



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS.

DEPARTAMENTO DE DESARROLLO DE TECNOLOGIAS
LABORATORIO DE
BIOLOGIA EXPERIMENTAL

EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y LA SALINIDAD EN PARAMETROS
POBLACIONALES DE *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson (CRUSTACEA:
COPEPODA: CALANOIDEA) EN CONDICIONES CONTROLADAS.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS.

Presenta:
B.ól. Mar. Manuel Osorio Galindo

INDICE

Glosario	1
Relación de cuadros y figuras	3
Resumen	5
Abstract	7
1. Introducción	9
2. Antecedentes	12
2.1. Descripción del género <i>Pseudodiptomus</i>	16
3. Justificación	18
4. Objetivo general	20
4.1. Objetivos particulares	20
5. Material y método	21
5.1. Diseño experimental	21
5.2. Obtención de cohortes	21
5.3. Método de cultivo	22
5.4. Análisis estadístico	25
6. Resultados	29
6.1. Tablas de vida	30
6.2. Natalidad	38
6.3. Tiempo de generación	40
6.4. Crecimiento poblacional	40
6.5. Proporción de sexos	41

7. Discusión	44
7.1. Tablas de vida	45
7.2. Efecto de la temperatura	47
7.3. Efecto de la salinidad	48
7.4. Natalidad	49
7.5. Proporción de sexos	50
8. Conclusiones	53
9. Recomendaciones	54
10. Sugerencias para trabajos futuros	54
11. Bibliografía	55
12. Anexos	65

GLOSARIO

Anténula: Primer par de antenas de los crustáceos (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Apéndice birramio: Apéndice que consta de una rama externa (prepipodito) y una interna (telopodito ó endopodito) (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Basipodito: Segmento basal del telopodito o segundo segmento de un apéndice en crustáceos (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Ciclo de vida: Periodo que transcurre entre la fertilización de un huevo y el individuo adulto que proviene de él (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Cohorte: Es un grupo de organismos producidos al mismo tiempo; una generación (Lalli y Parsons, 1993).

Copepodito: Estadio de vida de los copépodos que se presenta después del estadio nauplio y se diferencia por la aparición de los segmentos abdominales (Schram, 1986).

Copépodo: Es un grupo de pequeños crustáceos bentónicos, planctónicos o parásitos que viven en la columna de agua, son usualmente el grupo dominante del zooplancton marino (Lalli y Parsons, 1993).

Crustacea: Es una clase de artrópodos con un número elevado de especies (mas de 40000 sp.) con cuerpo segmentado, con apéndices pares y un exoesqueleto quitinoso (Bliss, 1982).

Desarrollo isocronal: Se refiere a la duración constante de los estadios de vida en los copépodos (Klein-Breteler *et al.*, 1994).

Diapausa: Disminución al mínimo del metabolismo en el curso del desarrollo del huevo, de la larva o la del adulto (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Dimorfismo: Diferencia en la forma, tamaño, color entre dos individuos del mismo sexo o de ambos sexos de la misma especie. Puede ser estacional, ocasional o geográfico (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Endopodito: Rama interna de un apéndice birrameo (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Epibentónico: Organismo que vive asociado al fondo en un ambiente acuático (Lalli y Parsons, 1993).

Estadio ó estado: Periodo definido en el desarrollo de los artrópodos. V.g. huevo o larva. Principalmente de los que presentan metamorfosis (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Estenohalino: Tolerancia reducida a un estrecho intervalo de salinidad (Lalli y Parsons, 1993).

Eurihalino: Capacidad de tolerar un amplio intervalo de salinidad (Lalli y Parsons, 1993).

Fertilidad: Capacidad innata de un organismo de producir descendencia viva a la siguiente generación (Krebs, 1985).

Fecundidad: Es la tasa de producción de huevos o crías (Lalli y Parsons, 1993).

Maxilípodo: Apéndice de los crustáceos, formado por la transformación del primero, segundo y tercer par de las tres primeras patas después de las maxilas, o sólo el primero y segundo (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Metamorfosis: Serie de transformaciones por los que pasan los artrópodos en el curso de su crecimiento (Vazquez-García y Villalobos, 1987).

Nauplio: Estadio de desarrollo de los crustáceos planctónicos, copépodos. Estadio de nado libre de los crustáceos (Lalli y Parsons, 1993).

Plancton: plantas y animales que viven en la columna de agua y que son incapaces de nadar a través de una corriente (Lalli y Parsons, 1993).

Población: Son todos los individuos de una especie que habitan una misma área geográfica o lugar (Lalli y Parsons, 1993).

Salinidad: Es definida como la cantidad de material sólido en gramos contenido en un kilogramo de agua de mar cuando todos los carbonatos han sido convertidos a óxido y los iones iodo y bromo han sido reemplazados por cloro y toda la materia orgánica ha sido completamente oxidada (Sverdrup *et al.*, 1970).

Zooplancton: Animales planctónicos (Lalli y Parsons, 1993).

RELACION DE CUADROS Y FIGURAS.

Cuadro 1. Estadios de copépodos encontrados en la temperatura de 16 °C con las diferentes salinidades probadas.

Cuadro 2. Estadios de copépodos encontrados en la temperatura de 23 °C con las diferentes salinidades probadas.

Cuadro 3. Estadios de copépodos encontrados en la temperatura de 30 °C con las diferentes salinidades probadas.

Cuadro 4. Tablas de vida para los tratamientos de 16 °C con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

Cuadro 5. Tablas de vida a 23 °C para los tratamientos con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

Cuadro 6. Tablas de vida a 30 °C para los tratamientos con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

Cuadro 7. Resumen de la tasa de reemplazamiento (Ro), tiempo de generación (D), número de huevos por saco (N_e), número de hembras con saco de huevos (p) y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m).

Cuadro 8. Anova de dos vías con réplica para los valores de la tasa de reemplazamiento en el experimento de temperaturas y salinidades con *Pseudodiaptomus euryhalinus*

Cuadro 9. Interacción entre la tasa de reemplazamiento con las temperaturas de 16, 23 y 30 °C y las salinidades de 25, 35 y 45 ‰ para el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Prueba de Tukey HSD).

Cuadro 10. Número de organismos adultos y proporción de sexos del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* para los tratamientos de temperatura (23 y 30 °C) y la salinidad (25 y 35 ‰).

Figura 1. Diseño experimental para la obtención de Tablas de vida a partir de nauplios de una misma cohorte para el copépodo calanoideo *Pseudodiaptomus euryhalinus*.

Figura 2. Diagrama de flujo propuesto para obtener nauplios de una misma cohorte de *Pseudodiaptomus euryhalinus* en condiciones de laboratorio.

Figura 3. Curva de mortalidad media ± el error estándar de los tratamientos de 16 °C a las distintas salinidades.

Figura 4. Curva de supervivencia media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 16 °C a las distintas salinidades.

Figura 5. Curva de mortalidad media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 23 °C a las distintas salinidades.

Figura 6. Curva de supervivencia media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 23 °C a las distintas salinidades.

Figura 7. Curva de mortalidad media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 30 °C a las distintas salinidades.

Figura 8. Curva de supervivencia media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 30 °C a las distintas salinidades.

Figura 9. Interacción entre la tasa de reemplazamiento con las temperaturas de 16, 23 y 30 °C para el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus*.

Figura 10. Crecimiento poblacional esperado para los tratamientos de temperatura y salinidad.

Figura 11. Proporción de sexos obtenida entre tratamientos de temperatura y salinidad.

Anexo A. Lista de especies de copépodos calanoides mantenidos en condiciones de laboratorio.

Anexo B. Lista de especies de copépodos harpacticoides mantenidos en condiciones de laboratorio.

Anexo C. Lista de especies de copépodos cyclopoides mantenidos en condiciones de laboratorio.

Anexo D. Características morfológicas de los estadios de desarrollo de *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939; 1948).

Efecto de la temperatura y la salinidad en parámetros poblacionales de *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson (Crustacea: Copepoda: Calanoidea) en condiciones controladas.

RESUMEN:

En la producción intensiva de larvas de peces marinos y de crustáceos los cultivos de alimentos vivos tienen más del 50% del costo de producción por lo que se buscan alternativas para aumentar los rendimientos. Uno de los alimentos empleados en las primeras fases de vida de los peces marinos y crustáceos son los copépodos, los organismos de este grupo taxonómico poseen un intervalo de tallas adecuados y características nutricionales que hacen importante su utilización. Dentro de la biología de los copépodos, los factores más importantes que repercuten en el ciclo de vida se encuentran la temperatura y la salinidad, estos factores inciden en aspectos reproductivos como la fecundidad, la proporción de sexos y el apareamiento, así como también en la duración de los estadios de desarrollo. Desde 1989 en el CICIMAR-IPN se mantiene en cultivo extensivo al copépodo calanoideo *Pseudodiaptomus euryhalinus* en tanques de 500 litros al exterior. Sin embargo, aún se desconoce la técnica de cultivo para sostener una producción intensiva y satisfacer la demanda requerida para alimentar a larvas de peces marinos. En el presente trabajo se estudió la influencia de la temperatura y la salinidad para optimizar la producción de nauplios en el cultivo del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* con el fin de desarrollar una producción intensiva y comercial. Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN en La Paz, B.C.S. en un cuarto frío con temperatura controlada a 15 ± 1 °C; en volúmenes de 700 ml, cuyos tratamientos consistieron en mantener tres temperaturas 16, 23 y 30 °C y tres salinidades 25, 35 y 45 ‰. Los resultados se evaluaron en función de la tasa de mortalidad, la natalidad, la fertilidad, el crecimiento poblacional y el tiempo de generación, a los 4, 8, 12 y 15 días del cultivo iniciando con una misma cohorte de nauplios (N2) del primer estadio de vida libre para *P. euryhalinus*. La mayor mortalidad ocurrió en los tratamientos de 45 ‰ para todas las temperaturas probadas, existiendo diferencias con respecto a los estadios encontrados. En los resultados obtenidos con el número de nauplios (tasa de reemplazamiento) se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tratamientos con un máximo en la producción de 2252 nauplios a 23 °C - 35 ‰. Con las temperaturas de 23 y de 30 °C el estado de madurez se alcanzó a los 12 y 8 días respectivamente, encontrándose una

disminución en el número de huevos por hembra al incrementar la temperatura. Con la temperatura más baja (16 °C) no se llegó a la madurez a ninguna salinidad probada. Por otra parte, se calculó el crecimiento poblacional tomando en cuenta el número de nauplios producidos, el número de hembras con saco y el número de huevos por saco, se encontró que las tasas de crecimiento poblacional están influenciadas en mayor medida por la temperatura que por la salinidad, siendo de 0.98 a 30 °C y de 0.68 a 23°C respectivamente. También se hicieron observaciones colaterales sobre la proporción de sexos para los mejores tratamientos, encontrándose diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las temperaturas pero no entre la salinidad. Se encontró que a 23 °C se presenta una proporción de sexos 1:1, mientras que a 30 °C es mayor la cantidad de machos con respecto al de hembras (3:1). Se concluye que la mejor producción de nauplios se obtiene a 23 °C y 35 ‰ en donde la proporción de sexos fue 1:1.

Effects of temperature and salinity on population parameters of *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson (Crustacea: Copepoda: Calanoidea) under controlled conditions.

ABSTRACT

Live feeds exceed 50% of the total cost in the intensive production of larval marine fish and crustaceans. To increase the profitability of production the search for alternatives is therefore an important goal. During the early life stages of fishes and crustaceans are copepods used as live feed due to their nutritional qualities and their range size. Water temperature and salinity are the most important biological factors in the copepods life cycle, which affect reproductive aspects (fertility, sex ratio, and mating) and the length of development. Since 1989 the calanoid copepod *Pseudodiaptomus euryhalinus* is kept under culture at Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR- IPN), but not sufficient information exist about their requirements for an intensive production which can satisfy the food demands of marine fish larvae. The aim of study was to determine the influence of temperature and salinity for the optimal production of copepod nauplii *Pseudodiaptomus euryhalinus*. The experiment was carried at the Experimental Biology laboratory of CICIMAR-IPN in La Paz, B.C.S in a controlled room temperature (15 ± 1 °C). Bottles of 700 ml of seawater were placed three different temperatures (16, 23 and 30°C) and three different salinities (25, 35 and 45 ppt). At 4, 8, 12 and 16 days of culture the mortality rate, fertility, population increase, and generation age were evaluated on a cohort of copepods nauplii (N2). At 45 ppt salinity the higher mortality rate were observed at all temperatures tested. Significant differences ($p > 0.05$) were found in the nauplii production at 23°C - 35 ppt (2252 nauplii). At 23 and 30 °C, the maturity stage was reached at 12 and 8 days, respectively, also a lower eggs production per female was observed with temperature increment. At the lowest temperature (16 °C) the maturity stage was not reached for any of the salinity tested. Population growth was calculated taking into account the birth, female number and eggs sacs by female. It was shown that the population growth rate was more

influenced by temperature (0.98 at 30 °C, 0.68 at 23 °C) than by salinity. Additionally, the sex ratio (male:female) was determined between the culture conditions. Significant differences ($p > 0.05$) were at 23 °C with a 1:1 sex ratio while it was higher 30 °C with 3:1 sex ratio. In conclusion the highest nauplii production is obtained at 23 °C and 35 ppt a salinity with a 1:1 sex ratio.

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es el cultivo de organismos acuáticos incluyendo peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas en condiciones controladas. La actividad de cultivo implica la intervención del hombre en el proceso de cría para aumentar la producción, destinándolos en procesos de repoblación, de alimentación humana (directa o indirecta), de pesca deportiva y pesca comercial (Bardach *et al.*, 1990; FAO, 1993).

Actualmente en la producción de alimento, la acuicultura está alcanzando niveles importantes a nivel mundial en cuanto a las especies acuáticas que se utilizan como fuente de proteína animal. Por ejemplo, los peces (marinos y dulceacuicolas) representaron el 49.5 % de la cantidad mundial producida por acuicultura para 1994; no obstante, es incipiente aún el desarrollo de la piscicultura marina; dado que la producción mundial de peces marinos por acuicultura solo alcanzó el 3.5%, mientras que para especies dulceacuicolas fue del 96.5 % (FAO, 1995). Si bien la producción de organismos marinos es baja (excluyendo a los moluscos) se debe a que tanto en los cultivos de crustáceos como en el de los peces marinos, durante las primeras fases de vida se hace necesaria hasta ahora la alimentación con organismos vivos, para incrementar las supervivencias y buenos crecimientos (Yúfera y Pascual, 1984; Payán-Aguirre, 1994). Para lograrlo, deben ser adecuados la densidad, el tamaño y el valor nutricional del alimento e inclusive debe mantenerse suspendido en la columna de agua, por lo cual es necesario usar organismos de vida pelágica (Hunter, 1984).

Dentro de los grupos que se utilizan como alimento vivo en las primeras fases de vida en la acuicultura marina destacan varias especies de microalgas, rotíferos, copépodos y artemia entre otros, siendo estos grupos los más utilizados actualmente para este fin. En la piscicultura, los copépodos han sido usados en muchos lugares, tanto en los cultivos de larvas de peces dulceacuicolas como marinos. Sin embargo, para estos últimos los copépodos tienen aún más importancia como dieta puesto que son el grupo más abundante del plancton y por ello, el eslabón alimenticio entre productores primarios y secundarios en condiciones naturales (Lalli y Parsons, 1993).

En cuanto a su importancia nutricional para el cultivo de organismos marinos en laboratorio se han determinado cualidades nutricionales en copépodos, a diferencia de las especies de rotíferos y artemia, ya que favorecen mejores condiciones para el crecimiento en larvas de peces marinos y crustáceos; esto es debido a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (Watanabe *et al.*, 1983; Watanabe y Kiron, 1994; Carli *et al.*, 1995).

Los copépodos además de tener un valor nutricional alto, pueden ser administrados de varias maneras, como nauplios o copepoditos en la primera alimentación y como adultos de copépodos en otros estadios de alimentación de muchos peces, su típico movimiento en zigzag, seguido por una fase de movimientos suaves, son un importante estímulo visual para muchos peces que prefieren a los copépodos más que a los rotíferos. El uso de copépodos epibentónicos por otra parte ayuda al mantenimiento de los recipientes de cultivo, especialmente con los desechos y las microalgas que quedan ahí (Yúfera y Pascual, 1984; Lavens y Sorgeloos, 1996).

Dentro del grupo de los copépodos destacan tres órdenes que son de vida libre de manera natural: Calanoida, Harpacticoida y Cyclopoida (Marshall y Orr, 1972; Rayment, 1983; Brusca y Brusca, 1990). Estos órdenes son los más utilizados en la acuicultura debido a las características de su ciclo de vida. Sin embargo, una limitante del cultivo es el espacio cuando se requiere mantenerlos de manera intensiva, en los cuales se han obtenido mejores rendimientos con copépodos epibentónicos y no así con los planctónicos en los que se obtienen mejores rendimientos en cultivos extensivos (Stottrup y Nosker, 1997).

Se han sugerido como especies susceptibles de cultivo a más de ochenta especies de copépodos, pero a nivel mundial solo se utilizan ocho especies (Lavens y Sorgeloos, 1996), la mitad de estas últimas son epibentónicas y se cultivan de manera intensiva. Una de las características recomendables para iniciar un cultivo es seleccionar una especie tolerante a cambios bruscos de las condiciones ambientales. En el CICIMAR-IPN se intenta establecer un cultivo intensivo de copépodos a partir de una especie nativa, con características epibentónicas, con nauplios completamente de vida pelágica y muy resistentes al manejo.

El desarrollo completo de los copépodos incluye 6 estadios nauplios y 5 estadios copepoditos y el adulto. Siendo diferente la duración del desarrollo de los estadios entre las especies; no obstante en algunas especies se considera isocronal (Landry, 1975; Klein-Breteler *et al.*, 1994; Schram, 1986). En copépodos calanoideos existe un aumento en la duración del estadio Nauplio III y Copepodito I, lo cual se atribuye a la formación de las células genitales y la migración de las mismas de la parte ventral a la dorsal en el cuerpo del animal y a la desaparición de branquias secundarias. También existe un aumento en la duración del estadio copepodito V (Marshall y Orr, 1972; Landry 1975, 1983; Peterson, 1986; Uye, 1988; Peterson y Painting, 1990).

El apareamiento ocurre a partir del Copepodito III y IV, previo al cual la hembra a través de su rama caudal o sus anténulas emite señales ó estímulos químicos específicos (feromonas) que son detectados por el macho, quien agarra a la hembra con su anténula derecha y el quinto par de patas (Calanoides) o con ambas anténulas (Harpacticoides y Cyclopoides) para colocarse en la posición de la cópula. Los espermatozoides no son móviles por lo que el macho deposita directamente sobre un receptáculo de la hembra (espermatóforo) un saco de esperma (espermateca); después de lo cual la hembra cesa su emisión de feromonas. Cuando no ocurre la detención de la producción de feromonas se llegan a producir cópulas múltiples y generalmente ocurre cuando hay una alta proporción de machos, también por retraso de la primera puesta de huevos y por la pérdida de los gametos. Este fenómeno de cópulas múltiples es considerado como un mecanismo de regulación de la población (Marshall y Orr, 1972; Uchima, 1985a, 1985b; Snell y Carmona, 1994).

Para el conocimiento y manejo en los cultivos de copépodos es necesario tener las estimaciones de natalidad, mortalidad y tasa reproductiva para predecir los patrones de crecimiento y su respuesta a fluctuaciones ambientales o en experimentación (Krebs, 1985). En este trabajo se pretende encontrar la dinámica poblacional del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* a diferentes condiciones de salinidad y temperatura, de tal manera que sea eficiente su producción en un sistema de cultivo.

2. ANTECEDENTES

Los copépodos se han usado en la piscicultura marina y la camaronicultura desde los años 70's, cuando quedó de manifiesto que las malformaciones y las altas mortalidades de larvas se debían a la calidad nutricional del alimento vivo empleado para los cultivos de varias especies de peces, tales como *Pagrus major*, *Acanthopagrus schlegelii*, *Limanda yokohamae* y *Oplegnathus fasciatus* en Japón (Fukusho *et al.*, 1980; Fukuhara, 1987). Este efecto se atribuía a que tanto los rotíferos como la artemia carecían de algunos ácidos grasos poliinsaturados esenciales para estas larvas, no siendo este el caso de los copépodos (Watanabe *et al.*, 1983; Watanabe y Kiron, 1994).

Entre las especies de copépodos que se ocupan más comúnmente y que se han propuesto para su uso en cultivos de larvas de peces marinos en distintas partes de mundo, mantenidas en condiciones de laboratorio por una o más generaciones, son las pertenecientes a los copépodos calanoideos (Anexo A), los copépodos harpacticoides (Anexo B) y los copépodos cyclopoides (Anexo C). De todas estas especies de copépodos solamente se tienen metodologías bien establecidas para el cultivo de pocas de ellas, las cuales se ocupan en acuicultura, siendo estas especies: *Acartia tonsa*, *Eurytemora affinis*, *Calanus finmarchicus*, *Calanus helgolandicus*, *Tisbe holoturidae*, *Tigriopus japonicus*, *Tisbenta elongata*, *Schizopera elatensis* (Lavens y Sorgeloos, 1996).

En cuanto al uso de tablas de vida como herramienta para la realización de inferencia en aspectos biológicos y poblacionales de copépodos existen numerosos trabajos (Landry, 1975; Harris y Paffenhöfer, 1976; Heip y Smol, 1976; Harris, 1977; Eurlini *et al.*, 1978; Parrish y Wilson, 1978; Feller, 1980; Vidal, 1980; Peterson 1986; Nilsson, 1987; Peterson y Painting, 1990; Klein-Breteler *et al.*, 1994; Carli *et al.*, 1995; Hagiwara *et al.*, 1995 y Sunyoto *et al.*, 1995) donde se obtiene información relevante de mortalidad, producción de huevos, tiempos de generación, crecimiento y fecundidad de copépodos. Sin embargo, existe polémica en su utilización debido a que los organismos utilizados provienen del campo y en condiciones de aclimatación en laboratorio mostraron diferencias en los parámetros poblacionales (Hairston, 1985).

La temperatura es uno de los factores más importantes que influyen en el ciclo de vida de los copépodos. Corkett y Zillioux (1975) al estudiar la producción de huevos en varias especies de copépodos transportadores de huevos en sacos y no transportadores, encontraron que dentro del intervalo de tolerancia para cada especie la disminución de temperatura favorece la producción de huevos en especies de los géneros que no acarrean sacos de huevos como *Acartia* y *Temora*. Landry (1975) y Klein-Breteler y González (1988) mencionan que los cambios de temperatura se reflejan en las tallas y concluyen que todos aquellos efectos de aclimatación que se ven en el campo se pueden reproducir en el laboratorio, así lo demostraron con los copépodos *Acartia clausi*, *Temora longicornis* y *Pseudocalanus elongatus*, ya que encontraron que a altas temperaturas se observan tallas menores.

Hirche (1980) hizo una comparación entre diferentes temperaturas y las condiciones del alimento en el cultivo de *Calanoides carinatus*, mencionando que el efecto de incrementar la temperatura (5, 10, 15 y 20 °C) se ve reflejado en una reducción en el tiempo de desarrollo de huevos y nauplios; de esta forma en las temperaturas de 5 y 10 °C los nauplios no se desarrollan y a 20 °C sólo se llega a tener una hembra hasta los 21 días, a 15 °C solo se obtienen copepoditos. Peterson (1986) comparó la supervivencia, el desarrollo y el crecimiento a 10, 11 y 15 °C, encontrando que el tiempo de desarrollo para *Calanus marshallae* se reduce con el aumento de la temperatura de 64 a 36 días, mientras que la supervivencia a 10 °C es de 41%, a 11 °C de 15%, a 15 °C de 0-19%. Uye (1988) encontró con otro copépodo calanoideo *Calanus sinicus* que existen además efectos de la temperatura en ciertos estadios del crecimiento del copépodo, de esta manera observó que la tasa de crecimiento es mayor en los estadios copepoditos CI al CIII, intermedio de NII a CI y de CIII a CV y muy bajo en los estadios CV a CVI. Peterson y Painting (1990) al comparar la tasa de desarrollo de *Calanus australis* y *Calanus carinatus* encontraron diferencias entre las especies; para la primera especie el desarrollo de huevo a adulto a 15.5 °C tarda 20.3 días y 16 días a 19.5 °C. Lo mismo sucede con la otra especie ya que a 18.3 °C el adulto se alcanza a los 12 días. Encontraron además que al aumentar la temperatura de 15.5 °C a 19.5 °C afecta la proporción de sexos, en cuanto a los adultos se obtuvo el 66 % de hembras en *C. carinatus*.

Feller (1980) comparó las temperaturas de 4, 8, 12 y 20 °C en el desarrollo del copépodo harpacticoide *Huntemannia jadensis* mencionando que a 4 °C el desarrollo no alcanza el estadio Nauplio IV, encuentra que en las demás temperaturas las mayores mortalidades ocurren en estadios nauplio más que en los copepoditos. James y Al-Khars (1984) menciona que en la especie de copépodo cyclopoideo *Apocyclops bomeoensis* se tienen elevadas mortalidades a 10 C °. Coincidiendo con lo encontrado por Trujillo-Ortiz (1990) para el copépodo calanoideo *Acartia californiensis* ya que hubo altas mortalidades a 17 °C.

En la especie *Calanus pacificus* López (1991, 1996) encontró que las variaciones en la tasa de desarrollo y la supervivencia durante los estadios de nauplio, corresponden a periodos críticos del desarrollo asociados a la temperatura y a la alimentación. El desarrollo se retrasa pocas horas después de completarse la muda en el estadio de Nauplio III, lo cual coincide con el inicio de la alimentación, así mismo, cuando se somete a periodos de inanición, encontró que el estadio Nauplio V es menos sensible al periodo de inanición que los estadios Nauplio III y VI. Parrish y Wilson (1978) mantuvieron durante 4 años a *Acartia tonsa* evaluando la tasa diaria, el patrón de formación de huevos y el efecto de la presencia de copépodos machos; encontrando que ocurre un desarrollo más rápido en los machos, encuentran además que es necesaria la presencia de los machos para mejorar la producción de huevos. Este mismo aspecto ya había sido observado por Harris (1977) con el copépodo harpacticoide *Scottolana canadensis*.

En lo que respecta a la salinidad son pocos los trabajos que existen acerca de los efectos que éste tiene en la biología de los copépodos; Hagiwara *et al.*, (1995) describieron algunas características del mantenimiento del copépodo *Tigriopus japonicus*, cultivado en cajas petri a diferentes salinidades (4, 8, 16 y 32 ‰) alimentados con *Tetrahymena tetrahele*, encontrando que a 32 ‰ se obtienen más nauplios, alcanzándose además el máximo crecimiento poblacional; por otra parte sugieren que las salinidades no afectan la proporción de sexos.

Sin embargo, el aspecto más estudiado quizá como consecuencia a cambios de salinidades sean los estados de latencia o de permanencia en determinado estadio de desarrollo de los copépodos marinos. Dahms (1995), mencionó que los estados de latencia de copépodos

afectan la anatomía, fisiología, genética, biología de la población, ecología de la comunidad, evolución y distribución local y geográfica. Además, observó que en géneros de copépodos pelágicos es posible reconocer en algunos casos estos periodos de latencia tanto en habitats dulceacuícolas como marinos, estos fenómenos se pueden presentar por la formación de huevos de resistencia (quistes) o con la permanencia en un estadio de desarrollo de copepodito o adulto. Este fenómeno ocurre como consecuencia de condiciones ambientales adversas, no solo de la salinidad sino también a cambios de temperatura, disponibilidad de alimento, depredación y desecación entre otros. Dybdahl (1995) sugirió que la salinidad es desfavorable en especies de copépodos que carecen de estadios de latencia ya que acelera el desarrollo, reduciendo la edad de primera reproducción y apareamiento. Además, este parámetro provoca que se incremente la mortalidad en los primeros estadios.

Bergmans (1981) en un estudio demográfico del copépodo *Tisbe furcata* determinó que la duración de estadios, la tasa de crecimiento, la tasa de reproducción y el tiempo de generación se pueden analizar con buenos resultados por medio de la utilización de tablas de vida en copépodos portadores de sacos.

En México, dado que no existe una producción importante de peces marinos como en otros países, son pocos los estudios que se han hecho relacionados con el cultivo de copépodos. Entre estos se pueden mencionar los realizados con el copépodo calanoideo *Acartia californiensis* por Trujillo-Ortiz (1986, 1990), donde se describe por primera vez el ciclo de vida de esta especie en condiciones de laboratorio, así como también la producción de huevos, el porcentaje de eclosión y el tiempo de desarrollo (17.75 días). Trujillo-Ortiz y Arroyo-Ortega (1991) identificaron el tipo de mortalidad y el estadio de mayor riesgo durante el ciclo de vida de *Acartia californiensis*, presentándose una mayor mortalidad en los estadios naupliares en relación a los copepoditos.

Aspectos biológicos y ecológicos del género *Pseudodiaptomus* están representados por Jacobs (1961) que mantiene durante cuatro generaciones al copépodo *P. coronatus*, mencionando que el tiempo de generación es de 25 días a 20 °C, encontrándose más machos que hembras, presentando un alto dimorfismo sexual en estadio adulto. En el apareamiento el macho

permanece sujeto a la hembra a través del quinto par de apéndices torácicos durante la cópula. Además existe una distribución diferencial de estadios en los recipientes de cultivo; esto es, los nauplios son pelágicos en tanto que los estadios copepodito y adulto son epibentónicos por lo que permanecen cerca del fondo o posados en las paredes de los recipientes.

Por otra parte, se tienen los estudios realizados con el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* efectuados por Payán-Aguirre (1994), quién aisló la cepa de este copépodo y proporcionó algunos aspectos básicos para su cultivo a mediana escala con la finalidad de utilizarla como alimento de larvas de peces marinos en el CICIMAR-IPN. Determinó que una proporción de 3:1 de *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis taitiana*, a una densidad total de 75,000 cel/ml es adecuado como alimento del copépodo. Así mismo determina la duración y talla promedio de los estadios de desarrollo del copépodo en el que el periodo nauplio presenta 6 estadios con una duración de 4 días con una talla promedio que oscila entre 174 a 467 micras; 5 estadios de copepodito con duración de 3 días con tallas que van desde 494 a 619 micras y a partir del día 8, se diferencia el estadio adulto con un dimorfismo sexual en la talla de los individuos (desde 647 micras hasta 1036 micras en las hembras y desde 647 micras hasta 787 micras en los machos). Esta misma cepa del copépodo *P. euryhalinus* se continúa utilizando en el CICIMAR-IPN con mejores resultados a medida que se ha logrado una mayor adaptación a las condiciones de cultivo y está utilizándose como alimento de larvas de cabrilla arenosa *Paralabrax maculatofasciatus* durante la transición de alimento entre rotíferos y nauplios de artemia (Contreras-Olguín *et al.*, 1997).

2.1. Descripción del género *Pseudodiaptomus*.

El orden Calanoida es el grupo más abundante del zooplancton marino y la mayoría de sus especies son de vida libre. Su cuerpo está dividido en tres partes cabeza, tórax y abdomen; sin embargo la cabeza y el tórax están fusionados en un solo cefalotórax. Se caracterizan por tener el punto de flexión y división entre el tórax y el abdomen, por detrás del último segmento torácico; son reconocidos también porque su primera antena es larga y consta de 16 a 28 segmentos (Marshall y Orr, 1972, Campos-Hernández y Suárez-Morales, 1994).

Walter (1989) menciona que existen 77 especies dentro del género *Pseudodiaptomus*, estas especies son consideradas epibentónicas de distribución global tanto de aguas costeras tropicales como templadas. Las especies que se conocen en el Pacífico oriental se distribuyen desde California, E.U.A. hasta Guayaquil, Ecuador. En general, se consideran tolerantes a amplios intervalos de salinidad y temperatura.

En el laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN se mantiene un cultivo del copépodo *P. euryhalinus* aislado en 1989 (Payán-Aguirre, 1994). Esta especie fue descrita por primera vez por Johnson (1939). Su clasificación taxonómica es la siguiente:

Subphylum: Crustacea.

Clase: Maxillopoda

Subclase: Copepoda

Orden: Calanoida

Género: *Pseudodiaptomus*

Especie: *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson, 1939

Johnson (1939, 1948), mencionó que presentan cinco estadios naupliares de vida libre después de la eclosión, la larva que se puede reconocer estructuralmente es Nauplio II. Se presentan seis estadios copepoditos diferenciándose sexualmente a partir del estadio Copepodito IV y alcanzando la madurez sexual al estadio Copepodito VI (Anexo D). La hembra tiene forma redondeada, con 4 segmentos en el abdomen, llegando a tener hasta dos sacos de huevos aunque con frecuencia se llega a perder uno. La longitud de la hembra incluyendo las ramas caudales es de 1.24 a 1.69 mm; el macho tiene forma oval y presenta cinco segmentos en el abdomen, la anténula derecha geniculada con dos segmentos terminales. Su longitud, incluyendo la rama caudal, es de 0.72 hasta 0.89 mm (Johnson, 1939).

Su distribución geográfica aparentemente esta limitada entre Bahía de San Francisco (California, U.S.A) hasta la costa de Baja California, México (Walter, 1989); no obstante, se ha observado dentro del Golfo de California (Palomares-García, 1991). Esta especie tolera amplios intervalos de temperatura y salinidad, desde 1.8 hasta 68.4 partes por mil (Johnson, 1939).

3. JUSTIFICACIÓN

El principal papel que desempeñan los copépodos en condiciones naturales en relación a la alimentación de larvas y juveniles de peces marinos y otros crustáceos está relacionado con su correspondencia en la cadena trófica. Para la mayoría de las larvas de peces marinos, cualquiera que sea el hábito alimenticio cuando son adultos, pasan a través de un estadio de desarrollo en el que su principal dieta la constituyen los copépodos (Bone y Marshall, 1982).

Dado que la alimentación de larvas de peces marinos es uno de los puntos más críticos de su cultivo, es necesario desarrollar un alimento vivo para reducir las altas mortalidades atribuidas, entre otras cosas, a una alimentación inadecuada (Yúfera y Pascual, 1984). Los copépodos representan un amplia gama de alternativas en su utilización como alimento vivo, ya que presentan diferentes tamaños en sus seis estadios nauplios y seis copepoditos (Schram, 1986).

Existen dos procedimientos para obtener alimento vivo en cantidades adecuadas: 1) captura en ecosistemas naturales con alta productividad y 2) cultivo en condiciones controladas (cultivos de apoyo). La primera alternativa no siempre se puede realizar adecuadamente por la dificultad de encontrar organismos abundantes con cierta diversidad, tamaño, propiedades nutritivas óptimas, así como de contar con una infraestructura y artes de captura adecuadas. Por otra parte se está sujeto a las condiciones ambientales que prevalecen estacionalmente; existen además otros problemas que incluyen enfermedades y parásitos que acompañan a los organismos recolectados en el campo (Kahan *et al*, 1982; Carli *et al*, 1993; Castelló - Orvay, 1993; Naess y Bergh, 1994; Payán-Aguirre, 1994).

La segunda alternativa es el cultivo, según Nellen *et al.* 1981, citado en Castelló - Orvay (1993), para obtener un cultivo masivo es necesario conocer y tener en cuenta los siguientes puntos:

1) Conocimientos básicos de la biología de la especie: como la fisiología, donde se incluyan procesos metabólicos en cultivo a elevadas densidades y diferentes temperaturas y salinidades. El crecimiento, tiempo de generación, fecundidad, fertilidad, frecuencia reproductiva. Forma de alimentación (continua o dosis única), manipulación del valor nutritivo (enriquecimiento).

2) Conocimiento de las técnicas de cultivo: en éstas se incluyen la forma y tamaño de las unidades de producción, suministro de O₂, iluminación y recambio de agua.

Los copépodos son importantes en la dieta natural de larvas silvestres de peces y crustáceos marinos dado que son el grupo más abundante y por ello el eslabón de la cadena alimenticia entre los productores primarios y los carnívoros en el mar (Zillioux y Wilson, 1966), además de que contienen ácidos grasos poliinsaturados (HUFA) que son esenciales y que en la mayoría de los cultivos de apoyo tales como en los de *Artemia* y de rotíferos se tienen en bajas cantidades, tal es el caso de el ácido eicosapentaenoico 20:5 (n-3); e inclusive no se tienen como el ácido docosahexaenoico 22:6 (n-3) (Alvarez-Lajonchere y Hernández-Molejón, 1994; Watanabe y Kiron, 1994, Sorgeloos *et al.* 1996). Nosker y Stottrup (1994) mencionaron que los copépodos y otros invertebrados marinos son capaces de convertir las cadenas cortas de ácidos grasos en ácidos grasos poliinsaturados (HUFA n-3) de cadena larga. Los copépodos tienen un valor nutritivo alto y no requieren de un enriquecimiento previo, mientras que los nauplios de artemia que de por si ya son grandes desde que eclosionan deben ser enriquecidos durante un periodo de 12 - 24 horas, tiempo durante el cual continúan su crecimiento, lográndose un alimento un poco mejor pero de talla inaccesible para muchas larvas.

Conforme las larvas de peces crecen van requiriendo de un alimento de mayor tamaño, de tal manera que cuando han superado la etapa de alimentarse con rotíferos, es conveniente ofrecer un alimento intermedio entre éste y los nauplios de artemia, ya que se ha visto que en el paso de

rotíferos a artemia se tienen altas mortalidades, lo cual se explica no solo por el tamaño sino por la calidad nutricional del alimento. Los copépodos presentan tallas muy diversas que van desde las 55 micras hasta las 800-900 micras, debido a este intervalo de longitudes permiten su utilización como alimento intermedio entre los rotíferos y los nauplios de artemia (Hunter, 1984; Yúfera y Pascual, 1984; Castelló-Orvay, 1993).

Otro aspecto importante para su utilización es que aunque se han hecho cultivos masivos de algunas especies de copépodos epibentónicos y pelágicos de los géneros *Tisbe*, *Tigriopus* y *Euterpina* y que la densidad obtenida es inferior a otros organismos su rendimiento en biomasa es elevado (Yúfera y Pascual, 1984).

4. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la influencia de la temperatura y salinidad sobre los parámetros biológicos de la población de *Pseudodiaptomus euryhalinus*.

4.1. OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener la tabla de vida que permita comparar los parámetros poblacionales de los tratamientos de temperatura y salinidad.
- Determinar los intervalos de temperatura y salinidad de mayor producción de copépodos.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

La cepa de copépodos con los que se realizaron los experimentos se obtuvo del laboratorio de Biología Experimental del CICIMAR-IPN, donde se cuenta con un cultivo de *Pseudodiaptomus euryhalinus* aislado desde 1989 y mantenido en tanques de fibra de vidrio de 500 litros en exteriores (Payán-Aguirre, 1994).

5.1. Diseño experimental.

El diseño experimental que se propuso (Figura 1) estuvo integrado por dos factores, la temperatura y la salinidad, las variables dependientes fueron los parámetros de la población que se determinaron a través de las tablas de vida, donde se incluyeron datos de fertilidad, esperanza de vida, mortalidad, natalidad y crecimiento de la población (Heip y Smol, 1976; Bergmans, 1981; Krebs, 1985).

Salinidad	Temperatura		
	16 °C	23 °C	30 °C
25 ‰			
35 ‰			
45 ‰			

Figura 1. Diseño experimental para la obtención de Tablas de vida a partir de nauplios de una misma cohorte para el copépodo calanoideo *Pseudodiaptomus euryhalinus*.

5.2. Obtención de cohortes.

Una semana antes de iniciar los tratamientos en frascos se seleccionó un tanque de cultivo al exterior con un volumen de 500 litros en el que prevalecieran hembras con sacos de huevos. Los organismos del tanque se hicieron pasar a través de un tamiz de 35 micras y luego por otro de 200 micras para lograr la separación de estadios.

Con el tamiz de 200 micras se separaron nauplios y copepoditos reteniéndose a los adultos (hembras con huevos, hembras sin huevos, machos y parejas). Los adultos se regresaron al tanque repitiéndose el procedimiento de tamizado durante cuatro días para asegurar que los nauplios producidos el último día fueran de una misma cohorte.

Los estadios nauplio y copepodito eliminados y separados después de cada tamizado se colocaron en otro tanque semejante para mantener la población de cultivo al exterior y quedaron fuera del experimento. De esta manera se asumió que los nauplios obtenidos en el tanque seleccionado para el quinto día de tamizado correspondían a organismos de una misma cohorte (Fig.2).

Previamente al experimento con los tratamientos de temperatura y salinidad se obtuvieron nauplios de una misma cohorte, estos se concentraron en una probeta de plástico con un volumen de 1000 ml. Introduciendo dentro de ésta una manguera de acuario con aireación vigorosa con la finalidad de mantener homogénea la distribución de los copépodos. Se compararon tres métodos de obtención de inóculos, 1) mediante dosificador de bulbo con pipetas de 5 ml, 2) mediante un dosificador de pistón con pipetas de 5 ml y 3) por pipeteo con pipetas de 5 ml. El mejor resultado se obtuvo con el pipeteo. Este ensayo previo consistió en calcular el número inicial de nauplios dentro de la probeta para después calcular el volumen en el que se tienen 700 organismos, el cual fue de 39 ml. Con este último volumen se contaron 30 muestras encontrándose un número inicial de siembra promedio de 698 ± 26 nauplios ($\mu \pm S$).

5.3. Método de cultivo.

Para la realización de los experimentos se utilizó un cuarto frío con una temperatura interior de 15 ± 1 °C, en donde se mantuvo un intervalo de iluminación (Noche - Día) 12:12, seleccionándose este intervalo considerando que en condiciones naturales la especie *Pseudodiaptomus euryhalinus* esta distribuida en una región templada donde prevalece este intervalo de iluminación (Walter, 1989).

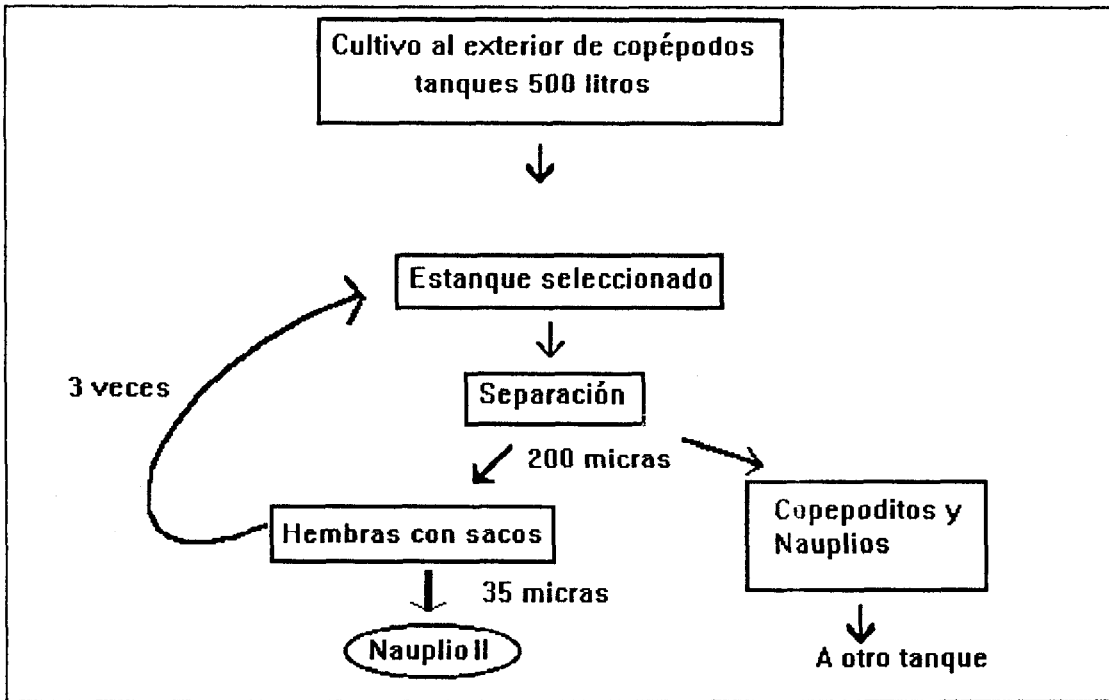


Figura 2. Diagrama de flujo propuesto para obtener nauplios de una misma cohorte de *Pseudodiaptomus euryhalinus* en condiciones de laboratorio.

En el manejo de temperaturas se utilizaron frascos de vidrio de un litro de capacidad, los cuales se colocaron en el interior de 12 cajones de madera con agua (de 80 cm largo, 40 cm ancho y 11 cm altura) a modo de baño maría. En estos cajones se introdujeron termostatos de 200 y 300 watts (marca Visi-Therm) calibrados antes del experimento a las temperaturas de 16, 23 y 30 °C. Se utilizó un termómetro (N₂ Brannan) de inmersión parcial, hecho de borosilicato con fondo amarillo con divisiones de 1 grado centígrado desde -35 hasta 50 °C, para evaluar diariamente las temperaturas. Las temperaturas seleccionadas corresponden a los valores extremos de los registros máximos y mínimos, obtenidos en observaciones de los tanques de cultivo que se tienen a la intemperie del Laboratorio de Biología Experimental a lo largo del año.

Para el manejo de la salinidad, los tratamientos que se realizaron durante el experimento se sometieron a 25, 35 y 45 ‰. Estos valores están dentro del intervalo reportado de tolerancia

para la especie *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939). Para la determinación de la salinidad se utilizó un salinómetro marca YSI y para ajustar la salinidad en cada tratamiento se agregó agua destilada y sal marina comercial según el caso.

El experimento se llevó a cabo a partir de nauplios de una misma cohorte, empezando desde el primer estadio de vida libre; NII (Johnson, 1948).

Previamente al experimento se realizaron ensayos preliminares para determinar el intervalo de confianza con el que se inocularía cada recipiente de cultivo inicial, utilizándose para ello una probeta de 1 litro con aireación vigorosa, de la cual se tomaron posteriormente con una probeta de 50 ml las muestras de nauplios para iniciar los experimentos. Se colocó una densidad inicial de un nauplio por mililitro en frascos de vidrio de un litro de capacidad, llenados a 700 mililitros. Para ello se utilizaron 108 frascos, 12 frascos por contenedor, semi-sumergidos a baño maría en los recipientes rectangulares anteriormente descritos. Se aplicó en el fondo de cada contenedor una aireación para mantener homogénea la temperatura y regulándola mediante los termostatos dentro del contenedor. Así mismo dentro de cada contenedor se colocaron los frascos con las salinidades ya ajustadas de acuerdo al diseño planeado.

La alimentación consistió en mantener constante la concentración de microalga *Tetraselmis suecica* a una densidad de 20,000 células por mililitro de acuerdo a un experimento previamente realizado (Matus-Nivón, *com. Pers.*¹). La densidad se evaluó diariamente mediante cuentas directas con cámara de Neubauer, administrando alimento fresco para mantener la concentración establecida o cambiando el agua, según como se requirió ajustando el volumen.

Cada uno de los 9 tratamientos se mantuvieron por triplicado, tomándose cada cuatro días tres frascos. El número de fijaciones se determinó tomando en cuenta que la duración del tiempo de generación de *P. euryhalinus* es de 15 días (Payán-Aguirre, 1994) y que los cambios de estadios más importantes ocurren durante los días 4, 8, 12 y 15. Cada muestra fue etiquetada y conservada con formaldehído al 4%, concentrándose en viales de 5 ml.

¹ Matus-Nivón, E. Laboratorio de Biología Experimental, CICIMAR-IPN, La Paz BCS - México.

Para el procesamiento de muestras se utilizó un microscopio estereoscópico Zeiss SV11, en donde se llevó a cabo el censo y reconocimiento visual de copépodos por estadios: nauplios, copepoditos y adultos; a estos últimos se les determinó el sexo. Así como también se registró el número de hembras con y sin sacos ovígeros. También se consideraron el número de huevos contenidos en los sacos ovígeros.

Los estadios de desarrollo se identificaron y contaron de acuerdo a las características morfo-anatómicas reportadas por Johnson (1939, 1948) (Anexo D). En cada muestra fijada (viales de 5 mililitros) se contabilizó el número total de individuos presentes y se tomaron submuestras representativas de 1 ml para determinar el estadio de más ocurrencia, fue considerado dominante el estadio que se presentó con una abundancia del 50% o mayor, de acuerdo con la metodología propuesta por Landry (1975).

5.4. Análisis estadísticos

Con los censos obtenidos se determinaron las tablas de vida para cada tratamiento de temperatura y salinidad. Las tablas de vida se elaboraron de acuerdo al esquema descrito por Krebs (1985), con los cuales se obtuvieron los siguientes parámetros de la población: supervivencia, mortalidad y esperanza de vida.

El número de copépodos observados vivos en cada fecha de muestreo se describen por la notación n_x . Si restamos el número de organismos presentes en el intervalo x a los del $x+1$ obtenemos el número de individuos que mueren al intervalo x a $x+1$ (d_x). Con estos dos datos se obtiene el índice de mortalidad.

$$q_x = \frac{d_x}{n_x}$$

donde q_x representa el índice de mortalidad durante el intervalo x a $x+1$.

$$l_x = \frac{n_x}{n_o}$$

donde l_x es la proporción de organismos que sobreviven al inicio del intervalo x y se obtiene mediante la división entre el número de individuos presentes al tiempo x y el número de individuos al inicio del experimento (n_o).

$$L_x = \frac{n_x + n_{x+1}}{2}$$

donde L_x es el número de individuos vivos en promedio, durante el intervalo de edad que va de x a $x+1$.

$$T_x = \sum_x^{\infty} L_x$$

donde T_x es el número de individuos por unidad de tiempo.

$$e_x = \frac{T_x}{n_x}$$

donde e_x es la esperanza de vida adicional para los animales vivos al inicio del periodo.

Para obtener los parámetros de la población referentes a la reproducción y el crecimiento se tomaron en cuenta los siguientes aspectos (Bergmans, 1981):

V_m es la contribución de la población a la siguiente generación; es decir el número de descendientes vivos producidos (nauplios) en cada intervalo de muestreo.

R_o es la tasa de reemplazamiento (Índice de multiplicación por generación), en el cual se hace una sumatoria de los nauplios producidos durante cada intervalo de muestreo, mediante la sumatoria de l_x y m_x (número de descendientes producidos en cada intervalo de edad) y es igual a la V_m :

$$R_o = \sum_{x=0}^{\infty} V_m$$

ó

$$R_o = \sum l_x m_x = \sum V_m$$

También se tomó en cuenta el tiempo de generación (D) que es el tiempo considerado en la aparición de nauplios de la generación F1 ó hembras con sacos de huevos en dos generaciones subsecuentes. El número de huevos (N_e) observados por cada saco en promedio y el número promedio de hembras con sacos (p). Con esta información se obtuvo la tasa intrínseca de crecimiento de la población (r_m) para las condiciones experimentales (Heip y Smol, 1976) que se obtiene de la ecuación de crecimiento de la población:

$$N_t = N_0 e^{r_m t}$$

donde N_t es el número de individuos en el tiempo (t), N_0 es el número de individuos en el tiempo 0, e es el número constante 2.71828, r_m es la capacidad de crecimiento de la población a las condiciones específicas y t es tiempo. r_m se obtiene de la siguiente manera:

$$r_m = \frac{1}{D} \ln p N_e$$

La interpretación de las tablas de vida se realizó según lo descrito por Trujillo-Ortiz y Arroyo-Ortega (1991), en donde se obtiene el valor promedio de supervivencia y esperanza de vida tanto para los estadios nauplios como para los estadios copepoditos.

Con la información obtenida se realizó un análisis de variancia de dos vías con réplica (Sokal y Rohlf, 1981). Se considero que dado que la tasa de reemplazamiento esta en función de los valores limitantes de supervivencia y del valor óptimo de producción de nauplios de la población a determinadas temperaturas y salinidades, nos lleva a pensar que dichos valores se ajustan a una curva de normalidad y cumple los demás supuestos del análisis de variancia. Para conocer la igualdad o diferencia de cada uno de los tratamientos, se aplicó una prueba de Tukey HSD y una prueba de mínima diferencia significativa (MDS) al 95% de confianza ($\alpha = 0.05$) mediante el paquete estadístico de computación STATISTICA para Windows versión 5 A (Statsoft, Inc. 1995).

Para la evaluación de la proporción de sexos entre los tratamientos en los que se obtuvieron adultos se realizó una prueba ji cuadrada o tabla de contingencia con una $p = 0.05$ (Zar, 1996).

6. RESULTADOS

Los experimentos de temperatura y salinidad con el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* se iniciaron con el estadio Nauplio II.

A la temperatura de 16 °C y 25 ‰ los estadios copepoditos se presentaron el día 8 mientras que para los otros tratamientos (35, 45 ‰) se siguieron presentando nauplios a ese mismo día y la aparición de copepoditos ocurrió hasta el día 12 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Estadios de copépodos encontrados en la temperatura de 16 °C con las diferentes salinidades probadas.

Tratamiento/Días	0	4	8	12	15
16-25	NII	NIV	CII	CIII	CIV
16-35	NII	NIV	NV	CI	CII
16-45	NII	NIII	NIV	CI	CII

Para la temperatura de 23 °C se observó que a 25 y 35 ‰ el desarrollo de copépodos ocurre rápidamente, identificándose nauplios únicamente al inicio del experimento, alcanzándose la madurez el día 12. Mientras que para 45 ‰ se identificaron nauplios hasta el día 4 y el máximo estadio encontrado corresponde a Copepodito III (Cuadro 2).

Cuadro 2. Estadios de copépodos encontrados en las temperaturas de 23 °C con las diferentes salinidades probadas.

Tratamiento/Días	0	4	8	12	15
23 °C-25 ‰	NII	CI	CIV	CVI, NII*	CVI, NII*
23 °C-35 ‰	NII	CI	CV	CVI, NII*	CVI, NII*
23°C-45 ‰	NII	NVI	CII	CII	CIII

*Generación F1

En el caso de 30 °C se observó que la aparición de copepoditos se da a partir del cuarto día, no obstante para los tratamientos de 25 y 35 ‰ se observó siempre mejor desarrollo y la aparición de nauplios de la siguiente generación a partir del día 8. A 45 ‰ el máximo estadio encontrado fue copepodito V (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estadios de copépodos encontrados en la temperatura de 30 °C con las diferentes salinidades probadas.

Tratamiento/Días	0	4	8	12	15
30 °C-25 ‰	NII	CII	CVI, NII*	CVI, NIV*	CVI, CII*
30 °C -35 ‰	NII	CIV	CVI, NII*	CVI, NIV*, CIV*	CVI, CI*, CV*
30 °C -45 ‰	NII	CII	CIV	CV	

*Generación F1

6.1. Tablas de vida.

Los resultados utilizados para elaborar las tablas de vida se incluyen en el anexo E.

A la temperatura de 16 °C (Cuadro 4), tanto la supervivencia como la esperanza de vida se reducen al incrementar la salinidad. La mayor diferencia se encontró a 45 ‰, mientras que a 25 ‰ difiere la tasa de supervivencia y esperanza de vida por estadios, para nauplios el valor medio de $l_x = 0.985 \pm 0.15$ y $e_x = 3.12 \pm 0.46$ SD y de copepoditos $l_x = 0.703 \pm 0.174$ y $e_x = 1.18 \pm 0.60$. Estos valores son similares a 35 ‰, no obstante que la aparición de los nauplios se alargó hasta el día 8. A 45 ‰ la tasa de supervivencia media fue de 0.89 ± 0.098 y $e_x = 1.353 \pm 0.682$ días para nauplios. En el caso de copepoditos $l_x = 0.01$ y $e_x = 0.825 \pm 0.325$ días.

Cuadro 4. Tablas de vida a 16 °C para los tratamientos con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

25 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	12	0.03	1.00	3.56
4.00	685	79	0.12	0.98	2.61
8.00	606	49	0.08	0.87	1.89
12.00	557	273	0.49	0.80	1.01
15.00	284	284	1	0.41	0.50

35 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	114	0.16	1.00	3.59
4.00	583	11	0.02	0.84	3.19
8.00	572	47	0.08	0.82	2.24
12.00	525	54	0.10	0.75	1.40
15.00	471	471	1	0.68	0.50

45 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	66	0.09	1.00	2.10
4.00	631	160	0.25	0.91	1.27
8.00	471	464	0.99	0.76	0.53
12.00	7	2	0.29	0.01	1.21
15.00	5	5	1	0.01	0.50

La curva de mortalidad (Fig. 3) muestra que en la mayor salinidad ocurre la más alta tasa de mortalidad (99%) para 16 °C durante el intervalo de tiempo representado a los 8 días, en donde el estadio dominante fue NIV (Cuadro 1). Para la salinidad de 25 y 35 ‰ no se observaron mortalidades superiores al 50%, no obstante el incremento de este parámetro poblacional ocurre a partir del día 12, en donde los estadios dominantes son copepoditos.

La curva de supervivencia a 16 °C (Fig. 4) indica que las mejores salinidades son 25 y 35 ‰ debido a una estabilidad en la curva a lo largo de los días de muestreo. Mientras que a 45 ‰ se

puede observar la mayor mortalidad, reflejándose en la curva de supervivencia por debajo de los otros dos tratamientos.

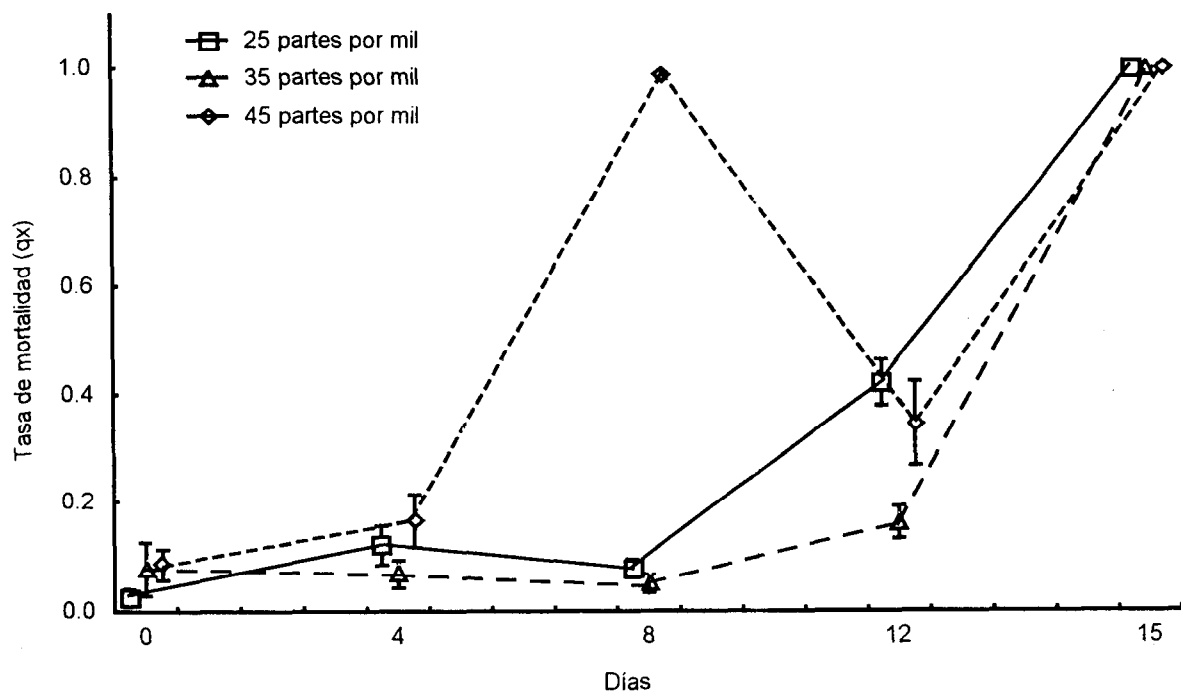


Figura 3. Curva de la mortalidad media $\pm$ el error estándar de los tratamientos de 16 °C a las distintas salinidades

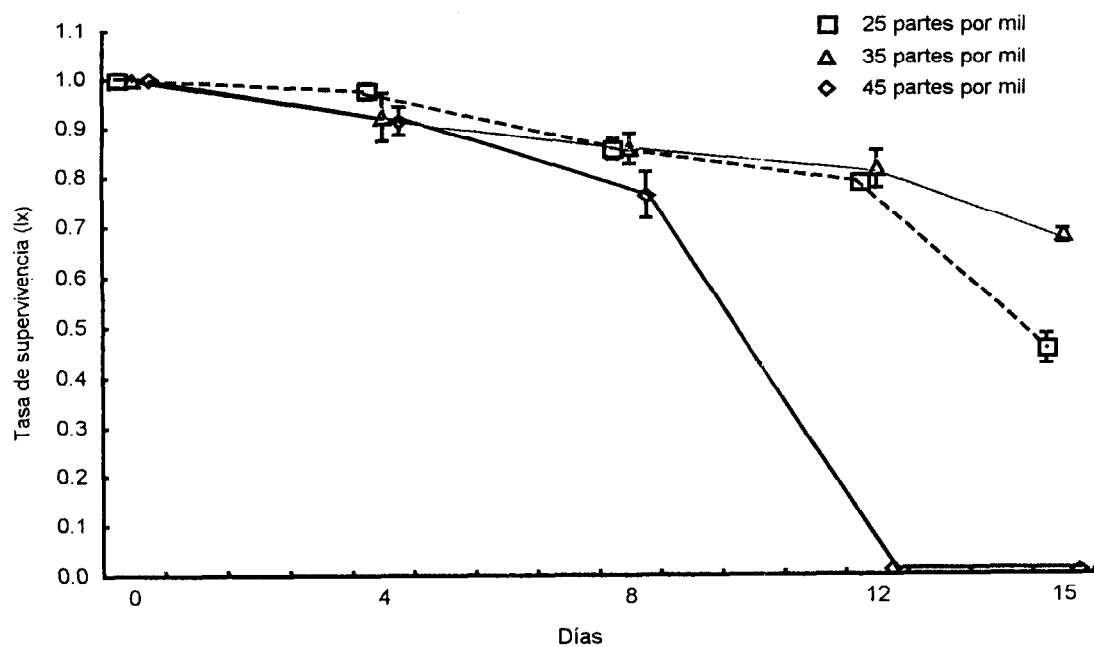


Figura 4. Curva de supervivencia media $\pm$ error estándar para los tratamientos de 16 °C con las distintas salinidades.

Las tablas de vida obtenidas para el tratamiento de 23 °C (Cuadro 5) indican que para 25 y 35 ‰ los valores medios de l_x y e_x son similares, ($l_x=1$ y $e_x=2.95$ días para nauplios y 0.62 ± 0.247 y 1.35 ± 0.61 días para copepoditos). Mientras que para 45 ‰ los valores difieren, obteniéndose una $l_x = 0.95 \pm 0.05$ y $e_x = 1.55 \pm 0.42$ días para nauplios y para copepoditos $l_x = 0.187 \pm 0.25$ y una $e_x = 0.80 \pm 0.516$ días.

Cuadro 5. Tabla de vida a 23 °C para los tratamientos con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

25 ‰.

Días	n_x número de copépodos	d_x número de muertos	q_x tasa de mortalidad	l_x tasa de supervivencia	e_x esperanza de vida (días)
0.00	698	22	0.03	1.00	3.0
4.00	675	144	0.21	0.97	2.08
8.00	531	263	0.48	0.76	1.51
12.00	278	18	0.06	0.40	1.44
15.00	260	260	1	0.37	0.50

35 ‰.

Días	n_x número de copépodos	d_x número de muertos	q_x tasa de mortalidad	l_x tasa de supervivencia	e_x esperanza de vida (días)
0.00	698	137	0.20	1.00	2.95
4.00	560	-	0	0.80	2.55
8.00	609	307	0.50	0.87	1.38
12.00	302	66	0.22	0.43	1.28
15.00	236	236	1	0.34	0.50

45 ‰.

Días	n_x número de copépodos	d_x número de muertos	q_x tasa de mortalidad	l_x tasa de supervivencia	e_x esperanza de vida (días)
0.00	698	137	0.20	1.00	1.89
4.00	560	162	0.29	0.90	1.23
8.00	398	395	0.99	0.54	0.53
12.00	3	0	0	0.01	1.62
15.00	7	7	1	0.01	0.50

La mortalidad a 23 °C (Fig. 5) para los distintos tratamientos fue similar a 25 y 35 ‰, observándose un incremento hasta del 50% el día 8, dominando los estadios copepoditos IV y V respectivamente. En tanto que las mayores mortalidades se presentaron a 45 ‰, alcanzándose el 97 % el día 8 cuando se presentó el estadio copepodito II. En la curva de supervivencia (Fig. 6) se observa el efecto del aumento de la salinidad, en donde la curva de 45 ‰ se encuentra por debajo de las curvas de supervivencia de 25 y 35 ‰.

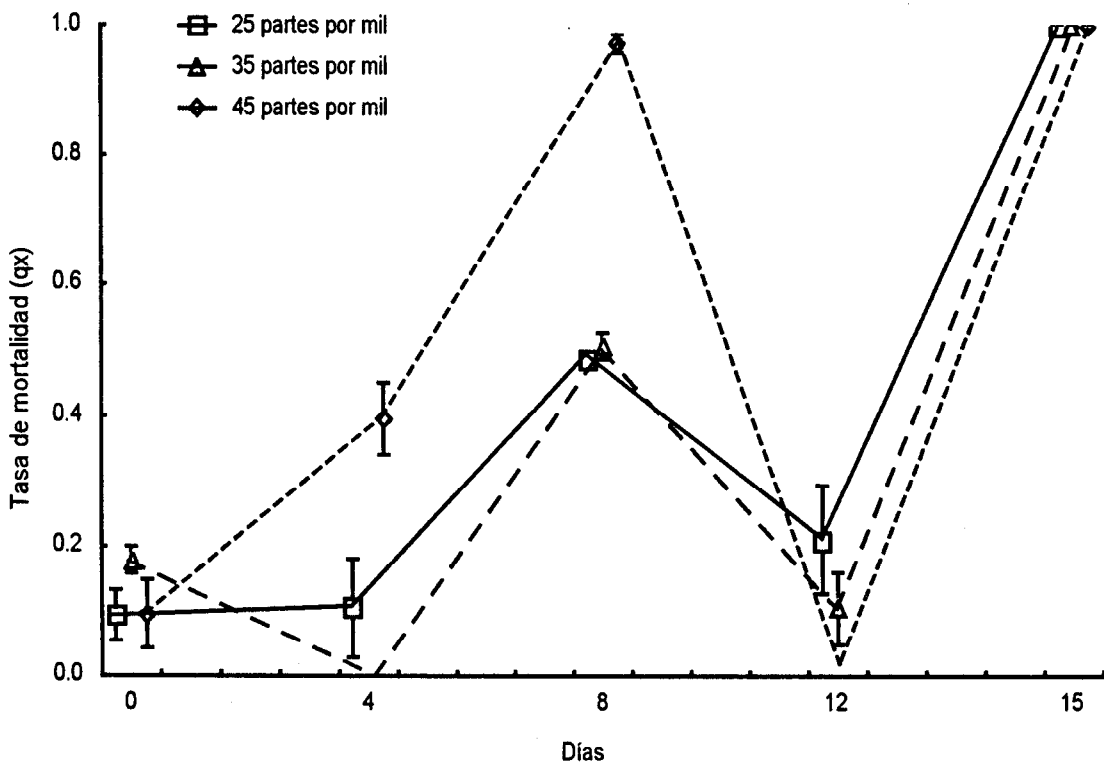


Figura 5. Curvas de mortalidad media $\pm$ error estándar de los tratamientos de 23 °C a distintas salinidades.

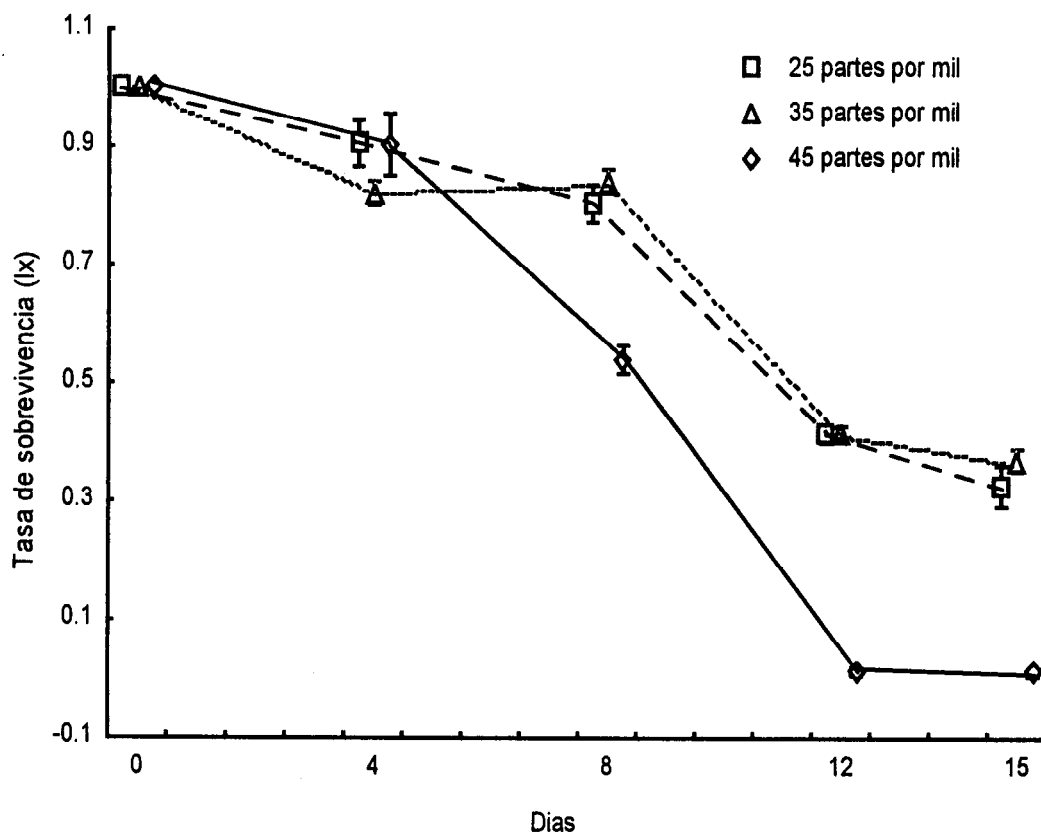


Figura 6. Curva de supervivencia media $\pm$ error estándar de los tratamientos de 23 °C a las distintas salinidades.

Nuevamente se encontraron valores muy similares de la tasa de supervivencia y esperanza de vida media (Cuadro 6), entre los tratamientos de 25 y 35 ‰ ($lx = 0.41 \pm 0.3$ para nauplios; $lx = 0.485 \pm 0.27$ copepoditos y $e_x = 1.08 \pm 0.44$; $e_x = 1.3 \pm 0.56$ días respectivamente). Y, diferente a 45 ‰, donde la tasa de supervivencia media (lx) fue de 0.207 ± 0.24 y una esperanza de vida (e_x) de 0.727 ± 0.33 .

Cuadro 6. Tabla de vida a 30 °C para los tratamientos con las salinidades de 25, 35 y 45 ‰.

25 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	169	0.24	1.00	2.18
4.00	528	57	0.11	0.76	1.71
8.00	471	370	0.79	0.68	0.86
12.00	101	33	0.33	0.14	1.17
15.00	68	68	1	0.10	0.50

35 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	20	0.03	1.00	2.47
4.00	677	403	0.60	0.97	1.53
8.00	274	33	0.12	0.39	2.04
12.00	241	61	0.25	0.35	1.25
15.00	180	180	1	0.26	0.50

45 ‰.

Días	nx número de copépodos	dx número de muertos	qx tasa de mortalidad	lx tasa de supervivencia	ex esperanza de vida (días)
0.00	698	323	0.46	1.00	1.25
4.00	374	228	0.61	0.54	0.90
8.00	146	145	0.99	0.21	0.51
12.00	1	0	0.03	0.00	1.50
15.00	1	1	1	0.00	0.50

La curva de mortalidad (Fig. 7) se encontró que a 25 ‰, el máximo de mortalidad ocurre el día 8 (79 %). A 35 ‰, se presentan dos periodos de mortalidad, el primero y más fuerte ocurre el día 4 (57%) y el segundo el día 12 (38%). En tanto que para 45 ‰, el 99% de la población decrece el día 8. No obstante la curva de supervivencia (Fig. 8) muestra una similitud en los tres tratamientos de salinidad, sin embargo a 45 ‰, la curva se encuentra por debajo de las curvas de los otros tratamientos (25 y 35 ‰).

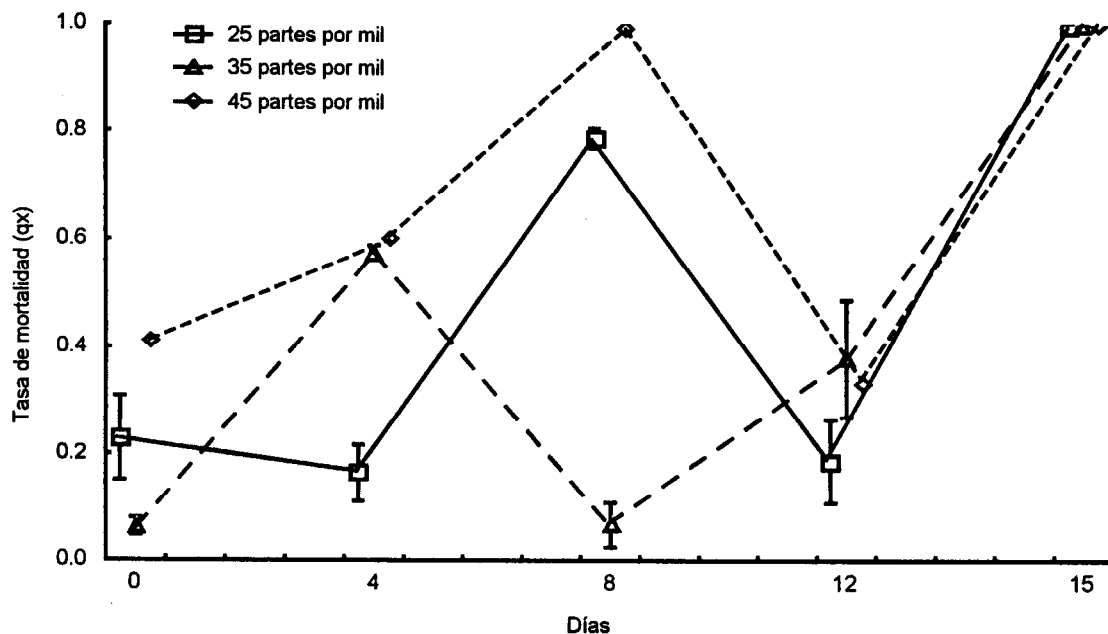


Figura 7. Curvas de mortalidad media $\pm$ error estándar de los tratamientos de 30 °C a las distintas salinidades.

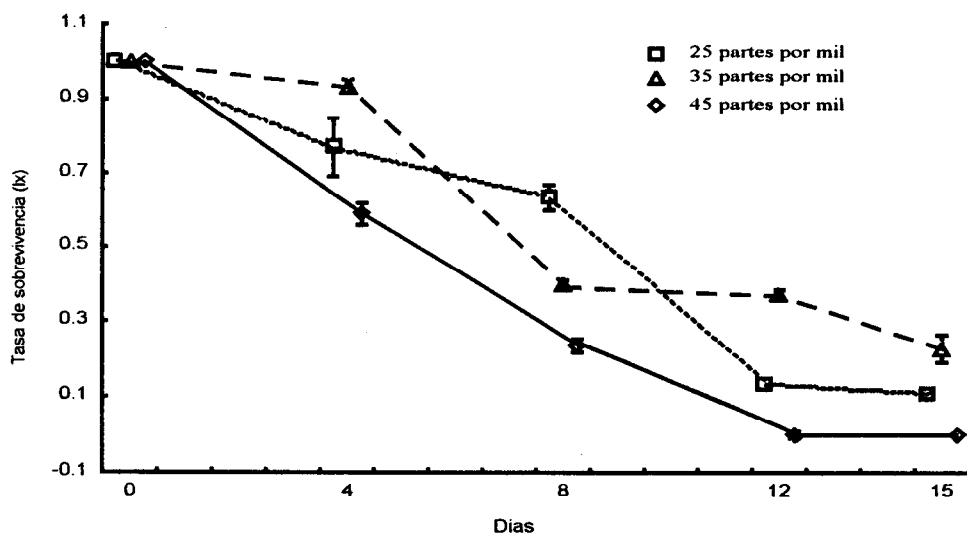


Figura 8. Curvas de supervivencias medias $\pm$ error estándar de los tratamientos de 30 °C a las distintas salinidades.

6.2. NATALIDAD.

Para la estimación de la natalidad se calculó la tasa de reemplazamiento (R_o), en la cual se obtuvieron valores solamente para las temperaturas de 23 °C con 25 y 35 ‰ y con 30 °C con 25 y 35 ‰, disminuyendo el número de nauplios obtenidos al aumentar la temperatura. En los demás tratamientos no se obtuvo el valor de R_o debido a que no se llegó a estadio adulto ni a la reproducción, por lo cual no se obtuvieron nauplios de la siguiente generación. También se contó el número de hembras con sacos de huevos aún presentes y de cada saco se contabilizó el número de huevos, encontrándose en ambos casos una disminución de hembras y huevos al aumentar la temperatura de 23 a 30 °C. No se encontró diferencia con respecto a las salinidades (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resumen de la tasa de reemplazamiento (R_o), tiempo de generación (D), número de huevos por saco (N_e), número de hembras con saco de huevos (p) y la tasa intrínseca de crecimiento poblacional (r_m).

Tratamiento/ Variables	16-25	16-35	16-45	23-25	23-35	23-45	30-25	30-35	30-45
R_o	1.3	25.6	0	1566.7	2244.9	0	690.9	1268.2	0
D	-	-	-	12	12	-	8	8	-
N_e	-	-	-	12	13	-	9	10	-
p	-	-	-	279.3	290.3	-	252.66	247.33	-
r_m	-	-	-	0.68	0.69	-	0.97	0.98	-

Los valores de R_o se compararon por medio de un análisis de variancia para encontrar diferencias entre los tratamientos, se encontraron diferencias significativas entre las temperaturas, las salinidades y la interacción entre ambos factores (Cuadro 8); sin embargo la ANOVA no sugiere cuales o cual establece dicha diferencia, debido a lo anterior se realizó un análisis Tukey HSD con el cual se encontró cual de las interacciones entre temperaturas y salinidades determinadas por la ANOVA muestra diferencias significativas. El tratamiento de 23 °C con la salinidad de 35 ‰ es diferente significativamente del resto de los tratamientos (figura 9). Así mismo otros grupos diferentes significativamente fueron los tratamientos de 23 °C - 25 ‰, 30 °C - 25 ‰ y 30 °C - 35 ‰. Adicionalmente como unos grupos diferentes fueron los demás tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 8. Anova de dos vías con réplica para los valores de la tasa de reemplazamiento en el experimento de temperaturas y salinidades con *Pseudodiaptomus euryhalinus*

<i>Tratamiento</i>	<i>gl</i>	<i>S.C.</i>	<i>C.M.</i>	<i>F</i>
<i>Temperatura</i>	2	7163017	3581508.5	135.65384*
<i>Salinidad</i>	2	6421460	3210730	121.61017 *
<i>Interacción Temp.-Sal.</i>	4	3953379	988344.75	37.4347 *
<i>Error</i>	18	475232.8	26401.822	
<i>Total</i>	26	18013088		

*Existen diferencias significativas ($p < 0.05$).

Donde: gl = grados de libertad; S. C. = suma de cuadrados; C. M. = Cuadrado medio y F = (Valor crítico de la distribución F).

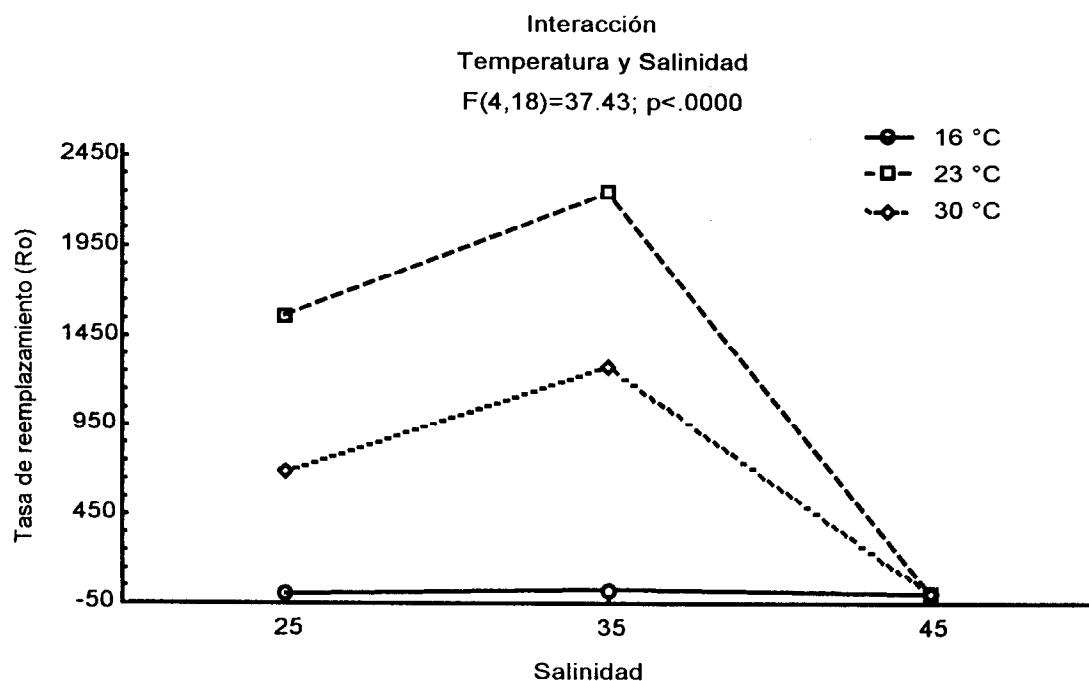


Figura 9. Interacción entre la tasa de reemplazamiento con las temperaturas de 16, 23 y 30 °C y las salinidades de 25, 35 y 45 ‰ para el copépodo *P. euryhalinus*.

Cuadro 9. Interacción entre la tasa de reemplazamiento con las temperaturas de 16, 23 y 30 °C y las salinidades de 25, 35 y 45 ‰ para el copépodo *P. euryhalinus* (Prueba de Tukey HSD).

Media		1.349	25.660	.0095	1566.7	2244.9	0.00	690.87	1268.1	0.00
Tratamientos		{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}
16	25 {1}		1.000	1.000	.00017*	.00017*	1.000	.00167*	.00017*	1.000
16	35 {2}	1.000		1.000	.00017*	.00017*	1.000	.00238*	.00017*	1.000
16	45 {3}	1.000	1.000		.00017*	.00017*	1.000	.00164*	.00017*	1.000
23	25 {4}	.00017*	.00017*	.00017*		.00197*	.00017*	.00025*	.41722	.00017*
23	35 {5}	.00017*	.00017*	.00017*	.00197*		.00017*	.00017*	.00019*	.00017*
23	45 {6}	1.000	1.000	1.000	.00017*	.00017*		.00164*	.00017*	1.000
30	25 {7}	.00167*	.00238*	.00164*	.00025*	.00017*	.00164*		.00907*	.00164*
30	35 {8}	.00017*	.00017*	.00017*	.41722	.00019*	.00017*	.00907*		.00017*
30	45 {9}	1.000	1.00	1.000	.00017*	.00017*	1.000	.00164*	.00017*	

*Existen diferencias significativas ($p < 0.05$)

6.3 Tiempo de generación.

El tiempo de generación es considerado como el período en que la cohorte utilizada alcanza la madurez y aporta los primeros nauplios de la generación F1. Se encontró que en los tratamientos con la temperatura más baja no se alcanza la madurez sexual al término del experimento.

A la temperatura de 23 °C la aparición de los nauplios ocurre desde el día doce. A 30 °C se dio desde el octavo día (Cuadro 7). Con respecto a las salinidades a 45 ‰, no se alcanza la madurez sexual en ningún tratamiento.

6.4. Crecimiento poblacional

La figura 10 representa un crecimiento poblacional esperado ya que se calcula en base al análisis de la cohorte tomando en cuenta a las hembras maduras y el número de nauplios obtenidos por tratamiento, así como también el tiempo de generación.

Dados los resultados anteriores en la población de los distintos tratamientos utilizados no se calculó la tasa de crecimiento de los tratamientos de 16, 23 y 30 °C con 45 ‰. Para los otros tratamientos se encontraron diferencias entre las temperaturas pero no entre las salinidades (Fig 10). Al comparar el crecimiento poblacional esperado para los diferentes tratamientos de temperatura y salinidad se observó que los tratamientos de 30 °C con 25 y 35 ‰ son superiores a los tratamientos de 23 °C - 25 ‰ y 23 °C - 35‰.

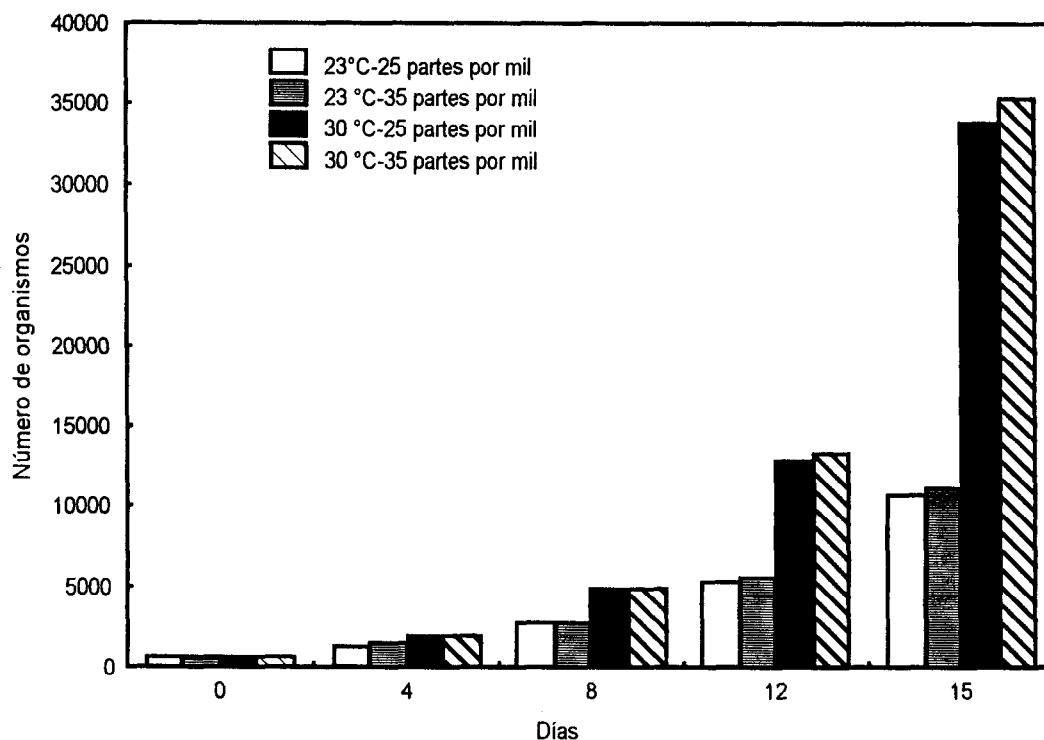


Figura. 10 Crecimiento poblacional esperado para los tratamientos de temperatura y salinidad.

6.5 Proporción de sexos.

Se compararon las proporciones de sexos entre los tratamientos de 23 °C con 25 y 35 ‰ respectivamente y 30 °C con 25 y 35 ‰ (Cuadro 10), mediante la ji-cuadrada se obtuvieron diferencias significativas entre al menos dos tratamientos $p(x < 0.05)$ como se observa en la figura 11. Dentro de los tratamientos de 23 °C y 25 ‰ y 23 °C y 35 ‰ no hubo diferencia significativa

$p(x>0.05)$ y $p(x>0.05)$ se encontró una proporción 1 : 1 entre hembras y machos. Mientras que para los de 30°C, tanto para 25 como para 35 ‰ hay diferencias significativas en cuanto a la aparición en la proporción de sexos $p(x<0.05)$, ya que se encontró una mayor proporción de machos.

Cuadro 10. Número de organismos adultos y proporción de sexos del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* para los tratamientos de temperatura (23 y 30 °C) y la salinidad (25 y 35 ‰).

X	T	S	NM	NH	PS
12	23	25	278	279.3	1 : 1
12	23	35	290	290.3	1 : 1
16	23	25	289	261.6	1.10 : 1
16	23	35	308.3	292.3	1.05 : 1
8	30	25	225.6	253.6	0.8 : 1
8	30	35	259	247.3	1.04 : 1
12	30	25	178.3	57	3.1 : 1
12	30	35	202.6	59.6	3.4 : 1
16	30	25	174.3	100	1.74 : 1
16	30	35	267.3	196.6	1.35 : 1

Donde: X = días, T = Temperatura °C, S = Salinidad ‰, NM = Número promedio de machos, NH = número promedio de hembras y PS = proporción de sexos.

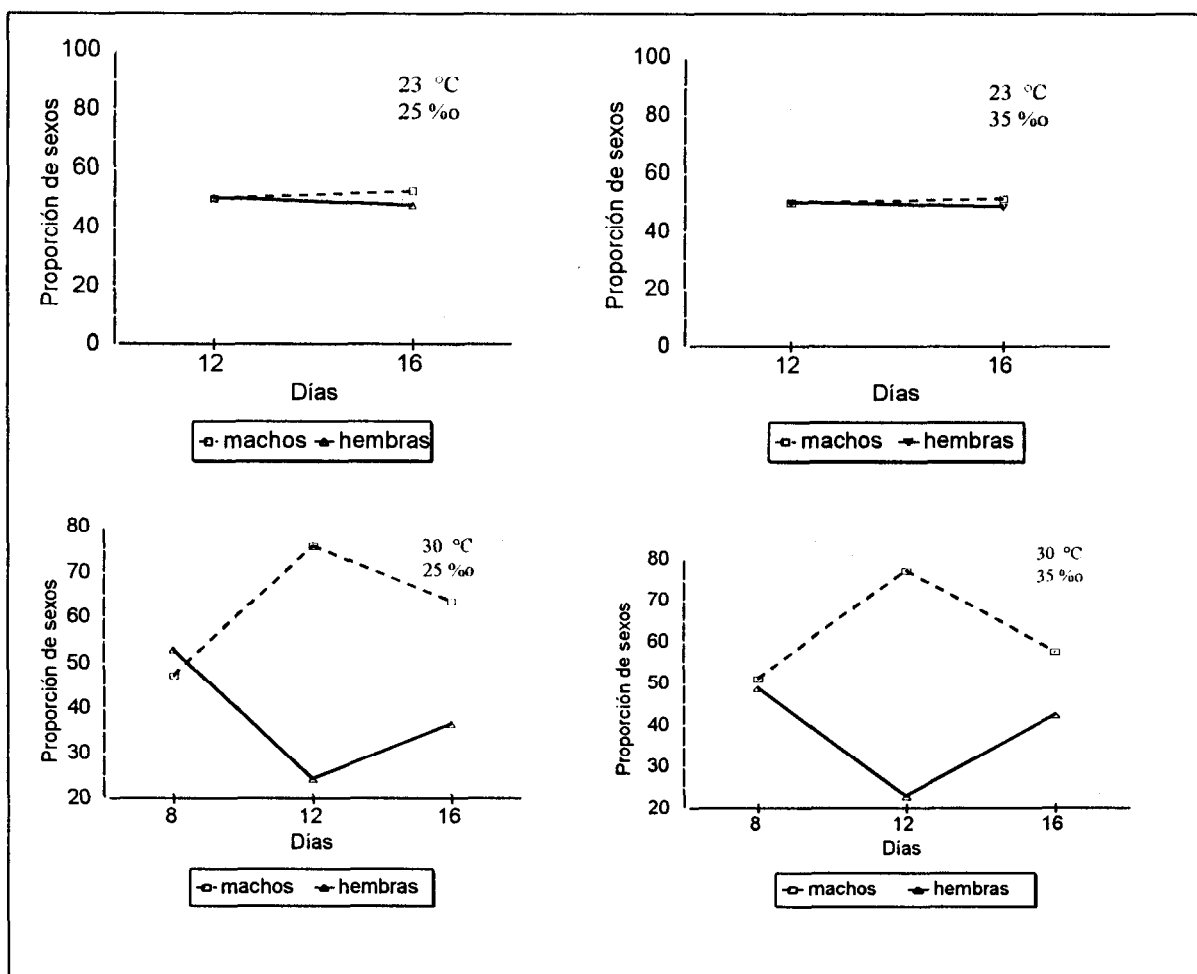


Figura 11. Proporción de sexos obtenida entre tratamientos de temperatura y salinidad.

7. DISCUSION.

Pseudodiaptomus euryhalinus Johnson, es una especie de copépodo estuarina que tolera amplios intervalos de salinidad y temperatura (Johnson, 1948) lo que representa para fines acuícolas un organismo muy resistente al manejo. Debido a que los primeros estadios son planctónicos y los adultos son epibentónicos sugiere su utilización en ciertos periodos de cultivos de larvas de peces marinos, comparado con las especies en que se tiene una metodología de cultivo para copépodos epibentónicos tales como *Tigriopus japonicus*, *Tisbe holoturidae*, *Schizopera elatensis*, *Tisbenta elongata* (Fukusho *et al.*, 1980; Kahan *et al.*, 1982; Nosker y Stottrup, 1994; Lavens y Sorgeloos, 1996) se tiene el inconveniente de no poder mantener en la columna de agua a los nauplios producidos. En tanto que otras especies como *Acartia tonsa*, *A. clausi*, *Eurytemora affinis*, *Calanus finmarchicus*, *Calanus helgolandicus* son muy sensibles a cambios ambientales (Zillioux y Lackie, 1970; Stottrup *et al.*, 1986; Lavens y Sorgeloos, 1996). En el caso de *Pseudodiaptomus euryhalinus* presenta una mayor resistencia al manejo y a condiciones ambientales más variables.

Con respecto al número de réplicas por triplicado utilizado en el experimento se escogió así debido a que para poder realizar el experimento todos los tratamientos deberían estar sujetos al mismo manejo y como tal los errores experimentales pudieran ser explicados por el análisis de variancia. Un aumento en el número de réplicas hubiera aumentado la sensibilidad de los resultados pero en el aspecto experimental hubiera requerido de más espacio, tanto en el número de frascos (unidades de muestreo) y más infraestructura, tanto física como humana con la que cuenta el laboratorio de Biología experimental. Debido a lo anterior se realizó un diseño experimental que pudiera ser ventajoso al tener el mismo número de replicas por tratamiento, a este tipo de experimentos conocidos como ortogonales o balanceados (Zar, 1996), con el cual se pudiera obtener valiosa información de los principales aspectos poblacionales para poder controlar y mantener el cultivo intensivo del copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus*. Uno de los aspectos más complicados en el planteamiento del diseño experimental fue la alta variabilidad en el número inicial de nauplios para lo cual se hicieron ensayos con varios métodos, para de esta

manera seleccionar el método de muestreo con menor variabilidad que correspondió a la toma de muestras con pipeteo en una probeta de 1000 ml con aireación vigorosa.

Con respecto al nivel de alimentación que se utilizó, la densidad de 20 000 cels/ml de la microalga *Tetraselmis suecica* no interfirió en el experimento porque *Pseudodiaptomus euryhalinus* es filtrador y para este tipo de organismos la alimentación se hace por densidad más que por número de células de microalgas (Marshall y Orr, 1972). Además de que la densidad utilizada fue seleccionada a partir de experimentos anteriormente hechos con diferentes densidades de *T. suecica* y otras especies de microalgas (*Nannochloris* sp., *Nannochloropsis* sp. y *Dunaliella* sp.), resaltando que el tamaño de las células es el factor fundamental ya que *T. suecica* mide 20 micras, mientras que las otras microalgas probadas son de una talla menor (3-5 micras).

Por otra parte es necesario aclarar que en los registros de temperatura y salinidad, los instrumentos utilizados para la calibración de una temperatura o salinidad particular no tienen la exactitud adecuada, ya que su escala y grado de sensibilidad no permitieron obtener datos mas precisos. Sin embargo, debido a que la diferencia de las temperaturas y las salinidades de los tratamientos es amplia, la sensibilidad de los aparatos de medición no fue un factor determinante.

7.1 Tablas de vida.

El empleo de tablas de vida ha sido muy utilizado para estudios demográficos de organismos tanto vertebrados como invertebrados (Krebs, 1985) y son muy útiles para describir la mortalidad, reproducción y crecimiento proyectado de una población. Uno de los inconvenientes encontrado en la realización de este experimento con el copépodo *Pseudodiaptomus euryhalinus* radicó en que al aumentar el intervalo de muestreo disminuyó el detalle de las cifras de mortalidad. Sin embargo, aún así la información obtenida es muy valiosa porque permitió encontrar diferencias significativas al someter al copépodo *P. euryhalinus* a diferentes temperaturas y salinidades. Estas diferencias experimentales ocasionaron cambios en el

ciclo de vida de los copépodos, los cuales se observaron mediante tablas de vida, involucrando aspectos poblacionales de natalidad, mortalidad y crecimiento. Las tablas de vida permitieron identificar diferencias entre los tratamientos ya que integran varios días o fracciones de estos e involucran cada uno de los estadios del copépodo, en los ensayos realizados para conocer cual temperatura y salinidad produce la mayor cantidad de nauplios, se observó que el mejor tratamiento significativamente fue el de 23 °C y 35 ‰.

Las supervivencias medias obtenidas para *P. euryhalinus* fueron muy parecidas a lo encontrado por Trujillo-Ortiz y Arroyo Ortega (1991), para nauplios ($lx = 0.7119$), mientras que lo encontrado en este trabajo osciló entre $lx = 0.89$ y 1, excepto en el caso de 30 °C que fue menor porque el desarrollo de los copépodos ocurrió más rápido. Para copepoditos $lx = 0.204$ y el valor de supervivencia obtenido para el experimento con *P. euryhalinus* osciló entre 0.4 y 0.7 excepto en las salinidades de 45 ‰ para todas las temperaturas en donde el valor promedio fue de $lx = 0.01$ a 0.1. Con respecto a la esperanza de vida esta siguió el mismo comportamiento, es decir a medida que la supervivencia aumento, de igual manera sucedió con la esperanza de vida y viceversa.

Los valores de mortalidad encontrados variaron con respecto al estadio dominante en el periodo de muestreo, contrastado con lo obtenido por Heip y Smol (1976); Peterson (1986); Peterson y Painting (1990); Klein-Breteler *et al.* (1994); Carli *et al.* (1995) y Hagiwara *et al.* (1995) fueron muy distintos, esto se debe a que los experimentos se realizan bajo diferentes condiciones de temperatura, salinidad, tipo de alimento y los organismos utilizados provienen directamente del campo sin ningún periodo de aclimatación previo lo que modifica el desarrollo de los copépodos (Hairston, 1985). Por otra parte, esto se debe a que el desarrollo en copépodos difiere entre las especies por lo que la mortalidad en los distintos estadios también es variable (Landry, 1983). Las diferencias de mortalidad encontradas se discutirán mas adelante.

7.2 Efecto de la temperatura.

En los tratamientos con la temperatura de 16 °C no se llegó a la etapa adulta sino hasta Copepodito IV, si bien el desarrollo de los copépodos es un proceso vital que esta regulado por los procesos metabólicos, los cuales se ven reflejados en el consumo de alimento, consumo de oxígeno, entre otros. La temperatura de 16 °C retardó el desarrollo de *Pseudodiaptomus euryhalinus* pero no varió sensiblemente la supervivencia lo que permite suponer que a temperaturas bajas el efecto es sobre el desarrollo del copépodo, aumentando la duración de los estadios aunque no se llegó a la etapa adulta sino hasta copepodito IV.

A 16 °C el estadio donde ocurrió la mayor mortalidad para este tratamiento fue Nauplio III, esto puede deberse a que Nauplio III es un estadio crítico que coincide con el inicio de la alimentación. Sin embargo a 23 y 30 °C las mortalidades ocurren en estadios copepoditos, atribuidos a los procesos de muda entre cada estadio hasta alcanzar la madurez sexual lo cual provoca momentos vulnerables a los cambios térmicos y osmóticos. Cabe hacer notar que el seguimiento de la cohorte llevado a cabo no permitió definir si en el transcurso de los primeros cuatro días en los tratamientos de 23 y 30 °C existía el mismo patrón de mortalidad en los estadios nauplios, ya que el crecimiento hasta copepodito abarcó estos cuatro primeros días de experimentación. Uye (1988) menciona que los estadios nauplio tienen un crecimiento más rápido que en los copepoditos (no hay crecimiento isocronal), Payán-Aguirre (1994) menciona que *P. euryhalinus* no tiene un crecimiento isocronal, por lo anterior se podría pensar que dada la rapidez con la que crecen los estadios nauplios no sea percibida la mortalidad por la metodología empleada en este experimento al momento de la primera toma de muestra y su representación en la tabla de vida a 30 °C.

Varios autores mencionan que los estadios más sensibles a los cambios de temperatura son los nauplios (Marshall y Orr, 1972; Landry, 1975; Trujillo-Ortiz y Arroyo-Ortega, 1991; López, 1991, 1996). Marshall y Orr (1972) y López (1991, 1996) mencionan que el nauplio III es un periodo crítico en el que hay agotamiento de vitelo y empieza la alimentación exógena. Un patrón similar al observado en este trabajo en cuanto a la mortalidad en los primeros estadios de

desarrollo fue observada para *Tigriopus californicus* por Dybdahl (1995). Por otra parte Sunyoto et al. (1995) mencionan que con *Acartia plumosa* se detectó un periodo crítico en la metamorfosis de nauplios a Copepodito I.

Harris y Paffenhöfer (1976), Feller (1980) y Peterson (1986) encontraron altas tasas de mortalidad en estadios nauplios y primeros copepoditos de *Calanus marshallae* al reducir la temperatura de 15 a 10 °C, además de que existe una reducción del tiempo de desarrollo de 64 a 36 días.

Por otra parte Marshall y Orr (1972) mencionan que el principal proceso vital en estadios copepoditos son las mudas. Hirche (1980) encontró que la mortalidad en copepodito IV y V del copépodo *Calanoides carinatus* se da como consecuencia de la incapacidad de mudar al elevar la temperatura de 5 a 20 °C. En el presente trabajo se observó el mismo patrón de mortalidad para copepoditos IV y V, aunque no se observó el patrón de mudas a 23 °C. Sin embargo, a 30 °C no es posible asociar la mortalidad al proceso de muda, ya que la última muda ocurre antes de llegar al estadio adulto, siendo este estadio el identificado y no ninguno de copepodito que pudiera justificar la mortalidad en este tratamiento.

7.3. Efecto de la Salinidad.

En condiciones ambientales adversas los copépodos permanecen en ciertos estadios resistentes. Dahms (1995) menciona que en las especies donde no ocurre la latencia de los estadios más resistentes son los estadios copepoditos.

Esto puede estar provocado por una salinidad muy elevada que en el momento de la muda provoca choques osmóticos, especialmente durante los estadios de nauplios y copepodito, lo que en general termina con la vida del animal ya que el mantenimiento osmoregulatorio tiene un costo energético superior al de la reproducción y el crecimiento, no permitiendo alcanzar la

etapa adulta como en el caso del copépodo *Tigriopus californicus* que al ser sometido a 48 °C incrementa su tiempo de generación y la edad de la primera reproducción con la consecuente baja en la tasa reproductiva (Dybdahl, 1995). Efectos similares se observaron en *Pseudodiaptomus euryhalinus* en donde al iniciar el experimento con una misma cohorte de nauplios no se alcanzó la etapa adulta en ninguno de los tratamientos con 45 ‰ a pesar de ser considerada una especie euryhalina y de que la etapa adulta tiene mayor resistencia a estas condiciones (Johnson, 1948).

23 °C y 35 ‰ es el mejor tratamiento encontrado, sin embargo en la distribución reportada para la especie en condiciones naturales menciona que puede encontrarse a *P. euryhalinus* en zonas como desembocaduras de ríos y esteros, con salinidades de 1.8 a 68.4 partes por mil (Johnson, 1939).

7.4 Natalidad.

El parámetro poblacional más importante considerado para evaluar la producción de nauplios fue la reproducción (tasa de reemplazamiento R_0), la cual esta en relación con el tiempo de generación, número de hembras portadoras de sacos, número de huevos y nauplios producidos. Se encontró que la tasa de reemplazamiento difiere significativamente a 23 °C y 35 ‰ de los demás tratamientos porque fue el tratamiento con mayor número de nauplios producidos, mayor número de hembras con sacos y mayor número de huevos por saco. La ANOVA y la prueba de Tukey sugiere que los tratamientos de 23 °C con 25 ‰ y 30 °C con 25 ‰ y 35 ‰ tienen una producción de nauplios muy similar a la obtenida a 23 °C y 35 ‰, no obstante el análisis estadístico demostró diferencias significativas (Figura 9). La tasa de reemplazamiento, sin embargo podría cambiar significativamente al aumentar el tiempo de desarrollo a 30 °C y en la segunda generación el número de hembras y nauplios se vería duplicado.

El tiempo de generación se vió reducido al aumentar la temperatura, disminuyendo el número de hembras con sacos de huevos y el número de huevos en cada saco. Esto sugiere que

el gasto energético de los copépodos es ocupado en su mayor parte por su mantenimiento mas que para el crecimiento reduciendo el potencial reproductivo. La tasa de crecimiento varió en función del patrón reproductivo. Existen numerosos trabajos en los que los tiempos de generación se reducen al incrementar la temperatura para otras especies de copépodos, tanto calanoideos como harpacticoides (Vidal, 1980; Peterson, 1986; Peterson y Painting, 1990).

La tasa de crecimiento poblacional (r_m) podría variar al aumentar el periodo de experimentación, ya que el número de huevos y nauplios se reduce después de la primera puesta, por otra parte la calidad del esperma de los copépodos decae con respecto al tiempo y las condiciones ambientales. Uchima (1985a, 1985b) mencionó que al aumentarse la temperatura, ésta juega un papel primordial en la reproducción ya que provoca una disminución en la atracción de los machos hacia las hembras y una disminución en la tasa de reemplazamiento. Las tasas de crecimiento poblacional fueron similares a las reportadas por Heip y Smol (1976) para *Tachidius disipes* y *Paronydrocamptus nanus*. Pero diferentes a las obtenidas por Eurlini *et al.* (1978) con *Euterpina acutifrons*; Bergmans (1981) con *Tisbe furcata*; Nilsson (1987) con *Mesochra lilljeborgi* y *Amonardia narmani* y Hagiwara *et al.* (1995) con *Tigriopus japonicus* estas diferencias se deben principalmente a que los tiempos de generación y el número de huevos producidos es muy variable entre las especies.

El tiempo de generación es menor a 30 °C, tanto para 25 como para 35 ‰, se esperaría que alargándose el tiempo de experimentación y sin cosecha de nauplios el número total de organismos llegaría a ser mayor que el tratamiento de 23 °C tanto para 25 como para 35 ‰.

7.5 Proporción de sexos.

Se encontraron diferencias significativas en la proporción de sexos, existiendo más machos que hembras a 30 °C, esto se debe a que el desarrollo de los machos ocurre más rápidamente, aunque existen reportes de que para *Pseudodiaptomus coronatus* existe este mismo patrón en condiciones naturales y de laboratorio (Jacobs, 1961). En condiciones naturales la

proporción de sexos varía dependiendo de la estación del año en copépodos pelágicos (Raymont, 1983) no obstante el 80 al 99 % son hembras (Marshall y Orr 1972; Peterson 1986) y en copépodos epibentónicos es a lo inverso (Palomares-García, *com. Pers.*²). Para otras especies epibentónicas mantenidas en cultivo se ha reportado de igual manera una mayor proporción de machos que de hembras, como consecuencia de una más rápido desarrollo de los machos como en los copépodos Harpacticoides *Enterpina acutifrons* (Eurlini *et al.*, 1978), *Tisbe* sp. (Kahan *et al.*, 1982), *Tigriopus japonicus* (Hagiwara *et al.*, 1995), esto concuerda con lo encontrado para el copépodo calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* considerado en los estadios adultos como epibentónico. No obstante, en esta diferencia de la proporción de sexos por lo observado bajo condiciones de cultivo al exterior del laboratorio de biología Experimental en el CICIMAR-IPN donde los parámetros ambientales y de alimentación no son estables, existe una mayor proporción de machos, lo cual trae como consecuencia la aparición de cópulas múltiples que en la mayoría de los casos suelen ser fallidas ya que las espermatecas se adhieren a la hembra en forma incorrecta. La presencia de cópulas múltiples acarrea varias desventajas en el potencial reproductivo ya que este fenómeno se da por anomalías hormonales en las hembras a determinadas condiciones ambientales como cambios de salinidad y temperatura, actuando como reguladoras de la población (Uchima, 1985a, 1985b; Snell y Carmona, 1994).

Con respecto a la proporción de sexos Jacobs (1961), menciona que para *Pseudodiaptomus coronatus* la producción de huevos cesa si no existe la presencia de machos aunque estos hayan depositado el saco de esperma. Trabajos similares que demuestran este hecho son los de Harris (1977); Parrish y Wilson (1978). Esto soporta el argumento de que la proporción 1:1 mejora el potencial reproductivo y se evitaría el riesgo de que existiesen cópulas múltiples.

Para *Pseudodiaptomus euryhalinus* esta proporción se logro a 23 °C con el mejor potencial reproductivo, lo que demuestra el número de nauplios producidos. Harris y Paffenhöfer (1976) encuentran una proporción de sexos 1:1 en el copépodo *Temora longicornis* en tales

² Palomares-García, Ricardo. Departamento de Plankton CICIMAR-IPN.

condiciones lo que demuestra que este evento no ocurrió de manera irregular y que es posible encontrarlo bajo ciertas condiciones de cultivo.

A pesar de que a 30 °C la tasa de crecimiento poblacional durante la primera generación es más alta y el estado de madurez se alcanza más rápido, al final del experimento la producción fue menor. A 30 °C la tasa metabólica se incrementa y el crecimiento de los copépodos es más rápida, este incremento no se ve en el potencial reproductivo debido a que disminuye el número de huevos y aumenta la proporción de machos.

Para la utilización inmediata de copépodos se recomienda el uso del tratamiento de 30 °C, no obstante para alimentar a larvas de peces con mayores densidades de nauplios es mejor esperar hasta la tercera semana para obtener una cantidad superior. Jacobs (1961) menciona que en el copépodo *Pseudodiaptomus coronatus* (una especie filogenéticamente cercana a *P. euryhalinus*) una vez que llega a la madurez sexual, ya ocurrió la cópula y existe la aparición de los primeros sacos con huevos fecundados hasta la eclosión; la hembra tiene la capacidad de tener 9 puestas más, por otra parte el periodo de tiempo en la formación de nuevos sacos con huevos se lleva de tres a cinco días. Considerando que *P. euryhalinus* siga el mismo patrón reproductivo, sin cosechar a los 20 días la densidad obtenida se esperaría fuera mayor a 30 °C que a 23 °C, ya que existe traslape de generaciones y las hembras de la primera generación aún seguirían produciendo nauplios, juntándose con la producción de la generación F1, en la F2 ya habrá llegado a la madurez sexual, como se observó en los resultados a 30 °C y podrá sostener una producción intensiva.

8. CONCLUSIONES

- i) La temperatura y salinidad resultaron factores que influyen en la respuesta biológica de la población de *Pseudodiaptomus euryhalinus* en condiciones de laboratorio.
- ii) La supervivencia varió con respecto a los estadios, siendo mayor en todos los tratamientos a 25 y 35 ‰, excepto en el caso de 30 °C donde el desarrollo de los copépodos ocurrió mas rápido.
- iii) El valor de esperanza de vida media mayor se encontró a 16 °C, tanto en la salinidad de 25 como a 35 ‰.
- iv) Los tiempos de generación (D) para los tratamientos de 23 °C - 25 ‰ y 23 °C - 35 ‰ son similares siendo estos de 12 días, mientras que los tiempos de generación para los tratamientos de 30 °C - 25 ‰ y 30 °C - 35 ‰ son de 8 días.
- v) Las tasas intrínsecas de crecimiento poblacional (r_m) se ven influenciadas por la temperatura y en menor intensidad por la salinidad, siendo mayores a 30 °C - 25 ‰ y 30 °C - 35 ‰ (0.97 y 0.98 respectivamente)
- vi) Hay diferencias significativas en la proporción de sexos entre las temperaturas pero no entre las salinidades. Se encontró que el número de machos es mayor a 30 °C. La mejor producción de nauplios se espera se de cuando la proporción de sexos sea 1:1.
- vii) Hay mayor producción de nauplios a 23 °C y 35 ‰ ($R_0 = 2252.05$) a los 15 días de cultivo, pero posiblemente esto podría ser diferente al prolongar el tiempo de experimentación y obtener más organismos a 30 °C y 35 ‰.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar la temperatura de 23 °C y la salinidad de 35 ‰ para la producción intensiva de nauplios.

La evaluación de la proporción de sexos debe tomarse como un factor de condición del cultivo intensivo.

10. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS.

Comparar los resultados obtenidos a 23 °C y 35 ‰ con respecto a 30 °C y 35 ‰ al alargar el periodo de cultivo para evaluar la producción máxima de nauplios, tasa de reemplazamiento y crecimiento en varias generaciones consecutivas.

Detallar la tabla de vida con la realización de muestreos diarios para encontrar mas diferenciados los estadios especialmente en lo que se refiere a nauplios.

Probar la temperatura y salinidad encontrada como adecuada (23 °C y 35 ‰) para recipientes de cultivo más grandes a los de este experimento (25 litros ó mas) con el fin de establecer un sistema intensivo de producción de copépodos.

Hacer un estudio económico para evaluar la rentabilidad de tener un cultivo intensivo de copépodos.

Establecer un régimen alimentario para el copépodo para efectos del cultivo intensivo.

11. BIBLIOGRAFIA.

- Alvarez-Lajonchere, L. y O. G. Hernández-Molejón. 1994. **Manual de técnicas para la producción piloto de juveniles de peces marinos**. Centro de Investigaciones Pesqueras, Universidad Autónoma Metropolitana. CUBA. México, D. F. 116 pp.
- Bardach, J. E., J. H. Ryther y W. O. McLarney. 1990. **Acuicultura: crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce**. AGT Editor, S. A. México, D. F. 741 pp.
- Bergmans, M. 1981. A demographic study of the life cycle of *Tisbe furcata* (Baird, 1937) (COPEPODA: HARPACTICOIDA). **J. Mar. Biol. Ass. U. K.** 61: 691-705.
- Bliss, D. E. 1982. **The biology of Crustacea**. Vol. 1. **Systematic, the fossil record and biogeography**. Academic Press. New York, USA. 780 pp.
- Bone, Q. y N. B. Marshall. 1982. **Biology of fishes**. Blakie, Thompson Litho Ltd, East Kilbride, Scotland, Great Britain. 253 pp.
- Brusca, R. C. y G. J. Brusca. 1990. **Invertebrates**. Sinauer Ass. Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 922 pp.
- Campos-Hernández, A. y E. Suárez-Morales. 1994. **Copépodos del Golfo de México y Mar Caribe. 1. Biología y Sistemática**. CiQRO, Inst. de Ocean. y Conacyt, México, D.F.. 360 pp.
- Carli, A., L. Pane, L. Casareto, S. Bertone y C. Pruzzo. 1993. Occurrence of *Vibrio alginolyticus* in Ligurian coast rock pools (Thirhenian sea, Italy) and its association with the copepod *Tigriopus fulvus* (Fisher, 1860). **Appl. Environm. Microbiol.** 59(6): 1960-1962.
- Carli, A., G. L. Mariottini y L. Pane. 1995. Influence of nutrition on fecundity and survival in *Tigriopus fulvus* Fisher (Copepoda: Harpacticoida). **Aquaculture** 134: 113-119.

- Castelló-Orvay, F. 1993. **Acuicultura marina: fundamentos biológicos y tecnología de la producción**. Universidad de Barcelona. Barcelona, España. 739 pp.
- Chandler, G. T. 1986. High-density culture of meiobenthic harpacticoid copepods within a muddy sediment substrate. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 43: 53-59
- Contreras-Olguín, M.; R. A. Rueda-Jasso; E. Matus-Nivón; J. L. Ortiz-Galindo; S. Dumas y M. Osorio-Galindo. 1997. Crianza de larvas y juveniles de cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus*. **V Congreso Nacional de Ictiología**. Facultad de Ciencias del Mar. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mazatlán, Sinaloa. Febrero de 1997. P. 99
- Corkett, C. J. y E. J. Zillioux. 1975. Studies on the effect of temperature on the egg laying of three species of Calanoid copepods in the laboratory (*Acartia tonsa*, *Temora longicornis* and *Pseudocalanus elongatus*). **Bull. Plank. Soc. Jap.** 21(2): 13-21.
- Dahms, H. U. 1995. Dormancy on the Copepoda - an overview. **Hidrobiologia**. 306(3):199-211.
- Davis, C. S. 1984. Food concentrations on George's Bank: non-limiting effect on development and survival of laboratory reared *Pseudocalanus* sp. and *Paracalanus parvus* (Copepoda: Calanoida). **Mar. Biol.** 82: 41-46.
- Dybdahl, M. F. 1995. Selection on life-history traits across a wave exposure gradient in the tidepool copepod *Tigriopus californicus* (Baker). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 192:195-210.
- Eurlini, G. L., I. Ferrari y A. Nassogne. 1978. Reproduction and growth of *Euterpina acutifrons* (Copepoda: Harpacticoida) under experimental conditions. **Mar. Biol.** 46: 59-64.
- FAO. 1993. Producción de acuicultura 1985-1991. **FAO Fish. Circ.** 815 Rev. 7. Roma FAO. 213 pp.

- FAO. 1995. Estadísticas de la producción de acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación 1984-1993. **FAO Fish. Circ.** 815, Rev. 7. Roma
FAO. 186 pp.
- Feller, R. J. 1980. Development of the sand-dwelling meiobenthic Harpacticoid Copepod *Huntemannia Jadensis* Poppe in the Laboratory. **Mar. Biol. Ecol.** 4: 1-15.
- Fukuhara, O. 1987. Seed production of red sea bream, *Pagrus major* (Sparidae) in Japan. pp 13-20. *In:* C. J. Sindermann (Ed.) Reproduction, maturation and seed production of cultured species, **NOAA Tech. Rep.** 47.
- Fukusho, K., T. Arakawa y T. Watanabe. 1980. Food value of a Copepod, *Tigriopus japonicus*, cultured with ω -Yeast for larvae and juveniles of mud dab *Limanda yokohamae*. **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** 46(4): 499-503.
- Guerin, J. P. y I. Cueur. 1983. Influence de la surface de substrat disponible sur la production de *Tisbe holothuriae* (Copepode Harpacticoide). **Rapp. Comm. Int. Mer. Medit.** 28(6): 273-274.
- Hagiwara, L., C. Lee y D. J. Shiraishi. 1995. Some reproductive characteristics of the broods of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus* cultured in different salinities. **Fish. Sci.** 61(4): 618-622.
- Hairston, N. G. 1985. Obtaining life table data from cohort analyses: A critique of current methods. **Limnol. Oceanogr.** 30(4): 886-893.
- Hardy, B. L. S. 1978. A method for rearing sand-dwelling harpacticoid Copepods in experimental conditions. **Mar. Biol. Ecol.** 34: 143-149.

- Harris, R. P. 1977. Some aspects of the biology of the harpacticoid copepod, *Scottolana canadensis* (Willey), maintained in laboratory culture. **Chesapeake Sci.** 18(3): 245-252.
- Harris, R. P. y G. A. Paffenhöfer. 1977. Feeding, growth and reproduction of the marine planktonic copepod *Temora longicornis* Müller. **Mar. Biol. Ass. U K.** 56, 675- 690.
- Heip, C. y N. Smol. 1976. Influence of temperature on the reproductive potential of two brackish-water Harpacticoids (Crustacea: Copepoda). **Mar. Biol.** 35: 327-334.
- Hirche, H. 1980. The cultivation of *Calanoides carinatus* Kroyer (COPEPODA: CALANOIDA) under different temperature and food conditions with a description of eggs and nauplii. **J. Mar. Biol. Ass. U. K.** 60: 115 - 125.
- Hunter, J. R. 1984. Synopsis of culture methods for marine fish larvae. pp. 24 - 27. *In*: H. G. Moser; W. J. Cohen; M. P. Fahay; A. W. Kendall, Jr. y S. L. Richardson (eds). Ontogeny and Systematics of fishes. **Am. Assoc. Ichthyol. Herpetol. Spec. Pub.** 1.
- Jacobs, J. 1961. Laboratory cultivation of the marine copepod *Pseudodiaptomus coronatus* Williams. **Limnol. Oceanogr.** 6: 443-446.
- James, C. M. y A. M. Al-Khars. 1984. Studies on the production of planktonic copepods for aquaculture. **Annu. Res. Rep. Inst. Sci. Res. Kuwait** : 45-48.
- Johnson, M. W. 1939. *Pseudodiaptomus (Pseudodiaptallous) euryhalinus* a new subgenus and species of copepoda, with preliminary notes on its ecology. **Trans. Am. Microsc. Soc.** 58(3): 349-355.
- Johnson, M. W. 1948. The postembryonic development of the copepod *Pseudodiaptomus euryhalinus* Johnson, and its phylogenetic significance. **Trans. Am. Microsc. Soc.** 68(4): 319-330.

- Kahan, D., G. Uhlig, D. Schwenzer y L. Horowitz. 1982. A simple method for cultivating Harpacticoid copepods and offering them to fish larvae. **Aquaculture** 26: 303-310.
- Kitajima, C. 1973. Experimental trials on mass culture of copepods. **Bull. Plank. Soc. Jap.** 20(1): 54-60.
- Klein-Breteler, W. C. M. y S. R. González. 1988. Influence of temperature and food concentration on body size, weight and lipid content of two Calanoid copepod species. **Hidrobiologia** 167-168: 201-210.
- Klein-Breteler, W. C. M., N. Schogt y J. van der Meer. 1994. The duration of copepod life stages estimated from stage-frequency data. **J. Plank. Res.** 16(8): 1039-1057.
- Krebs, C. J. 1985. **Ecología: estudio de la distribución y la abundancia**. Harla. México, D. F. 753 pp.
- Lalli, C. M. y T. R. Parsons, 1993. **Biological oceanography: an introduction**. Pergamon Press. Walton Hall, Milton Keynes; Oxford, Gran Bretaña. 301 pp.
- Landry, M. R. 1975. The relationships between temperature and the development of life stages of the marine copepod *Acartia clausi* Giesbr. **Limnol. Oceanogr.** 20: 854-858.
- Landry, M. R. 1983. The development of marine calanoid copepods with comment on the isochronal rule. **Limnol. Oceanogr.** 28(4): 614-624.
- Lavens, P. y P. Sorgeloos. 1996. **Manual on the production and use of live food for aquaculture**. Artemia Reference Center. University of Ghent. Belgica. 375 pp.

- López, M. D. G. 1991. Molting and mortality depend on age and stage in naupliar *Calanus pacificus*: Implication for development time of field cohorts. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 75(1): 79-89.
- López, M. D. G. 1996. Effect of starvation on development and survivorship of naupliar *Calanus pacificus* (Brodsky). **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 206(2): 133-146.
- Marshall, S. M. y A. P. Orr. 1972. **The biology of a marine copepod**. Springer-Verlag. Darmstadt, Germany. 195 pp.
- McLaren, L. A., J. M. Sévigny y C. J. Corkett. 1987. A temperature-dependent development in *Pseudocalanus* species. **Can. J. Zool.** 67:559-564.
- Miller, C. B., J. K. Johnson y D. R. Heinle. 1977. Growth rules in the marine copepods genus *Acartia*. **Limnol. Oceanogr.** 22(2): 326-335.
- Naess, T. y O. Bergh. 1994. Calanoid copepod resting eggs can be surface disinfected. **Aq. Engin.** 13: 1-9.
- Nilsson, G.V. 1987. Demography of *Mesochra lilljeborgi* and *Amonardia normani* (Copepoda: Harpacticoida) reared on two diatom diets. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 39: 267-274.
- Nosker, N. y J. G. Stottrup. 1994. The importance of dietary HUFAs for fecundity and HUFA content in the harpacticoid, *Tisbe holothuriae* Humes. **Aquaculture** 125: 155-166.
- Omori, M. 1973. Cultivation of marine copepods. **Bull. Plank. Soc. Jap.** 20(1): 3-11.
- Palomares-García, J. R. 1991. Ampliación de la distribución de *Pseudodiaptomus culebrensis* (Calanoida: Copepoda) en el Golfo de California, México. **Rev. Biol. Trop.** 39(1): 181.

- Parrish, K. K. y D. F. Wilson. 1978. Fecundity studies on *Acartia tonsa* (Copepoda: Calanoidea) in standardized culture. **Rev Mar. Biol.** 46: 65-81.
- Payán-Aguirre, J. C. 1994. Aspectos biológico-poblacionales de *Pseudodiaptomus euryhalinus* (COPEPODA: CALANOIDEA) para su utilización en acuicultura. **Tesis de Maestría**. CICIMAR- IPN. México. 63 pp.
- Peterson, W. T. 1986. Development, growth and survivorship of the copepod *Calanus marshallae* in the laboratory. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 29: 61-72.
- Peterson, W. T. 1988. Rates of egg production by the copepod *Calanus marshallae* in the laboratory and in the sea off Oregon, USA. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 47: 229-237.
- Peterson, W. T. y S. J. Painting. 1990. Developmental rates of the copepods *Calanus australis* and *Calanoides carinatus* in the laboratory, with discussion of methods used for calculation of development time. **J. Plank. Res.** 12(2): 283-293.
- Raymont, J. L. G. 1983. **Plankton and productivity in the oceans**. Vol. 2. **Zooplankton**. Second edition. Pergamon Press, Oxford, New York. USA. 489 pp.
- Schram, F. R. 1986. **Crustacea**. Oxford University Press. New York, USA. 606 pp.
- Snell, T. W. y M. J. Carmona. 1994. Surface glycoproteins in copepods: potencial signal for mate recognition. **Hydrobiologia** 292/293: 255-264.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1981. **Biometry**. Second edition. W. H. Freeman and Co., San Francisco, CA. USA. 859 pp.
- Sorgeloos, P.; M. Dehasque; P. Dhert y P. Lavens. 1996. Larviculture of marine finfish: the current status. **INFOFISH International** 4(94): 49-54.

- Stottrup, J. G. y J. Jensen. 1990. Influence of algal diet on breeding and egg-production of the calanoid copepod *Acartia tonsa* Dana. **J. Exp. Mar. Biol. Ecol.** 141: 87-105.
- Stottrup, J. G. y H. Nosker. 1997. Production and use of copepods in marine fish larviculture. **Aquaculture** 155: 231-247.
- Stottrup, J. G., K. Richardson, E. Kirkegaard y N. J. Pihl. 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. **Aquaculture** 52: 87-96.
- Sunyoto, P.; S. Diani y A. Supriantha. 1995. Experimental culture of *Acartia plumosa*. A copepod for use in marine fish hatcheries. **Naga, the ICLARM Quarterly** 18(3): 27-28.
- Svedrup, H. U., M. W. Johnson y R. H. Fleming. 1970. **THE OCEANS: Their physic, chemistry and general biology**. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, N. J., USA. 1087 pp.
- Theilacker, G.H. y A. S. Kimball. 1984. Comparative quality of rotifers and copepods as foods for larval fishes. **Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.** 25: 80-86.
- Thompson, A. B. y R. T. Harrop. 1991. Feeding dynamics of fish larvae on Copepoda in the western Irish Sea, with particular reference to Cod *Gadus morhua*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 68: 213- 223.
- Trujillo-Ortíz, A. 1986. Life cycle of the marine Calanoid copepod *Acartia californiensis* Trinast reared under laboratory conditions. **Cal. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.** 26: 188-204.
- Trujillo-Ortíz, A. 1990. Porciento de eclosión, producción de huevos y tiempo de desarrollo de *Acartia californiensis* Trinast (Copepoda; Calanoida) bajo condiciones de laboratorio. **Ciencias Marinas** 16(1): 1-22.

- Trujillo-Ortiz, A. y J. E. Arroyo-Ortega. 1991. Análisis de la mortalidad y esperanza de vida de *Acartia californiensis* Trinast (Copepoda: Calanoida) bajo condiciones de laboratorio. **Ciencias Marinas** 17(4): 11-18.
- Uchima, M. 1985a. Copulation in the marine copepod *Oithona davisae* Ferrari & Orsi. I. Mate discrimination. **Bull. Plank. Soc. Jap.** 32(1):23-30.
- Uchima, M. 1985b. Copulation in the marine copepod *Oithona davisae* Ferrari & Orsi. II. Relationship between copulation and egg-laying. **Bull. Plank. Soc. Jap.** 32(1):31-36.
- Uchima, M. y R. Hirano. 1986. Food of *Oithona davisae* (Copepoda: Cyclopoida) and the effect of food concentration at first feeding on the larval growth. **Bull. Plank. Soc. Jap.** 33(1): 21-28.
- Uye, S. 1988. Temperature-dependent development and growth of *Calanus sinicus* (Copepoda: Calanoida) in the laboratory. **Hydrobiologia** 167/168: 285-293.
- Vázquez-García, L. y A. Villalobos. 1987. **Zoología del phylum Arthropoda**. Interamericana, S. A. México, D. F.. 381 pp.
- Vidal, J. 1980. Physioecology of Zooplankton. II. Effects of Phytoplankton concentration, temperature, and body size on the development and molting rates of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus* sp. **Mar. Biol.** 56: 135-146.
- Walter, T. C. 1989. Review of the new world species of *Pseudodiaptomus* (COPEPODA: CALANOIDA) with a key to the species. **Bull. Mar. Sci.** 45 (3): 590-628.
- Watanabe, T.; C. Kitajima y S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation on fish: a review. **Aquaculture** 34: 115-143.

- Watanabe, T. y V. Kiron. 1994. Review prospects in larval fish dietetics. **Aquaculture** 124: 223-251
- Yúfera, M. y F. Pascual. 1984. La producción de organismos zooplanctónicos para la alimentación larvaria en acuicultura marina. **Inf. Técn. Inst. Inv. Pesq.** 119: 3-17.
- Zar, J. H. 1996. **Biostatistical analysis**. Third edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, U. S. A. 662 pp.
- Zillioux, E. J. y D. F. Wilson. 1966. Culture of a planktonic calanoid copepod through multiple generations. **Science** 151: 996-997.
- Zillioux, E. J. y N. F. Lackie. 1970. Advances in the continuous culture of planktonic copepods. **Helgoländer wiss. Meeresunters** 20: 325-332.

12. ANEXOS.

Anexo A. Lista de especies de copépodos calanoideos mantenidos en condiciones de laboratorio.

Especie	Fuente
<i>Acartia californiensis</i>	Trujillo-Ortiz, 1986, 1990
<i>Acartia clausi</i>	Omori, 1973; Miller <i>et al.</i> , 1977; Naess y Bergh, 1994
<i>Acartia spp</i>	Watanabe <i>et al.</i> , 1983; Sunyoto <i>et al.</i> , 1995
<i>Acartia tonsa</i>	Zillioux y Wilson, 1966; Zillioux y Lackie, 1970. Omori, 1973; Corkett y Zillioux, 1975; Parrish y Wilson, 1978; Stottrup <i>et al.</i> , 1986; Stottrup y Jensen, 1990; Lavens y Sorgeloos, 1996
<i>Calanoides carinatus</i>	Hirche, 1980; Peterson y Painting, 1990
<i>Calanus australis</i>	Peterson y Painting, 1990
<i>Calanus finmarchicus</i>	Omori, 1973; Lavens y Sorgeloos, 1996
<i>Calanus helgolandicus</i>	Omori, 1973; Lavens y Sorgeloos, 1996
<i>Calanus hyperboreus</i>	Omori, 1973
<i>Calanus marshallae</i>	Peterson, 1986, 1988
<i>Calanus sinicus</i>	Uye, 1988
<i>Centropages typicus</i>	Omori, 1973
<i>Clausocalanus arcuicornis</i>	Omori, 1973
<i>Ctenocalanus elongatus</i>	Omori, 1973
<i>Eurytemora affinis</i>	Omori, 1973; Naess y Bergh, 1994; Lavens y Sorgeloos, 1996
<i>Eurytemora americana</i>	Omori, 1973
<i>Eurytemora herdmanni</i>	Omori, 1973
<i>Gladioferens imparipes</i>	Omori, 1973
<i>Paracalanus parvus</i>	Davis, 1984
<i>Paracalanus sp</i>	Watanabe <i>et al.</i> , 1983
<i>Pseudocalanus sp</i>	Davis, 1984
<i>Pseudocalanus minutus</i>	Omori, 1973; McLaren <i>et al.</i> , 1987
<i>Pseudocalanus acuspes</i>	McLaren <i>et al.</i> , 1987
<i>Pseudocalanus elongatus</i>	Omori, 1973; Corkett y Zillioux, 1975; Lavens y Sorgeloos, 1996
<i>Pseudocalanus minutus</i>	McLaren <i>et al.</i> , 1987
<i>Pseudocalanus moultoni</i>	McLaren <i>et al.</i> , 1987
<i>Pseudocalanus neumani</i>	McLaren <i>et al.</i> , 1987
<i>Pseudodiaptomus coronatus</i>	Jacobs, 1961; Omori, 1973
<i>Pseudodiaptomus elongatus</i>	Thompson y Harrop, 1991
<i>Pseudodiaptomus euryhalinus</i>	Payán-Aguirre, 1994
<i>Rhincalanus nasutus</i>	Omori, 1973
<i>Sinocalanus tenellus</i>	Omori, 1973
<i>Temora longicornis</i>	Omori, 1973; Corkett y Zillioux, 1975; Harris y Paffenhöfer, 1976
<i>Temora stylifera</i>	Omori, 1973

Anexo B. Lista de especies de copépodos harpacticoides mantenidos en condiciones de laboratorio.

Especie	Fuente
<i>Asellopsis intermedia</i>	Hardy, 1978
<i>Euterpina acutifrons</i>	Omori, 1973; Eurlini <i>et al.</i> , 1978; Yúfera y Pascual, 1984;
<i>Paronychocampus namus</i>	Heip y Smol, 1976
<i>Scottolana canadensis</i>	Harris, 1977
<i>Schizopera elatensis</i>	Kahan <i>et al.</i> , 1982; Chandler, 1986.
<i>Tigriopus brevicornis</i>	Omori, 1973
<i>Tigriopus californicus</i>	Theilacker y Kimball, 1984
<i>Tigriopus fulvus</i>	Omori, 1973
<i>Tigriopus japonicus</i>	Kitajima, 1973; Omori, 1973; Fukusho <i>et al.</i> , 1980; Hagiwara, 1995
<i>Tigriopus spp</i>	Yúfera y Pascual, 1984;
<i>Tisbe furcata</i>	Omori, 1973
<i>Tisbe holothuriae</i>	Kahan <i>et al.</i> , 1982; Guerin y Cuer, 1983; Nosker y Stottrup, 1994
<i>Tisbe persimilis</i>	Omori, 1973
<i>Tisbe pori</i>	Omori, 1973
<i>Tisbe reluctans</i>	Omori, 1973
<i>Tisbe spp</i>	Omori, 1973; Kahan <i>et al.</i> , 1982; Yúfera y Pascual, 1984;
<i>Trachidius discipes</i>	Heip y Smol, 1976

Anexo C. Lista de especies de copépodos cyclopoides mantenidos en condiciones de laboratorio.

Especie	Fuente
<i>Apocyclops hornevensis</i>	James y Al-Khars, 1984
<i>Oithona davisae</i>	Omori, 1973
<i>Oithona nana</i>	Watanabe <i>et al.</i> , 1983
<i>Oithona spp</i>	Uchima y Hirano, 1986

Anexo D. Características morfológicas de los estadios de *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson, 1939, 1948).

Estadio	Longitud promedio	Características morfológicas
Nauplio II	0.16 mm	Cuerpo Armadura caudal con dos espinas largas armadas, con hileras transversales de finas espinulas en la superficie ventral del cuerpo Primera antenula de tres segmentos. El primero con una seta ventral, el segundo con dos setas ventrales. Segunda antenula . Primer basipodito con una gruesa lamina masticadora con una espina fuerte y dos setas pequeñas. El endopodito con segmento de tres setas terminales y dos laterales. El exopodito con dos segmentos proximales fusionados y cinco segmentos distales cortos. Mandíbula . Primer basipodito con pequeños procesos que empiezan en una espina fuerte. El segundo basipodito con dos espinas y una seta.
Nauplio III.	0.2 mm	Cuerpo Armadura caudal compuesta como en el nauplio II, pero la espina más gruesa terminal relativamente más corta y con dos setas sensoriales flexibles lisas. Primera antenula . Como en el nauplio II, pero en el segmento terminal con dos setas marginales dorsales y una seta marginal ventral. Segunda antenula . Como en el nauplio II, pero con setas adicionales y con siete segmentos en el exopodito. Mandíbula . Ningún cambio importante. Primera maxila . Con una sola espina fuerte.
Nauplio IV	0.25 mm.	Cuerpo Sin ningún cambio en la armadura caudal. Primera antenula . Como en el N3, pero el segmento final con cuatro setas marginales y tres ventrales marginales, con una hilera de espinulas en el segundo segmento. Segunda antenula . Placa masticadora dentro de un tipo convencional de gancho masticador. Mandíbula . el proceso redondeado del primer basipodito se transformo a un fuerte proceso molar, con una espina lateral. Primera maxila . Rudimentaria.
Nauplio V	0.28 mm	Cuerpo : Armadura caudal como en el nauplio IV. Primera antenula como en el nauplio IV, pero con seis setas marginales dorsales y cuatro setas marginales ventrales. Segunda antenula . Como en el NIV. Mandíbula . Como en el cuatro. Primera maxila . Rudimentaria. Segunda maxila . Representada por una fuerte espina, justo posterior a la primera maxila.
Nauplio VI	0.33 mm	Cuerpo : La armadura caudal con dos grandes espinas terminales, dos setas sensoriales dentadas dirigidas dorsalmente y dos nuevas setas sensoriales dentadas. Primera antenula . Setas como en el nauplio V, pero el segmento terminal ancho. Segunda antenula . Ningún cambio. Mandíbula . Como en el nauplio V Primera y segunda maxila . Rudimentarias. Maxilípedos . Rudimentarios. Primero y segundo pie . Rudimentarios.
Copepodito I	0.45 mm	Cuerpo : metasoma casi uniforme en anchura. Un gran segmento cefálico y tres segmentos torácicos; el urosoma de dos segmentos y una corta rama caudal simétrica. Primero y segundo pie segmentados y el tercero rudimentario
Copepodito II	0.56 mm	Cuerpo : cuatro segmentos torácicos.
Copepodito III	0.64 mm	Cuerpo : cefalosoma igual al anterior y cinco segmentos torácicos.
Copepodito IV	0.84 mm 0.66 mm	Hembras : Cefalotórax igual al copepodito III, urosoma con tres segmentos Machos : tres segmentos en el urosoma, quinto pie rudimentario asimétrico, el pie izquierdo con un endopodito bien desarrollado.
Copepodito V	0.97 mm 0.75 mm	Hembra : tres segmentos en el urosoma Machos : cuatro segmentos en el urosoma, endopodito es tan largo como el exopodito, pie derecho con un protuberancia redondeada en su parte interna hasta la punta final distal del penúltimo segmento. Primera antenula derecha empieza a genicularse
Copepodito VI	0.97 mm 0.75 mm	Hembra : Primeros dos segmentos del urosoma fusionados formando segmento genital. Machos : Endopodito con setas sensoriales pequeños. Primera antenula derecha geniculada

Anexo E. Valores utilizados para elaborar las tablas de vida promedio

Día	Replica	Tratamiento 16 °C	Total	Tratamiento 23°C	Total	Tratamiento 30 °C	Total
4	1	16-25	685	23-25	675	30-25	521
4	2	16-25	700	23-25	690	30-25	450
4	3	16-25	670	23-25	659	30-25	614
4	1	16-35	582	23-35	560	30-35	677
4	2	16-35	608	23-35	539	30-35	674
4	3	16-35	560	23-35	581	30-35	679
4	1	16-45	631	23-45	500	30-45	354
4	2	16-45	648	23-45	590	30-45	361
4	3	16-45	613	23-45	591	30-45	408
8	1	16-25	606	23-25	531	30-25	471
8	2	16-25	589	23-25	553	30-25	475
8	3	16-25	622	23-25	509	30-25	467
8	1	16-35	572	23-35	609	30-35	314
8	2	16-35	558	23-35	521	30-35	276
8	3	16-35	587	23-35	698	30-35	231
8	1	16-45	468	23-45	399	30-45	146
8	2	16-45	446	23-45	395	30-45	144
8	3	16-45	500	23-45	399	30-45	149
12	1	16-25	557	23-25	277	30-25	85
12	2	16-25	558	23-25	302	30-25	118
12	3	16-25	555	23-25	256	30-25	101
12	1	16-35	525	23-35	261	30-35	213
12	2	16-35	517	23-35	298	30-35	257
12	3	16-35	532	23-35	345	30-35	253
12	1	16-45	7	23-45	4	30-45	0
12	2	16-45	8	23-45	2	30-45	2
12	3	16-45	6	23-45	3	30-45	1
15	1	16-25	285	23-25	255	30-25	78
15	2	16-25	288	23-25	242	30-25	71
15	3	16-25	279	23-25	283	30-25	56
15	1	16-35	492	23-35	250	30-35	186
15	2	16-35	431	23-35	216	30-35	180
15	3	16-35	491	23-35	243	30-35	175
15	1	16-45	5	23-45	8	30-45	0
15	2	16-45	4	23-45	11	30-45	4
15	3	16-45	6	23-45	2	30-45	0