lo que permite el mayor aprovechamiento de una dieta fresca por parte de los adultos (Thoisen et al., 2018). Por último, en sistemas convencionales cuando los huevos están siendo sifonados, se pueden extraer adultos accidentalmente (Marcus & Wilcox, 2007); esta manipulación con diferentes filtros que muchas veces pueden incrementar la mortalidad en el sistema al dañar los apéndices adultos (Medina, 2004) a diferencia de los prototipos desarrollados, que separan los adultos de los huevos evitando la manipulación o estrés de estos (Torres et al., 2022).

El presente estudio se enfocó en evaluar tres tasas de recambio sobre la producción de huevos viables del copépodo *A. tonsa* en un prototipo de cultivo, donde la producción específica y relativa de huevos del copépodo *A. tonsa* inicialmente es baja (9±0,8 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$ y 8±0,3 huevos mL^{-1} $día^{-1}$) no obstante, son valores superiores a los reportados por Torres et al. (2022), con la especie *A. tonsa*

bajo un prototipo similar de separación continua de huevos; donde la producción relativa y específica de los dos primeros días de cultivo fue en promedio de 6 ± 0,5 huevos mL^{-1} $día^{-1}$ y 1,7±0,14 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$; siendo menor que en el presente estudio. Sobre el tema Franco et al. (2017), reportaron en un sistema batch de producción de huevos de *A. tonsa* un poco más de 8 huevos mL^{-1} $día^{-1}$ a 2,5 adultos mL^{-1}; sugieren que la producción relativa alta tiene ventajas significativas incluso si la producción específica se reduce por la densidad de adultos.

En este estudio, la tasa de recambio de agua de 200 volúmenes $día^{-1}$ con una velocidad agua en el filtro (115 $Lp.min^{-1}$) generó una SEP (>18 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$ y la mayor REP (15 ± 0,46 huevos $mL^{-1}día^{-1}$) entre los días cinco (5) al siete (7) experimental; resultados similares con los reportados por Sew et al. (2018), para la especie *A. tonsa* en un sistema de cultivo tradicional donde la producción específica de huevos osciló entre 6,1 y 21,9 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$, siendo similar a lo reportado en este estudio. Sobre el tema Drillet et al. (2015), una densidad de hasta 2.5 adultos mL^{-1} permite mantener una producción específica alta y alcanzar una producción relativa de hasta 12 huevos mL^{-1} $día^{-1}$; lo que indica que aumentar la densidad de población por encima de este nivel no es de interés práctico.

Por otro lado, se presentan reportes en otras especies del género *Acartia* en la producción bajo diversos sistemas de producción. En relación, Nakajima et al. (2019), reportan tasas medias de producción de huevos de *Acartia pacifica* (10 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$) y *Acartia erythraea* (15 huevos $hembra^{-1}$ $día^{-1}$) con una tasa de eclosión del 80 al 100% (24-48 h).

Otros estudios no recomendaron cultivar *A. tonsa* densidades superiores a 2,5 nauplios o adultos mL^{-1} para la producción de huevos (Ajiboye et al., 2011; Drillet et al., 2015; Sarkisian et al., 2018; Vu et al., 2017; Franco et al., 2017). Cabe señalar que en el presente estudio de *A. tonsa* se trabajó con una densidad de 2 ind. mL^{-1} alcanzando una producción relativa de 15 huevos $mL^{-1}día^{-1}$; resultados superiores a los reportados por Drillet et al. (2014), quienes reportan en un sistema de producción de *A. tonsa* la cosecha de huevos con un óptimo de 12 huevos mL^{-1} $día^{-1}$ con una densidad de 2,5 copépodos mL^{-1} sin afectar la sobrevivencia de la

población lo que sugiere que se puede trabajar con densidad más altas en cultivo. Un estudio realizado por Abate et al. (2015), el cual consistió en la instalación de un prototipo de cultivo y producción para la especie *A. tonsa* muestra rendimientos en producción relativa que oscilan entre 8 y 25 huevos mL^{-1} en sistemas sembrados a densidades de adultos de 1,5 a 5 copépodos mL^{-1} siendo igual a la producción por unidad de volumen en el presente estudio.

Estudios sobre sistemas intensivos de cultivos en copépodos se reportan valores superiores al presente estudio con respecto a la producción específica (30 ± 3 huevos $hembra^{-1}día^{-1}$) considerando la alta densidad utilizada (7 adultos mL^{-1}); donde la producción relativa de huevos se mantuvo estable entre los 3 y 8 días de cultivo, con un promedio de 105 ± 10 huevos $mL^{-1}día^{-1}$; Sin embargo, Torres et al. (2022), reportan un posible daño mecánico en los huevos recién desovados del copépodo *A. tonsa* en el sistema de cultivo con recambio de agua de 100 volúmenes $día^{-1}$ cuando eran cosechados en tamiz de malla de 200 µm.

6.2. Mortalidad de adultos de *A. tonsa*

Estudios asocian que la mortalidad de adultos de *A. tonsa* en estos cultivos se debe principalmente al aumento del gasto energético para nadar, condiciones de manejo de adultos, reducción de la ingesta de alimentos, el deterioro de la calidad del agua y densidad de cultivo (Stottrup et al., 1986; Sably et al., 2000; Payne & Rippingale, 2001; Drillet et al., 2014; Drillet et al., 2015; Franco et al., 2017). Un estudio de Wilson et al. (2022), reporta una tasa de mortalidad diaria de adultos en respuesta a diferentes densidades de cultivo de *A. tropica* con la mayor densidad (2 adultos. mL^{-1}), con una tasa de mortalidad acumulada del 65 ± 3% para un cultivo convencional de tanques (10 L), alimentados con la microalga *Dicrateria inornata* (1000 µg $C.L^{-1}$) con un manejo de la calidad del agua extrayendo con sifón los residuos del fondo con recambio parcial de agua cada 4 días. Un estudio realizado por Choi et al. (2021), reporta tasas de mortalidad en *Acartia ohtsukai* (Geoje, Corea del sur), mediante la combinación de temperaturas (10, 15, 20, 25 y 30 °C) y salinidades (10, 15, 20, 25, 27, 30 y 33 ups) con una tasa de mortalidad en hembras adultas del 18% (>20°C) y superior al 39% a temperaturas más bajas (10 y 15°C)

describen la mortalidad media más alta a 10 °C (42%) (27 ups) y la mortalidad del 45% (20°C y 15 ups); y una mortalidad del 34% (30°C y 33 ups).

El presente estudio prototipo de cultivo del copepodo *A. tonsa* describe un porcentaje de mortalidad diaria en adultos para la tasa de recambio de agua de 200 volúmenes día^{-1} con un 44,17±4,51%, es posible se deba al tamaño del filtro (4") con respecto al tamaño de la unidad de cultivo (5L), los organismos están expuestos a una mayor área transversal de succión con respecto al esfuerzo de nado (115 Lp.min^{-1}), ocasionando altas tasas respiratorias en respuesta a la velocidad del agua del sistema filtrante. Cabe mencionar que en este estudio no se evidenció daño mecánico en los huevos colectados por los diversos tamices de separación y colecta; pero sí se vio daño mecánico en los adultos por ausencia de antenas y endopodos para la tasa de recambio de agua de 200 volúmenes día^{-1}, lo que generalmente ocasionó mortalidad en el prototipo de cultivo.

Un estudio de Jepsen et al. (2007) reportan para el copépodo *A. tonsa* en un diseño de cultivo de flujo abierto en tanques con densidades 100, 200,300, 400 y 600 copépodos.L^{-1}; con porcentajes de mortalidad (M%) de 37,40,32,24 y 25% respectivamente; también observaron tasas de mortalidades diarias no dependientes de la densidad de un 15 a 19 %; asocian esta mortalidad al estrés generado por las condiciones de manejo en adultos, poco recambio de los tanques de cultivo y cosecha de huevos del sistema; mencionan lo importancia de realizar seguimientos en los parámetros de calidad de agua.

En este sentido, Torres et al. (2021), muestran que un recambio de agua de 100 volúmenes día^{-1} generó una SEP alta (>30 huevos hembra^{-1} día^{-1}); sin embargo, un mayor caudal de agua no generó beneficios lo que explica y está relacionado con el cambio en la velocidad del agua en el filtro y esta velocidad de nado de copépodos se interpreta como succión en la proximidad del filtro, aumentando el esfuerzo de nado de escape de los copépodos lo que ocasiona tasas respiratorias más altas.

6.3. Porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa*

En el presente estudio, el porcentaje de eclosión en huevos *A. tonsa* generados bajo tres tasas de recambio de agua mostraron resultados favorables en el éxito de eclosión de esta especie tropical. Datos similares son reportados por Drillet et al. (2014), en la cosecha total de huevos del copépodo *A. tonsa* con un éxito de eclosión promedio de huevos oscilando entre 82% (24 h) y 94% (48 h). Este resultado, coincide con los hallazgos en el presente estudio, donde los huevos de *A. tonsa* colectados en fresco tuvieron un éxito de eclosión superior al 75% (24 h) para los diferentes tratamientos, sin diferencias significativas; cabe resaltar que el mayor porcentaje de eclosión fue 95% (48 h) con tasa de recambio de agua de 150 volúmenes día^{-1}. Estos resultados de éxito de eclosión en el presente estudio coinciden con los estudios realizados por otros autores para la especie *A. tonsa*. Por ejemplo, Jepsen et al. (2007), reportan éxito de eclosión de 90,7 a 8,1%, en huevos producidos a diferentes densidades de adultos (100 a 600 adultos L^{-1}); Holste & Peck (2005), eclosión promedio de 84,5 % con huevos incubados a diferentes regímenes de fotoperiodo y adultos; Drillet et al. (2006), con reportes de eclosión superior al 90,3%. Sew et al. (2018), con un éxito de eclosión para *A. tonsa* oscilando entre el 75 y 100% a las 48-72 h, donde se mantuvo alto en todos los días experimentales. Torres et al. (2021), para huevos frescos reportan mayor éxito de eclosión (80%) bajo diferentes combinaciones de temperatura y salinidad.

Por su parte, reportes para otras especies del género *Acartia* en diseños de prototipos y cultivos convencionales permitieron resultados favorables en el éxito de eclosión (>80%). Sobre el tema Takayama et al. (2019), reportan para cultivos del copépodo *Acartia japonica* (Bahía de Sagami, Japón) con temperaturas de 18,6 a 27,1 °C, la producción de huevos en diapausa con porcentajes de eclosión de huevos del 70% al 95%; Takayama et al. (2021), reportan en un cultivo con biorreactor (19°C y salinidad 35 ups) para el copépodo planctónico *Acartia steuri* (Yokohama, Japón) la producción de huevos (7,7 ± 3,3 huevos hembra^{-1} día^{-1} y 3240 huevos L^{-1} día^{-1}) con el éxito de eclosión entre el 58,3% y 100% (media 88%); Choi et al.(2021), reportan la producción de huevos para el copépodo calanoide

Acartia erythraea (Bahía de Gamak, Corea) la producción de huevos (1, y 25 huevos hembra^{-1} día^{-1}) (media:12) con un éxito de eclosión del 80% (24 y 48 h), recomiendan el uso inmediato del copépodo como alimento vivo para larvas de peces eficiente cuando la eclosión se produce a 30 °C.

Algunos estudios en copépodos relacionan diversos factores como responsables del bajo éxito de la eclosión. Entre estos, en primer lugar las condiciones de cultivo, la dieta, seguido por la producción de huevos en reposo o no viables, las condiciones de cultivo, la nutrición de la hembra; el contenido de ácidos grasos en la dieta, la edad de la hembra, estado fisiológico y nutricional de adultos, la infertilidad de la hembra, daño por densidad de adultos, el deterioro de la calidad del agua debido al hacinamiento que reduce la calidad de los huevos (Broglio et al., 2003, Dam & Lopes, 2003, Arendt et al., 2005, Peck & Holste, 2006; Camus & Zeng, 2008; Alajmi & Zeng, 2014; Vu et al., 2016; Franco et al., 2017; Nogueira et al., 2019; Torres et al., 2021).Sobre el tema Franco et al. (2017), bajo un prototipo de cosecha de huevos de la especie *A. tonsa* reporta un éxito de eclosión de 69, 66, 63 y 60% para densidades de adultos de 100, 250, 500 y 2500 copépodos. L^{-1}. respectivamente; Nogueira et al. (2019), con la especie *Acartia grani* reportan un éxito de eclosión de huevos de un 64,3%.

Al comparar estos resultados con los del presente estudio, se puede afirmar que los valores de eclosión de huevos son inferiores. Torres et al.(2022), reporta que los sistemas de cultivo escala prototipo de *A. tonsa* subtropical (25 °C) han mostrado un éxito de eclosión en huevos frescos del 49 al 61 % (24 h); Sarkisian et al. (2019), para un sistema intensivo de cultivo por lotes a gran escala para producir el copépodo *Acartia tonsa* aislado de aguas del Golfo de México (cultivado a 25 °C y 25 ups), logró una producción de 22 millones de huevos dia^{-1} de los cuales obtuvo una tasa de eclosión promedio de huevos frescos a lo largo de los años 2013 a 2015 de 49%; lo que representa para el 2013 el 62%; y del 2014 al 2015 entre el 33 y 53% siendo inferiores a los reportados para el presente estudio. Finalmente, en el presente estudio los huevos cosechados y eclosionados posteriormente mostraron resultados óptimos (95% a las 48 h) lo que sugiere un aporte biotecnológico con el

fin de promover el mejoramiento de sistemas de cultivos para la producción de huevos y poder solucionar esa gran brecha en la primera alimentación de peces y crustáceos siendo promovido el uso de esta especie como presa viva en la acuicultura marina.

6.4 Parámetros de calidad de agua

En este estudio de *A. tonsa.* bajo el prototipo descrito anteriormente, fueron registrados los parámetros de calidad de agua siendo de vital importancia debido a que los índices de producción de huevos (SEP, REP), mortalidad de adultos (M%) de esta especie se ven influenciados por estos factores ambientales como la temperatura del agua, la salinidad, el pH y la cantidad y calidad de los alimentos (Chinnery & Williams, 2004; Holste & Peck, 2005; Peck & Holste, 2006; Nogueira et al., 2017; Nguyen et al., 2020; Choi et al., 2021; Dayras et al., 2021). El incremento de la temperatura disminuye estos procesos debido a una alta tasa metabólica, donde las exigencias energéticas son mucho más altas (Martínez-Jerónimo & Ventura-López, 2011; Chen et al., 2015). Los sistemas de cultivo prototipo de *A. tonsa.* subtropical (25 ups y 25 °C) han mostrado un éxito de eclosión bajo y variable en huevos frescos (49–61 %), y los huevos almacenados sólo son viables por un corto tiempo (<15 días), lo que sugiere la necesidad de estudios que permitan obtener mejores índices de producción y poder mantener condiciones ambientales óptimas para producir huevos viables que aseguren una óptima eclosión de los huevos (Sarkisian et al., 2019).

La temperatura del presente estudio osciló entre 23,4±0,3°C y 24,4±0,4°C esta temperatura estuvo entre los rangos óptimos reportados en múltiples estudios para cultivos de copépodos del género *Acartia.* En relación, estudios en el < *A. tonsa* obtenidos de regiones subtropicales cultivados con éxito en temperaturas de rangos entre 20 y 30 °C (Castro-Longoria, 2003; Leandro et al., 2006; Peck et al., 2015; Shayegan et al., 2016; Park et al., 2019; Torres et al.,2021). Sobre el tema Takayama et al. (2019), más ampliamente reportan para *Acartia japonica* como

rangos óptimos de temperatura de 18,6 a 27,1 °C, permitiendo el porcentaje de eclosión de los huevos de 70% a 95%.

En este sentido los copépodos pueden aclimatarse a la temperatura del agua de sus respectivas regiones, siendo esto un referente para una excelente tasa de producción de huevos (Chintadaa et al., 2023). En relación, Torres et al. (2021), utilizando *A. tonsa* de una región tropical de aguas cálidas (Cispatá, Colombia), menciona no haber observado problemas en el crecimiento de nauplios hasta adultos a baja salinidad y alta temperatura (25–28°C); Cabe señalar que la especie *A. tonsa* proviene de un ambiente tropical, con pocas fluctuaciones térmicas (26,8–31,5°C) (Cañon et al., 2010; Ospina & Quintana et al., 2015 y Holste & Peck et al., 2006) reportan para *A. tonsa* que la mayor productividad se encontró con temperaturas a 23 °C con porcentajes de eclosión de huevos superiores al 92,2 %, pero no hubo eclosión a 12 °C; estudios posteriores de Peck et al. (2015), establecen que *A. tonsa* presenta una alta eclosión de huevos frescos a una temperatura de 23 °C, sugieren que la producción de huevos se beneficia al usar o simular las condiciones estuarinas para el cultivo del copépodo.

Por otro lado, se ha demostrado que el aumento de la temperatura aumenta la tasa de producción de huevos y el éxito de eclosión de huevos en los copépodos de Acartia (Peck y Holste, 2006). Reportes similares presentan Park et al. (2019), donde reportan en cultivos para *A. sinjinesis* temperatura óptima del agua de 25,03 a 27,5 ºC. Varios estudios a nivel mundial se han realizado usando poblaciones de latitudes mayores (bajas temperaturas), pero en ambientes tropicales las temperaturas marinas son altas y con pocas fluctuaciones (25-30°C), además se desconoce el efecto que esto pueda tener sobre la calidad de los huevos producidos para entrar en quiescencia (Hansen et al., 2010; Doan et al., 2018; Hansen et al., 2020; Torres et al., 2021).

En este sentido, no se observó ningún efecto de la temperatura de cultivo sobre los porcentajes de eclosión en huevos, índices de producción y mortalidad de adultos generados bajo tres tasas de recambio de agua en el cultivo de la especie *A. tonsa*. En este estudio se trabajó dentro de los rangos óptimos de cultivo (20-30 °C)

controlados en laboratorio (24±1°C), sin afectar las diferentes tasas de recambio del prototipo y por ende garantizar la producción de huevos del copépodo, lo que convierte el presente estudio en un aporte biotecnológico con el fin de promover el mejoramiento de sistemas de cultivos para la producción de huevos y el uso de esta especie como presa viva en la acuicultura marina.

Otro parámetro importante para considerar es la salinidad, este influye en el crecimiento de la población de copépodos debido a su efecto sobre los factores de producción de huevos, el porcentaje de eclosión y la supervivencia (Chen et al., 2006; Milione & Zeng, 2008; Ohs et al., 2010; Wilson et al., 2021; Chintada et al., 2023). El amplio rango de tolerancia a la salinidad es una característica importante del alimento vivo en la larvicultura de peces marinos, en copépodos calanoides, en específico *A. tonsa* puede tolerar un amplio rango de salinidades lo que le permite ser distribuidas en ambientes estuarinos y marinos (Chinnery & Williams, 2003; Peck et al.,2015). Algunos estudios sugieren un papel poco claro de la salinidad en los rasgos biológicos del género *Acartia.* En relación, Castro-Longoria (2003), encontró que la producción de huevos de las especies de *Acartia* (*A. margalefi, A. discaudata, A. claus*i y *A. tonsa*) no se vio afectada significativamente por un rango de salinidad de 15-33 ups.

En el presente estudio la salinidad para el prototipo de cultivo del copépodo *A tonsa* bajo tres tasas de recambio de agua fue constante (30 ups) y se mantuvo dentro de los rangos reportados por la literatura para el cultivo de este género. Sobre el tema, Castro (2003), reporta para *A. tonsa* valores de salinidad de 25 a 30 ups; los cuales no afectan el porcentaje de eclosión de los huevos frescos del copépodo con un 86± 8% (24 h).Diversos estudios sobre especies de *Acartia* que indican que la salinidad no es completamente responsable del porcentaje de eclosión de los huevos (Chinnery & Williams, 2004; Dutz & Christensen, 2018; Wilson et al., 2021); en otras especies del género siendo el caso para *A. tropica*, a través de la aclimatación multigeneracional, la especie puede adaptarse bien con una productividad mejorada a una salinidad más alta de 30 ups lo que deja en evidencia la plasticidad de *A. tropica* para adaptarse a los cambios de salinidad.

Un parámetro clave para considerar es la saturación de oxígeno (%) al igual que la concentración de oxígeno disuelto (mg L^{-1}) estudios realizados en la especie *A. tonsa* en sistemas de cultivo de flujo continuo reportan que en los animales a concentraciones de oxígeno más bajas, mayores demandas respiratorias el metabolismo cae rápidamente a altos niveles de oxígeno disuelto, por lo que el nivel de saturación de oxígeno juega un papel muy importante y debe mantenerse en los rangos óptimos (Franco et al., 2017; Torres et., al 2021). Diversos estudios en el género *Acartia* relacionan que aguas con bajo contenido de oxígeno (<2 mg L^{-1}) generalmente reducen la supervivencia de los copépodos en condiciones controladas de laboratorio (Román et al., 1993, Stalder & Marcus, 1997; Marcus et al., 2004; Richmond et al., 2006) y se ha demostrado que reduce severamente el éxito de eclosión de los huevos de copépodos en varias especies (Lutz et al., 1992; Román et al., 1993; Marcus et al., 1997; Invidia et al., 2004; Richmond et al., 2006). En condiciones controladas de laboratorio, Marcus et al. (2004) y Richmond et al. (2006), demostraron que la producción de huevos y la tasa de crecimiento de la población en el copépodo calanoide costero y estuarino *A. tonsa.* se redujeron en aguas con bajo contenido de oxígeno (0,7 y 1,5 mL O_2 L^{-1}).

En el presente estudio el oxígeno disuelto osciló entre 6,4 ±0,2 mg L^{-1} y 7,3 ±0,1 mg L^{-1} (T1). Por otro lado, la saturación de oxígeno (%) del prototipo de cultivo osciló entre 86,03 ±3% y 102,3±2,1% (T1). Al comparar estos resultados con otros estudios, se puede afirmar que el oxígeno disuelto y la saturación de oxígeno son similares como reporta Franco et al. (2017), en un sistema de cosecha de huevos de *A. tonsa* con densidad de adultos mantenidos en 100, 250, 500 y 2500 copépodos L^{-1} encontraron que el oxígeno disuelto estaba en promedio por encima de 9 mg L^{-1}, con saturación superior al 90%, aunque una ligera disminución a 75% de saturación; el 80% se observó generalmente después de una semana de cultivo, el segundo y tercer día después de cada cambio de agua, después de lo cual los valores se estabilizaron; con promedio de temperatura 17°C, salinidad 33 ups y un pH 7,8.

Por otra parte, el pH es uno de los parámetros más importantes dentro del cultivo de copépodos en la dinámica de sistemas de flujo continuo, se espera que este parámetro no tenga implicaciones prácticas en un sistema de producción en masa de copépodos (Hansen et al., 2017). Se ha sugerido que los copépodos pueden sobrevivir, crecer y reproducirse a niveles bajos de pH, debido a su alta capacidad amortiguadora contra la acidificación del mar (McConville et al.,2013; Vehmaa et al.,2013; lee et al 2020). El copépodo *A. tonsa* ha mostrado resistencia a pH elevados sin afectar la supervivencia de adultos, la producción de huevos, la eclosión y los patrones de supervivencia de los nauplios (Hansen et al., 2017). Sobre el tema, Payne & Rippingale (2001), reportan para cultivo de copépodos, los niveles de calidad del agua oxígeno disuelto 88-99% de saturación; pH 7,8-8,3; amoníaco <0,5 ppm y nitrito <0,6 ppm.

Cabe señalar que cuando los valores de pH en cultivo de copépodos superan los rangos óptimos puede provocar diferentes respuestas ante la exposición. Sobre el tema, Hansen et al. (2017), reporta para *A.* silvestre spp. y *A. tonsa* en un cultivo que mostraron algunas diferencias en la respuesta; ninguno de las dos produjo huevos a pH 9,5, *A. tonsa* exhibió una producción de huevos significativamente mayor a todos los demás pH que 9,5, ambos mostraron una eclosión de huevos invariable al pH, por lo que finalmente concretan que es un parámetro de puntual seguimiento para garantizar una óptima producción de huevos.

En este estudio, los valores de pH oscilaron entre 7,4 y 7,5 para los diferentes tratamientos sin diferencias significativas; en general, el comportamiento del pH estuvo relacionado con los procesos de oxidación del amonio que normalmente ocurren en el ciclo de los compuestos nitrogenados. Por lo anterior se puede inferir que, los valores de pH registrados en este estudio se encuentran en el rango indicado dentro de la literatura para el buen desarrollo del copépodo.

Con respecto a los compuestos nitrogenados, dependiendo de su toxicidad, pueden afectar el crecimiento y sobrevivencia de los organismos en cultivo (Jepsen et al 2013, 2015). Regularmente el amonio tóxico se presenta por influencia del pH y la temperatura, acidificando el medio por la descomposición de la materia orgánica por bacterias que transforman estos compuestos en compuestos que sean asimilables por las microalgas presentes en el sistema de cultivo (Pacheco et al., 2002; Rottman et al., 2011; Pinilla, 2018). Dicho proceso convierte el amoniaco a nitrato por medio de un proceso intermedio denominado nitrificación (Pacheco et al., 2002; Peláez et al., 2011; Pinilla, 2018). Especialmente, el nitrito es un factor estresante e intenso en concentraciones elevadas, que puede ocasionar problemas fisiológicos en los organismos de cultivo, conllevando a un limitado crecimiento, reproducción y bajas supervivencias (Xiang et al., 2012; Lyu et al., 2013; Maceda Veiga et al., 2015).

En el presente estudio los valores de amonio durante el cultivo del copépodo *A. tonsa* se mantuvieron estables (0±0,0 mg L^{-1}); amonio total (0,25 ±0,0 mg L^{-1}); el nitrito (0±0 mg L^{-1}) y el nitrato (0±0 mg L^{-1}) sin diferencias significativas entre los tratamientos. Los pocos estudios disponibles sobre la toxicidad del amoníaco para los cultivos de copépodos se centran principalmente en los efectos de toxicidad letal de los NH_3 en términos de concentración letal del 50 % (LC50), con énfasis en la supervivencia de los copépodos en entornos naturales. Sin embargo, aceptar una mortalidad del 50% de una especie cultivada no es interesante dentro de la acuicultura intensiva de producción en masa (Jepsen, 2015).

En cambio, conocer la concentración más baja antes de que la mortalidad sea un problema es una información valiosa, porque mantener los parámetros de cultivo por debajo de este límite garantizará una mejor supervivencia y aptitud de las especies cultivadas (Jepsen et al., 2007; Jepsen et al., 2013). Bajo las condiciones de operación actuales, los niveles de amoníaco en el sistema caen dentro del rango de tolerancia de *A. tonsa* y nunca exceden 1 ppm. El agua de cultivo en sistemas se ha reutilizado hasta tres veces a través del ciclo de recuperación sin inducir cambios notables en los parámetros de producción (Jepsen et al., 2015). El

contenido de TAN representa la suma de NH_3 y NH_4+ en el sistema de cultivo; estas dos formas están en equilibrio dependiente del pH; el amoníaco (NH3) es tóxico para las especies acuáticas, incluido el copépodo *Acartia tonsa* (Buttino 1994; Jepsen et al. 2013) y por lo que es importante monitorearlo. Sobre el tema Drillet et al. (2014), En las condiciones más extremas (pH 8,37, TAN = 3,8 mg L^{-1}) mencionan que sólo el 6,1% del TAN está en forma NH_3(0,23 mg L^{-1}) que es menor que el no observado.

Cabe mencionar que es fundamental optimizar las proporciones o raciones de alimentos en estos sistemas de cultivo; las microalgas contienen una alta cantidad de nutrientes no utilizados y exudados que se sumará al sistema bajo estas condiciones, la calidad del agua probablemente disminuirá un factor limitante más significativo y la recirculación o puede ser necesario un cambio de agua (Jepsen et al. 2007; Jepsen et al. 2013; Drillet et al. (2014). En el presente estudio finalmente nos permite sostener que el prototipo de cultivo usado para el cultivo del copépodo *A. tonsa* no presentó ningún tipo de problema con respecto al comportamiento de los parámetros fisicoquímicos lo que convierte este estudio en un aporte biotecnológico con el fin de promover el mejoramiento de sistemas de cultivos para la producción de huevos y el uso de esta especie como presa viva en la acuicultura marina.

CONCLUSIONES

En las condiciones en que fue realizado el estudio, se concluye que:

Las tasas de recambio de agua (100, 150 y 200 volúmenes día^{-1}) permitieron el desempeño reproductivo (producción específica, relativa de huevos y porcentaje de eclosión) del copépodo calanoide marino *A. tonsa.* bajo las condiciones de cultivo en laboratorio.

La producción específica y relativa de huevos del copépodo *A. tonsa* es mayor en las tasas de 150 y 200 volúmenes dia^{-1}, estas tasas permitieron mayor producción de huevos.

La mortalidad del copépodo *A. tonsa* pudo ser establecida en las tres tasas de recambio evaluadas en un prototipo de cultivo, siendo homogénea en el tiempo. La mayor mortalidad (>40 %) está asociada principalmente al día de cultivo en 100 y 200 volúmenes dia^{-1}.

Todas las tasas de recambio de agua (100, 150 y 200 volúmenes día^{-1}) permiten un alto porcentaje de eclosión de huevos del copépodo *A. tonsa* siendo superior al 90% a las 48 h.

En un prototipo de cultivo diseñado para el copépodo *A. tonsa* la tasa de recambio de agua de 150 volúmenes día^{-1} permitió la mayor viabilidad en el porcentaje de eclosión de huevos frescos superior al 90% a las 24 h y en un 95% para las 48 h experimentales.

Bajo las condiciones de laboratorio en este estudio, las variables de calidad de agua registradas en el prototipo de cultivo no tuvieron incidencia sobre el desempeño reproductivo del copépodo *A. tonsa* bajo tres tasas de recambio de agua (100, 150 y 200 volúmenes día^{-1}).

RECOMENDACIONES

En términos de producción del copépodo *A tonsa*, para estos prototipos de cultivo con el fin de obtener óptimos resultados se recomienda:

- En posteriores estudios, determinar la densidad óptima de cultivo del diseño, para evaluar su incidencia (adultos. mL^{-1}) sobre los índices de producción y sobrevivencia poblacional del copépodo *A tonsa*.
- Escalar estos diseños de cultivo partiendo de la información conocida con pruebas de operación bajo condiciones reales de cultivo (escala producción), lo cual permitirá satisfacer la alta demanda en la primera alimentación de larvas de peces marinos en acuicultura.
- Es fundamental, realizar estudios sobre la incidencia de diferentes factores fisicoquímicos del agua (temperatura, fotoperiodo, pH, compuestos nitrogenados, etc) sobre la producción del copépodo *A tonsa* para estos prototipos de cultivo, a fin de establecer las condiciones óptimas de mantenimiento, manejo y cultivo asegurando obtener mejores índices de producción.
- Estudios sucesivos son requeridos para implementar la información que permita establecer un paquete tecnológico de producción a gran escala basado en estos prototipos para esta especie tan importante por su potencial al ser una presa viva de reducido tamaño, entre los cultivos de copépodos con potencial uso en acuicultura.

BIBLIOGRAFÍA

Abate TG, Nielsen R, Nielsen M, Drillet G, Jepsen PM, Hansen BW. Economic feasibility of copepod production for commercial use: Result from a prototype production facility. Aquaculture. 2015; 436:72–9. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.012

Ajiboye OO, Yakubu AF, Adams TE, Olaji ED, Nwogu NA. A review of the use of copepods in marine fish larviculture. Rev Fish Biol Fish. 2011;21(2):225–46. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s11160-010-9169-3

Alajmi F, Zeng C, Jerry DR. Improvement in the reproductive productivity of the tropical calanoid copepod *Parvocalanus crassirostris* through selective breeding. Aquaculture. 2014;420–421:18–23.

Alajmi FF. Developing intensive culture techniques for the tropical copepod *Parvocalanus crassirostris* as a live feed for aquaculture (Doctoral dissertation). 2015.

Barroso MV, de Carvalho CVA, Antoniassi R, Cerqueira VR. Use of the copepod *Acartia tonsa* as the first live food for larvae of the fat snook *Centropomus parallelus*. Aquaculture. 2013;388–391:153–8.

Blanda E, Drillet G, Huang C-C, Hwang J-S, Højgaard JK, Jakobsen HH, et al. An analysis of how to improve production of copepods as live feed from tropical Taiwanese outdoor aquaculture ponds. Aquaculture. 2017; 479:432–41. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.06.01

Boersma M, Wesche A, Hirche H-J. Predation of calanoid copepods on their own and other copepods' offspring. Mar Biol. 2014;161(4):733–43. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s00227-013-2373-7

Burbano MF, Torres GA, Prieto MJ, Gamboa JH, Chapman FA. Increased survival of larval spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) when fed with the copepod *Cyclopina* sp. and *Artemia* nauplii. Aquaculture. 2020; 519(734912):734912.

Buttino I, Ianora A, Buono S, Vitello V, Sansone G, Miralto A. Are monoalgal diets inferior to plurialgal diets to maximize cultivation of the calanoid copepod *Temora stylifera* Mar Biol 2009;156(6):1171–82. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s00227-009-1159-4

Calbet A, Saiz E. The ciliate-copepod link in marine ecosystems. Aquat Microb Ecol. 2005; 38:157–67. Disponible en: http://dx.doi.org/10.3354/ame038157

Chesney EJ. Copepods as live prey: A review of factors that influence the feeding success of marine fish larvae. En: Copepods in Aquaculture. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional; 2007. p. 133–50.

Chintada B, Ranjan R, Babitha Rani AM, Santhosh B, Megarajan S, Ghosh S, et al. Effects of salinity on survival, reproductive performance, population growth, and life stage composition in the calanoid copepod *Acartia bilobata*. Aquaculture. 2023; 563 (739025): 739025.

Choi SY, Jang M-C, Youn SH, Seo MH, Soh HY. Egg production and hatching patterns of *Acartia erythraea* (Copepoda, Calanoida), with a note on its two egg types, in a eutrophic bay in Korea. J Plankton; 202143(3):428–41. Disponible en: https://academic.oup.com/plankt/article/43/3/428/6257751?logi

Dabhade DS, Chhaba SG. Zooplankton diversity around washim region of Maharashtra. International journal of advance and innovative research. 2019;6(2):332–6.

Dayras P, Bialais C, Sadovskaya I, Lee M-C, Lee J-S, Souissi S. Microalgal diet influences the nutritive quality and reproductive investment of the cyclopoid copepod *Paracyclopina nana*. Front Mar Sci [Internet]. 2021;8. Available from: http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2021.697561

De Puelles MF, Macias V, Vicente L, Molinero JC. Seasonal spatial pattern and community structure of zooplankton in waters off the Baleares archipelago (*Cearvocalanus crassirostris* as a live feed for aquaculture (Doctoral dissertation). Journal of Marine Systems. 2014; 138:82–94.

Dhont J, Dierckens K, Støttrup J, Van Stappen G, Wille M, Sorgeloos P. Rotifers, *Artemia* and copepods as live feeds for fish larvae in aquaculture. En: Advances in Aquaculture Hatchery Technology. Elsevier; 2013. p. 157–202.

Dk Y Capuzzo JM. Depredación de protozoos: su importancia para el zooplancton. Revista de investigación de Plankton. 1990;12(5):891–908.

Drillet G, Frouël S, Sichlau MH, Jepsen PM, Højgaard JK, Joarder AK, et al. Status and recommendations on marine copepod cultivation for use as live feed. Aquaculture. 2011;315(3–4):155–66.

Drillet G, Jorgensen NOG, Sorensen TF, Ramlov H, Hansen BW. Biochemical and technical observations supporting the use of copepods as live feed organisms in marine larviculture. Aquac Res. 2006;37(8):756–72. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2006.01489.x

Evjemo JO, Reitan KI, Olsen Y. Copepods as live food organisms in the larval rearing of halibut larvae (*Hippoglossus hippoglossus* L.) with special emphasis on the nutritional value. Aquaculture. 2003;227(1–4):191–210. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00503-9

Fernández-De-Puelles. Orden Calanoida. Centro Oceanográfico de Baleares; 2015.

Fernández-Ojeda C, Muniz MC, Cardoso RP, Dos Anjos RM, Huaringa E, Nakazaki C, et al. Plastic debris and natural food in two commercially important fish species from the coast of Peru. Mar Pollut Bull. 2021;173(Pt A):113039. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113039

Franco SC, Augustin CB, Geffen AJ, Dinis MT. Growth, egg production and hatching success of *Acartia tonsa* cultured at high densities. Aquaculture. 2017; 468:569–78. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.044

Guillard RRL. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Culture of Marine Invertebrate Animals. Boston, MA: Springer US; 1975. p. 29–60.

Hagemann A, Øie G, Evjemo JO, Olsen Y. Effects of light and short-term temperature elevation on the 48-h hatching success of cold-stored *Acartia tonsa* Dana eggs. Aquac Int. 2016;24(1):57–68. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s10499-015-9908-5

Hani PM, Jayalakshmi KJ. Temporal variation in diversity, abundance and size class structure of planktonic copepods from a tropical estuary. Aquat Ecol. 2023; Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s10452-023-10003-3

Hansen BW, Buttino I, Cunha ME, Drillet G. Embryonic cold storage capability from seven strains of *Acartia* spp. isolated in different geographical areas. Aquaculture. 2016;457:131–9. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.024

Hansen BW, Hansen PJ, Nielsen TG, Jepsen PM. Effects of elevated pH on marine copepods in mass cultivation systems: practical implications. J Plankton Res. 2017;39(6):984–93. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbx032

Hansen BW. Advances using copepods in aquaculture. J Plankton Res [Internet]. 2017;39(6):972–4. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbx057

Hernández Casarrubia, Viabilidad de huevos *Acartia tonsa* (Copepoda: calanoidea) de la bahía Cispatá – Caribe colombiano. Montería, Córdoba, Colombia: 2023

Herstoff EM, Baines SB, Boersma M, Meunier CL. Does prey elemental stoichiometry influence copepod movement over ontogeny? Limnol Oceanogr. 2019;64(6):2467–77. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1002/lno.11198

Hill M, School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, Huxley Building, University of Brighton, Brighton BN2 4AT, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Pernetta A, Crooks N. Size matters: A review of live feeds used in the culture of marine ornamental fish. Asian Fish Sci. 2020;33(2). Disponible en: http://dx.doi.org/10.33997/j.afs.2020.33.2.007

Hirst AG, Bonnet D, Conway DVP, Kiørboe T. Does predation controls adult sex ratios and longevities in marine pelagic copepods? Limnol Oceanogr. 2010; 55(5):2193–206. Disponible en: http://dx.doi.org/10.4319/lo.2010.55.5.2193

Hirst AG, Kiørboe T. Macroevolutionary patterns of sexual size dimorphism in copepods. Proc Biol Sci. 2014;281(1791):20140739. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.0739

Højgaard JK, Hansen BW, Hwang J-S. Prey capture capabilities by juveniles of the false percula clownfish (*Amphiprion ocellaris*) fed calanoid nauplii vs. adults. Mar Freshw Behav Physiol [Internet]. 2017;50(5–6):387–96. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1080/10236244.2017.1421047

Jakobsen HH, Thoisen C, Hansen BW. Crypthecodinium cohnii: a promising prey toward large-scale intensive rearing of the live feed copepod *Acartia tonsa* (Dana). Aquac Int. 2018;26(1):237–51. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s10499-017-0207-1

Jepsen PM, Andersen CV, Schjelde J, Hansen BW. Tolerance of un-ionized ammonia in live feed cultures of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. Aquaculture Research. 2015;46(2):420–31

Jepsen PM, van Someren Gréve H, Jørgensen KN, Kjær KGW, Hansen BW. Evaluation of high-density tank cultivation of the live-feed cyclopoid copepod *Apocyclops royi* (Lindberg 1940). Aquaculture. 2021; 533(736125):736125. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736125

Jo YJ, Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan, 48513, Korea, Park W, Lee BW, Kang CG, Kim YE, et al. Effect of temperature on egg development time and productivity of *Acartia steueri* and population variations of family Acartiidae in Dadaepo Beach, Busan, Korea. J Environ Biol. 2019;40(5(SI)):962–8. Disponible en: http://dx.doi.org/10.22438/jeb/40/5(si)/si-19

Kandathil Radhakrishnan D, AkbarAli I, Schmidt BV, John EM, Sivanpillai S, Thazhakot Vasunambesan S. Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: An overview. Aquac Res. 2020;51(1):1–17. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/are.14357

Kaviyarasan M, Santhanam P. A technique on the culture and preservation of marine copepod eggs. En: Basic and Applied Zooplankton Biology. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 197–208.

Kline MD, Laidley CW. Development of intensive copepod culture technology for *Parvocalanus crassirostris*: Optimizing adult density. Aquaculture. 2015; 435:128–36. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.022

Lee EH, Choi SY, Seo MH, Lee SJ, Soh HY. Effects of temperature and pH on the egg production and hatching success of a common Korean copepod. Diversity (Basel). 2020; 12(10):372. Disponible en: http://dx.doi.org/10.3390/d12100372

Li W, Liu X, Ma Z. Culturing Techniques for Planktonic Copepods. En: Research Methods of Environmental Physiology in Aquatic Sciences. Singapore: Springer Singapore; 2021. p. 47–56.

McConville K, Halsband C, Fileman ES, Somerfield PJ, Findlay HS, Spicer JI. Effects of elevated CO2 on the reproduction of two calanoid copepods. Mar Pollut Bull. 2013;73(2):428–34.

Mejri SC, Tremblay R, Audet C, Wills PS, Riche M. Essential fatty acid requirements in tropical and Cold-Water marine fish larvae and juveniles. Front Mar Sci . 2021;8. Disponible en: http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2021.680003

Nilsson B, Jakobsen HH, Stief P, Drillet G, Hansen BW. Copepod swimming behavior, respiration, and expression of stress-related genes in response to high stocking densities. Aquac Rep. 2017; 6:35–42. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.03.001

Nogueira N, Sumares B, Andrade CAP, Afonso A. The effects of temperature and photoperiod on egg hatching success, egg production and population growth of the calanoid copepod, *Acartia grani* (Calanoida: Acartiidae). Aquac Res. 2018;49(1):93–103. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/are.13437

Nogueira N, Sumares B, Nascimento FA, Png-Gonzalez L, Afonso A. Effects of mixed diets on the reproductive success and population growth of cultured *Acartia grani* (Calanoida). J Appl Aquaculture]. 2021;33(1):1–14. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1080/10454438.2019.1602096

Novotny A, Zamora-Terol S, Winder M. DNA metabarcoding reveals trophic niche diversity of micro and mesozooplankton species. Proc Biol Sci. 2021;288(1953). Available from: http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2021.0908

Øie G, Galloway T, Sørøy M, Hansen M, Norheim I, Halseth C, et al. Effect of cultivated copepods (*Acartia tonsa*) in first-feeding of Atlantic cod (*Gadus morhua*) and ballan wrasse (*Labrus bergylta*) larvae. Aquaculture Nutrition. 2017;23(1):3–17. Okazaki Y, Miyamoto H, Suzuki K, Saito H, Hidaka K, Ichikawa T. Diverse trophic pathways from zooplankton to larval and juvenile fishes in the kuroshio ecosystem. En: Kuroshio Current. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2019. p. 245–56.

Olivotto I, Capriotti F, Buttino I, Avella AM, Vitiello V, Maradonna F, et al. The use of harpacticoid copepods as live prey for *Amphiprion clarkii* larviculture: Effects on larval survival and growth. Aquaculture. 2008;274(2–4):347–52. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.027

Pan Y-J, Dahms H-U, Hwang J-S, Souissi S. Recent trends in live feeds for marine larviculture: A mini review. Front Mar Sci. 2022;9. Disponible en: http://dx.doi.org/10.3389/fmars.2022.864165

Pan Y-J, Sadovskaya I, Hwang J-S, Souissi S. Assessment of the fecundity, population growth and fatty acid composition of *Apocyclops royi* (Cyclopoida, Copepoda) fed on different microalgal diets. Aquac Nutr [Internet]. 2018;24(3):970–8. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/anu.12633

Pan YJ, Souissi S, Souissi A, Wu CH, Cheng SH, Hwang JS. Dietary effects on egg production, egg-hatching rate and female life span of the tropical calanoid copepod *Acartia bilobata*. Aquaculture research. 2014;45(10):1659–71.

Payne MF, Rippingale RJ. Evaluation of diets for culture of the calanoid copepod *Gladioferens imparipes*. Aquaculture. 2000; 187(1–2):85–96. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(99)00391-9

Peck MA, Holste L. Effects of salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and egg hatching success in *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Optimizing intensive cultures. Aquaculture. 2006;255(1–4):341–50. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.11.055

Perumal S, Ananth S, Nandakumar R, Jayalakshmi T, Kaviyarasan M, Pachiappan P. Intensive indoor and outdoor pilot-scale culture of marine copepods. En: Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture. New Delhi: Springer India; 2015. p. 33–42.

Prieto MJ, Mogollon MJ, Castro AL, Sierra LA. EFECTO DEL MEDIO Y CONDICIONES DE CULTIVO EN LA PRODUCTIVIDAD DE TRES DIATOMEAS MARINAS CON POTENCIAL ACUÍCOLA. Rev MVZ Córdoba. 2005;10(1). Disponible en: http://dx.doi.org/10.21897/rmvz.476

Prusova IY, Galagovets EA. Sex ratios of calanoid copepods in the northern Black Sea. Reg Stud Mar Sci [Internet]. 2022;55(102576):102576. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.rsma.2022.10257

Quah WC, Chew LL, Chong VC, Chu C, Teoh CY, Ooi AL. Does structural change in the zooplankton community affect larval fish feeding in anthropogenically disturbed tropical waters? Environ Biol Fishes. 2022;105(1):55–76. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s10641-021-01189-2

Rasdi NW, Qin JG. Impact of food type on growth, survival and reproduction of the cyclopoid copepod *Cyclopina kasignete* as a potential live food in aquaculture. Aquac Int [Internet]. 2018;26(5):1281–95. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/s10499-018-0283-x

Rasdi NW, Qin JG. Improvement of copepod nutritional quality as live food for aquaculture: a review. Aquac Res. 2016;47(1):1–20. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/are.12471

Ratnarajah L, Abu-Alhaija R, Atkinson A, Batten S, Bax NJ, Bernard KS, et al. Monitoring and modelling marine zooplankton in a changing climate. Nat Commun. 2023 [cited 2023 Sep 30];14(1):1–17. Available from: https://www.nature.com/articles/s41467-023-36241-5

Rayner TA, Jørgensen NOG, Blanda E, Wu C-H, Huang C-C, Mortensen J, et al. Biochemical composition of the promising live feed tropical calanoid copepod *Pseudodiaptomus annandalei* (Sewell 1919) cultured in Taiwanese outdoor aquaculture ponds. Aquaculture. 2015; 441:25–34. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.034

Rocha GS, Katan T, Parrish CC, Kurt Gamperl A. Effects of wild zooplankton versus enriched rotifers and *Artemia* on the biochemical composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. Aquaculture. 2017; 479:100–13. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.025

Roman MR, Pierson JJ. Interactive effects of increasing temperature and decreasing oxygen on coastal copepods. Biol Bull 2022;243(2):171–83. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1086/722111

Santhanam P, Jeyaraj N, Jothiraj K, Ananth S, Dinesh Kumar S, Pachiappan P. Evaluation of the suitability of marine copepods as an alternative live feed in high-health fish larval production. En: Basic and Applied Zooplankton Biology. Singapore: Springer Singapore; 2019. p. 277–92.

Santhosh B, Aneesh KS, Anzeer FM. Culture and maintenance of marine copepods as the live feed. En: Winter School on Mariculture Technologies for Income Multiplication, Employment, Livelihood and Empowerment. Cochín, India: ICAR-Central Marine Fisheries Research Institute; 2023. p. 364.

Sarkisian BL, Lemus JT, Apeitos A, Blaylock RB, Saillant EA. An intensive, large-scale batch culture system to produce the calanoid copepod, *Acartia tonsa*. Aquaculture.2019; 501:272–8.

Sew G, Calbet A, Drillet G, Todd PA. Effects of concentration and size of suspended particles on the ingestion, reproduction and mortality rates of the copepod, *Acartia tonsa*. Mar Environ 2018; Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.06.016

Støttrup JG. Production and nutritional value of copepods. Live feeds in marine aquaculture. 2003;145–205.

Stottrup JG. The elusive copepods: their production and suitability in marine aquaculture. Aquac Res. 2000;31(8–9):703–11. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00488.x

Takayama Y, Hirahara M, Toda T. Bioreactor cultivation of the planktonic copepod *Acartia steueri* Smirnov for egg collection. Aquac; 2021;52(11):5912–7. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1111/are.15421

Takayama Y, Toda T. Switch from production of subitaneous to delayed-hatching and diapause eggs in *Acartia japonica* Mori, 1940 (Copepoda: Calanoida) from Sagami Bay, Japan. Reg Stud Mar Sci;2019;29(100673):100673. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352485519300970

Torreblanca ML, Pérez-Santos I, San Martín B, Varas E, Zilleruelo R, Riquelme-Bugueño R, et al. Dinámica estacional del zooplancton en una bahía del norte de Chile expuesta a condiciones de afloramiento. Revista de biología marina y oceanografía. 2016; 51:273–91

Torres GA, Merino GE, Prieto-Guevara MJ. Continuous egg separation of the copepod *Acartia tonsa*. Implications for increasing adult density at an intensive level. Aquac Rep. 2022;22(100995):100995. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100995

Van der Meeren T, Olsen RE, Hamre K, Fyhn HJ. Biochemical composition of copepods for evaluation of feed quality in production of juvenile marine fish. Aquaculture. 2008; 274(2–4):375–97. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.041

Van Someren Gréve H, Almeda R, Lindegren M, Kiørboe T. Gender-specific feeding rates in planktonic copepods with different feeding behavior. J Plankton Res. 2017;39(4):631–44. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbx033

Vehmaa A, Hogfors H, Gorokhova E, Brutemark A, Holmborn T, Engström-Öst J. Projected marine climate change: effects on copepod oxidative status and reproduction. Ecol Evol. 2013;3(13):4548–57. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1002/ece3.839

Versen MH, Poulsen LK. Coprorhexy, coprophagy, and coprochaly in the copepods *Calanus helgolandicus, Pseudocalanus elongatus, and Oithona similis*. Mar Ecol Prog Ser. 2007; 350:79–89. Disponible en: http://dx.doi.org/10.3354/meps07095
Vu M, Hansen B, Kiørboe T. The constrains of high density production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. Journal of Plankton Research. 2017;1–12.

Wilson JM, Ignatius B, Sawant PB, Santhosh B, Chadha NK. Productivity of the calanoid copepod *Acartia tropica* in response to different salinities and multigenerational acclimatization. Aquaculture. 2021; 531(735818):735818. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735818.

Yurikova DA, Kosobokova KN, Savchenko AS. Investigation of the reproductive system in calanoid copepods: A new approach using 3D reconstructions from serial semi-thin cross-sections in Calanus glacialis and Metridia longa. Arthropod Struct Dev2023;73(101249):101249.

Zhang J, Wu C, Pellegrini D, Romano G, Esposito F, Ianora A, et al. Effects of different monoalgal diets on egg production, hatching success and apoptosis induction in a Mediterranean population of the calanoid copepod *Acartia tonsa* (Dana). Aquaculture. 2013;400–401:65–72. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.032