

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN - TACNA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera

“EFECTO DE LAS MICROALGAS *Isochrysis galbana* Y *Chaetoceros* sp.  
EN LA PRODUCCIÓN DE COPÉPODOS MARINOS NATIVOS  
CULTIVADOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO  
EN LA REGIÓN DE TACNA”

TESIS

Presentada por:

Bach. Fressia Geosselin Torres Taipe

Para optar el Título Profesional de:

**INGENIERO PESQUERO**

TACNA - PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN – TACNA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA PESQUERA

TESIS

“EFECTO DE LAS MICROALGAS *Isochrysis galbana* Y *Chaetoceros* sp. EN LA  
PRODUCCIÓN DE COPÉPODOS MARINOS NATIVOS CULTIVADOS EN  
CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA REGIÓN DE TACNA”

Tesis sustentada y aprobada el 27 de setiembre del 2019; estando el  
jurado calificador y asesor integrado por:

Presidente : .....  
Ing. Nikita Iván Morales Cabrera

Secretario : .....  
Dr. Julio César Isique Calderón

Vocal : .....  
Dr. Freddy Walter Delgado Cabrera

Asesor : .....  
MSc. Luis Antonio Espinoza Ramos

## DEDICATORIA

### **A Dios.**

*A Dios, Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

### **A mis familiares.**

*A mi padre, por todo el apoyo infinito por demostrarme que todo es posible si a todo lo que uno hace le pone empeño. A mi hermana Luz Marina, porque a pesar de la distancia supo ser comprensible conmigo y guiarme. A Mushu por ser mi motor y motivo para evitar rendirme. A la familia Gonzales Velarde, por aceptarme como un miembro más de su familia, brindándome todo su apoyo y afecto incondicional y todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.*

## **AGRADECIMIENTOS**

*Agradezco de corazón al MSc. Luis Antonio Espinoza Ramos, docente de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera y coordinador principal del proyecto: “Investigación y desarrollo de las tecnologías de cultivo de peces marinos de importancia económica: Corvina *Cilus gilberti* y Sargo *Anisotremus scapularis* en la región Tacna” y asesor de la presente tesis por su asesoramiento, paciencia y apoyo incondicional durante la realización y finalización del presente trabajo de investigación.*

*Al Blgo. Mblgo. Jordan Ismael Huanacuni Pilco, especialista en producción de alimento vivo para la acuicultura del Proyecto: “Investigación y desarrollo de las tecnologías de cultivo de peces marinos de importancia económica: Corvina *Cilus gilberti* y Sargo *Anisotremus scapularis* en la región Tacna” y co-asesor de la presente tesis por guiarme en el desarrollo del trabajo de investigación.*

*A los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera, por su entrega en tiempo, dado con esmero y pasión según su especialidad para formar grandes profesionales.*

*Al Centro de Acuicultura Morro Sama del FONDEPES-Tacna, por la predisposición y facilidades brindadas, al Ing. Víctor Chili Layme por su apoyo, a la ing. Odalis Maribel Morales Olin por ayudarme con el cultivo de microalgas y por ser una persona admirable y a todos los ingenieros del Centro que a la fecha laboran.*

*A todas las personas que me brindaron su apoyo directa e indirectamente.*

## ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	x
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	xv
<b>RESUMEN</b> .....	xvi
<b>ABSTRACT</b> .....	xvii
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>CAPÍTULO I</b> .....	3
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	3
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	3
1.2. Formulación del problema .....	4
1.2.1. Interrogante general .....	4
1.2.2. Interrogantes secundarias .....	5
1.3. Justificación e importancia .....	5
1.4. Objetivos .....	6
1.4.1. Objetivo general .....	6

1.4.2. Objetivos específicos.....	7
1.5. Hipótesis .....	7
1.5.1. Hipótesis general .....	7
1.5.2. Hipótesis específicas .....	7
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>8</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>8</b>
2.1. Antecedentes del estudio.....	8
2.2. Bases teóricas .....	14
2.2.1. Los copépodos.....	14
2.2.2. Taxonomía .....	14
2.2.3. Morfología .....	15
2.2.3.1. Calanoida .....	15
2.2.3.2. Cyclopoida .....	16
2.2.3.3. Harpacticoida .....	17
2.2.4. Distribución y hábita.....	18
2.2.5. Alimentación. ....	19
2.2.6. Crecimiento.....	19
2.2.7. Reproducción .....	20

2.2.8. Las microalgas .....	21
2.2.9. Microalgas utilizadas en la acuicultura .....	21
2.2.9.1. <i>Isochrysis galbana</i> .....	21
2.2.9.2. <i>Chaetoceros</i> sp. ....	22
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>24</b>
<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>24</b>
3.1. Lugar de ejecución.....	24
3.2. Tipo, diseño y nivel de investigación.....	25
3.3. Operacionalización de variables .....	26
3.3.1. Variable dependiente: indicadores .....	26
3.3.2. Variable independiente: indicadores.....	27
3.4. Población y muestra .....	27
3.4.1. La población .....	27
3.4.2. Muestra .....	27
3.5. Materiales, equipos e instrumentos .....	28
3.5.1. Materiales.....	28
3.5.1.1. Materiales de laboratorio .....	28
3.5.1.2. Equipos de acondicionamiento de infraestructura .....	29

3.5.1.3. Equipos de laboratorio .....	30
3.5.1.4. Reactivos e insumos .....	30
3.5.1.5. Material biológico.....	31
3.5.2. Métodos .....	31
3.5.2.1. Aislamiento e identificación .....	31
3.5.2.2. Tratamiento del agua de mar .....	32
3.5.2.3. Mantenimiento y cultivo de C1 y C2.....	33
3.5.2.4. Experimento 1: Tasa de ingestión.....	33
3.5.2.5. Experimento 2: Población total.....	34
3.5.2.6. Experimento 3: Tiempo de fecundidad .....	35
3.5.2.7. Experimento 4: Tiempo de desarrollo por estadio.....	36
3.6. Análisis de datos.....	37
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>38</b>
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>38</b>
4.1. Aislamiento e identificación .....	38
4.1.1. <i>Hemicyclops</i> sp.....	38
4.1.2. <i>Oithona nana</i> .....	39
4.2. Experimentos.....	40

4.2.1. Experimento 1: Tasa de ingestión .....	40
4.2.2. Experimento 2: Población total .....	42
4.2.3. Experimento 3: Tiempo de fecundidad .....	45
4.2.4. Experimento 4: Tiempo de desarrollo por estadio .....	47
<b>CAPÍTULO V</b> .....	<b>50</b>
<b>DISCUSIONES</b> .....	<b>50</b>
5.1. Tasa de ingestión .....	50
5.2. Población total .....	51
5.3. Tiempo de fecundidad .....	52
5.4. Tiempo de desarrollo por estadio .....	53
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>55</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>57</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>58</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>67</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Estadíos de los copépodos.....	20
<b>Tabla 2.</b> Operacionalización de variables.....	27
<b>Tabla 3.</b> Tasa de ingestión ( $10^4$ cél/ind/h) de las tres diferentes dietas sumistradas para <i>Hemicyclops</i> sp., (Med $\pm$ SD, n=5, p<0,05)..	41
<b>Tabla 4.</b> Tasa de ingestión ( $10^4$ cél/ind/h) de las tres diferentes dietas sumistradas para <i>Oithona nana</i> , (Med $\pm$ SD, n=5, p<0,05).....	42
<b>Tabla 5.</b> Población total (ind) de <i>Hemicyclops</i> sp., (Med $\pm$ SD, n=5, p<0,05). .....	43
<b>Tabla 6.</b> Población total (ind) de <i>Oithona nana</i> , (Med $\pm$ SD, n=5, p<0,05). .....	44
<b>Tabla 7.</b> Número de desoves de <i>Hemicyclops</i> sp. durante 20 días de evaluación, (Med $\pm$ SD, n=3, p<0,05). .....	45
<b>Tabla 8.</b> Número de desoves de <i>Oithona nana</i> durante 20 días de evaluación, (Med $\pm$ SD, n=3, p<0,05). .....	46
<b>Tabla 9.</b> Tiempo de desarrollo (días) por estadio de <i>Hemicyclops</i> sp. según las dietas suministradas, (Med $\pm$ SD, n=3, p<0,05). .....	48
<b>Tabla 10.</b> Tiempo de desarrollo (días) por estadio de <i>Oithona nana</i> según las dietas suministradas, (Med $\pm$ SD, n=3, p<0,05).....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Los principales grupos de copépoda.....	15
<b>Figura 2.</b> Estructura típica de copépodo femenino Calanoida.....	16
<b>Figura 3.</b> Estructura típica de un copépodo Cyclopoida: <b>(a)</b> machos; <b>(b)</b> hembras. ....	17
<b>Figura 4.</b> Estructura general de un copépodo Harpacticoida. ....	18
<b>Figura 5.</b> Vista satelital del FONDEPES – CAMOSA, Tacna. ....	24
<b>Figura 6.</b> Diseño experimental <b>C1:</b> copépodo 1, <b>C2:</b> copépodo 2, <b>Iso:</b> <i>Isochrysis galbana</i> y <b>Ch:</b> <i>Chaetoceros</i> sp. ....	25
<b>Figura 7.</b> Flujoograma del cultivo de copépodos (cultivo inicial). ....	26
<b>Figura 8.</b> Tasa de ingestión de <i>Hemicyclops</i> sp.....	41
<b>Figura 9.</b> Tasa de ingestión de <i>Oithona nana</i> . ....	42
<b>Figura 10.</b> Población total de <i>Hemicyclops</i> sp.....	43
<b>Figura 11.</b> Población total de <i>Oithona nana</i> . ....	45
<b>Figura 12.</b> Cantidad de desoves de <i>Hemicyclops</i> sp. ....	46
<b>Figura 13.</b> Cantidad de desoves de <i>Oithona nana</i> . ....	47
<b>Figura 14.</b> Tiempo de desarrollo (días) por estadio de <i>Hemicyclops</i> sp. ....	48
<b>Figura 15.</b> Tiempo de desarrollo (días) por estadio de <i>Oithona nana</i> . ....	49
<b>Figura 16.a)</b> Colecta de copépodos directamente de la zona intermareal y <b>b)</b> Colecta de copépodos de las mangas de 20 µm de la toma de agua del CAMOSA.....	68

<b>Figura 17. a)</b> Organismos colectados en baldes de 5 litros con agua UV y <b>b)</b> Lavado de los organismos colectados con tamicez de 50 y 750 $\mu\text{m}$ . .....	68
<b>Figura 18. a), b)</b> Selección de copépodos y <b>c)</b> aislamiento de hembras ovadas en placas petri con 20 ml de agua UV.....	69
<b>Figura 19.</b> Microalgas utilizadas, <b>a)</b> Cultivo de <i>Isochrysis galbana</i> , <b>b)</b> Vista microscópica y <b>c)</b> Cultivo de <i>Chaetoceros</i> sp., <b>d)</b> Vista microscópica. ....	69
<b>Figura 20.</b> Escalamiento del cultivo de <i>Hemicyclops</i> sp. (C1) <b>a)</b> Cultivo inicial en placas petri (vol. 20ml) <b>b)</b> Cultivo en matraz 1 litro (vol. 800 ml) y <b>c)</b> Cultivo en botella de 7 litros (vol. 6 litros). ....	69
<b>Figura 21.</b> Escalamiento del cultivo de <i>Oithona nana</i> (C2) <b>a)</b> Cultivo en placas petri (vol. 20 ml), <b>b)</b> Cultivo en matraz 1 litro (vol. 800 ml) y <b>c)</b> Cultivo en botella de 7 litros (vol. 6 litros).....	69
<b>Figura 22.</b> Copépodos identificados: <b>a)</b> <i>Hemicyclops</i> sp. (C1) y <b>b)</b> <i>Oithona nana</i> (C2).....	69
<b>Figura 23. a)</b> Tratamiento químico del agua de mar, <b>b)</b> Filtración del agua con tratamiento químico en la bomba de vacío y <b>c)</b> Almacenamiento del agua filtrada.....	69

<b>Figura 24.</b> Siembra y cosecha de: <b>a)</b> <i>Hemicyclops</i> sp. (C1) y <b>b)</b> <i>Oithona nana</i> (C2). .....	69
<b>Figura 25.</b> <b>a)</b> Selección de 10 pares (♂♀) de copépodos en placa petri para C1 y C2, <b>b)</b> Cultivo de C1 y C2 en matraces (800 ml) con las tres diferentes dietas <i>I. galbana</i> , <i>Chaetoceros</i> sp. y <i>I. galbana</i> + <i>Chaetoceros</i> sp. y <b>c)</b> Experimentación de copépodos en condiciones controladas. ....	69
<b>Figura 26.</b> <b>a)</b> Selección de 10 pares de (♂♀) copépodos para C1 y C2, <b>b)</b> Cultivo de C1 y C2 en matraces (800 ml) con las tres diferentes dietas <i>I. galbana</i> , <i>Chaetoceros</i> sp. y <i>I. galbana</i> + <i>Chaetoceros</i> sp. y <b>c)</b> Experimentación de copépodos en condiciones controladas.....	69
<b>Figura 27.</b> <b>a)</b> Selección de hembras en su primera maduración sexual para C1 y C2, <b>b)</b> Cultivo en placa petri a 20 ml de agua de mar UV, <b>c)</b> y <b>d)</b> Suministro de las diferentes dietas <i>I. galbana</i> , <i>Chaetoceros</i> sp. y <i>I. galbana</i> + <i>Chaetoceros</i> sp. y <b>e)</b> Experimentación de copépodos en condiciones controladas.....	69
<b>Figura 28.</b> <b>a)</b> Selección de hembras en su primera maduración sexual para C1 y C2, <b>b)</b> Cultivo de 1 hembra ovada por placa con 40 ml de agua de mar UV y con sus respectivas dietas	

(*I. galbana*, *Chaetoceros* sp. y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp.)

**c)** y **d)** Separación de hembras y nauplios recién eclosionados **e)** Suministro de las mismas dietas mencionadas y **f)** Experimentación en condiciones controladas..... 69

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b>	Matriz de consistencia.....	67
<b>Anexo 2.</b>	Fase del aislamiento e identificación de los copépodos marinos nativos. ....	68
<b>Anexo 3.</b>	Tratamiento de agua de mar.....	69
<b>Anexo 4.</b>	Fase de mantenimiento y cultivo de <i>Hemicyclops</i> sp. (C1) y <i>Oithona nana</i> (C2).....	69
<b>Anexo 5.</b>	Fase del experimento 1: Tasa de ingestión. ....	69
<b>Anexo 6.</b>	Fase del experimento 2: Población total. ....	69
<b>Anexo 7.</b>	Fase del experimento 3: Tiempo de fecundidad. ....	69
<b>Anexo 8.</b>	Fase del experimento 4: Tiempo de desarrollo. ....	69

## RESUMEN

Se aisló dos especies de copépodos marinos nativos de la región Tacna: *Hemicyclops* sp. y *Oithona nana*, fueron mantenidas y escaladas en condiciones de controladas para evaluar el efecto de las microalgas *Isochrysis galbana* (*Iso*) y *Chaetoceros* sp. (*Ch*) en la producción de copépodos marinos mediante la evaluación de los parámetros poblacionales: tasa de ingestión (TI), la población total (PT), el tiempo de fecundidad (TF) y el tiempo de desarrollo por estadio (TDE). *Hemicyclops* sp. y *Oithona nana* fueron cultivados a  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux y 12:12 luz:oscuridad con tres diferentes dietas: *Iso* (200 000 cél/ml), *Ch* (200 000 cél/ml) e *Iso + Ch* (100 000 + 100 000 cél/ml). *Hemicyclops* sp. presentó mayor TD con *Iso* ( $28,83 \times 10^4$  cél/ind/h); el PT, TF y TDE no presentaron diferencia estadística entre dietas. *Oithona nana* presentó mayor TD con *Ch* ( $15,42 \times 10^4$  cél/ind/h); TF presentó mayor cantidad de desoves con *Ch* e *Iso + Ch* con 8 y 9 respectivamente; el PT y TDE no presentaron diferencia estadística entre dietas. Se concluye que *Iso* y *Ch* pueden ser usados como dieta monoalgal o mixta para *Hemicyclops* sp. y *Oithona nana*.

**Palabras clave:** Copépodos y microalgas.

## ABSTRACT

Two species of marine copepods native to the Tacna region were isolated: *Hemicyclops* sp. and *Oithona nana*, were maintained and climbed under controlled conditions to evaluate the effect of the microalgae *Isochrysis galbana* (*Iso*) and *Chaetoceros* sp. (*Ch*) in the production of marine copepods through the evaluation of population parameters: ingestion rate (TI), total population (PT), fertility time (TF) and development time per stage (TDE). *Hemicyclops* sp. and *Oithona nana* were grown at  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux and 12:12 light:dark with three different diets: *Iso* (200 000 cel/ml), *Ch* (200 000 cel/ml) and *Iso + Ch* (100 000 + 100 000 cel/ml). *Hemicyclops* sp. Presented greater TD with *Iso* ( $28,83 \times 10^4$  cel/ind/h); PT, TF and TDE did not show statistical difference between diets. *Oithona nana* had a higher TD with *Ch* ( $15,42 \times 10^4$  cel/ind/h); TF presented more spawning with *Ch* and *Iso + Ch* with 8 and 9 respectively; PT and TDE did not show statistical difference between diets. It is concluded that *Iso* and *Ch* can be used as a monoalgal or mixed diet for *Hemicyclops* sp. and *Oithona nana*.

**Keywords:** Copepods and microalgae.

## INTRODUCCIÓN

El Perú es un país privilegiado por su disponibilidad de agua y la diversidad de Recursos hidrobiológicos, en los últimos años la demanda de Recursos Hidrobiológicos ha aumentado y lo que se extrae del mar ya no es suficiente, por ello la acuicultura es una alternativa que se está usando para promover el desarrollo de nuevas tecnologías para lograr completar el ciclo de vida de especies de mayor demanda en el mercado.

El éxito de cualquier producción de larvas marinas depende del suministro seguro y constante del alimento vivo, ello cubre los requerimientos nutricionales específicos para los cambios ontogenéticos que experimentan a lo largo de su desarrollo.

Las microalgas son usualmente usadas en la acuicultura para el crecimiento de larvas de peces y crustáceos marinos basado principalmente en la facilidad de su cultivo. Mezclar microalgas resulta una buena estrategia para completar las deficiencias nutricionales que por sí solas presentan. Sin embargo, usar *Artemia* y rotíferos requieren de enriquecimiento de productos comerciales, el cual incrementara los costos de producción y mano de obra.

Por lo tanto, como un alimento vivo alternativo sería usar copépodos marinos para la alimentación larvaria, esto sería una alternativa positiva ya que diversos autores han demostrado que la inclusión de copépodos ya sea por un periodo corto en el cultivo larvario de peces marinos asegura un desarrollo normal, con mejoras en el crecimiento y supervivencia reduciendo notoriamente la ocurrencia de enfermedades, malformaciones y pigmentaciones anormales.

# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. Descripción de la realidad problemática**

Actualmente se han estandarizado técnicas de cultivo para diversos géneros de copépodos en diferentes regiones del mundo, sin embargo, en el Perú, no se cuenta con una cepa de un copépodo marino para la alimentación de larvas de peces.

El alimento vivo tiene cualidades que no tiene un alimento inerte, como es el movimiento, que estimula ser atrapado por el depredador; el color, que es atractivo para su captura; la calidad nutritiva ya que, los organismos que se aprovechan como alimento y que se cultivan, contienen la cantidad y la calidad de nutrientes indispensables para el adecuado crecimiento de las especies en el agua. Por otra parte, el alimento vivo tiene la cualidad de no afectar la calidad del agua, debido a que este es consumido antes de que llegue al fondo, sin causar ningún tipo de descomposición, a diferencia del alimento inerte que, si no tiene buena flotabilidad, (o sea que permanezca por un período considerable en la superficie) se irá al fondo.

Por lo cual, los copépodos son muy apropiados para la alimentación larvaria de peces marinos debido a su elevado contenido en ácidos grasos poliinsaturados, pero su cultivo es bastante difícil, realizándose en muy pocos criaderos. En general existen tres grandes grupos de copépodos susceptibles de cultivo: Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida.

Por lo tanto, el motivo de este estudio es cultivar experimentalmente copépodos marinos con potencial en la larvicultura en la región de Tacna – Perú. Los resultados de este trabajo servirán de base para el desarrollo de técnicas de producción a escala masiva, estableciendo el rendimiento y reproducción potencial que estas especies puedan proporcionar.

## **1.2. Formulación del problema**

### **1.2.1. Interrogante general**

¿Cuál será el efecto de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la región de Tacna?

### 1.2.2. Interrogantes secundarias

- ¿Cuántas especies de copépodos marinos se aislarán e identificarán para el cultivo experimental?
- ¿Cuáles serán los valores estimados de los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento?

### 1.3. Justificación e importancia

La acuicultura marina en el Perú tiene un potencial económico, específicamente en la piscicultura marina debido a los más de 3 000 km de litorales del país y a la alta diversidad de especies de peces potencialmente cultivables. A pesar de esto, el cultivo exitoso de estos peces marinos es contados o pocos.

Uno de los problemas para realizar el cultivo de algunas especies marinas de interés comercial es la alimentación larvaria. A pesar de un vasto suministro de rotíferos, *artemia* y alimentos artificiales, aún no se ha logrado obtener porcentajes de sobrevivencia larvaria por arriba del 25 % para realizar el cultivo a nivel comercial. Esta baja sobrevivencia posiblemente se deba al tamaño inadecuado del alimento ofrecido. Otro posible factor es la calidad nutricional

inadecuada de estos alimentos que no logran satisfacer las necesidades nutricionales requeridas por las larvas de peces y crustáceos.

Es necesario investigar este problema mediante la selección y prueba experimental de alimentos que pudieran ser favorables para la crianza de larvas de peces y crustáceos. Entre las principales opciones se encuentran los nauplios de copépodos, los cuales tienen muchos beneficios, entre los que destacan su amplia variedad de tallas desde nauplios a adultos y su alto contenido nutricional, ya que son ricos en ácidos grasos poliinsaturados como el EPA, DHA y ARA, los cuales son fundamentales para el crecimiento y sobrevivencia en peces y crustáceos.

#### **1.4. Objetivos**

##### **1.4.1. Objetivo general**

- Determinar el efecto de las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la región de Tacna.

#### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Aislar e identificar copépodos marinos nativos para el trabajo experimental.
- Estimar los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento.

#### **1.5. Hipótesis**

##### **1.5.1. Hipótesis general**

- Las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. tendrán un efecto en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la región de Tacna.

##### **1.5.2. Hipótesis específicas**

- Se logrará aislar e identificar dos especies de copépodos marinos nativos del ambiente natural.
- Se logrará determinar los valores estimados de los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento vivo.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes del estudio

- En el 2013, Barroso, M. V., de Carvalho, C. V. A., Antoniassi, R., y Cerqueira, V. R. presentaron el artículo científico: “Uso del copépodo *Acartia tonsa* como el primer alimento vivo para las larvas de róbalo gordo *Centropomus parallelus*”, desarrollado en Brasil.

El objetivo general:

Comparar el copépodo *Acartia tonsa* con el *rotífero* como primer alimento vivo, basado en el rendimiento de producción de las larvas y los perfiles de ácidos grasos de ambos alimentos.

Y concluyeron lo siguiente:

El uso del copépodo *A. tonsa* como primer alimento para las larvas de róbalo gordo mejoró el desarrollo larvario, incluso en presencia de pequeñas cantidades de aditivos. Estos resultados muestran que las larvas alimentadas con copéodos tenían mejores composiciones de ácidos grasos esenciales que las alimentadas con *rotíferos* que se usan comúnmente como primer alimento.

- El 2016, Chilmawati, D., y Suminto, S. presentaron el artículo científico: "El efecto de diferentes dietas de células de fitoplancton en el rendimiento de crecimiento de Copépodo, *Oithona* sp. en el cultivo semi-masivo", desarrollado en Indonesia.

El objetivo general fue:

Conocer el efecto de las diferentes dietas de fitoplancton en el rendimiento de crecimiento de *Oithona* sp. y el tipo de fitoplancton que proporciona el mejor rendimiento de crecimiento de *Oithona* sp.

Concluyeron lo siguiente:

Con diferentes dietas de células de fitoplancton en el rendimiento de crecimiento para *Oithona* sp. fueron muy significativamente diferentes ( $p < 0,01$ ) con *Chaetoceros calcitrans*, en donde se obtuvieron  $6,96 \pm 0,38$  ind.ml<sup>-1</sup> de densidad total;  $0,121 \pm 0,003$  d<sup>-1</sup> de la tasa de crecimiento de la población y la producción de huevos fue de  $16,50 \pm 2,74$  huevos.ind<sup>-1</sup>.

- El 2014, Vidhya, K., Uthayakumar, V., Muthukumar, S., Munirasu, S., y Ramasubramanian, V., presentaron el artículo: "Los efectos de las dietas de algas mixtas en el crecimiento de la población,

la productividad del huevo y los perfiles nutricionales en Copépodos ciclopoideos *Thermocyclops hyalinus* y *Mesocyclops aspericornis*”, desarrollado en la India.

El objetivo general fue:

Cultivar en masa los dos diferentes copépodos *M. aspericornis* y *T. hyalinus* alimentados con tres algas diferentes, como *C. vulgaris*, *S. platensis* y *A. pinnata*, combinaciones de 1:1:1 y evaluarlas.

Concluyeron lo siguiente:

En este estudio, la composición bioquímica, la proporción de producción de huevos, el rendimiento del crecimiento, los perfiles de aminoácidos y los contenidos de ácidos grasos se analizaron significativamente en todos los organismos experimentales. La elevación de todos estos componentes se registró en copépodos alimentados con una dieta de algas mixtas. Dentro de las dos especies de copépodos, se encontró que todos los perfiles nutricionales, el rendimiento de crecimiento y la producción de huevos eran muy altos en *M. aspericornis*. Por lo tanto, los resultados actuales revelaron que *M. aspericornis* es el mejor candidato adecuado para la acuicultura práctica. Se requieren más

pruebas para mejorar los perfiles nutricionales de los copépodos cyclopoides con diferentes algas para mejorar la larvicultura de agua dulce con éxito. Muchas especies de cyclopoides aún no se han estudiado.

- El 2017, Franco, S. C., Augustin, C. B., Geffen, A. J., y Dinis, M. T., presentaron el artículo científico : “Crecimiento, producción de huevos y éxito de eclosión de *Acartia tonsa* cultivada en altas densidades.”, desarrollado en Noruega.

El objetivo general fue:

Evaluar los efectos de la densidad de población (250 a 6000 copépodos l<sup>-1</sup>) sobre el desarrollo y la supervivencia de *A. tonsa*, desde la madurez de la eclosión y continuó probando los efectos de la crianza de alta densidad (100 a 2500 copépodos l<sup>-1</sup>) en la producción de huevos y el éxito de incubación por un período de 5 días.

Concluyeron lo siguiente:

Las mayores densidades de población de cultivos llevaron a una mayor mortalidad de copépodos durante el crecimiento, destacando la necesidad de una cuidadosa consideración a escala industrial sobre los beneficios del aumento de la optimización

de espacio/recursos, frente a la desventaja de la pérdida de copépodos. Por otro lado, el hecho de que el aumento de las densidades no retrasara ni disminuyera el crecimiento y desarrollo del copépodo es de gran ventaja para la producción comercial de *A. tonsa*. Además, a pesar de la disminución en la producción individual de huevos, los rendimientos de huevos fueron significativamente mayores a densidades de siembra más altas, lo que sugiere un gran potencial para la investigación de la mejora de la cría y la optimización del sistema en estudios futuros. Además, el efecto observado de la densidad de población en el éxito de la eclosión indica que se deben usar períodos de incubación más largos para asegurar la eclosión máxima cuando se crían reproductores en alta densidad.

- El 2014, Drillet, G., Rais, M., Novac, A., Jepsen, P. M., Mahjoub, M.-S., y Hansen, B. W., presentaron el artículo científico: “Cosecha total de huevos por el copépodo calanoide *Acartia tonsa* (Dana) en cultivo intensivo: efectos de las altas densidades de siembra en la recolección diaria de huevos y la calidad del huevo”, desarrollado en Singapur.

El objetivo general:

Evaluar la producción potencial de huevos y la calidad de los huevos de *Acartia tonsa* surtida en densidades que van desde 10 a  $> 5000 \text{ ind.l}^{-1}$ .

Concluyeron lo siguiente:

La cosecha total de huevos de *Acartia tonsa* en el presente sistema de cultivo de prueba estuvo limitada por la densidad de población de adultos, muy probablemente debido al contacto físico entre los conespecíficos y sus huevos. Las producciones de huevo fueron de 11 000 y 12 000 huevos  $\text{l}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en un sistema de este tipo. Lo más probable es que esto pueda incrementarse aún más dependiendo del diseño del sistema, por ejemplo, profundidad de tanques, recirculación de agua y otras mejoras técnicas.

El éxito de eclosión de los huevos producidos a altas densidades de copépodos fue estadísticamente inferior a los producidos a densidades más bajas, pero no a un nivel alto. Por lo tanto, los huevos producidos exhibieron un prometedor patrón de eclosión.

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Los copépodos**

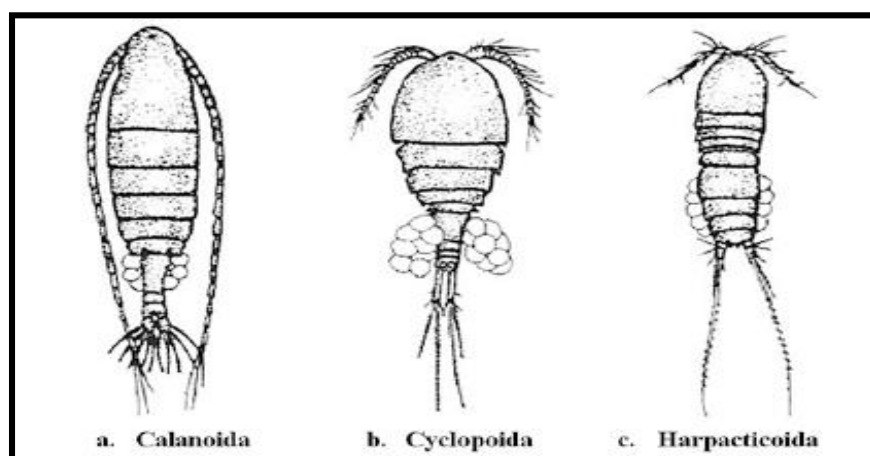
Son microcrustáceos que habitan aguas marinas y continentales, son los animales metazoanos multicelulares más numerosos de la Tierra (Turner, 2004), la mayoría de los miembros del grupo tienen cinco pares de paletas planas como patas de natación (Boxshall y Halsey, 2004). En la actualidad se conocen alrededor de 11 500 especies. Estos desempeñan un papel fundamental en los ecosistemas marinos y de agua dulce (Bouley y Kimmerer, 2006).

Por su tamaño y por ser una fuente rica en ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) como el ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) y el ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3) (Stottrup *et al.*, 1999), son normalmente utilizados en el cultivo de peces marinos y de agua dulce (Stottrup y Norsker, 1997).

### **2.2.2. Taxonomía**

Hay 10 órdenes taxonómicas de copépodos, de los cuales 9 tienen representantes marinos (Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida, Platycopoida, Misophrioida, Poecilostomatoida,

Siphonostomatoida, Mormonilloida, Monstrilloida) (Wooton y Castellani, 2017). Los órdenes marinos más importantes son Calanoida, Cyclopoida y Harpacticoida (Boxshall y Jaume, 2000) (Ver Figura 1).



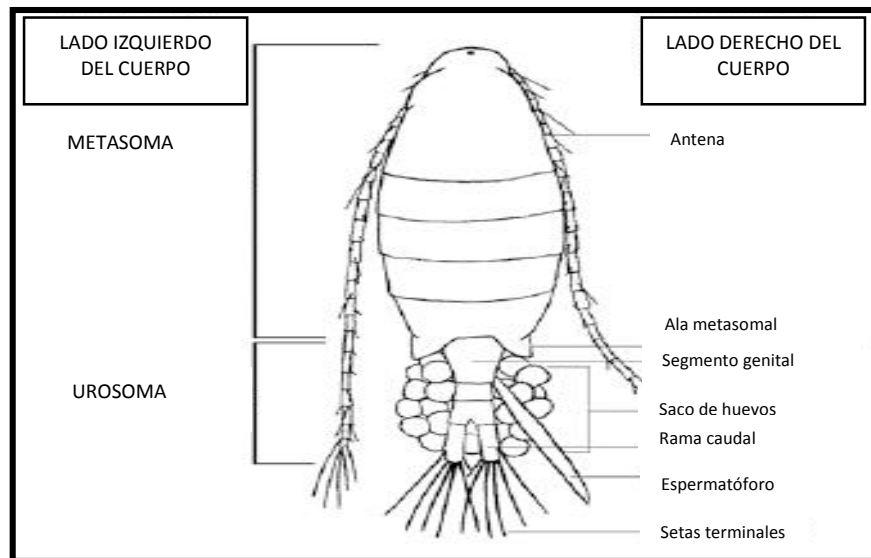
**Figura 1.** Los principales grupos de copépoda.

**Fuente:** Smith y Fernando, (1978).

### 2.2.3. Morfología

#### 2.2.3.1. Calanoida

El cuerpo es alargado, cilíndrico, con forma de husillo y claramente segmentado. La longitud total del cuerpo, incluidas las setas caudales, oscila entre 1,00 y 2,75 mm (Balcer *et al.*, 1984). El cuerpo tiene dos divisiones; una parte anterior que consta de metasomas de seis segmentos y un urosoma de cinco segmentos estrecho posterior en los varones y un urosoma de dos o tres segmentos en las hembras (Niehoff, 2007), (Ver Figura 2).

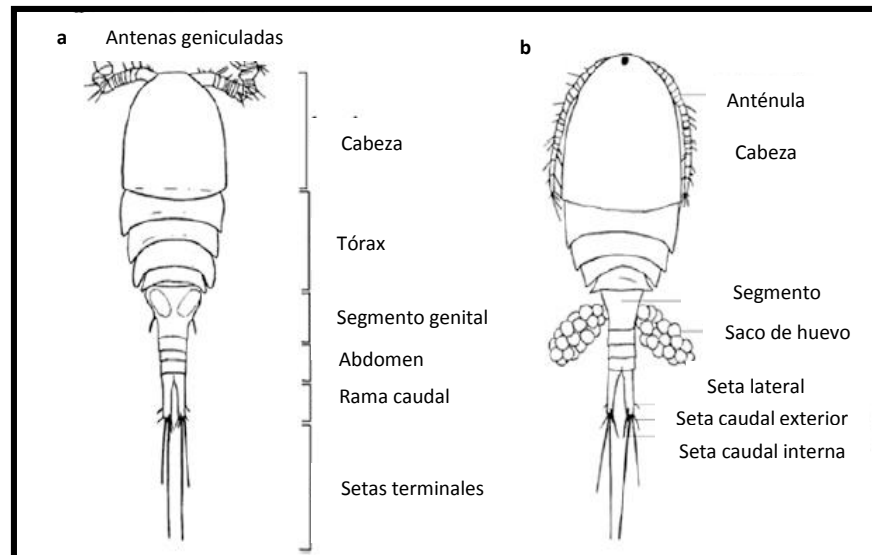


**Figura 2.** Estructura típica de copépodo femenino Calanoida.  
**Fuente:** Balcer *et al.*, (1984).

### 2.2.3.2. Cyclopoida

Son físicamente diminutos, pero su presencia en los sistemas acuáticos son numerosos. Los cyclopoides generalmente varían en longitud de 0,5 a 2,0 mm (Bulkowski *et al.*, 1982).

El último somita torácico de este orden es diferente, las antenas de las hembras constan de 9 a 17 segmentos. El maxilópodo es simple, sin garra prensil. P1 a P4 birámico, con exopodita y endopodita que consiste en un número variable de segmentos, la mayoría de las veces dos o tres. P5 reducido dos poros genitales, situados sub-dorsalmente en cada lado del receptáculo seminal (Balcer *et al.*, 1984) (Ver Figura 3).

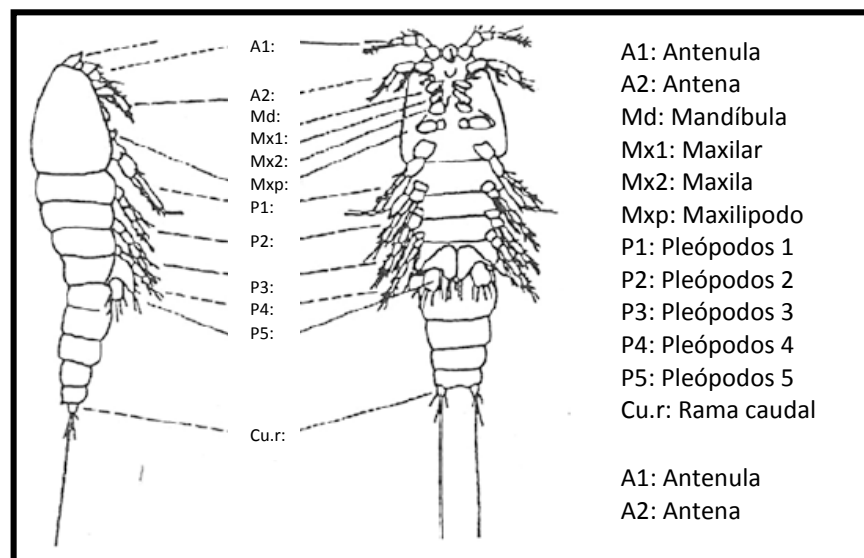


**Figura 3.** Estructura típica de un copépodo Cyclopoida: **(a)** machos; **(b)** hembras.

**Fuente:** Balcer *et al.*, (1984).

### 2.2.3.3. Harpacticoida

Son de forma lineal, con el prosoma ligeramente más ancho que el urosoma y el cuerpo entero gradualmente disminuyendo hacia atrás. El cuerpo harpacticoida es divisible en un prosoma anterior y un urosoma posterior. El prosoma se divide en un cefalosoma, con todos los apéndices de la cabeza, los primeros apéndices y un metasoma que incluye somitas con patas 1 a 4. El urosoma comienza con la somita que lleva la quinta pierna, continúa con los somitas posteriores restantes y termina con las ramas caudales que llevan las setas caudales. El ano se abre en el último somita urosomal (Altaff, 2004) (Ver Figura 4).



**Figura 4.** Estructura general de un copépodo Harpacticoida.

Fuente: Altaff, (2004).

#### 2.2.4. Distribución y hábitat

Son los organismos multicelulares más numerosos en la tierra. Se encuentran en todos los ambientes marinos y de agua dulce del mundo (Bouley y Kimmerer, 2006).

Las especies que habitan las aguas costeras y salobres tienen tolerancias más amplias de las variables ambientales por ejemplo, los copépodos de aguas profundas, que se adapta fisiológicamente a las condiciones especiales de este entorno. En general, los copépodos son más abundantes en los entornos costeros y de afloramientos, ya que estas regiones son más ricas en alimentos (Castellani, 2018).

### **2.2.5. Alimentación**

La mayoría de los copépodos planctónicos son herbívoros, filtrando el fitoplancton del agua de mar con sus antenas y apéndices corporales que crean corrientes de agua que discurren por la zona ventral con el alimento hasta llegar a la boca, también se han apreciado copépodos omnívoros (Isari *et al.*, 2013) que se alimentan de una amplia gama de material particulado natural, fitoplancton, pequeños animales planctónicos del microzooplancton y detritus (Castellani, 2018).

En contraste, unos pocos copépodos son carnívoros y tienen partes de la boca modificadas en apéndices similares a garras y que llevan espinas más robustas (parásitos), (Castellani, 2018).

### **2.2.6. Crecimiento**

Los copépodos crecen al mudarse, al igual que todos los demás crustáceos. Las tasas de crecimiento de los copépodos dependen principalmente de la temperatura, entre otros parámetros (Jaume *et al.*, 2004), en la Tabla 1 se observa los diferentes estadios que pasan los copépodos cuando sufren las mudas durante su ciclo de vida.

**Tabla 1.**  
*Estadíos de los copépodos.*

<b>Estadío</b>	<b>Características</b>
<b>NI</b>	Recién salido del huevo
<b>NII</b>	Muda 1
<b>NIII</b>	Muda 2
<b>NIV</b>	Muda 3
<b>NV</b>	Muda 4
<b>NVI</b>	Muda 5
<b>CI</b>	sólo 3 pares de patas.
<b>CII</b>	4 pares de patas.
<b>CIII</b>	5 pares de patas, 1 somito urosomal ápodo + telson.
<b>CIV</b>	5 pares de patas, 2 somitos urosomales ápodos + telson.
<b>CV</b>	5 pares de patas, aunque las ramas no han alcanzado la segmentación definitiva, 3 somitos urosomales ápodos + telson.
<b>Adulto</b>	5 pares de patas con la segmentación definitiva, 4 somitos urosomales ápodos + telson. La mayoría de las hembras sólo cuenta con 3 somitos urosomales ápodos + telson por la integración del somito genital y el primer somito abdominal en uno sólo.

**Fuente:** Jaume *et al.*, (2004).

### **2.2.7. Reproducción**

Los copépodos son gonocóricos (sexos separados). En el apareamiento no hay cópula, sino que el macho transfiere el esperma a la hembra dentro del espermatóforo, una estructura oval que emplaza en contacto con alguno de los dos poros copuladores que se abren en el segmento genital de ésta (Castellani, 2018).

Los huevos pueden ser liberados uno por uno, o en otros casos permanecen pegados por una sustancia gelatinosa formando una o dos estructuras semejantes a racimos de uvas adheridas al segmento genital de la hembra (Puello-Cruz y García-Ortega, 2008).

### **2.2.8. Las microalgas**

Son organismos microscópicos que pertenecen a muchos grupos taxonómicos diferentes (Chrétiennot *et al.*, 1995), pueden ser unicelulares o multicelulares. Algunos son inmóviles, mientras que otros se mueven usando flagelos u otros medios (Cavalier-Smith, 1974). Son capaces de utilizar la energía solar para producir la materia orgánica que sustenta toda la vida en la tierra y corregir el CO<sub>2</sub> para producir compuestos orgánicos (Borowitzka, 2012). Las microalgas se pueden encontrar en casi todos los ambientes y hábitats de la tierra (Borowitzka, 2018).

### **2.2.9. Microalgas utilizadas en la acuicultura**

#### **2.2.9.1. *Isochrysis galbana***

- **Descripción**

Es una célula flagelada de color amarillo con dos flagelos móviles, sin pared celular, que tiene un tamaño de entre 6 y 8  $\mu\text{m}$ .

Se ha reportado que produce 7,0 a 40,0 % de lípidos (peso seco), con una productividad de 0,32 a 1,60 g/l/día de biomasa (Sánchez *et al.*, 2000). Se caracteriza por tener buenos valores

nutricionales, ya que puede sintetizar y acumular grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFA), particularmente ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) (Sánchez *et al.*, 2000).

- **Clasificación taxonómica**

<b>Reino</b>	:	Chromalveolata
<b>Filo</b>	:	Haptophyta
<b>Clase</b>	:	Prymnesiophyceae
<b>Orden</b>	:	Isochrysidales
<b>Familia</b>	:	Isochrysidaceae
<b>Género</b>	:	Isochrysis
<b>Especie</b>	:	<i>Isochrysis galbana</i> (Parke, 1949).

#### 2.2.9.2. *Chaetoceros* sp.

- **Descripción**

*Chaetoceros* es el género más grande de diatomeas planctónicas marinas, que se distribuye ampliamente en el espacio marítimo del mundo (Iglesas *et al.*, 2019), son unicelulares, algunas forman cadenas y otras no forman, pueden medir entre 6 a 8  $\mu\text{m}$  en su eje apical, tiene 4 setas o espinas.

Posee ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) es alto en ácido araquidónico (ARA), ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido eicosapentaenoico (EPA), (Volkman *et al.*, 1989; Wikfors y Ohno, 2001). A continuación se mostrará la clasificación taxonómica de la microalga descrita.

- **Clasificación taxonómica**

<b>Reino</b>	:	Chromalveolata
<b>Filo</b>	:	Heterokontophyta
<b>Clase</b>	:	Bacillariophyceae
<b>Orden</b>	:	Centrales
<b>Familia</b>	:	Chaetocerotaceae
<b>Género</b>	:	Chaetoceros
<b>Especie</b>	:	<i>Chaetoceros</i> sp. (Ehrenberg, 1844).

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó en marco al proyecto: “Investigación y desarrollo de las tecnologías de cultivo de peces marinos de importancia económica: Corvina *Cilus gilberti* y Sargo *Anisotremus scapularis* en la región Tacna” de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann (UNJBG), usando las instalaciones del Centro Acuícola Morro Sama (CAMOSA) del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES), ubicado en el km 75 de la Carretera Costanera Tacna - Ilo, en la localidad de Morro Sama, distrito de Sama - Las Yaras, provincia y región Tacna, como se observa en la Figura 5.



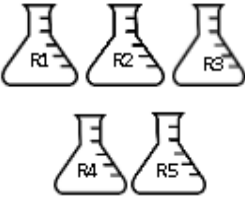





**Figura 5.** Vista satelital del FONDEPES – CAMOSA, Tacna.

**Fuente:** Google Earth- GPS, (2019).

### 3.2. Tipo, diseño y nivel de investigación

El tipo de investigación fue experimental aplicativo.

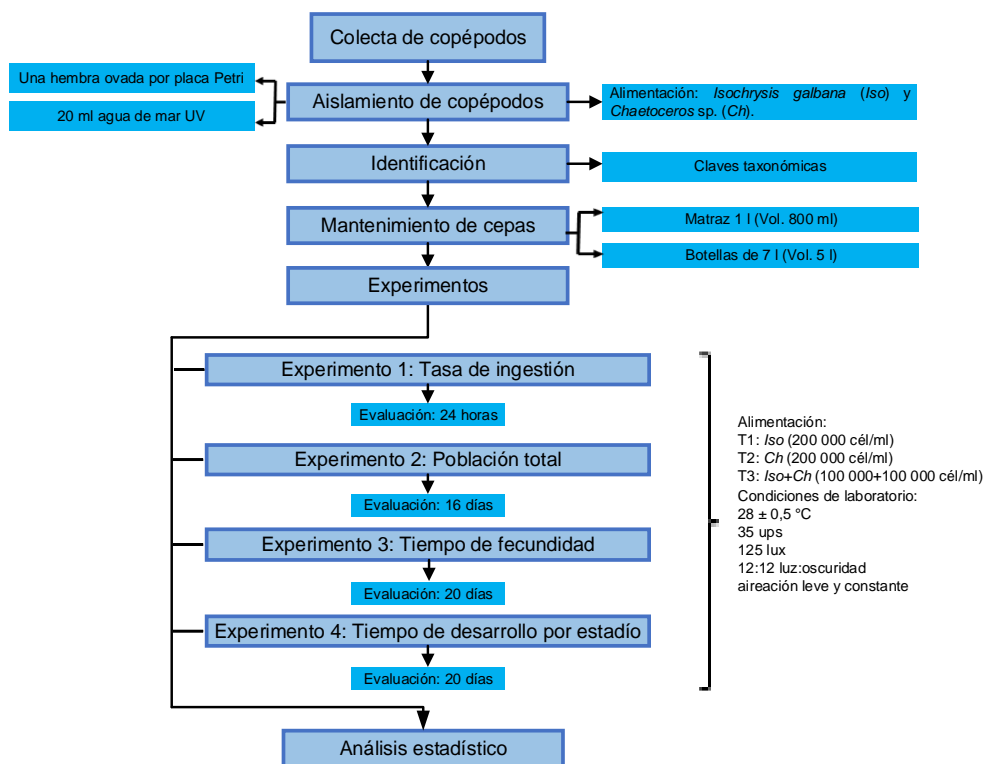
#### Diseño experimental

	<i>Iso</i> (T1)	<i>Ch</i> (T2)	<i>Iso + Ch</i> (T3)
<b>C1</b>			
<b>C2</b>			

**Figura 6.** Diseño experimental **C1**: copépodo 1, **C2**: copépodo 2, **Iso**: *Isochrysis galbana* y **Ch**: *Chaetoceros* sp.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

El diseño experimental está representado por el siguiente diagrama:



**Figura 7.** Flujograma del cultivo de copépodos (cultivo inicial).

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

## Nivel de investigación

El trabajo es de nivel relacional y explicativo.

### 3.3. Operacionalización de variables

#### 3.3.1. Variable dependiente: indicadores

Producción de biomasa de copépodos nativos.

- Densidad: Conteo diario de concentración celular (ind/ml).

### 3.3.2. Variable independiente: indicadores

Microalgas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.

- Densidad conteo diario de concentración celular (cél/ml).

**Tabla 2.**

*Operacionalización de variables.*

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b> Producción de copépodos	Son pequeños microorganismo acuático, que sirven como alimento vivo alternativo por su contenido en ácidos grasos que son esencial para la etapa larval de peces y crustáceos.	Copépodos marinos	Densidad individuo	ind/ml
<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b> Microalgas	Las microalgas son microorganismos microscópicos (2 a 200 $\mu\text{m}$ ) fotosintéticos.	<i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros</i> sp.	Densidad celular	cél/ml

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

### 3.4. Población y muestra

#### 3.4.1. La población

La población fueron todas las especies de copépodos marinos nativos que se colectaron, propios de la zona intermareal de Morro Sama de la provincia y región de Tacna.

#### 3.4.2. Muestra

La muestra del estudio fueron dos especies de copépodos marinos nativos aislados e identificados durante la ejecución del trabajo de investigación.

### **3.5. Materiales, equipos e instrumentos**

#### **3.5.1. Materiales**

##### **3.5.1.1. Materiales de laboratorio**

- 10 tubos Falcon 50 ml de capacidad
- 2 vasos precipitado 500 ml de capacidad
- 2 vasos precipitado 50 ml de capacidad
- Placas Petri marca Pyrex
- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objeto
- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml de capacidad
- Pipetas Pasteur de vidrio.
- Matraz Erlenmeyer graduado, marca ISO LAB de 1000 ml de capacidad
- Viales
- Delantal de PVC
- Guantes quirúrgicos
- Guantes quirúrgicos de jebe
- Mascarilla quirúrgica
- 1 máscara antigases
- Toca

- Guarda polvo de gabardina
- 5 jarras de plásticos de 2 litros de capacidad
- 2 Blandes de 20 litros de capacidad
- Mangas colectoras de zooplancton de 10  $\mu\text{m}$
- Papel tipo parafilm 3 metros
- Pabilo #20
- Plumón de tinta indeleble punta fina "S"
- Papel aluminio
- Papel Kraf
- Papel toalla
- Escobilla de cerda para lavar botellas (1/4"; 1/2" y 2")
- Escobilla de cerda para lavar pipetas (1; 5 y 10)
- Tamices (750; 500; 300; 250; 150; 105; 55  $\mu\text{m}$ )
- Contador manual de cuatro dígitos
- Termostato de 150 W (6 unidades)
- Mangueras de acuario 50 metros
- T's conectores y uniones para manguera de acuario
- Filtro de membrana de 0,45  $\mu$  y 0,22  $\mu$

### **3.5.1.2. Equipos de acondicionamiento de infraestructura**

- Equipo de estilización UV

- Equipo de aire acondicionado
- 2 lámparas fluorescentes de luz blanca.

#### **3.5.1.3. Equipos de laboratorio**

- Microscopio óptico compuesto binocular OPTIKA 469945-S/M
- Cámara de Sedwick-Rafter KYNTEL
- Cámara de Newbauer con espejo de vidrio 76 mm x 31 mm - MARIENFIELD
- Termómetro de mercurio (20 a 110 °C) TAYLO
- Esteroscopio trinocular – OPTIKA-SZM-LEDZ
- Bomba de vacío VACUNBRAND

#### **3.5.1.4. Reactivos e insumos**

- 1 litro de Lugol
- 1 kilo de Tiosulfato
- 1 kilo Nitrato de Sodio
- Ácido muriático 5 litros
- Agua destilada
- Agua de mar esterilizada por UV
- Alcohol etílico de 70° 2 litros
- 5 litros Hipoclorito de sodio 4 % (lejía)

### 3.5.1.5. Material biológico

- Copépodos nativos de la zona de recolección.
- Microalgas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. para la alimentación de los copépodos, procedentes del FONDEPES - CAMOSA.

### 3.5.2. Métodos

#### 3.5.2.1. Aislamiento e identificación

Se colectó muestras en mangas de 20  $\mu\text{m}$  de la toma de agua del CAMOSA y directamente de la zona intermareal de Morro Sama, distrito de Sama - Las Yaras, región de Tacna (Ver Anexo 2, Figura 17). Los organismos colectados se transportaron en baldes de 10 litros con agua UV al laboratorio de alimento vivo del proyecto de investigación de la UNJBG (Ver Anexo 2, Figura 18).

Se logró aislar diferentes especies de copépodos, una vez en el laboratorio se hizo varios aislamientos en placas petri, que consistió en colocar una hembra ovada por placa petri con 20 ml de agua de mar UV filtrada a 0,45  $\mu\text{m}$  (Ver Anexo 2, Figura 19) y fueron alimentados con las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. (Ver Anexo 2, Figura 20).

Durante el tiempo del aislamiento solo dos especies de copépodos (C1 y C2) sobrevivieron a las condiciones de laboratorio aumentando su densidad, se hicieron escalamientos de cultivos desde placa petri a un volúmen de 20 ml a matraces ISO LAB de 1 litro a un volúmen de 800 ml y botellas de 7 litros a un volúmen de 6 litros, se alimentaron con las mismas microalgas mencionadas anteriormente (Ver Anexo 2, Figura 21 y 22).

Finalmente, los copépodos se identificaron utilizando las claves taxonómicas de Palomares *et al.* (1988); Wilson, (1932) y Huys y Boxshall, (1991). Las cuales fueron corroboradas por un experto en taxonomía de zooplancton marino del laboratorio del Centro de ornitología y biodiversidad, Perú (CORBIDI/PERÚ). Siendo *Hemicyclops* sp. (C1) y *Oithona nana* (C2), (Ver Anexo 2, Figura 23).

### **3.5.2.2. Tratamiento del agua de mar**

Para el mantenimiento de las cepas y para los cultivos en matraces, se utilizó agua de mar de la toma de agua que fue filtrada a 20  $\mu\text{m}$ , con cartuchos de 10 y 5  $\mu\text{m}$ , luego en el laboratorio se ha pasado por un cartucho de 1  $\mu\text{m}$  y se irradió con luz ultravioleta.

Luego se hizo un tratamiento químico del agua de mar usando la técnica recomendada por Hemerick, (1973) que consistió en llenar agua UV en un recipiente de color oscuro y tapa hermética a un volumen de 120 litros agregándole 0,5 ml/l de cloro dejándolo por 24 horas y luego se le agregó tiosulfato 30 ppm dejándolo actuar por media hora antes del uso de ella, el tratamiento se hizo cada 15 días. Después se filtró en la bomba de vacío con un filtro de membrana de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y 47 mm de diámetro, (Ver Anexo 3, Figura 24).

#### **3.5.2.3. Mantenimiento y cultivo de C1 y C2**

Las cepas fueron mantenidas en matraces ISO LAB de 1 litro, cultivadas a temperatura, salinidad, intensidad de luz y fotoperiodo constante de  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux y 12:12 (luz:oscuridad) con una aireación suave y constante, alimentadas con las microalgas *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. (Ver Anexo 4).

#### **3.5.2.4. Experimento 1: Tasa de ingestión**

Se sembró 10 pares de copépodos marinos seleccionados de una especie (hembra y macho) en matraces ISO LAB de 1 litro

con un volúmen de 800 ml de agua mar filtrada 0,45  $\mu\text{m}$ , a temperatura, salinidad, intensidad de luz y fotoperiodo constante de  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux y 12:12 (luz:oscuridad) con una aireación suave y constante por medio de una pipeta pasteur. Las microalgas que se usó fueron obtenidas del CAMOSA - FONDEPES. Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, se alimentaron en relación a las tres diferentes dietas, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp. a una concentración de 200 000 cél/ml recomendada por Puello-Cruz *et al.* (2009) y una dieta mixta 1:1 (*Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.) (Ver Anexo 5).

Transcurrido el tiempo (24 horas) se hizo el conteo de células (microalgas) utilizando la Cámara de Sedgewick Rafter.

#### **3.5.2.5. Experimento 2: Población total**

Se sembraron 10 pares de copépodos marinos seleccionados de una especie (hembra y macho) en matraces ISO LAB de 1 litro con un volúmen de 800 ml de agua mar filtrada a 0,45  $\mu\text{m}$ . Durante 16 días, a temperatura, salinidad, intensidad de luz y fotoperiodo constante de  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux y 12:12 (luz:oscuridad) con aireación suave y constante por medio de una pipeta pasteur. Los

copéodos se alimentaron con tres diferentes dietas: *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp. y una dieta mixta 1:1 (*Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.) a una concentración total de 200 000 cél/ml, cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, (Ver Anexo 6).

Transcurrido el tiempo del experimento se contaron los especímenes, reconociendo el sexo y estadio (nauplios, copepoditos, adultos: hembras y machos)

#### **3.5.2.6. Experimento 3: Tiempo de fecundidad**

Para evaluar el tiempo de fecundidad se sembró una hembra en su primera maduración sexual (hembra con sacos ovígeros) según Rhyne *et al.*, (2009), en placas petri con tapa para reducir la evaporación a un volúmen de 20 ml de agua mar filtrada a 0,45  $\mu$ m, a temperatura, salinidad y fotoperiodo constante de  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 12:12 (luz:oscuridad). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, en relación a las tres diferentes dietas, *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. a una concentración de 200 000 cél/ml y una dieta mixta 1:1 (*Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.) evaluándolo por 20 días (Ver Anexo 7).

Paralelamente se examinaron las hembras portadoras de huevos, para verificar la cantidad de desoves que hubo durante los días evaluados.

#### **3.5.2.7. Experimento 4: Tiempo de desarrollo por estadio**

En tres tratamientos de cinco repeticiones en placas Petri se dispuso 1 hembra ovada por placa con 40 ml de agua de mar UV filtrada a 0,45  $\mu\text{m}$ , a temperatura, salinidad, intensidad de luz y fotoperiodo constante de  $28 \pm 0,5$  °C, 35 ups, 125 lux y 12:12 (luz:oscuridad). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, en relación a las tres diferentes dietas, *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp. a una concentración de 200 000 cél/ml y una dieta mixta 1:1 (*Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.) evaluándolo por 20 días. Las hembras se evaluaron dos veces al día para determinar el momento de liberación del saco. Luego de la liberación, las hembras fueron retiradas, dejando solo nauplios para observar su desarrollo, evaluándolo dos veces al día hasta alcanzar el estadio adulto (Ver Anexo 8).

Transcurrido el tiempo (20 días) se contabilizó el tiempo por estadio que demora el copépodo por cada muda que hace hasta llegar a adulto.

### 3.6. Análisis de datos

Se aplicó un DCA y todos los datos de los parámetros evaluados fueron analizados por ANOVA, cuando mostraron diferencia significativa se aplicó la prueba de Tukey a un nivel de significancia de 0,05, para los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico **STATISTICA 10.0**. Los datos fueron expresados en tablas con la Media (Med)  $\pm$  Desviación estándar (SD) para su fácil entendimiento.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS**

#### **4.1. Aislamiento e identificación**

A continuación se describirá las dos especies de copépodos (*Hemicyclops* sp. y *Oithona nana*) que se aislaron e identificaron durante el trabajo de investigación según las claves taxonómicas de Palomares *et al.*, (1988), Wilson, (1932), Huys y Boxshall, (1991).

##### **4.1.1. *Hemicyclops* sp.**

Según las fichas taxonómicas que se usaron para la identificación de esta especie, indican que se caracteriza por la tagmosis del cuerpo que tiene, el cuál está compuesto por un cefalosoma de seis somitos fusionados que componen un escudo cefálico y un tronco de nueve, más el telson. Los cinco primeros somitos (cefálicos) portan un par de anténulas, antenas, mandíbulas, maxílulas y maxilas y el sexto, un par de apéndices locomotores que se han transformado en maxilípedos. Los siguientes cinco somitos portan las patas natatorias birrámeas. El telson tiene un par de ramas caudales y con frecuencia el opérculo anal. A continuación se describirá la ficha taxonómica de *Hemicyclops* sp.

<b>Phylum</b>	:	Arthropoda
<b>Subphylum</b>	:	Crustácea
<b>Clase</b>	:	Maxillopoda
<b>Orden</b>	:	Poecilostomatoida
<b>Familia</b>	:	Clausidiidae
<b>Género</b>	:	<i>Hemicyclops</i> (Boeck, 1872).

#### 4.1.2. *Oithona nana*

Según las fichas taxonómicas que se usaron para la identificación de esta especie, indican que el cefalotorax está constituido por el acron, cinco somitos cefálicos que corresponden al cefalosoma con dos pares antenas, un par de mandíbulas. Las anténulas (primeras antenas) son unirrámeas, son simétricas tanto en el macho como en la hembra y son más cortas que el prosoma, está compuesta de 6 a 26 segmentos. Los somitos torácicos portadores de patas natatorias tienen cuatro pares de patas birrámeas en forma de pala o remo. El urosoma empieza con el 6º somito torácico que lleva el 5º par de patas, seguido del somito genital con el 6º par de patas; ambos pares de patas son rudimentarias, especialmente el 6º. En el somito genital, el macho tiene un par de vesículas seminales y la hembra tiene el receptáculo seminal (cavidad genital) bastante desarrollada. El telson lleva el ano

generalmente en posición dorsal y acaba en dos ramas caudales. A continuación se describirá la ficha taxonómica de *Oithona nana*.

<b>Phylum</b>	:	Arthropoda
<b>Subphylum</b>	:	Crustácea
<b>Clase</b>	:	Hexanauplia
<b>Orden</b>	:	Cyclopoida
<b>Familia</b>	:	Oithonidae
<b>Género</b>	:	Oithona
<b>Especie</b>	:	<i>Oithona nana</i> (Giesbrecht, 1893).

## 4.2. Experimentos

A continuación se muestran los resultados del efecto de las dietas de microalgas: *Isochrysis galbana* (*Iso*), *Chaetoceros* sp. (*Ch*) y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. (*Iso* + *Ch*) en los cuatro experimentos evaluados para *Hemicyclops* sp. (C1) y *Oithona nana* (C2).

### 4.2.1. Experimento 1: Tasa de ingestión

En la Tabla 3, la tasa de ingestión de microalgas (10 000 cél) consumidas por 1 copépodo durante 1 hora de *Hemicyclops* sp. fue mejor con la primera dieta *I. galbana* con un promedio total de  $28,83 \pm 7,13$  ( $10^4$  cél/ind/h) y la menos consumida fue la tercera

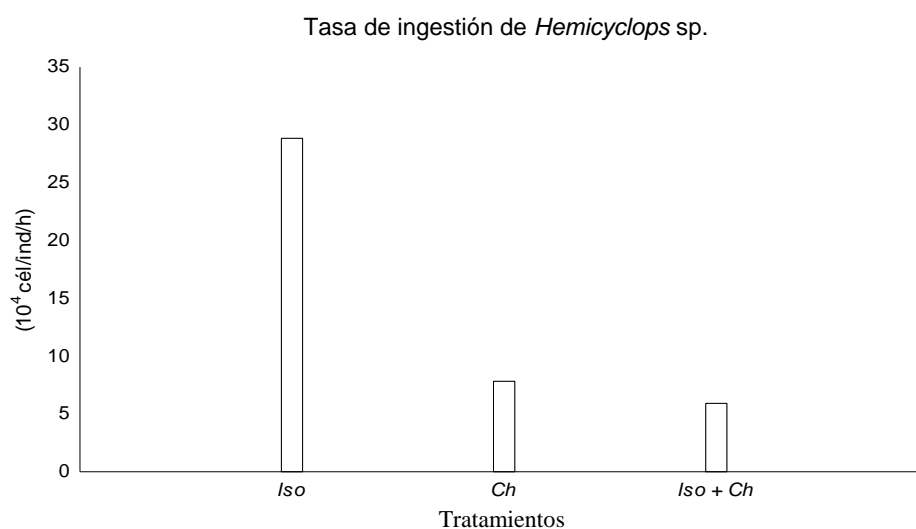
dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. con un promedio total de  $5,92 \pm 1,85$  ( $10^4$  cél/ind/h) en la Figura 8 se observa la diferencia estadística de las tres diferentes dietas dadas.

**Tabla 3.**

Tasa de ingestión ( $10^4$  cél/ind/h) de las tres diferentes dietas suministradas para *Hemicyclops* sp., (Med  $\pm$  SD, n=5, p<0,05).

<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
28,83 $\pm$ 7,13 a	7,83 $\pm$ 3,80 b	5,92 $\pm$ 1,85 b

Fuente: Elaboración propia, (2019).



**Figura 8.** Tasa de ingestión de *Hemicyclops* sp.

Fuente: Elaboración propia, (2019).

En la Tabla 4, la tasa de ingestión de microalgas (10 000 cél) consumidas por 1 copépodo durante 1 hora de *Oithona nana*, fue superior con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. con un promedio total de  $15,4 \pm 3,02$  ( $10^4$  cél/ind/h) y la menos consumida fue la tercera

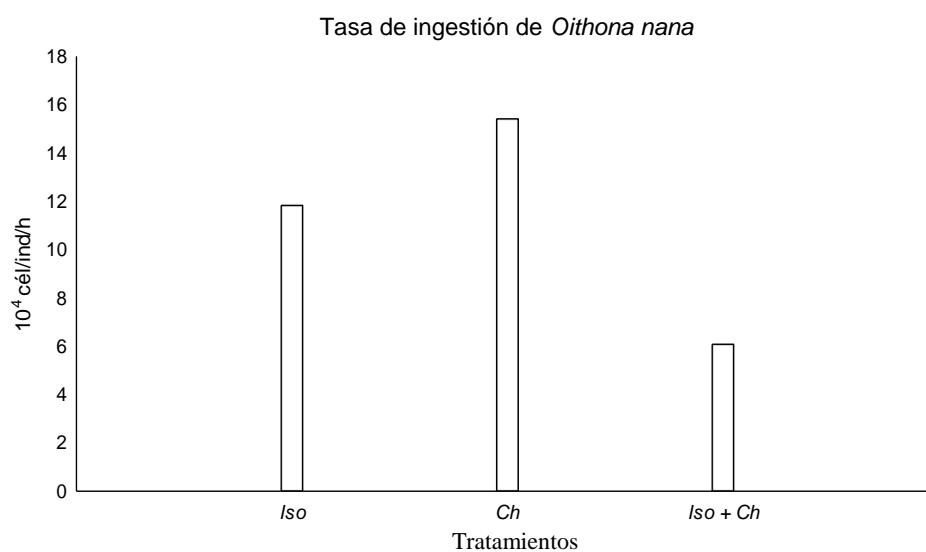
dieta tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. con un promedio total de  $6,08 \pm 5,02$  ( $10^4$  cél/ind/h), en la Figura 9 se observa la diferencia estadística de las tres diferentes dietas dadas.

**Tabla 4.**

Tasa de ingestión ( $10^4$  cél/ind/h) de las tres diferentes dietas suministradas para *Oithona nana*, (Med  $\pm$  SD, n=5, p<0,05).

<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
11,83 $\pm$ 6,19 ab	15,42 $\pm$ 3,02 a	6,08 $\pm$ 5,02 b

Fuente: Elaboración propia, (2019).



**Figura 9.** Tasa de ingestión de *Oithona nana*.

Fuente: Elaboración propia, (2019).

#### 4.2.2. Experimento 2: Población total

En la Tabla 5, la población total de *Hemicyclops* sp. fue sobresaliente con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. obteniendo

un promedio total de  $3431,00 \pm 822,69$  individuos, siendo el estadio naupliar superior con  $1561,00 \pm 738,68$  individuos (46 %), por lo contrario la primera dieta *I. galbana* presentó un promedio total de  $2523,00 \pm 1269,19$  individuos, sin embargo estadísticamente no existe diferencia significativa, como se observa en la Figura 10.

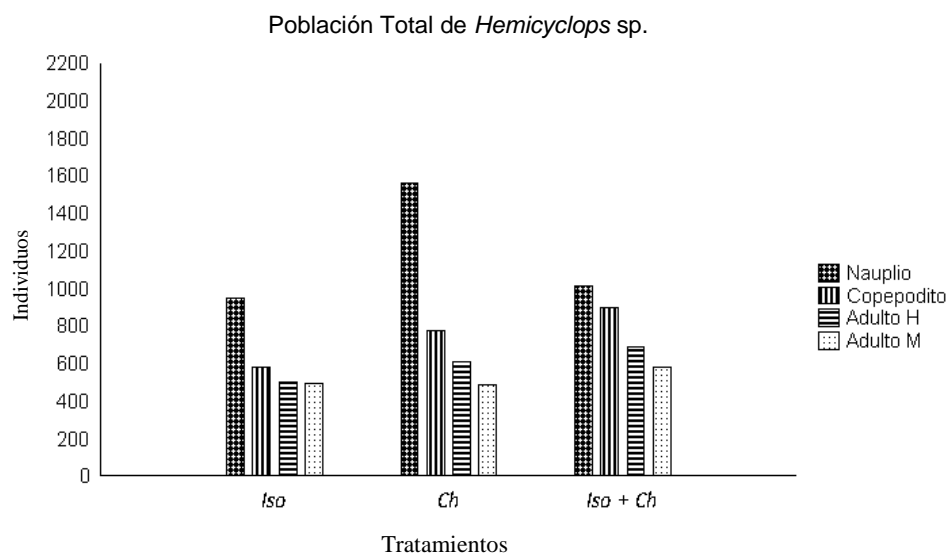
**Tabla 5.**

*Población total (ind) de Hemicyclops sp., (Med  $\pm$  SD, n=5, p<0,05).*

	<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
Nauplios	948,00 $\pm$ 367,13	1561,00 $\pm$ 738,68	1008,00 $\pm$ 251,66
Copepodito	577,00 $\pm$ 385,03	778,00 $\pm$ 124,08	896,00 $\pm$ 244,88
Adultos	H 502,00 $\pm$ 245,42	609,00 $\pm$ 140,42	686,00 $\pm$ 71,54
	M 496,00 $\pm$ 328,60	483,00 $\pm$ 109,86	581,00 $\pm$ 66,18
TOTAL	2523,00 $\pm$ 1269,19 (2,66)*	3431,00 $\pm$ 822,69 (3,57)*	3171,00 $\pm$ 591,31 (3,24)*

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

Donde: \*Indica promedio total de la densidad poblacional (ind/ml).



**Figura 10.** Población total de *Hemicyclops* sp.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

En la Tabla 6, la población total de *Oithona nana* fue sobresaliente con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. obteniendo un promedio total de 6371,00 ± 825,55 individuos, siendo el estadio naupliar superior con 2004,00 ± 476,23 individuos (32 %) y por lo contrario la segunda dieta *Chaetoceros* sp. presentó un promedio total de 5019,00 ± 734,84 individuos, sin embargo estadísticamente no existe diferencia significativa como se observa en la Figura 11.

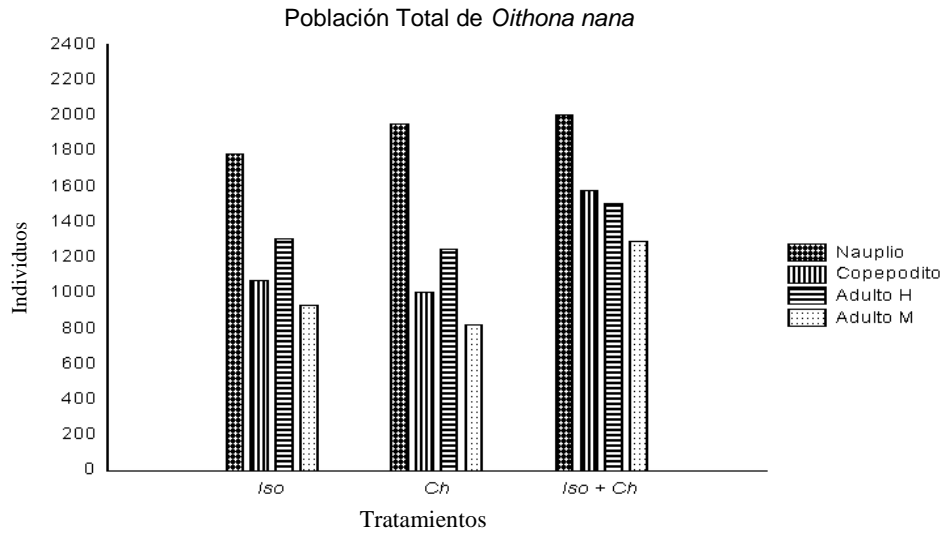
**Tabla 6.**

*Población total (ind) de Oithona nana, (Med ± SD, n=5, p<0,05).*

	<b>Iso</b>	<b>Ch</b>	<b>Iso + Ch</b>
Nauplios	1782,00 ± 516,80	1952,00 ± 795,79	2004,00 ± 476,23
Copepodito	1066,00 ± 131,12	1002,40 ± 136,52	1575,00 ± 367,81
Adultos	H 1307,00 ± 185,69	1244,00 ± 218,87	1504,00 ± 158,84
	M 933,00 ± 222,78	820,00 ± 116,73	1290,00 ± 124,80
TOTAL	5088,00 ± 798,21 (5,31)*	5019,00 ± 734,84 (5,25)*	6371,00 ± 825,55 (6,61)*

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

Donde: \*Indica promedio total de la densidad poblacional (ind/ml).



**Figura 11.** Población total de *Oithona nana*.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

#### 4.2.3. Experimento 3: Tiempo de fecundidad

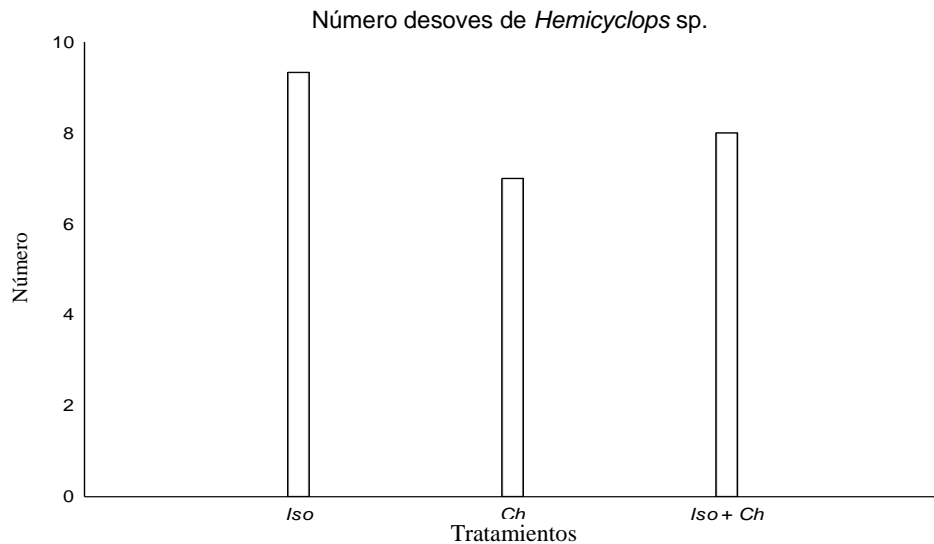
En la Tabla 7, la mayor cantidad de desoves de *Hemicyclops* sp. fue con la primera dieta *I. galbana* con un promedio total de  $9,33 \pm 1,53$  desoves en 20 días, lo opuesto fue con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. obteniendo  $7,00 \pm 0,00$  desoves en 20 días, aunque estadísticamente no existe diferencia significativa como se observa en la Figura 12.

**Tabla 7.**

Número de desoves de *Hemicyclops* sp. durante 20 días de evaluación, (Med  $\pm$  SD, n=3, p<0,05).

<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
$9,33 \pm 1,53$	$7,00 \pm 0,00$	$8,00 \pm 1,73$

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 12.** Cantidad de desoves de *Hemicyclops* sp.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

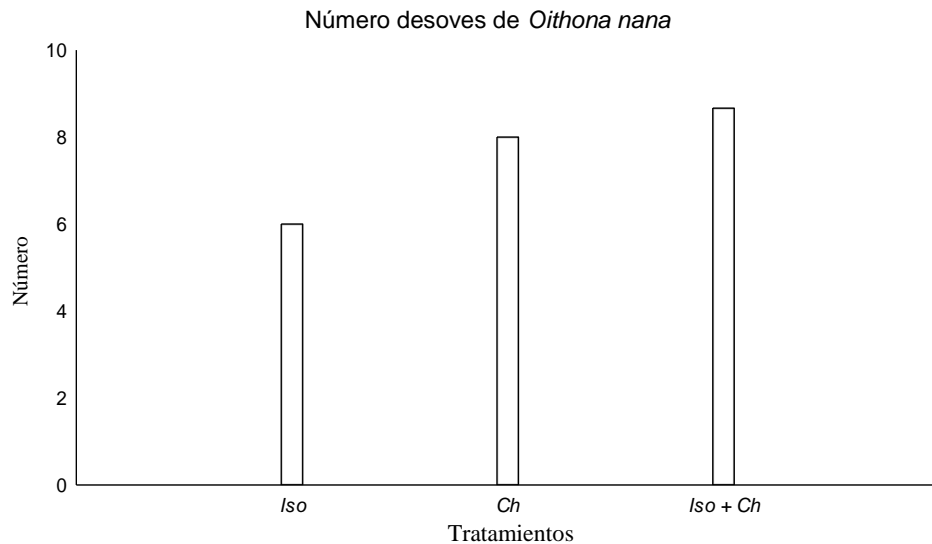
En la Tabla 8, la mayor cantidad de desoves de *Oithona nana*, fue con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. con un promedio total de  $9,00 \pm 1,00$  desoves en 20 días y lo opuesto fue con la primera dieta *I. galbana* con un promedio total de  $6,00 \pm 0,00$  desoves en 20 días, en la Figura 13 se observa la diferencia estadística que hubo.

**Tabla 8.**

*Número de desoves de Oithona nana durante 20 días de evaluación, (Med ± SD, n=3, p<0,05).*

<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
$6,00 \pm 0,00$ b	$8,00 \pm 0,00$ a	$9,00 \pm 1,00$ a

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 13.** Cantidad de desoves de *Oithona nana*.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

#### 4.2.4. Experimento 4: Tiempo de desarrollo por estadio

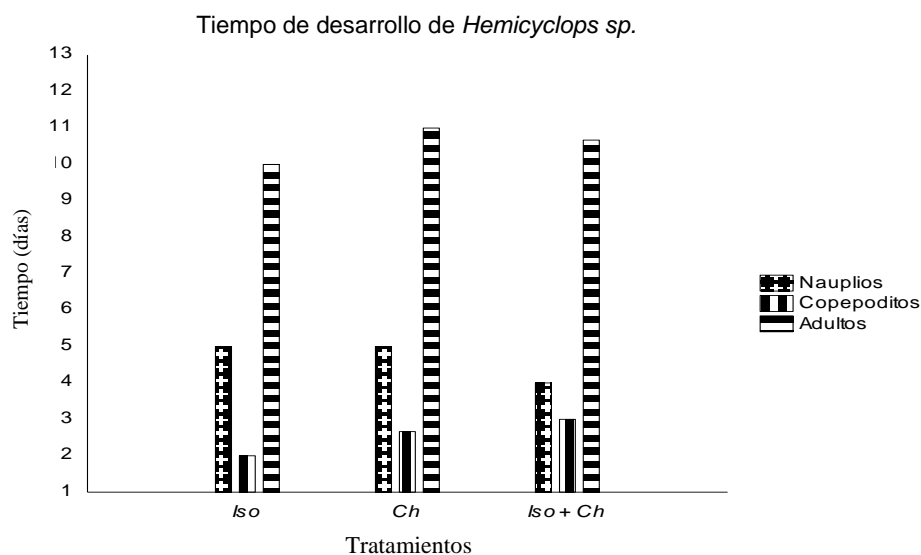
En la Tabla 9, el menor tiempo de desarrollo por estadio de *Hemicyclops* sp., fue con la primera dieta *I. galbana* obteniendo nauplios en  $5,00 \pm 0,00$  días, copepoditos en  $2,00 \pm 0,00$  días y adultos (hembras y machos) en  $10,00 \pm 0,00$  días en adelante y lo opuesto fue con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. obteniendo nauplios en  $5,00 \pm 0,00$  días, copepoditos en  $2,67 \pm 0,58$  días y adultos (hembras y machos) en  $11,00 \pm 1,00$  días en adelante, pese a que estadísticamente no existe diferencia significativa como se observa en la Figura 14.

**Tabla 9.**

Tiempo de desarrollo (días) por estadio de *Hemicyclops* sp. según las dietas suministradas, (Med  $\pm$  SD, n=3, p<0,05).

	<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
Nauplios	5,00 $\pm$ 0,00	5,00 $\pm$ 0,00	4,00 $\pm$ 0,00
Copepodito	2,00 $\pm$ 0,00	2,67 $\pm$ 0,58	3,00 $\pm$ 0,00
Adultos maduros	10,00 $\pm$ 0,00	11,00 $\pm$ 1,00	10,67 $\pm$ 1,15

Fuente: Elaboración propia, (2019).



**Figura 14.** Tiempo de desarrollo (días) por estadio de *Hemicyclops* sp.

Fuente: Elaboración propia, (2019).

En la Tabla 10, el menor tiempo de desarrollo por estadio de *Oithona nana*, fue con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. obteniendo nauplios en 5,00  $\pm$  0,00, copepoditos en 2,00  $\pm$  0,00 días y adultos (hembras y machos) en 5,67  $\pm$  0,00 días en adelante y lo opuesto fue con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. obteniendo

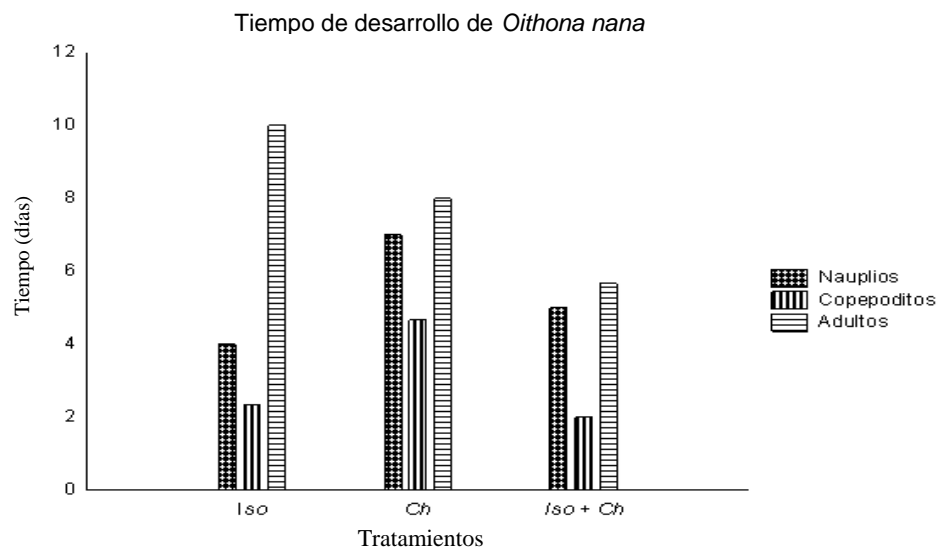
nauplios en  $7,00 \pm 0,00$ , copepoditos en  $4,67 \pm 0,58$  días y adultos (hembras y machos) en  $8,00 \pm 0,58$  días en adelante, pese a que estadísticamente no existe diferencia significativa como se observa en la Figura 15.

**Tabla 10.**

*Tiempo de desarrollo (días) por estadio de Oithona nana según las dietas suministradas, (Med  $\pm$  SD, n=3, p<0,05).*

	<i>Iso</i>	<i>Ch</i>	<i>Iso + Ch</i>
Nauplios	4,00 $\pm$ 0,00	7,00 $\pm$ 0,00	5,00 $\pm$ 0,00
Copepodito	2,33 $\pm$ 0,00	4,67 $\pm$ 0,58	2,00 $\pm$ 0,00
Adultos maduros	10,00 $\pm$ 1,00	8,00 $\pm$ 0,58	5,67 $\pm$ 0,00

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 15.** Tiempo de desarrollo (días) por estadio de *Oithona nana*.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

## **CAPÍTULO V**

### **DISCUSIONES**

Los resultados del presente estudio revelan que la dieta microalgal afectó significativamente los principales parámetros estudiados como: la tasa de ingestión, población total, tiempo de fecundidad y el tiempo de desarrollo, las microalgas utilizadas en el presente experimento provienen de especies que están comúnmente disponibles y son relativamente fáciles de cultivar.

La calidad y cantidad de las tres dietas suministradas, *Isochrysis galbana*, *Chaetoceros* sp. y una dieta mixta 1:1 (*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros* sp.) fueron un factor importante para el desarrollo de los copépodos en un ambiente controlado con parámetros constantes (temperatura, salinidad, fotoperiodo, aireación, etc) según el estudio de Takahashi y Ohno, (1996) y Bonnet *et al.*, (2009).

#### **5.1. Tasa de ingestión**

Los valores de este trabajo de investigación indican que la tasa de ingestión de microalgas (10 000 cél) consumidas por 1 copépodo durante 1 hora de *Hemicyclops* sp. fue mayor con la primera dieta *I. galbana*  $28,83 \pm 7,13$  ( $10^4$  cél/ind/h), según Renaud *et al.*, (1999) esta

preferencia en el alimento se debe a su tamaño que oscila de 3 a 6  $\mu\text{m}$  y al gran contenido de DHA que tiene, el cual puede convertirse en EPA esencial según Navarro *et al.*, (1999).

La tasa de ingestión de microalgas (10 000 cél) consumidas por 1 copépodo durante 1 hora de *Oithona nana* presentó un mayor consumo con la segunda dieta *Chaetoceros* sp.  $15,42 \pm 3,02$  ( $10^4$  cél/ind/h), esta preferencia en el alimento se debió a que las diatomeas son consideradas como una fuente adecuada de energía para el zooplancton tal como lo indica Lee *et al.*, (2006) y el alto contenido de ácidos grasos insaturados esenciales EPA y ARA que estos poseen según Coutteau, (1996) y Piña *et al.*, (2006). En la investigación realizada por Lora-Vilchis *et al.*, (2004) quien demostró que *C. muelleri* tiene casi cinco veces mayor contenido de ácidos grasos que *I. galbana*.

## **5.2. Población total**

Los valores de este trabajo de investigación indican que la población total de *Hemicyclops* sp. fue sobresaliente con la segunda dieta *Chaetoceros* sp. con  $3431,00 \pm 822,69$  individuos, siendo el estadio naupliar superior con  $1561,00 \pm 738,68$  individuos (46 %), dato similar encontrado en la investigación realizada por

Puello *et al.*, (2009) quién trabajo con copépodo calanoide: *Pseudodiaptomus euryhalinus* (Johnson 1939) con diferentes dietas de microalgas, el cual tuvo resultados favorables al usar *Chaetoceros muelleri* como dieta monoalgal, obteniendo una variación de  $462,92 \pm 152,5$  organismo  $l^{-1}$  a  $296 \pm 114,74 l^{-1}$  y el estadio naupliar representó el 44 % de la población total de *P. euryhalinus*.

La población total de *Oithona nana* fue sobresaliente con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. con  $6371,00 \pm 825,55$  individuos, siendo el estadio naupliar superior con  $2004,00 \pm 476,23$  individuos (32 %), según Chilmawati, (2016) quién evaluó el efecto de las diferentes dietas de células de fitoplancton en el rendimiento de crecimiento de *Oithona* sp. obtuvo  $6,96 \pm 0,38$  ind. $ml^{-1}$  de densidad total y una tasa de crecimiento poblacional de  $0,121 \pm 0,003 d^{-1}$  con *C. calcitrans*, esto quiere decir que usando una dieta mixta en la producción de *Oithona nana* los resultados serían favorables.

### **5.3. Tiempo de fecundidad**

Los valores de este trabajo de investigación indican que la mayor cantidad de desoves de *Hemicyclops* sp. fue con la primera

dieta *I. galbana* con un promedio total de  $9,33 \pm 1,53$  desoves en 20 días, en el trabajo realizado por Ohs *et al.*, (2010) quién evaluó el cultivo del copépodo Calanoida: *Pseudodiaptomus pelagicus*, con diferentes dietas de microalgas, obteniendo con *I. galbana* un porcentaje de  $15,6 \pm 13,2$  (hembras ovígeras).

Los valores obtenidos por *Oithona nana*, indican que la mayor cantidad de desoves fue con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. con un promedio total de  $9,00 \pm 1,00$  desoves en 20 días, esto quiere decir que una dieta mixta para esta especie tiene mejores resultados que una dieta monoalgal, por lo tanto hizo que el tiempo de maduración sea más corto y aumente la producción de nauplios.

#### **5.4. Tiempo de desarrollo por estadio**

Los valores de este trabajo de investigación indican que el menor tiempo de desarrollo por estadio de *Hemicyclops* sp., fue con la primera dieta *I. galbana* obteniendo nauplios en  $5,00 \pm 0,00$  días, copepoditos en  $2,00 \pm 0,00$  días y adultos (hembras y machos) en  $10,00 \pm 0,00$  días en adelante, resultados similares obtenidos por Ananth y Santhanam, (2018) quién uso varias dietas para el cultivo intensivo de *Tisbe* sp. como alternativa de alimento vivo para

larvas de camarón, obtuvo con *I. galbana* 4,8 días (NI a CI), 5,3 días (CI a CVI) y 10,1 días (adultos).

Los valores de *Oithona nana* indican que el menor tiempo de desarrollo por estadio se dio con la tercera dieta *I. galbana* + *Chaetoceros* sp., obteniendo nauplios en  $5 \pm 0,00$  días, copepoditos en  $2 \pm 0,00$  días y adultos (hembra y macho) en  $5,67 \pm 0,00$  días en adelante, resultados similares en el trabajo de investigación realizado por Osorio-Galindo, (1998) quién estudio el efecto de la temperatura y la salinidad en parámetros poblacionales de *Pseudodiaptomus euryhalinus*, Johnson (Crustácea: Copépoda: Calanoida) en condiciones controladas, obtuvo nauplios en 4 días, copepoditos en 3 días y adultos (hembra y macho) en 1 día en adelante.

## CONCLUSIONES

1. El efecto de las microalgas en la producción de copépodos marinos nativos (*Hemicyclops* sp. y *Oithona nana*) alimentados con las tres diferentes dietas, se obtuvo mayor densidad de *hemicyclops* sp. con la primera dieta (*Isochrysis galbana*) y para *Oithona nana* se obtuvo mayor densidad con la tercera dieta (*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros* sp.).
2. Se aisló e identificó dos especies de copépodos marinos nativos para el trabajo experimental, el primer copépodo fue "*Hemicyclops* sp." y el segundo fue "*Oithona nana*".
3. Se estimaron los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a las dietas a base de microalgas, evaluando:

Para *Hemicyclops* sp. la tasa de ingestión, el tiempo de fecundidad y el tiempo de desarrollo por estadio fue mejor con la primera dieta (*Isochrysis galbana*) y la población total fue mayor con la segunda dieta (*Chaetoceros* sp.).

Para *Oithona nana* la población total, el tiempo defecundidad, y el tiempo de desarrollo por estadio fue mejor con la tercera dieta (*Isochrysis galbana* + *Chaetoceros* sp.) y la tasa de ingestión fue mayor con la segunda (*Chaetoceros* sp.).

## **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda a futuros tesisistas de la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann – Tacna de la especialidad de Ingeniería Pesquera y carreras afines que a partir de la presente tesis continúen con más ensayos, con cultivos de mayor volúmen, experimentando con otras variables (estresando los cultivos, probando policultivo con copépodos, etc).
2. Se recomienda postular o adquirir fondos para estandarizar los parámetros de cultivo así mismo, hacer un análisis de perfil de ácidos grasos y usarlos en la alimentación larvaria de peces.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altaff, K. (2004). *A Manual of Zooplankton, 19–145*. Chennai: Department of Zoology, The New.
- Ananth, S., y Santhanam, P. (2018). *Cultivo intensivo, análisis de composición bioquímica y uso de Zooplankton Tisbe sp. (Copepoda: Harpacticoida) como alimentación alternativa en vivo para la larvicultura de camarones*. Basic and Applied Zooplankton Biology, 329–362.
- Balcer, M. D., Korda, N. L., y Dodson, S. I. (1984). *Zooplankton of the Great Lakes: A guide to the Identification and Ecology of the Common Crustacean Species*. Madison: The University of Wisconsin Press.
- Boeck, A. (1872). *Nuevos géneros y especies de copépodos de agua salada*. Vidensk. Selsk. Forhandl. 1872: 35-60.
- Bonnet, D., Harris, R. P., Yebra, L., Guihaumon, F., Conway, D. S., y Hirst, A. G. (2009). *Temperature effects on Calanus helgolandicus (Copepoda: Calanoida) development time and egg production*. Journal of Plankton Research, 31(1):31-34.

- Borowitzka, M. A. (2018). *Biology of Microalgae*. Microalgae in Health and Disease Prevention. 23–72.
- Barroso, M. V., de Carvalho, C. V. A., Antoniassi, R., y Cerqueira, V. R. (2013). *Use of the copepod Acartia tonsa as the first live food for larvae of the fat snook Centropomus parallelus*. Aquaculture, 388-391, 153–158.
- Bouley, P., y Kimmerer, W. J. (2006). *Ecology of a highly abundant, introduced cyclopoid copepod in a temperate estuary*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 324, 219–228.
- Boxshall, G. A., y Halsey, S. H. (2004). *An Introduction to Copepod Diversity*. Vol. 1-2:1-966.
- Boxshall, G. A., y Jaume, D. (2000). *Making waves: The repeated colonization of fresh water by copepod crustaceans*. Ancient Lakes: Biodiversity, Ecology and Evolution.
- Bulkowski, L., Krise, W. F., y Kraus, K. A. (1982). *Purification of cyclops cultures by pH shock (Copepod)*.
- Castellani, C. (2018). *Copepods. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*.

Cavalier-Smith, T. (1974). *Basal body and flagellar development during the vegetative cell cycle and the sexual cycle of Chlamydomonas reinhardii*.

Chilmawati, D., y Suminto. (2016). *The Effect of Different Diet of Phytoplankton Cells on Growth Performance of Copepod, Oithona sp. in Semi-mass Culture*. Aquatic Procedia, 7, 39–45.

Chrétiennot Diet, M. J., Courties, C., Vaquer, A., Neveux, J., Claustre, H., Lautier, J., y Machado, M. C. (1995). *A new marine picoeucaryote: Ostreococcus tauri gen. et sp. nov. (Chlorophyta, Prasinophyceae)*.

Coutteau, P. (1996). *Micro-algae*. In: Lavens, P., Sorgeloos, P. (Eds.), *Manual on the Production And use of Live Food for Aquaculture*. Fish. Tech. Pap., vol. 361. FAO, pp. 7–48.

Drillet, G., Rais, M., Novac, A., Jepsen, P. M., Mahjoub, M.S., y Hansen, B. W. (2014). *Total egg harvest by the calanoid copepod Acartia tonsa(Dana) in intensive culture - effects of high stocking densities on daily egg harvest and egg quality*. Aquaculture Research, 46(12).

Ehrenberg, C. G. (1844). *Resultados preliminares de sus investigaciones sobre el material del Polo Sur del Capitán Ross, así como el de Schayer y Darwin, sobre el comportamiento de la vida más pequeña*

*en los océanos y las mayores profundidades del océano hasta ahora accesibles. Informe sobre el enfoque apropiado de negociación.* The Royal. Preuss. Académie de Ciencias de Berlín 1844: 182-207.

Franco, S. C., Augustin, C. B., Geffen, A. J., y Dinis, M. T. (2017). *Growth, egg production and hatching success of Acartia tonsa cultured at high densities.* Aquaculture, 468, 569–578.

Giesbrecht, W. (1893). *Sistemática y faunística de los copépodos pelágicos del Golfo de Nápoles y las secciones marinas adyacentes. Fauna y Flora del Golfo de Nápoles y las Secciones Marinas Adyacentes.* Publicado por la Estación Zoológica a Nápoles 19: 1-831, pls. 1-54. (1892).

Hemerick, G. (1973). *Métodos de cultivo y medidas de crecimiento Stein J.R. (Ed.), Manual de métodos fisiológicos.* Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido (1973), pp. 259-260.

Huys, R., y Boxshall, G. A. (1991). *Evolución de los copépodos.* The Ray Society, Londres. 468 pp.

Iglesas, J. M., Soengas, R., Probert, I., Guttloud, E., Gourvil, P., Mehric, M., y López Ortiza, F. (2019). *NMR characterization and evaluation of antibacterial and anti-biofilm.* Aquaculture.

Isari, S., Antó, M., y Saiz, E. (2013). *Copepod foraging on the basis of food nutritional quality: can copepods really choose.*

Jaume, D., Conradi Barrena , M., y López González, P. (2004). *Copépodos. Pag. 303-331. En: Curso Práctico de Entomología. España: Alicante, Bellaterra.* Servicio de Publicaciones de la Universidad Autónoma de Barcelona. 2004. ISBN 84-490-2383-1 .

Lee, K. W., Park, H. G., Lee, S. M., y Kang, H. K. (2006). *Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod Paracyclopsina nana Smirnov.* Aquaculture, 256(1-4), 346–353.

Lora-Vilchis, M. C., Cordero-Esquivel, B., y Voltolin , D. (2004). *Growth of Artemia franciscana fed Isochrysis sp. and Chaetoceros muelleri during its early life stages.* Aquac. Res., 35, 1086–1091.

Navarro, J. C., Henderson, R. J., McEvoy, L. A., Bell, M. B., y Amat, F. (1999). *Lipid conversion during enrichment of Artemia.* Aquaculture, 174, 155–166.

Niehoff, B. (2007). *Life history strategies in zooplankton communities: The significance of female gonad morphology and maturation types for the reproductive biology of marine calanoid copepods.* Progress in Oceanography.

- Ohs, C. L., Chang, K. L., Grabe, S. W., DiMaggio, M. A., y Stenn, E. (2010). *Evaluación de microalgas dietéticas para el cultivo del copépodo calanoide Pseudodiaptomus pelagicus*. *Aquaculture*, 307(3-4), 225–232.
- Osorio-Galindo, M. (1998). *Efecto de la temperatura y salinidad en parámetros poblacionales de Pseudodiaptomus euryhalinus Johnson (Crutácea: Copépoda: Calanoidea) en condiciones controladas*. La Paz, Baja California, México: Instituto politécnico nacional centro interdisciplinario de ciencias marinas. Departamento de desarrollo de tecnologías laboratorio de biología experimental.
- Palomares-García, J. R., Suárez-Morales, E., y Hernández-Trujillo, S. (1988). *Catálogo de los copépodos (Crustacea) pelágicos del Pacífico mexicano*. CICIMAR-IPN, 352pp.
- Parke, M. (1949). *Studies on marine flagellates*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 28: 255-288, 73 figs, 2 pls.
- Piña, P., Voltolina, D., Nieves, M., y Robles, M. (2006). *Survival, development and growth of the Pacific white shrimp Litopenaeus*

*vannamei* protozoa larvae, fed monoalgal and mixed diets. Aquaculture, 253, 523–530.

Puello-Cruz, A. C., Mezo-Villalobos, S., González Rodríguez, B., y Voltolina, D. (2009). *Culture of the Calanoid Copepod Pseudodiaptomus euryhalinus (Johnson 1939) with Different Phytoplankton Diets*. Aquaculture, 290, 317–319.

Renaud, S. M., Thinh, I. V., y Parry, D. L. (1999). *The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture*. Aquaculture, 170, 147–159.

Rhyne, L. A., Ohs, C. L., y Stenn, E. (2009). *Effects of temperature on reproduction and survival of the calanoid copepod Pseudodiaptomus pelagicus*. Aquaculture, 292(1):53-59.

Sánchez, S., Martínez, M., y Espinola, F. (2000). *Biomass production and biochemical variability of the marine microalga Isochrysis galbana in relation to culture medium*. Eng. J. 6 . 13–18.

Stottrup, J. G., y Norsker, N. H. (1997). *Producción y uso de copépodos en larvicultura de peces marinos*. Aquaculture, 155, 231–248.

- Stottrup, J. G., Bell, J. G., y Sargent, J. R. (1999). *El destino de los lípidos durante el desarrollo y almacenamiento en frío del huevo en el copépodo calanoide Acartia tonsa Dana criado en laboratorio y en respuesta a diferentes dietas de algas*. *Aquaculture*, 176, 257–269.
- Takahashi, T., y Ohno, A. (1996). *The temperature effect on the development of calanoid copepod, Acartia tsuensis, with some comments to morphogenesis*. *Journal of Oceanography*, 52(1):125-137.
- Turner, J. (2004). *The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs*. *Zoological Studies*, 43 (2): 255-266.
- Vidhya, K., Uthayakumar, V., Muthukumar, S., Munirasu, S., y Ramasubramanian, V. (2014). *Los efectos de las dietas mixtas de algas sobre el crecimiento de la población, la productividad del huevo y los perfiles nutricionales en los copépodos ciclopoideos (Thermocyclops hyalinus y Mesocyclops aspericornis)*. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 67(2), 58–65.
- Volkman, J. K., Jeffrey, S. W., Nichols, P. D., Rogers, G. I., y Garland, C. D. (1989). *Fatty acid and lipid composition of 10 species of*

*microalgae used in mariculture*. ELSEVIER, J. Exp. Mar. iol. Ecol.  
128, 219–240.

Wikfors, G. H., y Ohno, M. (2001). *Impact of algal research in aquaculture*.  
J. Phycol. 37, 968–974.

Wilson, C. B. (1932). *El crustáceo copépodo en la bahía de Chesapeake*.  
Proc. U. S. Nat. Mus.,80 (15): 1-54.

Wootton, M., y Castellani, C. (2017). *Copepoda*. In: *Castellani C and  
Edwards M (eds.) Marine plankton*. Oxford University Press.

## ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia.

**TÍTULO: “EFECTO DE LAS MICROALGAS *Isochrysis galbana* Y *Chaetoceros* sp. EN LA PRODUCCIÓN DE COPÉPODOS MARINOS NATIVOS CULTIVADOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO EN LA REGIÓN DE TACNA.”**

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
<p><b>Pregunta general:</b></p> <p>¿Cuál será el efecto de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros</i> sp. en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la Región de Tacna?</p>	<p><b>Objetivo general:</b></p> <p>Determinar el efecto de las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros</i> sp. en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la Región de Tacna.</p>	<p><b>Hipótesis general:</b></p> <p>Las microalgas <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros</i> sp. Tendrán un efecto en la producción de biomasa de copépodos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la Región de Tacna.</p>	<p><b><u>V. DEPENDIENTE</u></b></p> <p>Producción de copépodos marinos nativos.</p>	<p>Densidad individuo</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contador manual (ind/ml)</li> </ul>
<p><b>Preguntas específicas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ¿Cuántas especies de copépodos marinos se aislarán e identificarán para el cultivo experimental?</li> <li>• ¿Cuáles serán los valores estimados de los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento?</li> </ul>	<p><b>Objetivos específicos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislar e identificar copépodos marinos nativos para el trabajo experimental.</li> <li>• Estimar los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento.</li> </ul>	<p><b>Hipótesis específicas:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se logrará aislar e identificar dos especies de copépodos marinos nativos del ambiente natural.</li> <li>• Se logrará determinar los valores estimados de los parámetros poblacionales de cada copépodo en función a la especie de microalga suministrada como alimento.</li> </ul>	<p><b><u>V. INDEPENDIENTE</u></b></p> <p>Microalgas: <i>Isochrysis galbana</i> y <i>Chaetoceros</i> sp.</p>	<p>Densidad celular</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contador manual (cél/ml)</li> </ul>

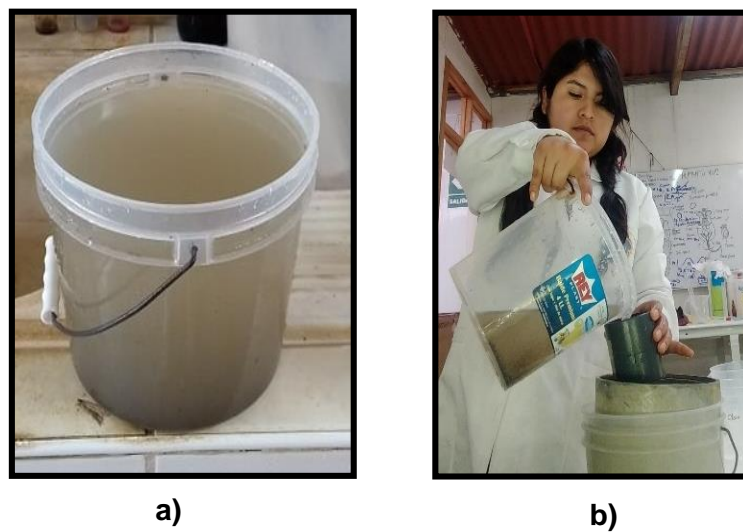
**Fuente:** Elaboración propia, ( 2018).

**Anexo 2.** Fase del aislamiento e identificación de los copépodos marinos nativos.



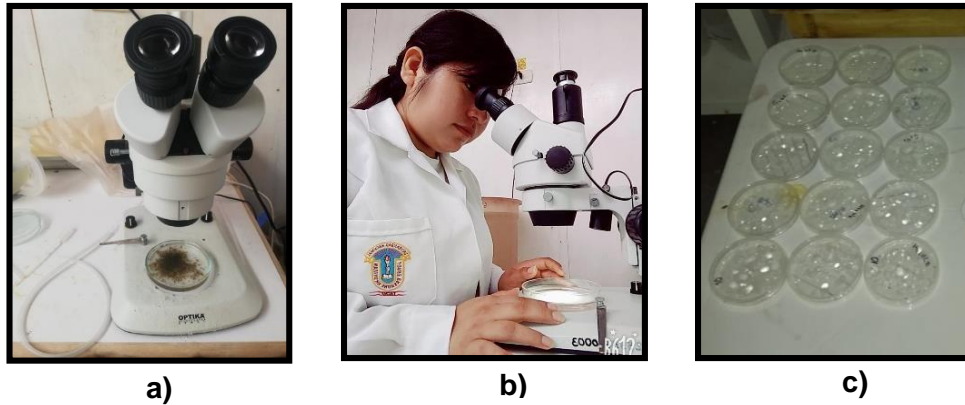
**Figura 16.** a) Colecta de copépodos directamente de la zona intermareal y b) Colecta de copépodos de las mangas de 20  $\mu\text{m}$  de la toma de agua del CAMOSA.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



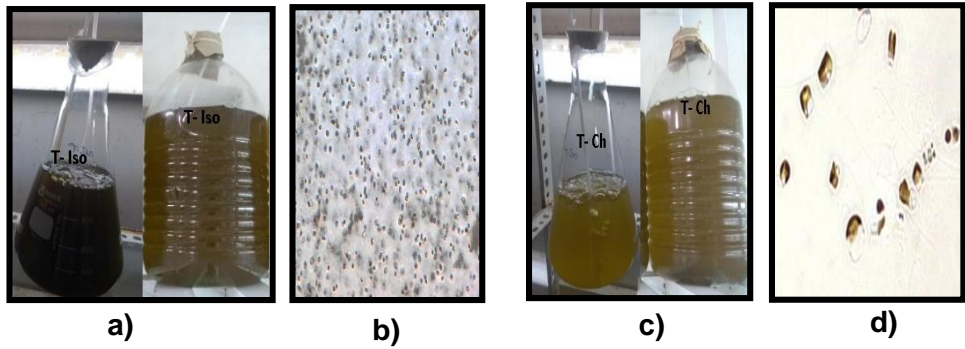
**Figura 17.** a) Organismos colectados en baldes de 5 litros con agua UV y b) Lavado de los organismos colectados con tamicez de 50 y 750  $\mu\text{m}$ .

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



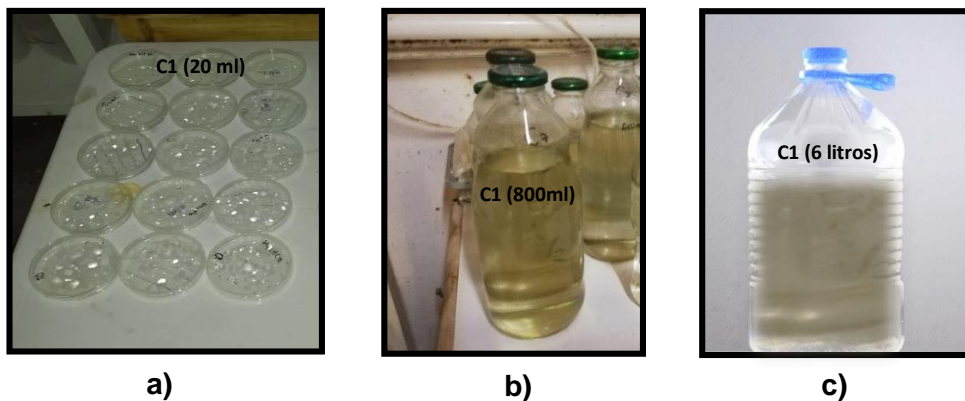
**Figura 18.** a), b) Selección de copépodos y c) aislamiento de hembras ovadas en placas petri con 20 ml de agua UV.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



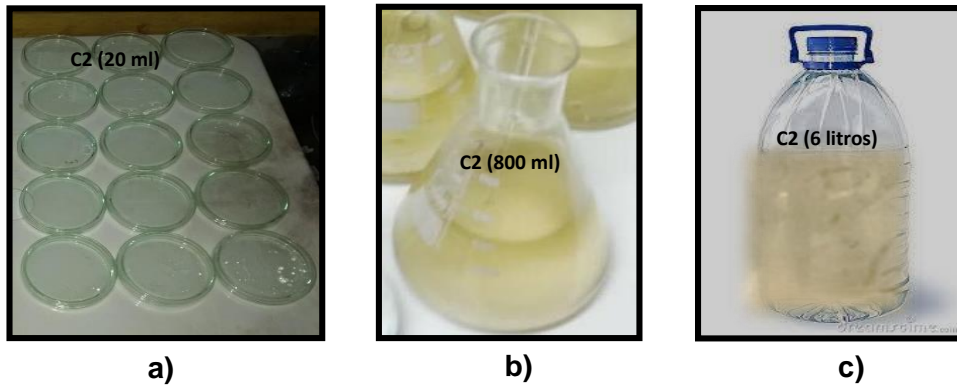
**Figura 19.** Microalgas utilizadas, a) Cultivo de *Isochrysis galbana*, b) Vista microscópica y c) Cultivo de *Chaetoceros* sp., d) Vista microscópica.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 20.** Escalamiento del cultivo de *Hemicyclops* sp. (C1) a) Cultivo inicial en placas petri (vol. 20ml) b) Cultivo en matraz 1 litro (vol. 800 ml) y c) Cultivo en botella de 7 litros (vol. 6 litros).

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 21.** Escalamiento del cultivo de *Oithona nana* (C2) **a)** Cultivo en placas petri (vol. 20 ml), **b)** Cultivo en matraz 1 litro (vol. 800 ml) y **c)** Cultivo en botella de 7 litros (vol. 6 litros).

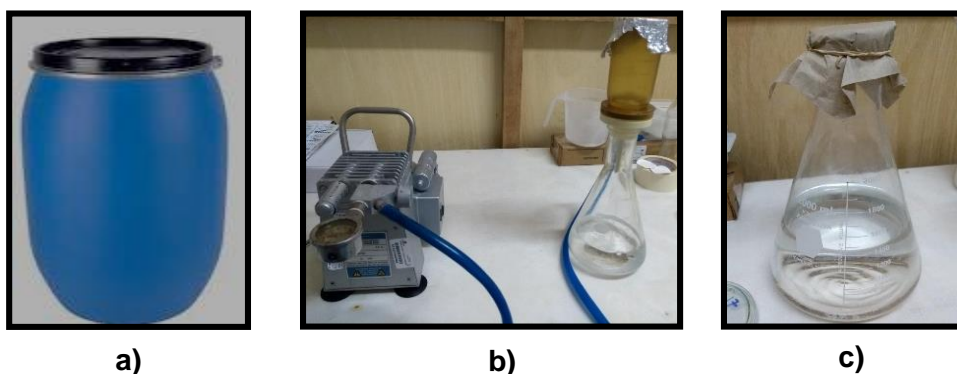
**Fuente:** Elaboración propia, (2019).



**Figura 22.** Copépodos identificados: **a)** *Hemicyclops* sp. (C1) y **b)** *Oithona nana* (C2).

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

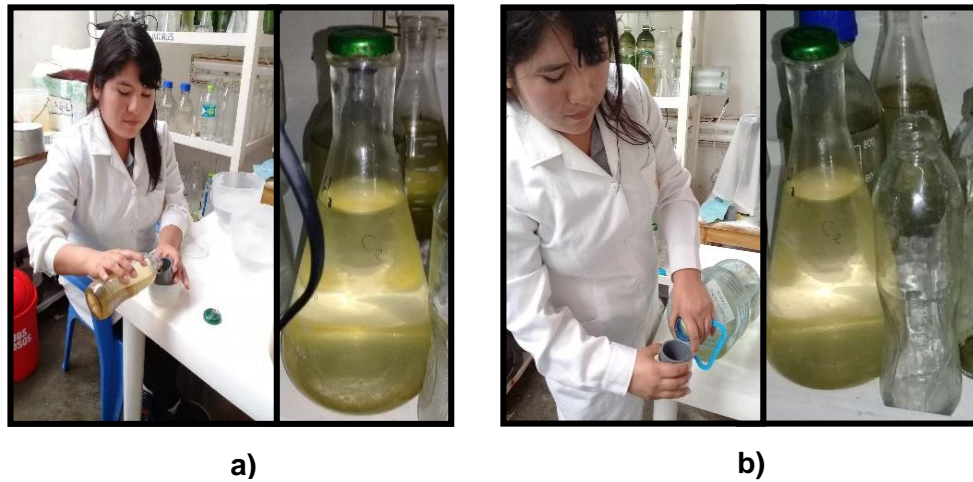
### Anexo 3. Tratamiento de agua de mar.



**Figura 23.** **a)** Tratamiento químico del agua de mar, **b)** Filtración del agua con tratamiento químico en la bomba de vacío y **c)** Almacenamiento del agua filtrada.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

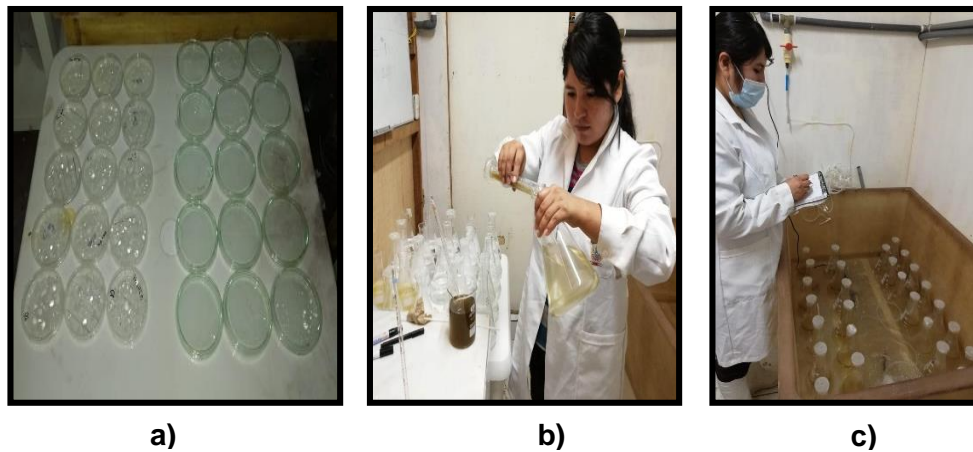
**Anexo 4.** Fase de mantenimiento y cultivo de *Hemicyclops* sp. (C1) y *Oithona nana* (C2).



**Figura 24.** Siembra y cosecha de: **a)** *Hemicyclops* sp. (C1) y **b)** *Oithona nana* (C2).

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

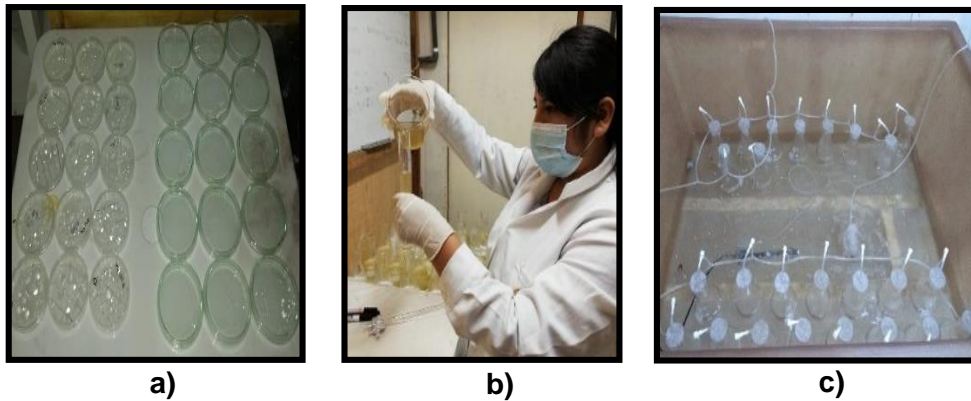
**Anexo 5.** Fase del experimento 1: Tasa de ingestión.



**Figura 25.** **a)** Selección de 10 pares ( $\sigma^7\text{Q}$ ) de copépodos en placa petri para C1 y C2, **b)** Cultivo de C1 y C2 en matraces (800 ml) con las tres diferentes dietas *I. galbana*, *Chaetoceros* sp. y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. y **c)** Experimentación de copépodos en condiciones controladas.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).

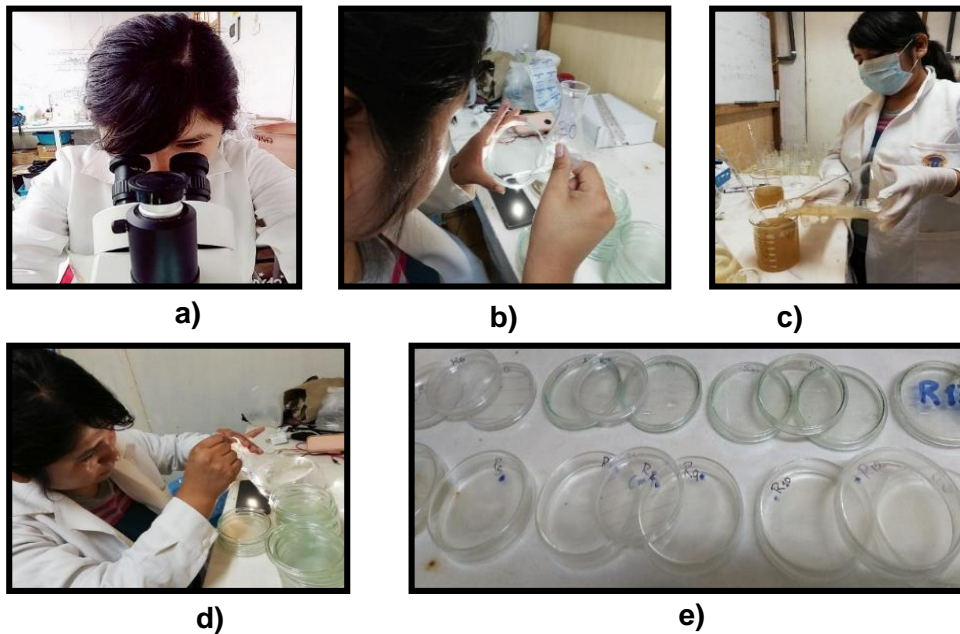
## Anexo 6. Fase del experimento 2: Población total.



**Figura 26.** a) Selección de 10 pares de (♂♀) copépodos para C1 y C2, b) Cultivo de C1 y C2 en matraces (800 ml) con las tres diferentes dietas *I. galbana*, *Chaetoceros* sp. y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. y c) Experimentación de copépodos en condiciones controladas.

Fuente: Elaboración propia, (2019).

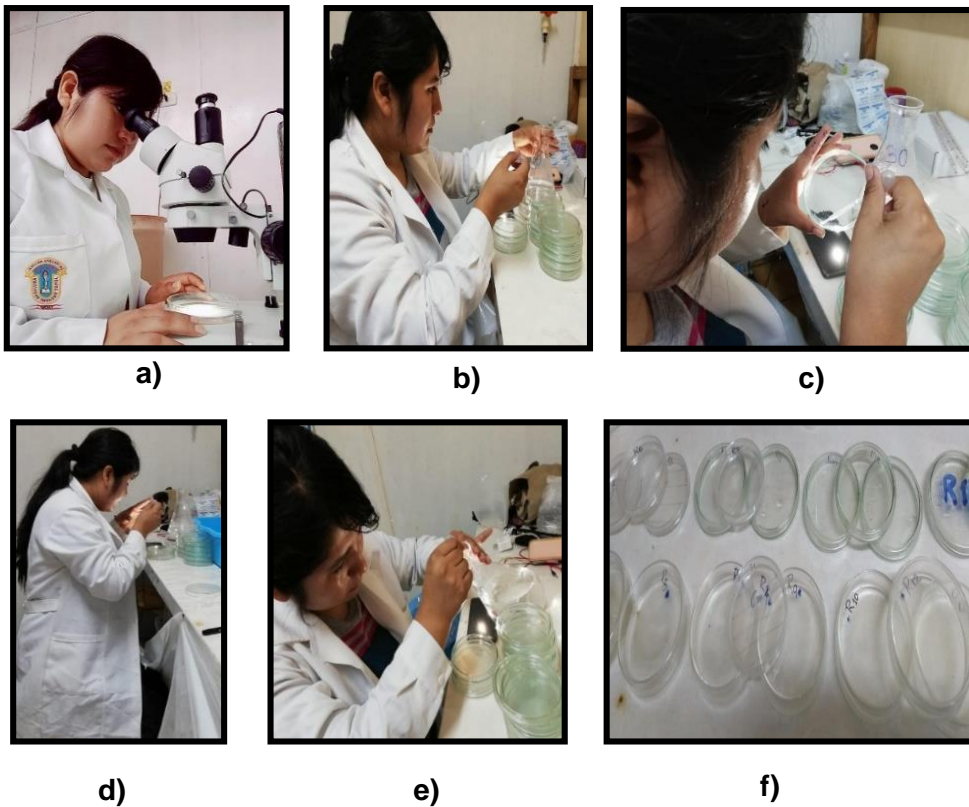
## Anexo 7. Fase del experimento 3: Tiempo de fecundidad.



**Figura 27.** a) Selección de hembras en su primera maduración sexual para C1 y C2, b) Cultivo en placa petri a 20 ml de agua de mar UV, c) y d) Suministro de las diferentes dietas *I. galbana*, *Chaetoceros* sp. y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp. y e) Experimentación de copépodos en condiciones controladas.

Fuente: Elaboración propia, (2019).

**Anexo 8. Fase del experimento 4: Tiempo de desarrollo.**



**Figura 28.** **a)** Selección de hembras en su primera maduración sexual para C1 y C2, **b)** Cultivo de 1 hembra ovada por placa con 40 ml de agua de mar UV y con sus respectivas dietas (*I. galbana*, *Chaetoceros* sp. y *I. galbana* + *Chaetoceros* sp.) **c)** y **d)** Separación de hembras y nauplios recién eclosionados **e)** Suministro de las mismas dietas mencionadas y **f)** Experimentación en condiciones controladas.

**Fuente:** Elaboración propia, (2019).