

**Efecto de las Microalgas *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis sp. e*
Isochrysis galbana sobre la Reproducción y Desarrollo Naupliar en
Copépodos Calanoideos Marinos Tropicales, *Acartia spp.***

Santiago Cambefort Florez⁽¹⁾, Fernando Arcos⁽²⁾
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar (FIMCM)⁽¹⁾⁽²⁾
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)⁽¹⁾⁽²⁾
Km 30.5 vía Perimetral, PO 09-01-5863, Guayaquil, Ecuador⁽¹⁾⁽²⁾
sancambe@gmail.com⁽¹⁾, farcos@espol.edu.ec⁽²⁾

Resumen

*Los copépodos forman la mayor parte del zooplancton marino y son muy codiciados en la piscicultura marina por su valor nutritivo y por los altos índices de desarrollo que se reportan al ser utilizados como alimento vivo para alevines de peces marinos. Sin embargo, su cultivo no es tan sencillo como el de otros alimentos vivos tradicionales y solo se ha desarrollado en pocos países. El presente estudio es llevado a cabo en conjunto con el Laboratorio Ahotines (Panamá) con el propósito de evaluar la posibilidad de crear cultivos continuos de copépodos calanoideos marinos del género *Acartia* y mantenerlos como stock de alimento vivo para el cultivo de peces marinos. El trabajo se concentra específicamente en cuanto a la alimentación y reproducción de los copépodos. Se divide en tres partes: la primera detalla los efectos de diferentes dietas de algas sobre el volumen de desove en copépodos adultos, la segunda evalúa el crecimiento larval y la supervivencia en nauplios de *Acartia* alimentados con diferentes dietas, y la tercera verifica la efectividad de un muy conocido método de cultivo estático propuesto por el investigador Glenn R. Schipp del Darwin Aquaculture Centre. Los resultados de la investigación brindan una buena base para futuras investigaciones sobre el cultivo de copépodos marinos de la localidad y para el desarrollo de la piscicultura marina de Panamá.*

Palabras Claves: Copépodos, zooplancton, alimento vivo, cultivo, *Acartia*

Abstract

*Copepods form the major part of the wild marine zooplankton and are highly desired in marine pisciculture due to their nutritional value and high development results that have been reported when used as live food for marine fish fry. However, its cultivation is not as simple as that of other traditional foods and has only been developed in few countries. The present study is conducted in conjunction with the Ahotines Laboratory (Panama) with the purpose of evaluating the possibility to create continuous cultures of marine calanoid copepods from the genus *Acartia* and keep them as live stock feed for the cultivation of marine fish. The work focuses specifically on the feeding and reproduction of copepods. It is divided into three parts: the first describes the effects of different diets on the amount of eggs produced by adult copepods, the second evaluates the larval growth and survival of *Acartia* nauplii fed with different diets, and the third verifies the effectiveness of a well known static culture method proposed by the investigator Glenn R. Schipp from the Darwin Aquaculture Centre. The results of the study provide a good basis for future research on the cultivation of local marine copepods and for the development of marine pisciculture in Panama.*

Keywords: Copepods, zooplankton, live food, culture, *Acartia*

1. Introducción

El Laboratorio Achotines de la Comisión Interamericana del Atún Tropical (CIAT), en colaboración con el gobierno panameño, ha estado llevando a cabo una serie de investigaciones centradas en la biología y desarrollo larval del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) y de ciertas especies marinas de importancia local como el pargo de la mancha (*Lutjanus guttatus*). Estudios sobre la reproducción, desove y mantenimiento de larvas se han estado efectuando constantemente a lo largo de los años. Aún no se han desarrollado los métodos de cultivo en su totalidad, aunque se los espera realizar en un futuro cercano. Existen muchas variantes por investigar y descubrir, en especial relacionadas con la alimentación. La complejidad radica en los requerimientos nutricionales específicos que demandan dichas larvas al inicio de sus vidas. Pruebas suministrando rotíferos y *Artemia*, previamente enriquecidos, han dado resultados bajos en supervivencia. Otras pruebas reportan aumento en los niveles de supervivencia al administrar nauplios de copépodos calanoideos *Acartia* como alimento inicial (1). Sin embargo, el cultivo sostenible de copépodos calanoideos *Acartia* en el laboratorio no es tan simple como el de los alimentos vivos tradicionales (rotíferos y *Artemia*).

Josianne G. Stottrup (2), científica e investigadora trabajando con el Danish Institute for Fisheries and Marine Research en Dinamarca, centro de investigación relacionado con acuicultura, desarrolló exitosamente en 1986, junto con otros investigadores, un método para producir grandes cantidades de *Acartia tonsa* en el laboratorio. Básicamente, la técnica se fundamenta en un sistema de cultivo continuo formado por dos subsistemas de cría y reproducción. Diariamente, se recolectan huevos de los tanques de desove y se siembran en los tanques de crecimiento. El mantenimiento es llevado a cabo mediante un régimen alimenticio a base de dietas monoalgales, *Rhodomonas baltica* en adultos e *Isochrysis galbana* en nauplios. Intentos de reproducir dicha metodología en el Laboratorio Achotines se han llevado a cabo, pero sin éxito. Según los expertos, los copépodos adultos parecen adaptarse y reproducirse bien, pero los nauplios presentan problemas en cuanto a desarrollo y supervivencia. Se cree que el problema deriva de la alimentación, y del hecho de que la metodología fue creada en función de copépodos calanoideos de clima templado. Los copépodos exhiben una amplia variedad de hábitos alimenticios, según el sitio en el que vivan.

Otro centro llamado el Darwin Aquaculture Centre (Australia) presentó en 1998 un método simple para el cultivo masivo de copépodos calanoideos tropicales *Acartia* spp, encabezado por el investigador Glenn R. Schipp (3). A diferencia del método anterior, este se basa en mantener cultivos estáticos por períodos cortos utilizando parámetros tropicales y empleando una dieta pluri-algal (mix). Aún no se prueba esta técnica en Achotines, así como tampoco se ha experimentado con una dieta mix de microalgas. La simplicidad del mantenimiento de los cultivos y la baja mano de obra requerida le dan un gran atractivo a este método. Por otra parte, siendo la técnica desarrollada a partir de copépodos calanoideos “tropicales”, se podría pronosticar un buen resultado si se implementase en cualquier localidad de clima tropical.

Aún así, se desconoce cual es la dieta ideal para el cultivo sostenible de *Acartia* en el área del Pacífico al sur de la península de Azuero, Panamá. En colaboración con el investigador y administrador del departamento de cultivo de plancton del Laboratorio Achotines, Ing. Luis Tejada, se llevarán a cabo ensayos profundizando en cuanto a la alimentación y el efecto que esta tiene sobre la reproducción y desarrollo de *Acartia*. Se recolectarán poblaciones salvajes y serán sometidas a pruebas de alimentación en tanques de 20 litros. Se dispone de 3 especies de microalgas (*Isochrysis galbana*, *Chaetoceros gracilis* y *Tetraselmis* sp.), las cuales independientemente y en combinación serán brindadas a los copépodos para registrar datos en cuanto a desove y desarrollo naupliar. Luego de aclarar dichos puntos, se analizará la posibilidad de desarrollar un protocolo con el fin de mantener una constante fuente de copépodos calanoideos marinos *Acartia* en cautiverio en el Laboratorio Achotines.

2. Materiales y métodos

2.1 Cultivo de algas

Previo al inicio de los ensayos, se llevan a cabo diversos cultivos de microalgas en el laboratorio de cultivo de plancton para asegurar la constante disponibilidad de un buen stock de alimento. Se escogen tres especies tomando en cuenta su fácil crecimiento, su adaptabilidad al trópico y sobre todo los valores alimenticios que proporcionan como dieta. Experimentos llevados a cabo anteriormente por distintos autores en cuanto a la alimentación de copépodos calanoideos marinos del estero de Cañas, así como diversos reportes de ensayos de alimentación realizados en el exterior, también

brindaron una buena base teórica para definir las especies de microalgas a utilizar. Las especies de microalga son:

1) *Chaetoceros gracilis*: diatomea solitaria de forma rectangular cuyas dimensiones son de 8-12 x 7-10 μm . Tienen tolerancia a aguas hasta de 40°C. Sus valores nutricionales presentan un 23,94% de proteínas, 8,69% de lípidos y 19,01% de carbohidratos.

2) *Tetraselmis* sp: alga móvil, comprimida elipsoidal con 4 flagelos, el extremo posterior agudo y el extremo anterior de 4 lóbulos. Es de un color verde brillante, de 7 μm de diámetro y 10-16 μm de largo. Es una especie eurihalina con capacidad de formar esporas cuyos límites de tolerancia a variables físicas son muy amplios. Contiene 49,22% de proteína, 10,60% de lípidos y 16,38% de carbohidratos.


3) *Isochrysis galbana*: microalga pequeña y móvil con un tamaño celular promedio de 5 x 3,5 μm . Es un excelente alimento para los estadios naupliares de copépodos calanoideos, y es rica en el ácido graso insaturado docosahexanoico (DHA) que ha probado ser beneficioso para el crecimiento, desarrollo y supervivencia de larvas de peces marinos. Altos niveles de DHA pueden también producir efectos positivos en la productividad a largo plazo de los copépodos.


Los cultivos son llevados a cabo en el laboratorio de cultivo de plancton bajo condiciones controladas (aire acondicionado, luz artificial, desinfección diaria). Se utiliza el medio Guillard f/2 como fertilizante. Se añaden silicatos para el caso de las diatomeas (*Chaetoceros gracilis*). El agua marina que se recolecta es pasada por filtros de arena, de cartucho, de ultravioleta, filtros de bolsa de una micra y por último se la deja reposar en total oscuridad por 10 días.


Cada dos días se hacen conteos de células por ml de cada cultivo para ajustar los volúmenes de suministro debido al crecimiento del alga. Los conteos se llevan a cabo con un hemocitómetro tipo Neubauer y un microscopio.


2.2 Ensayo de alimentación vs producción de huevos

Se organiza un esquema experimental utilizando cuatro dietas diferentes en pequeños volúmenes controlados de 20 litros. Cada dieta esta conformada por tres cubos, un original y dos réplicas, para de esta forma poder llevar un control estadístico de los datos al finalizar el experimento y obtener resultados de mayor precisión.

Dieta A:  = *Chaetoceros* + *Acartia*

Dieta B:  = *Tetraselmis* + *Acartia*

Dieta C:  = *Isochrysis* + *Acartia*

Dieta D:  = [*Chaetoceros* + *Tetraselmis* + *Isochrysis* (2:1:1)] + *Acartia*

El experimento dura un período de aproximadamente 7 días. Copépodos adultos son sembrados a una densidad de 50 individuos por litro. Los cubos son colocados en un área externa del laboratorio, bajo techo, con foto periodo natural, y tapados. Las paredes de los cubos son parcialmente traslúcidas. Estudios anteriores en el mismo laboratorio han comprobado mayor actividad por parte de los copépodos durante la oscuridad. Suave aireación es colocada desde el fondo mediante líneas de aire con piedras difusoras. La densidad total de microalgas fijada para cada cubo de cada dieta es de 5×10^4 cel/ml. Se alimenta una vez al día con una proporción de alimento específica, así manteniendo la densidad de algas de cada cubo constante. Se lleva a cabo monitoreo de los parámetros principales cada 2 días: temperatura, Ph, salinidad y oxígeno disuelto.

Diariamente, mediante sifón, se recolecta 1 litro de agua del fondo de cada cubo para luego recolectar los huevos mezclados con detrito. Cada muestra recolectada es inmediatamente filtrada con una malla de 150 μm para retener copépodos y regresarlos a los cultivos. El volumen de cada muestra es reducido filtrándolo por una malla de 35 μm para luego ser fijado en tubos de ensayo con formol al 5%. Al finalizar el experimento, un conteo de los huevos preservados en los tubos de ensayo y se compara los resultados de cada dieta estadísticamente.

2.3 Ensayo de alimentación vs desarrollo naupliar

La población stock de copépodos adultos recolectados y contados es colocada en un tanque de 400 litros a una densidad de 50 individuos por litro (20,000 copépodos/L), con alimento y aireación. Se utiliza la dieta con mejores resultados en cuanto a desove (ensayo anterior) a una densidad total de 5×10^4 cel/ml. El cultivo permanece estático por 24 horas. Al siguiente día, se procede a sifonear 20 litros del fondo del tanque para recolectar los huevos producidos. La recolección es pasada a través de un filtro de malla de 200 micras para retener adultos y aislar el volumen con los huevos.

Luego, se toma una muestra y se hace un conteo de los huevos. Una vez revelada la densidad del stock de huevos, se procede inmediatamente a sembrar los cubos de ensayo.

El periodo de duración es de aproximadamente 7 días, supuesto tiempo que demora la especie en cruzar por todos sus estadios naupliar (1). La cantidad, volumen y disposición de los cubos experimentales se mantiene exactamente igual al sistema anterior. Se utiliza el mismo esquema de dietas implementado en el primer ensayo, así como también la misma densidad de alimentación (5×10^4 cel/ml) con el objetivo de mantener una continuidad y similitud en cuanto a los efectos de cada especie de microalga. La rutina de alimentación y monitoreo de parámetros también se mantiene igual. Cada cubo es sembrado con 3,000 huevos (150/L). La densidad de siembra es mayor para equilibrar la pérdida de individuos ya sea por manipulación (muestras poblacionales diarios) ó por huevos defectuosos.

Diariamente, se recolectan muestras de 500 ml de cada cubo que son reducidas con un filtro de 35 μ m y fijadas en tubos de ensayo con formol al 5%. Al finalizar el ensayo, las muestras son contadas y comparadas entre cada dieta.

2.4 Ensayo de cultivo estático

Se lleva a cabo en 3 tanques cónicos oscuros de 100 litros con drenaje central. Los tanques son previamente lavados y luego desinfectados llenándolos con agua dulce y cloro por un periodo de 24 horas. Las líneas de aire y piedras difusoras también son desinfectadas con cloro. Los cultivos son implementados con un régimen alimenticio conformado por una dieta mix de microalgas a base de *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis galbana* (2:1:1), a una concentración total de 2×10^4 células por mililitro. A diferencia del método original, se utiliza la diatomea *Chaetoceros gracilis* en vez de *Rhodomonas baltica* debido a que el laboratorio no posee dicha especie. Los tanques son sembrados con copépodos adultos a una densidad de 50 individuos por litro. Los tanques son llenados hasta aproximadamente el 60% de su volumen para dejarle espacio a los volúmenes diarios de alimentación (microalga). Se suplementa suave aireación desde el fondo mediante líneas de aire con piedras difusoras. Se alimenta una vez al día manteniendo la misma proporción y densidad de algas. Al cabo de 8 días, los tanques son drenados y cosechados para verificar el estado de propagación de la especie y la efectividad del sistema.

3. Resultados

3.1 Ensayo de alimentación vs producción de huevos

Se calculó un promedio de producción de huevos por día para cada dieta y se graficaron los resultados (Fig. 4).

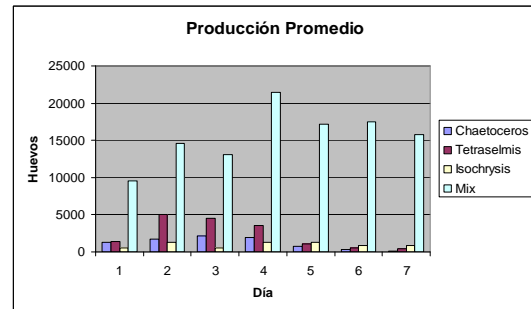


Fig. 4. Gráfica de la producción de huevos por dieta por día.

Asumiéndose un índice sexual de 1:1 (500 hembras por cubo) y conociendo el promedio de producción diaria de huevos con la dieta mix (15,584 huevos/día), se calcula que cada hembra alimentada con la dieta mix desovó aproximadamente 31 huevos por día a una temperatura de 26-29° centígrados.

3.2 Ensayo de alimentación vs desarrollo naupliar

Se utilizó la dieta mix como alimento para estimular el desove en la población stock debido a sus buenos resultados en el ensayo de producción de huevos.

Los cubos de ensayo fueron sembrados a una densidad de 150 huevos por litro, o sea 3,000 huevos por cubo.

Al finalizar el experimento, se analizaron microscópicamente las muestras y se contaron las cantidades de nauplios por cubo por día. Se calculó un número promedio de nauplios por día por dieta y se graficó para cada dieta el comportamiento de la propagación en función del tiempo (Fig. 6, 7, 8, 9).

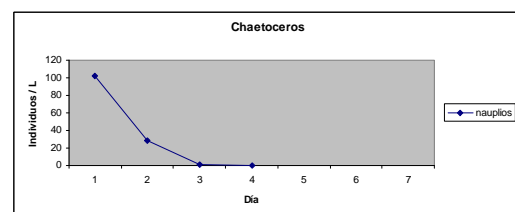


Fig. 6. Cantidad de nauplios por día alimentados con Chaetoceros.

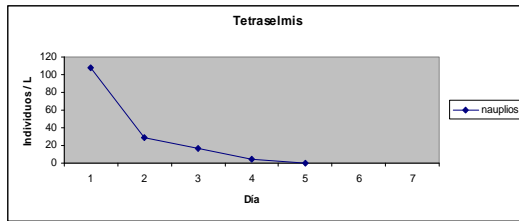


Fig. 7. Cantidad de nauplios por día alimentados con Tetraselmis.

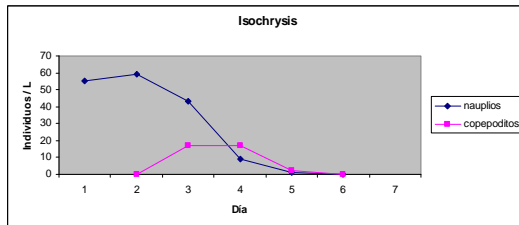


Fig. 8. Cantidad de nauplios por día alimentados con Isochrysis.

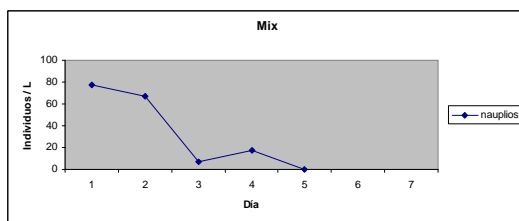


Fig. 9. Cantidad de nauplios por día alimentados con la dieta mix.

Al finalizar el conteo naupliar, se midió la longitud y el ancho promedio de los nauplios y copepoditos que fueron alimentados con Isochrysis utilizando un microscopio y una regla micrométrica (Fig. 10).

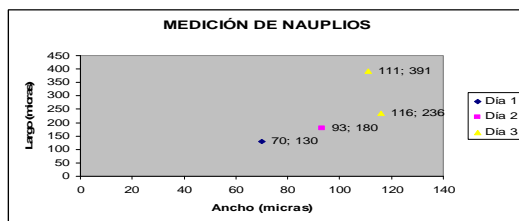


Fig. 10. Ancho promedio y largo promedio de los nauplios por día.

La dimensión promedio de los copepoditos muestreados está detallada en "Día 3." Son de mayor longitud y, ligeramente, menor ancho que los nauplios del mismo día.

Como información extra, se recolectaron algunos huevos y adultos con el mismo fin. Los huevos rondaron entre 86-89 micras de diámetro. Los adultos capturados fueron todas hembras, en total 5. Medimos ancho y largo del torso sin incluir el telson y calculamos un promedio de 985 micras de largo y 251 micras de ancho. Algunos midieron poco más de un milímetro de longitud (máx. 1070 μm x 273 μm).

3.3 Ensayo de cultivo estático

Los copepoditos de *Acartia* dominaron en número abarcando aproximadamente el 60% del total de la población al cabo de 8 días. La densidad de adultos de *Acartia* se mantuvo igual a la densidad sembrada, 50 por litro. Los tanques fueron lavados y resembrados con la misma población para iniciar un segundo ciclo. La población de copepoditos empezó a decaer luego de la siembra y para el tercer día desaparecieron. Los adultos sobrevivieron, pero no fueron capaces de crear una nueva generación.

4. Discusión

La dieta pluri-algal (mix) a base de las 3 especies de microalga *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis galbana*, en una proporción 2:1:1 respectivamente, se destacó del resto de las dietas por provocar un gran efecto estimulante sobre la producción de huevos en los copépodos calanoideos *Acartia*. Al parecer, estos copépodos son incitados a una mayor producción de huevos cuando son alimentados con una dieta conformada por varias especies de microalgas que cuando se utiliza únicamente un solo tipo de microalga. Las dietas monoalgales obtuvieron resultados pobres. *Tetraselmis* resultó brindar los mejores resultados en cuanto a las dietas monoalgales, seguida por *Chaetoceros* y por último *Isochrysis*.

La mayoría de las metodologías de cultivo intensivo de copépodos sugieren, por lo general, una alimentación a base de dietas monoalgales. Sin embargo, otras metodologías de cultivo, como la de Schipp (3), reportan buenos efectos de crecimiento y reproducción al alimentar con dietas conformadas por varias especies de microalgas. Hipotéticamente, se sostiene que al utilizar diferentes tipos de algas se brinda una alimentación más completa debido a que se aprovechan los distintos perfiles nutricionales de cada especie algal, y por lo tanto la propagación de la especie será más saludable y eficiente. La dieta pluri-algal a base de *Chaetoceros gracilis*, *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis galbana* (2:1:1) fue incluida en los ensayos con el motivo de comprobar dicho punto de vista y además para añadir una variante en cuanto a las otras dietas monoalgales que serían probadas. La proporción (2:1:1) fue decidida de esta manera siguiendo estudios pasados que reportan una buena aceptación por parte de los copépodos hacia las especies de microalgas diatomeas como *Chaetoceros*, razón por la cual esta especie conforma el mayor

porcentaje de las tres en dicha dieta (1). Anteriormente, se reportó una alta producción de huevos en copépodos calanoideos *Acartia* spp. al alimentar con una dieta monoalgal a base de la microalga diatomea *Chaetoceros gracilis*. Esta fue calificada como un excelente alimento para estimular el desove en copépodos calanoideos adultos provenientes del estero de Cañas, Panamá.

Se presentaron temperaturas bajas debido a un pequeño temporal de lluvias y vientos fríos justo al inicio del ensayo de alimentación vs producción de huevos. La tormenta demoró aproximadamente un día y luego el clima volvió a la normalidad. El efecto de este cambio climático se puede observar en la producción de huevos, presentándose una producción poco elevada en los primeros días y luego superior en los últimos. Aparentemente, la baja temperatura tuvo un efecto desacelerante sobre el metabolismo de los copépodos.

El desarrollo naupliar resultó ser mayormente beneficiado al alimentar con la microalga *Isochrysis galbana*. Se presentó un mayor índice de supervivencia y alcance de desarrollo en cuanto a los estadíos al alimentar con esta especie. Los nauplios lograron crecer y cambiar a estadíos de copepodito únicamente en los cubos con *Isochrysis*. Las demás dietas no lograron que los nauplios cruzaran a estadíos de copepodito. Sin embargo, la supervivencia del ensayo fue muy pobre en general.

El objetivo inicial del ensayo de cultivo estático fue reproducir el método de cultivo de Schipp (3) y verificar con poco detalle analítico la efectividad del sistema en la localidad del laboratorio y con la especie nativa más parecida. Sin embargo, debido a problemas en cuanto a la recolección de organismos de cultivo, el objetivo del ensayo tuvo que tomar una nueva dirección que resultó ser algo interesante. La población stock recolectada para este ensayo no fue muy numerosa y se encontró severamente contaminada por zoeas de cangrejo y copépodos cyclopoideos del género *Oithona*. Fue imposible separar físicamente las zoeas y cyclopoideos de los copépodos *Acartia* debido a sus tamaños similares. Esta situación fue poco conveniente en cuanto a los objetivos iniciales, pero sin embargo permitió experimentar en cuanto a un detalle interesante del método de cultivo de Schipp: su capacidad para eliminar organismos indeseables encontrados comúnmente en recolecciones salvajes. Según Schipp (3), los organismos no deseados como larvas de peces, crustáceos, huevos, etc., son eliminados de los cultivos luego de una o dos generaciones de *Acartia* en el laboratorio. Hipotéticamente, los copépodos *Acartia*, siendo organismos sumamente fértiles de las poblaciones

zooplanctónicas salvaje, se reproducen y ganan predominancia de los cultivos automáticamente. Por lo tanto, el ensayo fue llevado a cabo, pero con un nuevo enfoque.

El sistema de cultivo estático demostró efectivamente su habilidad de remover organismos indeseados en los cultivos. Luego de 8 días de cultivo, la población de organismos indeseables disminuyó y la población de copépodos calanoideos aumentó (nauplios y copepoditos). Sin embargo, los cultivos no lograron sobrevivir la cosecha y los copépodos murieron rápidamente antes de poder alcanzar la primera generación adulta. El filtrado de la cosecha y/o el cambio de parámetros de los nuevos cultivos afectaron de alguna manera el desarrollo de los animales y provocaron la muerte de los nauplios y copepoditos. Una posibilidad es que los cultivos no hayan estado listos para ser cosechados ó que los copepoditos necesitaban llegar a un estado de crecimiento más avanzado y resistente. Otra posibilidad es que el drástico cambio climático que se presentó durante el periodo del ensayo haya afectado negativamente el desarrollo de los animales. Luego de finalizar el ensayo, se implementó un último viaje de muestreo al estero de Cañas y se notó que la distribución del zooplancton había cambiado fuertemente. Los copépodos calanoideos, que en veces anteriores se habían encontrado en grandes cantidades, se habían reducido al mínimo. Esto hizo caer en cuenta sobre el efecto directo que existe de los factores climáticos anuales sobre la propagación natural de la especie.

Referencias

1. DOI, M. (1997). Report of technical cooperation on the seed production of pargo in the Republic of Panama. INTEM Consulting Inc. 2nd floor, Office K Building, 7-22-18 Nishi-shinjuku, Shinjuku-ku, Tokio 160, Japan.
2. STOTTRUP, J.G., K. RICHARDSON, E. KIRKEGAARD & N.J. PIHL, 1986. The cultivation of *Acartia tonsa* Dana for use as a live food source for marine fish larvae. *Aquaculture*, Vol. 52, pp. 87-96.
3. SCHIPP, G.R., J. M. P. BOSMANS, ET AL. (1998). A method for hatchery culture of tropical calanoid copepods, *Acartia* spp. *Aquaculture*. 174: 81-88.
4. CABRERA, T., ROSAS, J., VELÁSQUEZ, A., MILLÁN, J., (2002). Cultivo de copépodos en Venezuela. http://www.panoramaacuicola.com/noticia.php?art_clave=70
5. BENETTI, D.D. (1997). Mesocosm systems for the intensive larval rearing of

- marine fish. The Advocate. Global Aquaculture Alliance Technical Magazine Vol. 4(1): 45-46.
6. MARCUS, N. (2005). Effectiveness of copepod nauplii as a live feed alternative for first feeding of southern flounder larvae. <http://www.hboi.edu/aqua/spawns5.html>
 7. VELÁSQUEZ, ROSAS, CABRERA, MILLÁN, HERNÁNDEZ, (2001). Efecto de *Tetraselmis chuii*, *Nannochloris oculata* y *Dunaliella salina* sobre el crecimiento.
 8. PEDERSEN, B.H., 1984. The intestinal evacuation rates of larval herring (*Clupea harengus* L.) predating on wild plankton. *Dana*, 3: 21-30.
 9. WITT, U., QUANTZ, G., KUHLMANN, O. AND KATTNER, G., 1984. Survival and growth of turbot larvae, *Scophthalmus maximus* L. reared on different food organisms with special regard to long-chain polyunsaturated fatty acids. *Aquacult. Eng.*, 3 (3): 177-190.
 10. NELLEN, W., 1985. Live animal food for larval rearing in aquaculture. Non *Artemia* organisms. In: M. Bilio, H. Rosenthal and C.J. Sinderman (Editors), *Realism in Aquaculture: Achievements, Constraints, Perspectives*. Proc. World Conference on Aquaculture, Venice, 1981. Eur. Aquacult. Soc., Bredene, Belgium.
 11. WATANABE, T., KATAJIMA, C. AND FUJITA, S., 1983. Nutritional value of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*, 34: 115-143.
 12. RIPPINGALE, R. J. AND PAYNE, M. F. (2001). Intensive cultivation of a calanoid copepod *Gladioferens imparipes*, a guide to procedures. *Aquaculture*. 201: 329-342.
 13. UYE, S. (1997). Report on Culture of Local Copepod Species for Mass Production of Nauplii as Diet for Yellowfin Tuna Larvae. Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University 4-4 Kagamiyama 1 Chome, Higashi-Hiroshima 739, Japan.
 14. ABDULLAHI B., 1992. Effects of diet on growth and development of three species of cyclopoid copepods. *Hydrobiologia* 232: 233-241.