

Laboratorio de Biología Marina, Universidad de Sevilla.



**FLUCTUACIONES ESTACIONALES Y CICLOS DE VIDA
DE LOS ANFÍPODOS [CRUSTACEA : PERACARIDA : AMPHIPODA]
DEL ESTRECHO DE GIBRALTAR.
APLICACIONES EN ACUICULTURA**

Memoria presentada para optar al título de Doctora con mención internacional por la Universidad de Sevilla por
ELENA BAEZA-ROJANO PAGEO Sevilla, 2013



Laboratorio de Biología Marina, Universidad de Sevilla,

**FLUCTUACIONES ESTACIONALES Y CICLOS DE VIDA DE LOS
ANFÍPODOS (CRUSTACEA: PERACARIDA: AMPHIPODA) DEL
ESTRECHO DE GIBRALTAR.**

APLICACIONES EN ACUICULTURA.

Memoria presentada para optar al título de Doctora en Biología con mención internacional
por la Universidad de Sevilla

ELENA BAEZA-ROJANO PAGEO

SEVILLA, 2013



D. JOSÉ MANUEL GUERRA GARCÍA, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE ZOOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA

CERTIFICA QUE: ELENA BAEZA-ROJANO PAGEO, licenciada en Biología, ha realizado bajo su dirección y en el Departamento de Zoología de la Universidad de Sevilla, la memoria titulada “FLUCTUACIONES ESTACIONALES Y CICLOS DE VIDA DE LOS ANFÍPODOS (CRUSTACEA: PERACARIDA: AMPHIPODA) DEL ESTRECHO DE GIBRALTAR. APLICACIONES EN ACUICULTURA”, reuniendo la misma, las condiciones necesarias requeridas para optar al Grado de Doctor con Mención Internacional

Sevilla, 4 de junio de 2013

Vº Bº del director;

Fdo. Jose Manuel Guerra García

FDO. Elena Baeza-Rojano Pageo

A toda mi familia

“He sido un niño pequeño que, jugando en la playa, encontraba de tarde en tarde un guijarro más fino o una concha más bonita de lo normal. El océano de la verdad se extendía, inexplorado, delante de mí.”

Isaac Newton

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no se habría podido realizar sin el consejo y la ayuda de todos los amigos y compañeros que he podido ir conociendo a lo largo de estos años. Me siento muy agradecida y muy feliz, no solo por la ayuda prestada para la elaboración de los estudios, sino también, por haber tenido la oportunidad de conocer a muy buenas personas, haciendo de esta etapa una de las más bonitas y felices de mi vida, y que espero nunca olvidar.

Mi primer agradecimiento va dirigido a mi director José Manuel Guerra García, al que le agradezco infinitamente que me ofreciera la oportunidad de poder realizar el doctorado en su laboratorio y que me introdujera en el mundo de los anfípodos en general y de los caprélidos en particular. Nunca olvidaré la primera vez que sacaste el Ruffo y lo pusiste encima de la poyata para enseñar a identificar los gammáridos. Claro que empezaste por las más facilillas... "Estas son ampeliscas que tienen dos pares de ojos" estos los *Corophium* con las "antenas gordas"... veis que fácil es... Luego vimos que la cosa era un poquillo más complicada... jejeje. Muchas gracias por contagiarme de tu entusiasmo a la hora de trabajar, por apoyarme en todo lo que iba surgiendo, por aconsejarme con tus opiniones, orientarme, ayudarme como uno más en todo lo que necesitaba, perdonarme los retrasos en los "deadlines" y por haber sido más que un director de tesis en todo este tiempo, un buen amigo y un compañero. Estoy muy orgullosa de poder decir que has sido mi director de tesis Jose. He disfrutado mucho y me has enseñado muchos valores no solo desde el punto de vista científico, sino también personal. Agradezco mucho a Paco y a Rafa por ser mis "lanzaderas" para poder conocer el departamento, y por los buenos momentos pasados durante 15 días en una tienda de campaña a cambio de unas cuantas horitas buscando delfines con los quetemirodelejos.

En cuanto al laboratorio, no podía haber estado en un ambiente de trabajo mejor. Formar parte del grupo Caprella o mejor dicho de la familia Caprella ha sido una de las experiencias más bonitas de la tesis. Aprovecho para darle las gracias a Free por su paciencia cuando el laboratorio se llenaba de gente, y se subía un poquillo el volumen de las conversaciones...

A Daniel, Azahara, Juanjo, María y María José por la recolección de muestras y la separación de los primeros muestreos en Tarifa.

Pili, o “marmotilla PCR”, hermana de tesis, muchas gracias por acompañarme desde el principio, por compartir todos los momentos, por apoyarme en los buenos y en los malos y por estar siempre ahí dispuesta a ayudar en cualquier cosa que necesitara. Has sido una excelente compañera de tesis y eres una bella persona y una máquina! (nunca te ganaré rellenando la caja de las puntas de genética). Isa o “Isápoda”, muchas gracias por tu ayuda incondicional en los muestreos o en el laboratorio. Para cualquier cosa que hiciera falta allí estabas para ayudar, contagiándonos a todos de tu energía y alegría. El jueves caipiriña!!. Para el recuerdo siempre quedarán las aventuras de los Ángeles de Charlie junto a Ángelo, del cual aprendimos muchísimas cosas, y al que le guardaremos siempre un recuerdo especial en nuestro corazón.

Le estoy muy agradecida a Jose Antonio, o “Joseantónicus” (siempre en la fase pupa de mi escritorio), María del Mar o “Willy Fog” (mitad ecuatoriana mitad sevillana), David “ameba” (el biólogo con el mejor trabajo del mundo) , Ana Mari “Ana Baby” (la mejor profe), Victor (El vaquero de las fiestas de navidad) , Álvaro o “Frodo” (mi cari traidor de la EBD), Cristina (la enfermera con mayor paciencia para separar anfípodos), Juanjo “Novita” (biólogo marino encarnado en MacGiver), Rosa (conductora y maestra pastelera) y Macarena “Maca sorry” (miembro de nuestro grupo favorito “Las pringailas”) por resistir todos los muestreos torturadores para recolectar anfípodos. Os agradezco muchísimo toda la ayuda prestada durante los muestreos, sorteando las olas en la isla de tarifa, separando durante horas, pinza en mano y con posturas imposibles sobre rocas más puntiagudas que agujas, uno a uno todos los bichos que hacían falta para los análisis, aunque bien es cierto que luego los esfuerzos siempre se veían bien recompensados con unos pastelitos en la Tarifeña y muchos buenos momentos como los que pasamos en Huerta Grande. Gracias a Ángela (Camela para los amigos), Manolo (adicto a la realización de cursos), Carlos “El Morcherico” (mi fiel compañero musical difundidor de los últimos hits al lab y principal competidor por el espacio de mi cajonera izquierda), Sara (la bailaora del grupo), Pablo o “cosquillitas” (futuro experto en pesquerías) y Paco (Sedano, Rabanne, Francisco o Paco, igual da...) por su ánimo y los buenos momentos pasados durante la fase final de la tesis.

Gracias también a Emilio, a Krapp-Shickel y a Maite por su ayuda en las dudas que nos surgían durante la identificación de las especies de anfípodos del Estrecho.

Gracias a Maria Luisa Villafánfila por darme la oportunidad de poder trabajar en el centro IFAPA Aguas del Pino. A Pedro Domingues, por permitirme alimentar a sus hambrientos choquitos, aunque siempre apostando por sus queridos misidáceos, frente a los “bichos feos de los caprelidos” y por ponerme en contacto con otros investigadores para mi primera estancia. Espero que podamos coincidir en alguna otra ocasión. A Diego Garrido y

Sandra por su ayuda en el montaje de los experimentos y la recolección de anfípodos. A Carlos Rosas, por su amabilidad al permitirme ir a su centro y por acogerme en su casa junto con su familia. Muchas gracias por darme la oportunidad de conocer uno de los sitios más bonitos y auténticos como es Sisal y trabajar con muy buenas personas como Maite, Nuno, Richard, Claudia, Arturo, Pana, Santiago, Elsa y todas las mujeres de la cooperativa.

Le doy las gracias a Ismael, por haberme enseñado junto con Toñi, los secretos de los análisis nutricionales y por los buenos momentos pasados sobre todo durante las horas de coche para desplazarnos al centro. También muchas gracias a los técnicos del centro por tener que soportar mis continuas interrupciones para pedirles cualquier cosilla que necesitaba mi cultivo de “bichos feos”. Aunque se que en el fondo os gustaban...

Quería agradecer a Ian Foster por ofrecerme la posibilidad de visitar su centro de investigaciones y tenderme toda la ayuda necesaria para la corrección de los artículos.

Finalmente quería agradecer a mi familia todo el ánimo, y todo el apoyo que me han estado dando continuamente durante estos años de la tesis. A mis padres que me han ayudado mucho con los desplazamientos y con sus consejos, y por no dejarme nunca “dormirme en los laureles”, a mi hermana, por ser mi compañera incondicional durante las estancias, en las cuales su ayuda para la búsqueda y recolección de los anfípodos para los estudios fue fundamental y a mi hermano por acercarme a las boyas abandonadas en medio del mar para ver si encontraba algún “bicho” raro. Muchas gracias.

Este trabajo se llevó a cabo gracias a la financiación económica respaldada por el Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto CGL2007-60044/BOS) cofinanciado con fondos FEDER, por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa, Junta de Andalucía (Proyecto P07-RNM-02524), y gracias a la beca FPI que me fue concedida del Ministerio de Ciencia e Innovación (BES-2008-004520).

Si he dejado atrás a alguna persona, por favor, espero que me perdone. He disfrutado mucho durante este periodo, y todo eso ha sido gracias a la suerte que he tenido de rodearme de grandes personas como vosotros. Os deseo todo lo mejor.

SUMMARY/RESUMEN	1
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS GENERALES	5
1.1 LOS ANFÍPODOS	7
1.2 ESTUDIOS TAXONÓMICOS EN LA PENÍNSULA IBÉRICA	9
1.3 IMPORTANCIA EN EL ECOSISTEMA	9
1.3.1 <i>Reciclado de la materia orgánica</i>	10
1.3.2 <i>Bioindicadores de la calidad ambiental</i>	10
1.3.3 <i>Fuente de alimento</i>	11
1.4 ECOLOGÍA	13
1.5 OBJETIVOS GENERALES	15
1.5.1 <i>Caracterización y estudio de las fluctuaciones de los anfípodos y otros peracáridos asociados a las algas intermareales</i>	15
1.5.2 <i>Estudio de los ciclos de vida de los caprelidos bajo condiciones de laboratorio</i>	15
1.5.3 <i>Aplicaciones en la acuicultura</i>	16
1.6 ZONAS DE ESTUDIO Y ESPECIES DE ANFÍPODOS UTILIZADOS.....	17
1.7 BIBLIOGRAFÍA	20
CAPÍTULO 2: DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y ESTACIONALIDAD DE LOS ANFÍPODOS Y OTROS CRUSTÁCEOS PERACÁRIDOS ASOCIADOS A LAS PRINCIPALES MACROALGAS INTERMAREALES DE LA ISLA DE TARIFA	29
2.1 RESUMEN	31
2.2 INTRODUCCIÓN	33
2.2.1 <i>Zonación de las comunidades de los intermareales rocosos</i>	33
2.2.2 <i>Estudios previos de la fauna de peracáridos en la península ibérica</i>	34
2.2.3 <i>El Estrecho de Gibraltar</i>	34
2.2.4 <i>Objetivo del estudio</i>	36
2.3 MATERIAL Y MÉTODOS	37
2.3.1 <i>Trabajo de campo</i>	37
2.3.2 <i>Tratamiento de las muestras en el laboratorio</i>	38
2.3.3 <i>Análisis estadísticos</i>	38
2.4 RESULTADOS.....	39
2.4.1 <i>Parámetros físico-químicos</i>	39

2.4.2	<i>Composición de macroalgas por cinturón</i>	39
2.4.3	<i>Abundancia estacional de macroalgas por cinturón</i>	40
2.4.4	<i>Abundancia espacial y estacional de las principales especies de macroalgas</i>	41
2.4.5	<i>Composición total de anfípodos y otros peracáridos</i>	44
2.4.6	<i>Distribución vertical de los peracáridos en los cinturones</i>	44
2.4.7	<i>Abundancia estacional de los peracáridos en los cinturones</i>	44
2.4.8	<i>Abundancia espacial y temporal de las principales especies de peracáridos</i>	47
2.4.9	<i>Análisis multivariantes</i>	49
2.5	DISCUSIÓN	52
2.6	BIBLIOGRAFÍA	58

CAPÍTULO 3: CICLOS DE VIDA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO DE LOS CAPRÉLIDOS DEL ESTRECHO DE GIBRALTAR.

PARTE 1: ESTUDIO DEL CICLO DE VIDA, EN CONDICIONES DE LABORATORIO, DE LOS PRINCIPALES CAPRÉLIDOS DE LA ISLA DE TARIFA: *CAPRELLA GRANDIMANA* Y *CAPRELLA PENANTIS* (CRUSTACEA: AMPHIPODA).

3.1	RESUMEN	67
3.2	INTRODUCCIÓN	69
3.3	MATERIAL Y MÉTODOS	74
3.3.1	<i>Trabajo de campo</i>	74
3.3.2	<i>Tratamiento de las muestras en laboratorio</i>	74
3.3.3	<i>Análisis estadísticos</i>	76
3.4	RESULTADOS	77
3.4.1	<i>Caprella penantis</i>	78
3.4.2	<i>Caprella grandimana</i>	79
3.5	DISCUSIÓN	87
3.6	BIBLIOGRAFÍA	93

PARTE 2: CICLO DE VIDA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO DE LOS CAPRÉLIDOS DE LA FAMILIA CAPRELLIDAE: *CAPRELLA EQUILIBRA* Y *CAPRELLA DILATATA* Y PHTISICIDAE: *PHTISICA MARINA*, DEL SUR DE LA PENÍNSULA IBÉRICA.

3.7	RESUMEN	99
3.8	INTRODUCCIÓN	101
3.8.1	<i>Taxonomía y ecología de las especies</i>	101

3.8.2	<i>Estudios previos en sus ciclos de vida y fluctuaciones poblacionales.</i>	104
	<i>Objetivo.</i>	105
3.9	MATERIALES Y MÉTODOS	106
3.9.1	<i>Recogida de individuos.</i>	106
3.9.2	<i>Manejo de individuos y condiciones del cultivo.</i>	106
3.9.3	<i>Alimentación.</i>	106
3.9.4	<i>Recogida de datos.</i>	107
3.9.5	<i>Análisis estadístico.</i>	107
3.10	RESULTADOS	109
3.10.1	<i>Fecundidad de las hembras ovígeras recolectadas.</i>	109
3.10.2	<i>Duración del ciclo de vida.</i>	109
3.10.3	<i>Ciclos de muda.</i>	112
3.10.4	<i>Crecimiento.</i>	115
3.10.5	<i>Fecundidad.</i>	118
3.10.6	<i>Comportamiento reproductivo.</i>	118
3.10.7	<i>Ovoposición.</i>	120
3.10.8	<i>Fertilidad.</i>	122
3.10.9	<i>Cuidado parental.</i>	123
3.10.10	<i>Comportamientos agresivos y de canibalismo.</i>	124
3.11	DISCUSIÓN	125
3.11.1	<i>Similaridad con otras especies estudiadas</i>	125
3.11.2	<i>Condiciones del cultivo</i>	126
3.11.3	<i>Comportamiento precopulatorio.</i>	127
3.11.4	<i>Fluctuaciones en el medio natural</i>	128
3.12	CONCLUSIÓN	129
3.13	BIBLIOGRAFÍA:	130
 CHAPTER 4: APPLICATIONS IN AQUACULTURE		135
 PART 1: NUTRITIONAL ANALYSIS, ESPECIALLY LIPIDS, OF AMPHIPODS FROM THE STRAIT OF GIBRALTAR. APPLICATIONS IN AQUACULTURE		137
4.1	ABSTRACT	139
4.2	INTRODUCTION	141
4.3	MATERIAL AND METHODS	143
4.3.1	<i>Organisms</i>	143
4.3.2	<i>Chemical analyses</i>	144

4.3.3	<i>Statistical analyses</i>	145
4.4	RESULTS.....	146
4.4.1	<i>General chemical composition</i>	146
4.4.2	<i>Fatty acids</i>	148
4.4.3	<i>Lipid classes</i>	153
4.5	DISCUSSION	155
4.5.1	<i>Nutritional composition</i>	155
4.5.2	<i>Applications in aquaculture</i>	159
4.6	CONCLUSION	162
4.7	REFERENCES.....	163

**PART 2: USE OF AMPHIPODS AS ALTERNATIVE PREY TO CULTURE CUTTLEFISH
(*SEPIA OFFICINALIS*) HATCHLINGS**

4.9	INTRODUCTION.....	175
4.10	MATERIAL AND METHODS	177
4.10.1	<i>Organisms</i>	177
4.10.2	<i>Diets</i>	178
4.10.3	<i>Statistical analyses</i>	178
4.11	RESULTS.....	179
4.12	DISCUSSION	180
4.13	REFERENCES.....	182

**PART 3: MARINE GAMMARIDS (CRUSTACEA: AMPHIPODA): A NEW LIVE PREY TO
CULTURE *OCTOPUS MAYA* HATCHLINGS**.....

4.14	ABSTRACT	189
4.15	INTRODUCTION.....	191
4.16	MATERIAL AND METHODS	193
4.16.1	<i>Culture system</i>	193
4.16.2	<i>Diets</i>	194
4.16.3	<i>Growth and survival</i>	196
4.16.4	<i>Nutritional analyses</i>	196
4.16.5	<i>Statistical analyses</i>	197
4.17	RESULTS.....	199
4.17.1	<i>Growth and survival</i>	199
4.17.2	<i>Nutritional analyses</i>	202
4.18	DISCUSSION.....	205
4.19	REFERENCES.....	208

PART 4: A PRELIMINARY STUDY OF THE <i>CAPRELLA SCAURA</i> AMPHIPOD CULTURE FOR POTENTIAL USE IN AQUACULTURE.....	215
4.20 ABSTRACT.....	217
4.21 INTRODUCTION.....	219
4.22 MATERIAL AND METHODS.....	221
4.22.1 <i>Culture system</i>	221
4.22.2 <i>Statistical analyses</i>	223
4.23 RESULTS.....	225
4.24 DISCUSSION.....	230
4.25 REFERENCES.....	234
CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS.....	239
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES.....	251
ANEXO 1. FICHAS ILUSTRADAS.....	257

Summary

The present manuscript represents the natural fluctuations and the life cycles of the most important amphipods from the South of the Iberian Peninsula as well as their possible applications in aquaculture. Amphipods are one of the most abundant macrofaunal group associated to algae and hydrozoans from the intertidal and shallow water areas from the Iberian Peninsula. However, the knowledge of the ecology and life cycles is still very scarce. Hence, spatial patterns and seasonal fluctuations of intertidal peracarids were studied over a two-year period in the southernmost point of Europe, in Tarifa Island, a very well conserved zone protected under the Straits Natural Park. More than 25,000 individuals were identified associated to seaweeds, where amphipods were the best represented in the total number of species (32) and individuals (89% of numerical abundance). In general terms, a clear zonation of algae and associated peracarids in a vertical gradient was maintained stable during the two-year study. Late spring and early summer coincided with the highest development of seaweeds and peracarids densities, although several physical and biological factors may regulate such patterns of peracarid abundance.

In order to contribute to the ecological knowledge of the caprellids from the Iberian Peninsula, five species were studied under laboratory conditions being monitored throughout their complete life cycle. The life cycle of four species, *Caprella grandimana*, *Caprella equilibra*, *Caprella dilatata* and *Phtisica marina*, was successfully completed being species of easy cultivation. Growth rates, maturation and generation times, fecundity, and pre-copula and copula behaviour were studied in the caprellids being characterized by similar biological characteristics. Caprellids had a life span of 37-120 days, females were more long-lived than males and males were characterized by faster growth rates and higher maximum body length than females. Sexual maturity was reached at 24-38 days, incubation time lasted 4-10 days, fertility oscillated in each reproduction event between 1-27 juveniles, and a positive correlation was found between female body length and number of eggs and juveniles emerged from the brood pouch.

Their high abundances in natural and artificial habitats, their relatively short maturation time and incubation time and the fact that constitute an important natural food for some aquatic species like finfish or mollusc species, make these organisms a good

alternative live food that can supply the deficient number of live preys actually used in aquaculture.

Therefore, nutritional content of eight of the most abundant amphipod species from the Strait of Gibraltar was analyzed to test their suitability as natural food for aquaculture. The results showed a high protein and ash level content, as well as a high polyunsaturated level of fatty acids EPA and DHA, making amphipods nutritionally suitable to be used as food. Amphipods were also used in species of difficult cultivation as cephalopod hatchlings where only live preys are accepted during their first stages of growing, and excellent results were obtained, especially with marine gammarids, promoting similar or better growth rates than traditional live preys as artemia or mysids in two cephalopod species of high commercial value as *Sepia Officinalis* and *Octopus maya*.

There is little information available on caprellid culture techniques and large-scale caprellid culture, thereby, one caprellid species was tested as a mass culture organism, for potential use as natural prey in aquaculture, demonstrating that the caprellid amphipod *Caprella scaura*, may be readily cultured at high densities with a variety of mesh morphologies being used as a natural quality food. Future experimental cultures with additional amphipod species are needed to explore the encouraging amphipods potential in aquaculture.

Resumen

Esta memoria versa sobre las fluctuaciones naturales y los ciclos de vida bajo condiciones controladas de las especies de anfípodos más representativas del sur de la Península Ibérica, así como de sus posibles aplicaciones en la acuicultura. Los anfípodos a pesar de ser uno de los componentes de la macrofauna asociada a algas, hidrozoos y briozoos más abundantes de las zonas intermareales y poco profundas de la Península Ibérica, se encuentran muy poco estudiados, siendo muy escasas las investigaciones referentes a su ecología y al conocimiento de sus ciclos biológicos bajo las condiciones ambientales típicas de esta región. Por ello y en primer lugar, se llevó a cabo un estudio bianual sobre las fluctuaciones estacionales y espaciales de la fauna de peracáridos en el punto más al sur de Europa, en la Isla de Tarifa, una de las zonas mejor conservadas del Parque Natural del Estrecho, identificándose más de 25.000 individuos asociados a las algas intermareales, donde los anfípodos fueron los mejor representados en el número de especies (32) y número de individuos (89% del total). Durante los dos años de estudio, la comunidad de peracáridos y la comunidad macroalgal se caracterizó por mantenerse estable a lo largo del gradiente intermareal vertical y las mayores densidades de peracáridos coincidieron con los meses de mayor desarrollo algal, aunque otros factores externos tanto físicos como biológicos también pudieron influir en este patrón estacional.

Para mejorar el conocimiento ecológico de los caprélidos del sur de la Península Ibérica, cinco de las especies más abundantes se escogieron para estudiarse bajo condiciones controladas de laboratorio hasta completar su ciclo de vida. Cuatro de ellas: *Caprella grandimana*, *Caprella equilibra*, *Caprella dilatata* y *Phtisica marina* fueron capaces de cerrar su ciclo sin dificultad. Varias características de su ciclo biológico tales como la tasa de crecimiento, el tiempo de maduración y de generación, la fecundidad y los comportamientos precopulatorios y copulatorios se estudiaron en las distintas especies, obteniéndose resultados muy similares entre ellas. El ciclo de vida de los caprélidos estuvo comprendido entre 37-120 días, las hembras se caracterizaron por ser más longevas que los machos y los machos por presentar tasas de crecimiento y longitudes corporales máximas superiores a las hembras. La madurez sexual de las hembras se alcanzó a los 24-38 días, el periodo de incubación osciló entre 4-10 días, la fertilidad en cada evento reproductivo estuvo comprendida entre 1-27 juveniles y se detectó una relación positiva entre la longitud corporal de la hembra y el número de huevos y juveniles emergidos de la bolsa de incubación.

El hecho de que estos organismos se caractericen por encontrarse en altas densidades en ambientes naturales y artificiales, que puedan ser cultivados con periodos de madurez y de incubación relativamente cortos, y que constituyan una fuente de alimento natural para muchas especies de peces y moluscos marinos, hace que puedan proponerse como una fuente de alimentación alternativa o complementaria al escaso número de alimentos vivos que se usan actualmente en la acuicultura.

De este modo, en primer lugar se analizó el contenido nutricional de ocho de las especies de anfípodos más abundantes del Estrecho de Gibraltar, obteniéndose unos niveles altos de proteínas y cenizas, así como de ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA, haciendo a los anfípodos nutricionalmente adecuados para usarlos como alimento. Posteriormente, los anfípodos fueron propuestos como alimento para las especies de difícil cultivo como los juveniles de los cefalópodos, los cuales, durante sus primeras fases de crecimiento solo se alimentan de presas vivas. En el presente trabajo se detalla como los anfípodos, especialmente los gammáridos marinos produjeron una tasa de crecimiento similar o superior a la que producen otras presas usadas tradicionalmente como la artemia o los misidáceos sobre dos especies de cefalópodos de elevado interés comercial como la sepia *Sepia officinalis* y el pulpo *Octopus maya*. Finalmente, se realizó un primer estudio para conocer si los caprélidos podían cultivarse en grandes densidades, obteniéndose que la especie de caprélido utilizada, *Caprella scaura*, podía ser rápidamente cultivada en altas densidades sobre diferentes tipos de mallas como substrato artificial, para ser usada posteriormente como alimento natural.

Los resultados preliminares obtenidos durante estos estudios animan a seguir investigando el papel que los anfípodos pueden llegar a tener como fuente de alimento en la acuicultura, por ello, se requieren más estudios relacionados con el cultivo y la búsqueda de nuevas especies que poder utilizar.

CAPÍTULO 1



INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS GENERALES

1.1 LOS ANFÍPODOS

Los peracáridos son pequeños crustáceos que se encuentran englobados dentro de la clase Malacostraca. Incluyen a varios órdenes entre los que destacan: Amphipoda, Isopoda, Tanaidacea, y Cumacea, siendo los anfípodos el grupo más abundante con un total de 155 familias (Martin y Davis, 2001) y más de 7.000 especies (Bellan-Santini, 1999). El orden Amphipoda a su vez, incluye los subordenes Hyperiidea, Ingolfiellidea, Gammaridea y Caprellidea, siendo Gammaridea y Caprellidea los más abundantes en relación a su número de especies y abundancia. Las numerosas adaptaciones morfológicas les han permitido colonizar hábitats muy diversos.

Los anfípodos gammáridos son uno de los taxones acuáticos más comunes, son tan abundantes y diversos que superan en número de individuos, número de especies y en estilos de vida al resto de órdenes de peracáridos. Por lo general poseen un cuerpo comprimido lateralmente aunque existe cierta tendencia a la compresión dorso ventral en aquellas especies tubícolas o formadoras de madrigueras. Su cuerpo está constituido por tres tagmas: el cefalón, el torax o pereion con 7 segmentos y el abdomen o pleón con 6 segmentos. Cada uno de los siete segmentos del pereión puede llevar un par de miembros unirrameos llamados pereiópodos. Los 3 primeros segmentos del pleón forman el pleosoma portando los pleópodos y los tres posteriores el urosoma portando los urópodos. Los gammáridos se han adaptado exitosamente al sistema marino (Ortiz, 1994), al dulceacuícola (Holsinger, 1982), al estuarino y al terrestre (Álvarez-Noguera *et al.*, 2000) estando presentes también en la franja supralitoral de la orilla del mar, y en terrenos húmedos. Son principalmente bentónicos, con algunos representantes pelágicos y su distribución oceánica es amplia tanto horizontal como verticalmente. Sus tamaños rondan entre 1 y 280 mm (LeCroy, 2000).

Los caprélidos constituyen un grupo exclusivamente marino o estuarino con más de 350 especies (Guerra-García y Tierno de Figueroa, 2009). Su patrón corporal incluye dos formas características: aquellos con un patrón estrecho-elongado con hábitos de vida libre y que se localizan sobre superficies sólidas como los sedimentos, las algas, las praderas marinas, siendo algunos de ellos comensales de esponjas, de equinodermos o habitando entre el zooplancton (Takeuchi y Sawamoto, 1998) y aquellos con dos pares de branquias laterales alargadas, el cuerpo aplanado dorso-ventralmente, y que son parásitos de cetáceos (Ortiz *et al.*, 2002).

Los caprélidos de vida libre poseen un cuerpo más delgado y cilíndrico que los gammáridos y su característica más distintiva es la ausencia o la reducción de los pereiópodos 3 y 4 y la degeneración del abdomen y de los apéndices abdominales, sin embargo, algunas familias de caprélidos como los Phtisicidae siguen manteniendo sus pereiópodos 3 y 4 (Figura 1).

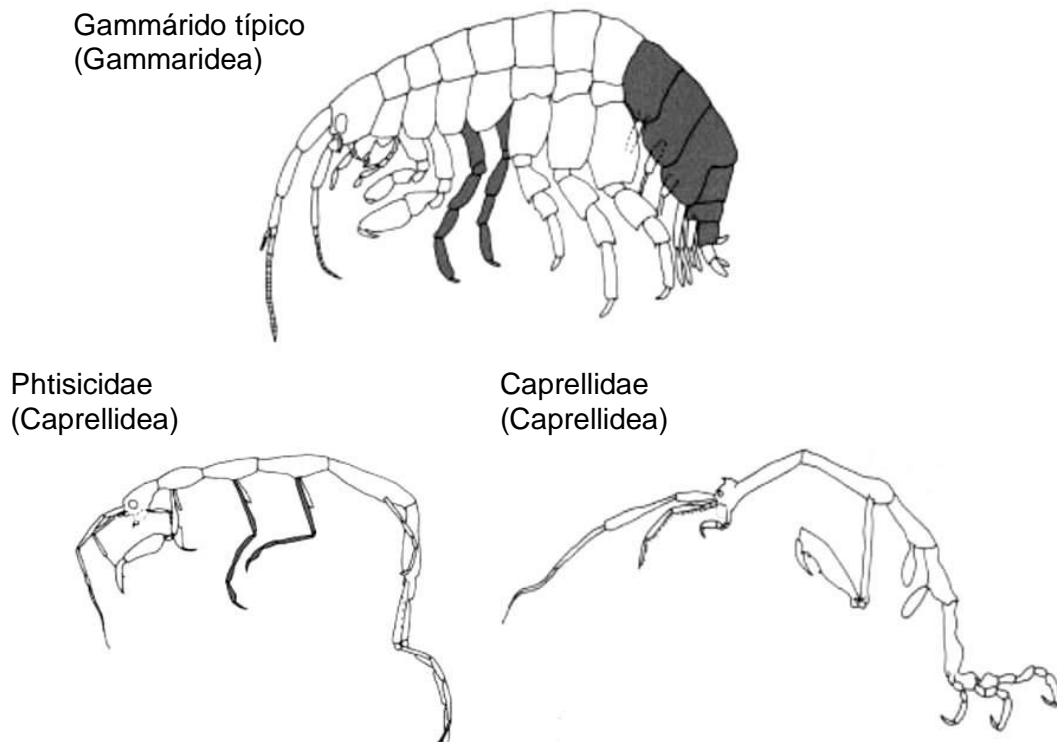


Figura 1. Esquema de la degeneración de las estructuras corporales sombreadas (abdomen y pereiópodos 3 y 4) entre gammáridos y caprélidos (Ito *et al.*, 2008).

Las relaciones filogenéticas entre los anfípodos todavía son muy discutidas. Algunos géneros de la familia Podoceridae (Gammaridea, Corophiidea) tales como *Dulichia*, también muestran, al igual que los caprélidos, el abdomen y los pereiópodos reducidos, por lo que podrían ser considerados el grupo hermano del suborden Caprellidea. Además, una de las familias de caprélidos, los Caprogammaridae, posee segmentos abdominales similares a los Podoceridae, así como pereiópodos 3 y 4 rudimentarios característicos del resto de caprélidos. De este modo, observando el patrón de degeneración de los pereiópodos y del abdomen, se propuso un esquema de evolución: [*Dulichia*, (caprogammáridos, caprélidos)], sin embargo, la familia Phtisicidae (Caprellidea) contradice la hipótesis ya que posee

pereiópodos 3 y 4 bien desarrollados junto con un abdomen atrofiado (Figura 1). Por este motivo, se piensa que el suborden caprellidea es polifilético (Laubitz, 1993; Takeuchi, 1993), aunque estudios recientes defiendan la idea de que es monofilético (Ito *et al.*, 2008).

1.2 ESTUDIOS TAXONÓMICOS EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

Los anfípodos europeos han sido objeto de numerosos estudios desde el siglo XIX. Cabe destacar los trabajos de Costa (1857), Della Valle (1893) y Mayer (1890). Entre los trabajos del siglo XX, los más notables son los de Stebbing (1906), los de Chevreux y Fage (1925) sobre la fauna de Francia, los de Lincoln (1979) sobre los anfípodos de Gran Bretaña y los de Ruffo (editor) (1982, 1989, 1993 y 1998) sobre los anfípodos del Mediterráneo. Cabe también citar una lista muy extensa de trabajos de Bellan-Santini, Diviacco, Kaim-Malka, Karaman, Krapp-Schickel, Ledoyer, Myers, Ruffo, Schiecke, Stock y otros. A pesar de lo anterior, sobre los anfípodos de la Península Ibérica, no habían aparecido más que algunos trabajos esporádicos hasta que empezaron a publicarse los trabajos de Bellan-Santini y Marques (1984), Marques y Bellan-Santini (1985, 1987, 1988, 1990a y 1990b) sobre los anfípodos marinos de Portugal, y los de Jimeno (1993), Jimeno y Turón (1995), Conradi *et al.* (1995) y sobre los anfípodos del suborden gammaridea de la Península Ibérica (Ortiz y Jimeno, 2001). Sobre los anfípodos dulceacuícolas, superficiales y subterráneos, cabe citar los trabajos de Notenboom (1990) en la península y los de Pretus (1990) y Jaume (1991) en las islas Baleares. Los caprélidos de la Península Ibérica han sido extensamente estudiados por Guerra García, por ejemplo Guerra-García *et al.*, 2008, y muy especialmente los del Estrecho de Gibraltar, con el descubrimiento de nuevas especies (Guerra-García, 2001, 2009; Guerra-García y Takeuchi, 2002; Guerra-García *et al.*, 2000, 2001a,b, 2006).

1.3 IMPORTANCIA EN EL ECOSISTEMA

La sistemática y la ecología de las especies mediterráneas ha avanzado mucho durante los últimos años, sin embargo, el número de investigaciones es muy bajo teniendo

en cuenta la importancia que estas especies presentan en los ecosistemas para el interés humano.

1.3.1 Reciclado de la materia orgánica

Dentro de la fauna bentónica, los crustáceos peracáridos se encuentran entre los organismos más diversos y numéricamente dominantes (e.g. Cunha *et al.*, 1997; Dauby *et al.*, 2001; Lourido *et al.*, 2008; Moreira *et al.*, 2008 a,b). Entre ellos, los anfípodos son uno de los grupos con una mayor representación debido a su abundancia, biomasa y número de especies (Schmitt, 1968). Esta gran abundancia, junto con determinadas características ecológicas hace que los anfípodos jueguen un papel muy importante en la estructuración del bentos; por ejemplo, la presencia o ausencia de determinadas especies herbívoras en un área determinada condiciona la composición de las especies vegetales drásticamente (Duffy y Hay, 2000).

Colaboran en el reciclado y la redistribución de la materia orgánica del bentos (Piscart *et al.*, 2011) y además se consideran uno de los carroñeros más eficientes del fondo marino y de la línea de costa, donde limpian y reciclan más materia orgánica y detritus que cualquier otro animal. Los anfípodos de la familia Lysianassidae están entre los carroñeros más importantes del mar (Thurston, 1990; De Broyer *et al.*, 2004; Duffy *et al.*, 2012).

1.3.2 Bioindicadores de la calidad ambiental

Se ha demostrado que muchos peracáridos y entre ellos los anfípodos son muy útiles como bioindicadores de la calidad ambiental del medio marino, debido a su sensibilidad a las alteraciones ambientales, pudiendo ser utilizados en los programas de control y seguimiento del grado de contaminación en nuestras costas (Bonsdorff, 1984; Corbera y Cardell, 1995; Conradi *et al.*, 1997; Sánchez-Moyano y García-Gómez, 1998; Gómez-Gesteira y Dauvin, 2000; Conradi y López-González, 2001; Guerra-García y García-Gómez, 2001, 2004). Guerra-García y García-Gómez (2001) demostraron que los caprélidos son un excelente bioindicador de los parámetros físico-químicos del medio marino, tales como hidrodinamismo, tasa de sedimentación y materia orgánica. En Japón, Takeuchi *et al.* (2001) y Ohji *et al.* (2002) encontraron que los caprélidos eran muy adecuados para monitorizar la contaminación por TBTs (compuestos muy frecuentes en las pinturas “antifouling”) y Guerra-García *et al.* (2010b) propusieron el uso de *Caprella spp.* como herramienta útil para llevar a cabo programas de monitorización de contaminación por metales pesados. Por otro lado los anfípodos *Hyale schmidtti* y *Caprella penantis*, dos de los anfípodos más abundantes del sur

de la Península Ibérica, también han sido propuestos como bioindicadores de la contaminación por metales en los intermareales de la Bahía de Algeciras (Guerra-García *et al.*, 2009).

1.3.3 Fuente de alimento

Se conoce que los anfípodos son una fuente de comida indispensable para otros animales como aves y peces de gran importancia comercial. De hecho, los gammáridos llegan a ser constituyente esencial de la dieta de muchos peces (Kaczynski *et al.*, 1973; Hobson y Chess 1976, Bilecenoglu, 2009, Beare y Moore, 1996; McCurdy *et al.*, 2005; Woods, 2009). Para las aves costeras, los gammáridos, sobretodo los de la familia Corophidae, juegan un papel muy importante en la composición de sus dietas (Schneider y Harrington, 1981).

Chang y Parsons (1975) propusieron el cultivo en masa del gammárido *Anisogammarus pugettensis* como un alimento alternativo a la *Artemia* para el cultivo del salmón. Este gammárido era ventajoso porque podía crecer en un amplio rango de temperaturas y salinidades y se alimentaba de una amplia variedad de plantas y restos animales, como de restos de peces o restos de comida de peces que quedaban en los tanques. Por otro lado, *Gammarus lacustris* también se utilizó para el cultivo de juveniles de trucha de tamaños cercanos a los 5 cm de longitud ya que esta especie se podía capturar fácilmente a densidades de 1000kg de peso húmedo/hectárea/año, densidades más que suficientes para la alimentación de la trucha, mejorando la coloración y posteriormente la venta del pescado (Mathias *et al.*, 1982).

Muchas de las especies más abundantes del sur de la península ibérica entre ellas los caprélidos constituyen una fuente de alimento también muy importante en ciertas especies marinas.

Caprella dilatata por ejemplo, una especie que puede llegar a alcanzar altas densidades en el medio, asociada a cuerdas o boyas flotantes además de a briozoos o esponjas, es una de las presas potenciales del Caballito de mar *Hippocampus patagonicus* en la Bahía de San Antonio en la Patagonia Argentina (Storero y González, 2008).

Caprella equilibra otra de las especies más abundantes de nuestras costas presenta fluctuaciones en el medio directamente relacionadas con la predación de los peces. La depredación se ha utilizado en varias ocasiones para explicar las fluctuaciones en la abundancia de anfípodos en el medio (Stoner, 1980; Caine, 1983) los cuales disminuyen tras la llegada de peces reproductores y alevines durante los meses cálidos. *Caprella*

equilibra con frecuencia se mueve a través de los hidrozooos y el detritus agitando las antenas para filtrar. Este movimiento hace que los caprélidos sean más susceptibles a la detección visual y a la depredación por los peces (Main, 1985). Por otro lado los anfípodos que viven en la fanerógamas marinas también son una fuente de alimento muy importante para muchos peces (Rodríguez-Ruiz *et al.*, 2001; Sánchez-Jerez *et al.*, 2000). Sin embargo hasta la fecha no existe ningún estudio que demuestre el potencial de los caprélidos como alimento alternativo en la acuicultura.

En los ecosistemas de aguas poco profundas los caprélidos y los gammáridos son considerados unas de las presas más importantes para los peces, especialmente para los de longitudes menores de 10 cm (Takeuchi Y Hino, 1997). Los gammáridos suelen esconderse entre las hojas o ramas de las algas, mientras que los caprélidos quedan expuestos en la superficie y en los bordes de las hojas o ramas (Virnstein *et al.*, 1984) quedando más visibles para los depredadores. *Phtisica marina* es uno de los caprélidos más abundantes en las praderas de fanerógamas marinas (González *et al.*, 2008) y otras algas del sur de la Península Ibérica como *Cystoseira* y *Sargassum*, y constituye un componente principal en la dieta de muchas especies de peces y cefalópodos, como en individuos de la especie *Serranus cabrilla* (Figura 2) o en juveniles de cefalópodos como los de la sepia *Sepia officinalis* (Pinczon du Sel *et al.*, 2000).



Figura 2. Detalle de una masa de anfípodos (*Phtisica marina* en su mayoría) ingeridos por un individuo de *Serranus cabrilla* del Sur de la Península Ibérica. El porcentaje de caprélidos encontrados en individuos de esta especie fue superior al 60% de la biomasa total del contenido digestivo (Baeza-Rojano, datos no publicados).

1.4 ECOLOGÍA

La mayoría de los anfípodos son bentónicos y permanecen agarrados al sustrato con sus pereiópodos. Incluyen representantes en casi todas las categorías de los consumidores dentro de la estructura trófica. Casi todos se ubican como consumidores de primer orden, particularmente como detritívoros (Barnes, 1977); con la presencia también de herbívoros exclusivos, bacteriófagos y omnívoros. Asimismo también existen especies que incluyen a organismos carnívoros de primer y segundo orden. En el grupo de los caprélidos, Caine (1977) considera a la filtración, el ramoneo, la depredación, y la necrofagia como modos de alimentación. Se alimentan raspando la superficie del sustrato y en el caso de aquellos que poseen largas sedas en sus antenas lo hacen filtrando las partículas en suspensión del agua (Guerra-García *et al.*, 2002). Estudios recientes han demostrado que los caprélidos son fundamentalmente detritívoros (Guerra-García y Tierno de Figueroa, 2009).

Muchas especies muestran procesos adaptativos de cripsis, donde adoptan el mismo color del sustrato en el que permanecen sujetos. El proceso por el cual son capaces de adquirir el mismo color que su ambiente todavía es poco conocido, pero se piensa que es debido a la incorporación de los pigmentos de las algas en que se encuentran. Esto les permite pasar desapercibidos para los depredadores a pesar de su gran abundancia en el medio (Figura 3).

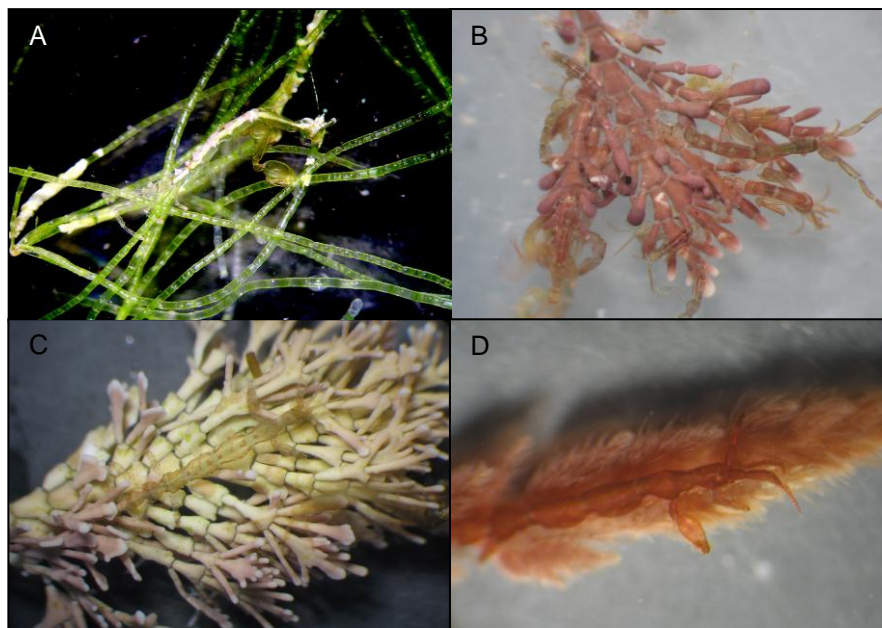


Figura 3. Cripsis en caprélidos del sur de la Península Ibérica. A) Individuo de *Caprella acanthifera* sobre el alga *Chaetomorpha sp.*, B) Individuos de *Caprella hirsuta* sobre *Corallina elongata*, C y D) Macho de *Caprella penantis* sobre *C. elongata* (C) y sobre *Asparragopsis armata* (D).

Bajo condiciones favorables, los anfípodos pueden alcanzar altas densidades llegando a valores de 319.000 ind/m² sobre sustratos artificiales (Ashton, 2006). Sin embargo, sufren variaciones espaciales y temporales considerables en función de factores físicos, tales como la temperatura o la disponibilidad del alimento (Woods, 2009). Son dioicos con un fuerte dimorfismo sexual en la mayoría de las especies. El ciclo reproductivo de las hembras consiste en sucesivas mudas, con cópula, ovoposición, eclosión y emergencia de los juveniles de la bolsa de incubación (Lewbel, 1978; Caine, 1979; Conlan, 1991). Poseen desarrollo directo, de forma que de la bolsa de incubación de la hembra salen juveniles con los mismos caracteres morfológicos que los padres, y el desarrollo de esta bolsa de incubación hace fácilmente distinguibles el sexo y la madurez sexual de los adultos (Caine, 1979). Algunos poseen cuidado maternal, protegiendo a sus crías durante tiempos prolongados (Jones, 1971, Shillaker y Moore, 1987). En algunos de ellos se produce cambio de sexo (Lowry y Stoddart 1986), y en otros existen comportamientos de precópula, cópula y protección o defensa de la pareja (Borowsky 1983, 1984, 1985; Conlan 1989, 1991) y de los territorios (Connell, 1963).

El hecho de que carezcan de estados larvales pelágicos hace que exhiban bajas tasas intrínsecas de dispersión autónoma, y esto los convierte en unos excelentes candidatos para estudios biogeográficos y ecológicos. Por ello, este grupo de invertebrados marinos proporciona importante información ambiental que debe ser tomada en cuenta a la hora de elaborar los programas de gestión y conservación de nuestros ecosistemas costeros.

1.5 OBJETIVOS GENERALES

1- Caracterizar la comunidad de anfípodos y otros crustáceos peracáridos asociados a algas intermareales, a lo largo de dos años de muestreo, en una región bien conservada del sur de la Península Ibérica en el Estrecho de Gibraltar como es la Isla de Tarifa.

2- Estudiar los ciclos de vida de los caprélicos más relevantes del sur de la Península Ibérica bajo condiciones controladas de laboratorio.

3- Estudiar la utilidad que tienen los anfípodos (gammáridos y caprélicos) como fuente de alimento alternativo para la acuicultura.

1.5.1 Caracterización y estudio de las fluctuaciones de los anfípodos y otros peracáridos asociados a las algas intermareales

En el primer objetivo planteado, debido a la escasa información existente sobre las fluctuaciones de las comunidades de anfípodos en nuestra latitud, se realizó un estudio para conocer los patrones estacionales de abundancia de algas y peracáridos, prestando especial interés a los anfípodos típicos de una región templada mediterránea altamente conservada con el fin de intentar profundizar con más exhaustividad en su ecología.

Para la caracterización de la comunidad se realizó un primer trabajo taxonómico de identificación de especies, con el que se diseñaron una serie de fichas ilustrativas de las especies de anfípodos y otros crustáceos peracáridos encontrados durante el estudio y que conformaron la comunidad rocosa intermareal de la Isla de Tarifa. Cada ficha incluyó una fotografía del ejemplar donde se indicaron los caracteres morfológicos diagnósticos y distintivos de la especie. Así mismo, se describió la distribución particular en la Isla de Tarifa, general en todo el mundo y notas sobre su ecología.

1.5.2 Estudio de los ciclos de vida de los caprélicos bajo condiciones de laboratorio

El segundo objetivo consistió en el estudio de los ciclos de vida de las especies de caprélicos más representativos del Estrecho de Gibraltar en condiciones de laboratorio para conocer con más precisión la biología y sus ciclos de vida, ya que como Takeuchi e Hirano

(1991) señalaron, es muy difícil estimar la estructura generacional de los anfípodos basándose solamente en los datos de distribución de frecuencias de tamaño, procedentes de la recogida de muestras mensuales en el campo, debido a las grandes fluctuaciones que se producen en el número de individuos durante periodos de tiempo muy cortos. De acuerdo con esto, los intervalos de muda, las tasas de crecimiento, el tiempo de maduración y la fertilidad y las pautas de comportamiento de cada especie podrían estudiarse mucho mejor bajo condiciones controladas de laboratorio. Se ha prestado especial atención a los caprélidos pues de los gammáridos existían ya más estudios en la bibliografía.

1.5.3 Aplicaciones en la acuicultura

Finalmente, el último objetivo consistió en averiguar si los anfípodos podían ser de utilidad como alimento alternativo para la acuicultura. Se conoce que los anfípodos son una fuente de alimento indispensable para un gran número de especies marinas y dulceacuícolas de interés comercial y hemos comprobado cómo bajo condiciones favorables pueden alcanzar altas densidades durante sus fluctuaciones y cómo pueden completar sus ciclos biológicos bajo condiciones artificiales de cultivo. Además muchas especies se caracterizan por tener un alto número de descendientes tras cada reproducción, por tener alta fecundidad y una temprana maduración (Grabowski *et al.*, 2007). Por ello se propone el uso de estos organismos como alimento utilizado en la acuicultura para el cultivo de especies larvales de pequeño tamaño que requieren de presas móviles para ser alimentados o como suplemento alimenticio en especies de mayor tamaño. El número de presas vivas que se están utilizando actualmente en la acuicultura se encuentra reducido a un número muy pequeño de organismos, tales como la *Artemia*, los misidáceos, y los copépodos. Sin embargo, el alto número de especies que hoy en día pueden llegar a ser cultivables pueden no estar recibiendo todos los nutrientes requeridos para su correcto crecimiento. De hecho, muchas fases larvarias como las del cultivo del pulpo, todavía no han llegado a completarse con éxito por esta falta de alimento vivo en las primeras fases de crecimiento. Por ello, se propone a los anfípodos, organismos de pequeño tamaño variable en función de la especie, como alternativa o como suplemento a la alimentación en las primeras fases de cultivo de estas especies.

De este modo, se estudiará la utilidad que tienen los anfípodos (gammáridos y caprélidos) como alimento para el cultivo de los juveniles de cefalópodos de dos especies de importancia comercial, la especie de sepia *Sepia officinalis* y el pulpo rojo *Octopus maya*, y se controlará la tasa de crecimiento obtenida tras alimentarlos con anfípodos.

Por otro lado se analizará el contenido nutricional de las especies de anfípodos (gammáridos y caprélidos) más abundantes del Estrecho de Gibraltar y por último se realizarán varios estudios preliminares sobre el cultivo de caprélidos para lograr altas densidades, ya que hasta la fecha no se ha intentado el cultivo a media-gran escala de este grupo de anfípodos, a pesar del gran potencial que estas especies pueden llegar a tener en el futuro (Woods, 2009).

Este último capítulo de la tesis ha sido elaborado en inglés por ser el más aplicado de todos ellos y fomentar así su difusión. Aun así, todos los artículos que conforman cada capítulo de la tesis, han sido o están en proceso de ser publicados en revistas de impacto internacional.

1.6 ZONAS DE ESTUDIO Y ESPECIES DE ANFÍPODOS UTILIZADOS

El estudio de las fluctuaciones estacionales de los anfípodos y otros peracáridos se llevó a cabo en el Estrecho de Gibraltar, y más concretamente en la Isla de Tarifa por ser una región de gran trascendencia biogeográfica y ambiental y por encontrarse perfectamente conservada gracias a su localización en una de las áreas con mayor grado de protección del Parque Natural del Estrecho. En sus aguas confluyen las regiones Lusitánica, Mediterránea y Mauritánica lo que favorece un aumento de la diversidad de sus ecosistemas. Sus intermareales rocosos están muy bien conservados, con una alta diversidad y con una estratificación típica de los intermareales mediterráneos. Además es una de las zonas de mayor tránsito marítimo del mundo, por lo que presenta una muy elevada vulnerabilidad ambiental ante posibles catástrofes ecológicas.

La alta diversidad de la zona ha propiciado que muchos científicos centraran sus estudios en el conocimiento de la fauna de crustáceos, sin embargo no se ha realizado ningún estudio centrado en la monitorización de las fluctuaciones estacionales de poblaciones de peracáridos a lo largo de un periodo de tiempo considerable, y mucho menos el estudio ecológico concreto de los ciclos de vida de alguna de las especies más características del lugar, y que siguen siendo desconocidas hasta la fecha.

Para la realización del estudio del ciclo de vida se seleccionaron dos especies intermareales de la Isla de Tarifa: *Caprella penantis* y *Caprella grandimana* por ser las más abundantes de la zona. Las condiciones de cultivo se mantuvieron a 17°C para asemejarlas con los valores medios anuales de temperatura medidos en la Isla.

Otros ecosistemas del sur de la Península Ibérica que resaltan por sus altas abundancias de anfípodos y más concretamente de caprélidos, son los ecosistemas portuarios y estuarinos. Por este motivo también se seleccionaron otras tres especies de caprélidos: *Caprella dilatata*, *Caprella equilibra* y *Phtisica marina* para estudiar su ciclo biológico bajo condiciones controladas de laboratorio. Los puertos de La Línea en Cádiz y de El portil en Huelva, además del sistema estuarino de El portil, fueron los elegidos para la recogida de las especies por sus altas abundancias en el medio (Figura 4).

Por último, para llevar a cabo el estudio de las aplicaciones de los anfípodos en la acuicultura, se realizaron estancias en otros centros de investigación con los equipamientos necesarios para llevar a cabo el estudio, tales como tanques, acuarios y laboratorios dotados con los aparatos necesarios para el análisis de los compuestos químicos.

Así pues, en el centro de Aguas del Pino (Huelva) se realizaron los análisis de compuestos nutricionales de los anfípodos más abundantes del sur de la Península Ibérica y se usaron los tanques y acuarios necesarios tanto para el experimento de alimentación de la especie *Sepia officinalis* con gammáridos y caprélidos de la zona, como para el cultivo a media escala de *Caprella scaura*, una especie de gran resistencia y alta capacidad de colonización de los sistemas portuarios recolectada del puerto de Cádiz (Guerra-García *et al.*, 2011).

En la Unidad Multidisciplinaria de la Universidad Nacional Autónoma de México en Yucatán, se dispuso de los tanques necesarios y de la especie de pulpo mexicano *Octopus maya*, para realizar el experimento de alimentación con gammáridos. El uso de caprélidos en esta experiencia no fue posible debido a la baja densidad de sus poblaciones, ya que los ecosistemas tropicales suelen caracterizarse por presentar mayor diversidad de especies, pero menor abundancia de individuos del suborden Caprellidea (Guerra-García *et al.*, 2010a) lo que hacía difícil la recolección de suficientes individuos para realizar el experimento.

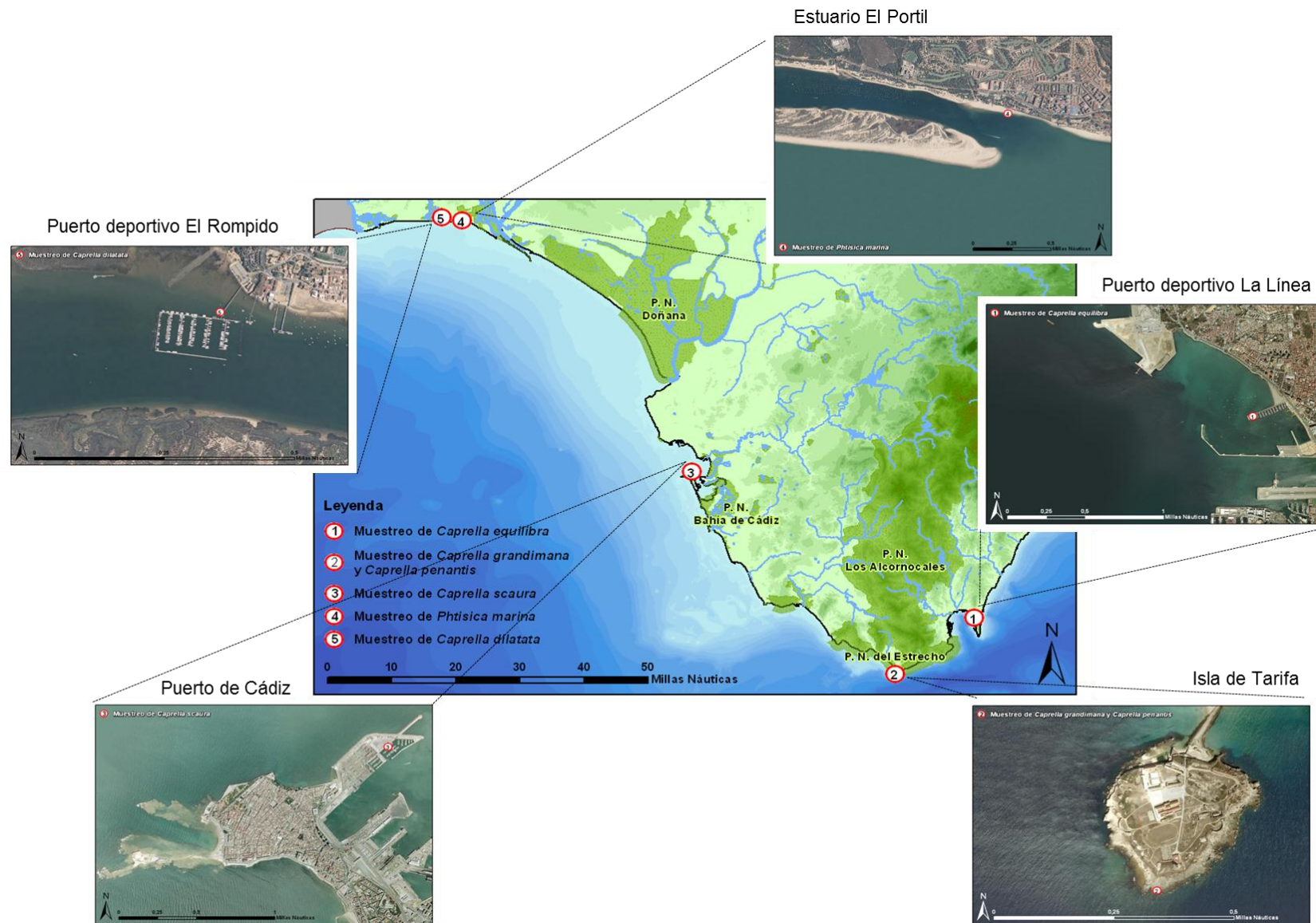


Figura 4. Localización de los 5 principales puntos de muestreo para la recogida de anfípodos, especialmente de caprélidos, para la realización de los estudios.

1.7 BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez-Noguera F, Winfield I y Cházaro S. (2000) Population study of the landhopper *Talitroides topitotum* (Crustacea: Amphipoda: Talitridae) in Central Mexico. *Journal of Natural History*, 34: 1619-1624.
- Ashton GV (2006) Distribution and dispersal of the non-native caprellid Amphipoda, *Caprella mutica* Schurin 1935. PhD tesis, Universidad de Aberdeen, Escocia, pp. 180.
- Barnes RD (1977) Zoología de los Invertebrados. Interamericana. México, pp. 826.
- Beare DJ y Moore PG (1996) The distribution, growth and reproduction of *Pontocrates arenarius* and *P. altamarinus* (Crustacea: Amphipoda) at Millport, Scotland. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 76: 931-950.
- Bellan- Santini D (1999) Ordre des Amphipodes (*Amphipoda Latreille*, 1816) In: Pierre, P. Grassé (ed.). Trait de Zoologie. Anatomic Sistematique and Biologie. Tome VII. Fascicula, IIIA. Crustaces Peracarides, 95-168.
- Bellan-Santini D y Marques JC (1984) Contribution à l'étude des amphipodes des costes du Portugal. *Ciência Biológica*. Monografia, 5: 131-149.
- Bellan-Santini D y Ruffo S (1998) Faunistics and zoogeography. In Ruffo S. (ed.) The Amphipoda of the Mediterranean. Mémoires de l'Institut Oceanographique, Monaco, 13: 895-911.
- Bilecenoglu M (2009) Growth and feeding habits of the brown comber, *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758) in Izmir Bay, Aegean Sea. *Acta Adriatica*, 50: 105-110.
- Bonsdorff E (1984) Effects of experimental oil spills in intertidal rock pools. *Ecological Bulletin*, 36: 159-164.
- Borowsky B (1983) Reproductive behavior of three tube-building peracarid crustaceans: the amphipods *Jassa falcata* and *Ampithoe valida* and the tanaid *Tanais cavolinii*. *Marine Biology*, 77: 257-263.
- Borowsky B (1984) The use of males' gnathopods during precopulation in some gammaridean Amphipoda. *Crustaceana*, 47: 245-250.
- Borowsky B (1985) Differences in reproductive behavior between two male morphs of the amphipod crustacean *Jassa falcata* Montagu. *Physiological Zoology*, 58: 497-502.
- Caine EA (1977) Feedings mechanisms and possible resources partitioning of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Puget Sound USA. *Marine Biology*, 42: 331-336.
- Caine EA (1979) Population structure of two species of caprellid amphipods (Crustacea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 40: 103-114.

- Caine EA (1983) Community interactions of *Caprella penantis* Leach (Crustacea, Amphipoda) on sea whips. *Journal of Crustacean Biology*, 3: 497-504.
- Chang BD y Parsons TR (1975) Metabolic studies on the amphipod *Anisogammarus pugettensis* in relation to its trophic position in the food web of young salmonids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 32: 243-247.
- Chevreaux E y Fage L (1925) Amphipodes. En: Faune de France, vol. 9. Paul Lechevalier. Paris. 488 pp.
- Conlan KE (1989) Delayed reproduction and adult dimorphism in males of the amphipod genus *Jassa* (Corophioidea: Ischyroceridae): an explanation for systematic confusion. *Journal of Crustacean Biology*, 9: 601-625.
- Conlan KE (1991) Precopulatory mating behaviour and sexual dimorphism in the amphipod Crustacea. *Hydrobiologia*, 223: 255-282.
- Connell JH (1963) Territorial behavior and dispersion in some marine invertebrates. *Research in Population Ecology*, 5: 87-101.
- Conradi M y López-González PJ (2001) Relationships between environmental variables and the abundance of peracarid fauna in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula). *Ciencias Marinas*, 27: 481-500.
- Conradi M, López-González PJ y Bellan-santini D (1995) A new species of *Urothoe* (Amphipoda, Gammaridea) from the Iberian Peninsula. *Cahiers de Biologie Marine*, 36: 9-13.
- Conradi M, López-González PJ y García-Gómez JC (1997) The amphipod community as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula) based on a spatio-temporal distribution. *P. S. Z. N. Marine Ecology*, 18: 97-111.
- Corbera J y Cardell MJ (1995) Cumaceans as indicators of eutrophication on soft bottoms. *Scientia Marina*, 59: 63-69.
- Costa A (1857) Recherche sui Crostacei Amfipodi del golfo di Napoli. Memorie della Reale Accademia delle Scienze, Napoli, 1: 165-335.
- Cunha MR, Sorbe JC y Bernardes C (1997) On the structure of the neritic suprabenthic communities from the Portuguese continental margin. *Marine Ecology Progress Series*, 157: 119-137.
- De Broyer C, Nyssen F y Dauby P (2004) The crustacean scavenger guild in Antarctic shelf, bathyal and abyssal communities. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51(14-16), 1733–1752. doi:10.1016/j.dsr2.2004.06.032
- Dauby P, Scailteur Y y De Broyer C (2001) Trophic diversity within the eastern Weddell Sea amphipod community. *Hydrobiologia*, 443: 69-86.
- Della Valle A (1893) Gammarini del Golfo di Napoli. *Fauna und Flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-Abschnitte*, 20: 1-948.

- Duffy JE y Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecological Monographs*, 70: 237-263.
- Duffy GA, Horton T y Billett DSM (2012) Deep-sea scavenging amphipod assemblages from the submarine canyons of the Western Iberian Peninsula. *Biogeosciences*, 9(11): 4861-4869.
- Gómez-Gesteira JL y Dauvin JC (2000) Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. *Marine Pollution Bulletin*, 40: 1017-1027.
- González A, Guerra-García J, Maestre M, Ruiz-Tabares A, Espinosa F, Gordillo I, Sánchez-Moyano J y García-Gómez JC (2008). Community structure of caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) on seagrasses from southern Spain. *Helgoland Marine Research*, 62: 189-199.
- Grabowski M, Bacela K y Konopacka A (2007) How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) – comparison of life history traits. *Hydrobiologia* 590: 75- 84.
- Guerra-García JM (2001) A new species of *Caprella* (Amphipoda, Caprellidea) from Algeciras Bay, Southern Spain. *Crustaceana*, 74(2): 211–219.
- Guerra-García JM (2009) Los crustáceos caprellidos: pequeños desconocidos del Parque Natural del Estrecho. *MIGRES Revista de Ecología*, 1: 9-18.
- Guerra-García JM y García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *P.S.Z.N.: Marine Ecology*, 22(4): 357-367
- Guerra-García JM y Takeuchi I (2002) The Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, with the description of three species of *Caprella*, key for *Caprella* and biogeographical discussion. *Journal of Natural History*, 36: 675-713.
- Guerra-García JM y García-Gómez JC (2004). Crustacean assemblages and sediment pollution in an exceptional case study: a harbour with two opposing entrances. *Crustaceana*, 77: 353-370.
- Guerra-García JM y Tierno de Figueroa JM (2009) What do Caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? *Marine Biology*, 156: 1881-1890.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC(2000) Redescription of *Caprella hirsuta* Mayer, 1890 (Crustacea, Amphipoda, Caprellidea) from the Strait of Gibraltar. *Miscellània Zoològica* 23(2): 69-78.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2001a). Two new species of *Caprella* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) collected from sandy bottoms in the Strait of Gibraltar. *Hydrobiologia*, 448, 181–192.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2001b) Two new hairy species of *Caprella* (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar, with the redescription of *Caprella grandimana*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(4): 1014-1030.
- Guerra-García, Corzo JM y García-Gómez JC (2002) Clinging behaviour of the Caprellidea (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Crustaceana*, 75: 41–50.

- Guerra-García JM, Redondo-Gómez S, Espina A, Castillo J, Luque T, García-Gómez JC y Figueroa ME (2006) *Caprella penantis* Leach, 1814 and *Caprella dilatata* Kroyer, 1843 (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar: a molecular approach to explore intra and interspecific. *Marine Biology Research*, 2: 100–108.
- Guerra-García JM, Sorbe JC y Frutos I (2008) A new species of *Liropus* (Crustacea, Amphipoda, Caprellidae) from the Le Danois bank (southern Bay of Biscay). *Organisms, Diversity and Evolution*, 7: 253-254.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Díaz-Pavón JJ, Pacios I y García-Gómez JC (2009) The amphipods *Caprella penantis* and *Hyale schmidtii* as biomonitors of trace metal contamination in intertidal ecosystems of Algeciras Bay, Southern Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 765-786.
- Guerra-García JM, Ganesh T, Jaikumar M y Raman A (2010a) Caprellids (Crustacea: Amphipoda) from India. *Helgoland Marine Research*, 64: 297–310.
- Guerra-Guerra JM, Ruiz-Tabares A, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Diaz-Pavon JJ, Pacios I, Maestre M, Gonzalez AR, Espinosa F y Garcia-Gomez JC (2010b) Trace metals in *Caprella* (Crustacea: Amphipoda). A new tool for monitoring pollution in coastal areas?. *Ecological indicators*, 10: 734-743.
- Guerra-García JM, Ros M, Dugo-Cota A, Burgos V, Flores-León AM, Baeza-Rojano E, Cabezas M y Núñez J. (2011) Geographical expansion of the invader *Caprella scaura* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) to the East Atlantic coast. *Marine Biology*, 158: 2617-2622.
- Hobson ES y Chess JR (1976) Trophic interactions among fishes and zooplanktoners near shore at Santa Catalina Island, California. *Fishery Bulletin NOAA*, 74: 567-598.
- Holsinger JR (1982) Amphipoda. In: Hurlbert S. H. and A. Villalobos Figueroa. (Eds.). *Aquatic Biota of Mexico, Central America and the West Indies*. SDSU. Pp 209-214.
- Ito A, Wada H y Aoki M (2008) Phylogenetic analysis of caprellid and corophioid amphipods (Crustacea) based on the 18S rRNA gene, with special emphasis on on the phylogenetic position of Phtisicidae. *The Biological Bulletin*, 214: 176-183.
- Jaume D (1991) Two new species of the amphipod genus *Pseudoniphargus* (Crustacea) from Cabrera (Balearic Islands). *Stygologia*, 6(3): 177-189.
- Jimeno A y Turón X (1995) Gammaridea and Caprellidea of the northeast coast of Spain: ecological distribution on different types of substrata. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 42(4): 495-516.
- Jones LG (1971) Studies on selected small herbivorous invertebrates inhabiting *Macrocystis* canopies and holdfasts in southern California kelp beds. Pp. 343–367 in *The Biology of Giant Kelp Beds (Macrocystis) in California*, W. J. North, ed. Series: *Nova Hedwigia* 32. J. Cramer, Lehre, Germany.

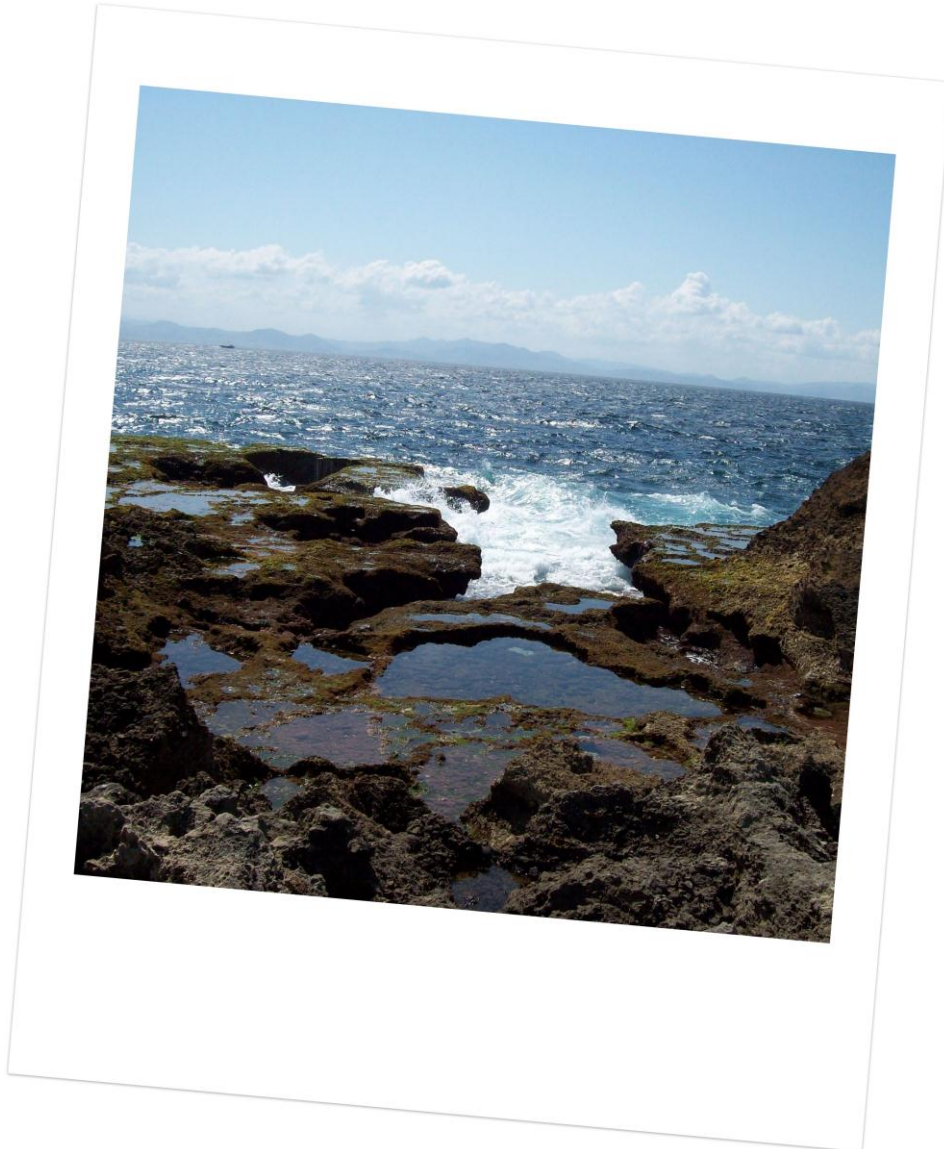
- Kaczynski VW, Feller RJ, Clayton J y Gerke RJ (1973) Trophic analysis of juvenile pink and chum salmon (*Oncorhynchus gorbuscha* and *O.keta*) in Puget Sound. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 30:1003-1008.
- Laubitz D (1993) Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): towards a new synthesis. *Journal of Natural History*, 27: 965-976.
- LeCroy S (2000) An illustrated identification guide to the nearshore marine and estuarine gammaridean Amphipoda of Florida. Vol. 1. Families Gammaridae, Hadziidae, Isaeidae, Melitidae and Oedicerotidae. U.S. Environmental Protection Agency. WM724. P. 195.
- Lewbel GS (1978) Sexual dimorphism and intraspecific aggression, and their relationship to sex ratios in *Caprella gorgonia* Laubitz and Lewbel (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 33: 133-151.
- Lincoln RJ (1979) British Marine Amphipoda: Gammaridea. British Museum (Natural History). London. 658 pp.
- Lourido A, Moreira J y Troncoso JS (2008) Assemblages of peracarid crustaceans in subtidal sediments from the Ría de Aldán (Galicia, NW Spain). *Helgoland Marine Research*, 62: 289-301.
- Lowry JK y Stoddart DR (1986) Protandrous hermaphrodites among the Lysianassoid amphipods. *Journal of Crustacean Biology*, 6: 742-748.
- Main KL (1985) The influence of prey identity and size selection of prey between two marine fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 88: 145-152.
- Mathias JA, Martin J, Yurkowski M, Lark JGI, Papst M y Tabachek JL (1982) Harvest and nutritional quality of *Gammarus lacustris* for trout culture. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111: 83-89.
- McCurdy DG, Forbes MR, Logan SP, Lancaster D y Mautner SI (2005) Foraging and impacts by benthic fish on the intertidal amphipod *Corophium volutator*. *Journal of Crustacean Biology*, 25: 558-564.
- Marques JC y Bellan-Santini D (1985) Contribution à l'étude systématique et écologique des amphipodes (Crustacea, Amphipoda) des côtes du Portugal. Premier inventaire des espèces (Gammariens et Caprelliens). *Ciência Biológica. Ecologia e Sistemática*, 5: 299-353.
- Marques JC y Bellan-Santini D (1987) Crustacea Amphipodes des côtes du Portugal: faune de estuaire du Mira (Alenteja, cote sud-ouest). *Cahiers de Biologie Marine*, 28: 465-480.
- Marques JC y Bellan-Santini D (1988) Crustacea Amphipodes des côtes du Portugal: faune du canal de Santo Andre. *Anais da Faculdade de Ciências do Porto*, 67: 219-243.
- Marques JC y Bellan-Santini D (1990a) Benthic amphipod fauna (Crustacea) of the Portuguese coast. Biogeographical considerations. *Marine Nature*, 3: 43-51.

- Marques JC y Bellan-Santini D (1990b) Faune d'amphipodes des milieus lagunaires du Portugal. Actualisation des dones et comparaison avec d'autre systèmes Atlantiques et Méditerranéens. *Mésogée* (Marseille), 50: 53-61.
- Martin JW y Davis GE (2001) An updated classification of the recent Crustacea. Science Series 39, Natural History Museum of Los Angeles, California, 124
- Mayer R (1890) Die Caprelliden des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-Abschnitte. Nachtrag zur Monographie derselben. Fauna und Flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeres-Abschnitte, 17: 1-157.
- Moreira J, Gestoso L y Troncoso JS (2008a). Diversity and temporal variation of peracarid fauna (Crustacea: Peracarida) in the shallow subtidal of a sandy beach: Playa America (Galicia, NW Spain). *Marine Ecology*, 81: 1069-1089.
- Moreira J, Lourido A y Troncoso JS (2008b). Diversity and distribution of peracarid crustaceans in shallow subtidal soft bottoms at the Ensenada de Baiona (Galicia, NW Spain). *Crustaceana*, 81: 1069-1089.
- Notenboom J (1990) Introduction to Iberian groundwater amphipods. *Limnetica*, 6: 165-176.
- Ohji M, Takeuchi I, Takahashi S, Tanabe S y Miyazaki N (2002) Differences in the acute toxicities of tributyltin between the Caprellidea and the Gammaridea (Crustacea: Amphipoda). *Marine Pollution Bulletin*, 44: 16-24.
- Ortiz M (1994) Clave gráfica para la identificación de familias y géneros de anfípodos del suborden Gammaridea del Atlántico Occidental tropical. *Anales del Instituto de investigaciones marinas Punta Betín*. 23: 59-101.
- Ortiz M y Jimeno A (2001). Guía ilustrada para la identificación de las familias y los géneros de los anfípodos del suborden Gammaridea de la Península Ibérica. *Graellsia*, 57: 3-93.
- Ortiz M, Álvarez-Noguera F y Winfield I (2002) Caprellid Amphipods (Amphipoda: Caprellidae) illustrated key for the genera and species from the Gulf of Mexico and The Caribbean sea. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Tlalnepantla, México, 83 pp.
- Pinczon du Sel G, Blanc A y Daguzan J (2000) The diet of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Mollusca: Cephalopoda) during its life cycle in the Northern Bay of Biscay (France). *Aquatic Science*. 61: 167–178.
- Piscart C, Mermillod-Blondin F, Maazouzi C, Merigoux S y Marmonier P (2011) Potential impact of invasive amphipods on leaf litter recycling in aquatic ecosystems. *Biological Invasions*, 13: 2861-2868.
- Pretus JL (1990) Three new species of the genus *Pseudoniphargus* (Crustacea, Amphipoda) in Balearic ground waters. *Stygologia*, 5: 101-118.

- Rodríguez-Ruiz S, Sánchez-Lizaso JL, Ramos-Esplá AA (2001) Cambios estacionales en la dieta de *Diploodus annularis* (L., 1758) en el sudeste ibérico. *Boletín IEO*, 17:87–95
- Ruffo S (Editor) (1982) The Amphipoda of the Mediterranean. Part 1. Gammaridea (Acanthonozomatidae to Gammaridae) Mémoires de l'Institut Océanographique. Fondation Albert Ier, Prince de Monaco, 13: 1-364.
- Ruffo S (Editor) (1989) The Amphipoda of the Mediterranean. Part 2. Gammaridea (Haustoriidae to Lysianassidae). Mémoires de l'Institut Océanographique. Fondation Albert Ier, Prince de Monaco, 13: 365-576.
- Ruffo S (Editor) (1993) The Amphipoda of the Mediterranean. Part 3. Gammaridea (Melphidippidae to Talitridae), Ingolfiellidea, Caprellidea. Mémoires de l'Institut Océanographique. Fondation Albert Ier Prince de Monaco, 13: 576-813.
- Ruffo S (Editor) (1998) The Amphipoda of the Mediterranean. Part 4. Localities. Key to Families. Ecology. Faunistics and Zoogeography. Bibliography. Mémoires de l'Institut Océanographique. Fondation Albert Ier, Prince de Monaco, 13: 814-959.
- Sánchez-Jerez P, Barberá-Cebrián C y Ramos-Esplá AA (2000) Influence of the structure of *Posidonia oceanica* meadows modified by bottom trawling on crustacean assemblages: comparison of amphipods and decapods. *Scientia marina*, 64 (3): 319-326.
- Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially Crustacea, as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *Journal of Coastal Research*, 14: 1119-1133.
- Schmitt WL (1968) Crustaceans. University of Michigan Press, Ann Arbor. 204pp
- Schneider DC y Harrington BA (1981) Timing of shorebird migration in relation to prey depletion. *Auk*, 98: 801-811.
- Shillaker RO y Moore PG (1987) The biology of brooding in the amphipods *Lembos websteri* Bate and *Corophium bonelli* Milne Edwards. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 110: 113-132.
- Stebbing TRR (1906). Amphipoda I. Gammaridea. *Das Tierreich*, 21: 1-806.
- Stoner AW (1980) Abundance, reproductive seasonality and habitat preferences of amphipod crustaceans in seagrass meadows of Apalachee Bay, Florida. *Contributions in Marine Science*, 23: 63-77.
- Storero L y González R (2008) Feeding habits of the seahorse *Hippocampus patagonicus* in San Antonio Bay (Patagonia, Argentina). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88: 1503-1508.
- Takeuchi I (1993) Is the Caprellidea a monophyletic group? *Journal of Natural History*, 27: 947-964.

- Takeuchi I e Hino A (1997) Community structure of caprellid amphipods (Crustacea) on seagrasses in Otsuchi Bay, Northeastern Japan, with reference to the association of *Caprella japonica* (Schurin) and *Phyllospadix iwatensis* Makino. *Fisheries Science*, 63:327–331.
- Takeuchi I e Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110(3): 391-397.
- Takeuchi I y Sawamoto S (1998) Distribution of caprellid amphipods (Crustacea) in the western North Pacific based on the CSK International Zooplankton Collection. *Plankton Biology and Ecology*, 45: 225-230.
- Takeuchi I, Takahashi S, Tanabe S y Miyazaki N (2001) Caprellawatch: a new approach for monitoring butylin residues in the ocean. *Marine Environmental Research*, 52: 97-113
- Thurston MH (1990) Abyssal necrophagous amphipods (Crustacea: Amphipoda) in the northeast and tropical Atlantic Ocean. *Progress in Oceanography*, 24: 257–274.
- Virnstein RW, Nelson WG, Lewis FG, Howard RK (1984) Latitudinal patterns in seagrass epifauna: do patterns exist, and can they be explained? *Estuaries*, 7:310–330.
- Woods CMC (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture*, 289(3-4): 199-211.

CAPÍTULO 2



**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL Y ESTACIONALIDAD
DE LOS ANFÍPODOS
Y OTROS CRUSTÁCEOS PERACÁRIDOS
ASOCIADOS A LAS PRINCIPALES MACROALGAS
INTERMAREALES DE LA ISLA DE TARIFA**

2.1 RESUMEN

La Isla de Tarifa se localiza en el Estrecho de Gibraltar entre el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico. Su privilegiada posición geográfica junto con su gran heterogeneidad de sustrato y su alto nivel de protección como reserva marina, ha contribuido a mantener una alta diversidad en sus ecosistemas rocosos intermareales. En ausencia de influencias antropogénicas, se estudió las fluctuaciones estacionales de los anfípodos y otros peracáridos y de las macroalgas intermareales asociadas durante un periodo de tiempo de dos años (desde diciembre del 2005 a diciembre del 2007). Se recolectaron un total de 25.749 individuos pertenecientes a 46 especies. Los anfípodos fueron los mejor representados en relación al número total de especies (32) e individuos (89% de la abundancia numérica), seguidos de isópodos (12 especies y 11% de abundancia) y tanaidáceos (2 especies y 1%). El mayor número de especies se registró en los cinturones intermedios (1-1,5 m) dominados por *Corallina elongata*, aunque las mayores abundancias correspondieron a las algas de los niveles más bajos (0-1 m) tales como *Gelidium corneum*, *Osmundea pinnatifida*, *Valonia utricularis* y el césped de *Caulacanthus ustulatus*. Las principales macroalgas intermareales de la Isla de Tarifa mostraron un comportamiento perenne. Los peracáridos más abundantes, *Hyale stebbingi*, *H. schmidtii*, *H. perieri*, *Stenothoe monoculoides*, *Caprella penantis*, *C. grandimana*, *Dynamene edwardsii* e *Ischyromene lacazei*, estuvieron presentes a lo largo de todo el año. Las densidades más altas se registraron entre abril y agosto, coincidiendo con el mayor desarrollo de las algas, justo antes de que se registraran los valores más altos en la temperatura del agua, medidos al final del verano. Los análisis multivariantes confirmaron la existencia de una clara zonación tanto de las algas como de los peracáridos asociados en un gradiente vertical, que se mantuvo estable durante los dos años de estudio. Sin embargo, otros factores físicos y biológicos, además de la distribución de las algas como sustrato pueden regular estos patrones de abundancia de peracáridos precisándose estudios experimentales en el futuro para explorar la influencia de la competencia, la depredación o de las condiciones climatológicas.

2.2 INTRODUCCIÓN

2.2.1 ZONACIÓN DE LAS COMUNIDADES DE LOS INTERMAREALES ROCOSOS

La principal fuente de información sobre la dinámica de las comunidades de los intermareales rocosos la proporciona el estudio de las variaciones estacionales de la abundancia y la composición de los organismos de la comunidad (Underwood, 1981; Arrontes y Anadón, 1990). Los organismos que habitan los ecosistemas intermareales se encuentran distribuidos en niveles específicos a lo largo del eje longitudinal mareal, desde el nivel 0 hasta el nivel superior mareal (Underwood, 1981; Araújo *et al.*, 2005). La zonación de los animales y de las plantas marinas fue descrito clásicamente por Lewis (1964) y por Stephenson (1972) y muchos estudios han mostrado que tanto los factores físicos (como la acción de las olas, la desecación, la radiación, los rangos de temperatura y la disponibilidad de nutrientes) como los biológicos (la competencia o la depredación) afectan en tales patrones de abundancia (ver Chavanich y Wilson, 2000 para más detalles). Chavanich y Wilson (2000) profundizaron en los patrones de zonación de las especies de algas marinas e invertebrados, especialmente mejillones, balanos, gusanos, y lapas; sin embargo, son muy pocas las investigaciones relacionadas con los patrones de zonación de los peracáridos de los intermareales rocosos (Tararam *et al.*, 1986; Buschmann, 1990; Krapp-Schickel, 1993; Baldinger y Gable, 1995), existiendo una falta de estudios relacionados con las fluctuaciones estacionales de los peracáridos en base a largas series temporales de datos (Arrontes y Anadón, 1990; Chavanich y Wilson, 2000). En cuanto a las macroalgas intermareales, sólo unos cuantos estudios se han centrado en las fluctuaciones estacionales y en los cambios temporales de su abundancia (Morgan y Mathieson, 1983; Neto, 2000a, Pedersén y Snoeijs, 2001).

Estos estudios aunque son laboriosos y llevan mucho tiempo, son necesarios para recopilar datos muy relevantes a la hora de comprender procesos ecológicos, detectar influencias antropogénicas, e incluso poder demostrar posibles efectos del cambio climático. Además, las algas, y su fauna asociada, son organismos ideales para el estudio de patrones biogeográficos en ecosistemas marinos rocosos de poca profundidad, ya que son productores primarios de amplia distribución, se encuentran inmóviles y sujetos a un sustrato fijo, y son fáciles de recolectar y preservar (Bolton *et al.*, 2004)

2.2.2 ESTUDIOS PREVIOS DE LA FAUNA DE PERACÁRIDOS EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

A pesar de su interés, el conocimiento de los peracáridos crustáceos asociados a algas a lo largo de las costas de la Península Ibérica, es todavía escaso, y la mayoría de los estudios se han centrado en el Estrecho de Gibraltar. Sánchez-Moyano y García-Gómez (1998) y Sánchez-Moyano *et al.* (2007) estudiaron la comunidad completa de crustáceos asociados al alga *Stypocaulon scoparium* y *Caulerpa prolifera*, respectivamente, en la Bahía de Algeciras. Guerra-García *et al.* (2009b) se centraron en los peracáridos asociados al alga *Corallina elongata* para demostrar que la región norte del Estrecho de Gibraltar era más diversa que la región sur. Castelló y Carballo (2001) revisaron las especies de isópodos del Estrecho de Gibraltar, Sanz *et al.* (1994) estudiaron los tanaidáceos de la Bahía de Algeciras, y Alfonso *et al.* (1998) usaron la comunidad asociada a *S. scoparium* como bioindicadora de la calidad ambiental.

Varios estudios centrados en anfípodos (gammaridos y caprélidos) se realizaron también durante la última década en el Estrecho de Gibraltar (e.g. Conradi *et al.*, 1997; Guerra-García, 2001; Guerra-García y Takeuchi, 2002; Guerra-García *et al.*, 2000b, 2001). Jimeno y Turón (1995) estudiaron la distribución ecológica de Gammaridos y Caprélidos de la costa noreste de España, y Pereira *et al.* (2006) estudiaron los patrones biogeográficos de los peracáridos intermareales, incluyendo isópodos, tanaidáceos y cumáceos, y su asociación con la distribución de las macroalgas a lo largo de la costa Portuguesa. Sin embargo, es extremadamente escasa la información referente a las fluctuaciones estacionales y a los patrones de distribución vertical a lo largo de la Península Ibérica en general y en el Estrecho de Gibraltar en particular.

2.2.3 EL ESTRECHO DE GIBRALTAR

El Estrecho de Gibraltar es una región de gran interés biogeográfico, en la cual se produce un solapamiento de la fauna Mediterránea con la Atlántica, a lo largo del eje horizontal, así como la Europea con la Africana en el eje vertical (Guerra-García *et al.*, 2009). Es una región geográfica-geológica muy importante formada en la fase final del Plioceno, situada en el límite entre la región Mediterránea (al este), la Lusitánica (al noroeste) y la Mauritánica (al suroeste). Europa y África se encuentran separadas por 14,24 km y la profundidad del estrecho oscila entre 300 y 900 m. Hace unos 5,9 millones de años aproximadamente, la conexión entre el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico fue restringiéndose hasta su cierre completo (Crisis de salinidad del Mesiliense), apareciendo

uno de los eventos más dramáticos de la tierra durante la era del cenozoico (Hsü *et al.*, 1973).

Tras un largo periodo de entrada de agua restringida, aproximadamente hace 5,33 millones de años, la conexión Atlántica-Mediterránea se restableció completamente a lo largo del Estrecho de Gibraltar desconectando a África de Europa de nuevo. Todos estos eventos geológicos han originado la actual fauna terrestre y marina del Estrecho de Gibraltar. Y esto es lo que ha atraído la atención de numerosos taxonomistas marinos los cuales se encuentran muy interesados en la realización de estudios biogeográficos.

La región española del Estrecho de Gibraltar está protegida bajo el “Parque Natural del Estrecho” (Fig. 1) el cual fue declarado como área protegida en el 2003. Está constituida por un parque marítimo terrestre de 54 kilómetros de línea de costa e incluye una alta diversidad y estructuración en sus comunidades marinas (García-Gómez *et al.*, 2003). Dentro del Parque, la Isla de Tarifa, es considerada una reserva marina, y constituye el enclave más interesante del parque por sus hábitats marinos. Se localiza en el punto más meridional de Europa, justo entre el Mar Mediterráneo y el Atlántico, con 21 hectáreas y 2 km de línea de costa. Su única posición biogeográfica, junto con la alta heterogeneidad de sustrato y la alta restricción militar que ha tenido durante los últimos años como cuartel de la guardia civil, ha contribuido a mantener la riqueza del intermareal rocoso del sur de España intacto (Guerra-García y García-Gómez, 2000).

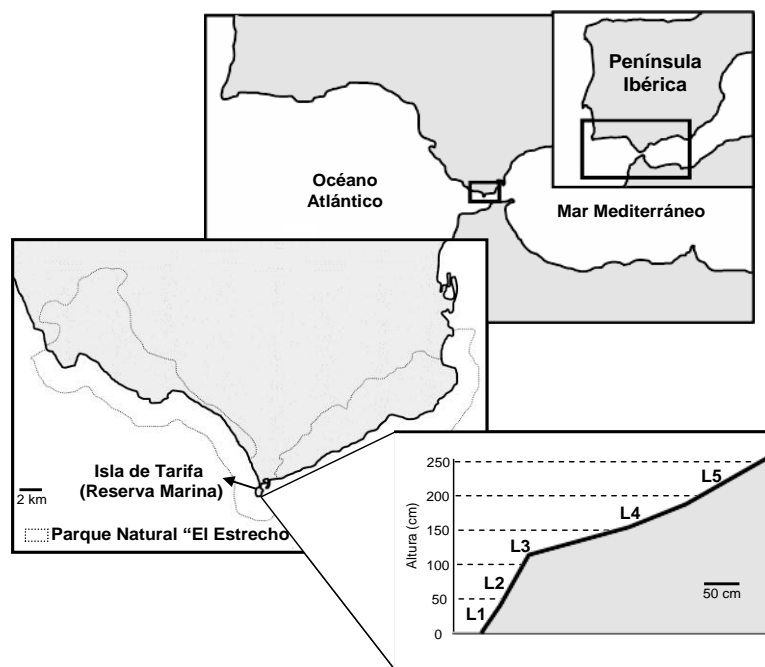


Figura 1.- Área de estudio mostrando la localización del Parque Natural del Estrecho de Gibraltar. Se incluye un esquema del intermareal seleccionado para el estudio en la Isla de Tarifa.

2.2.4 OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo principal de este estudio fue caracterizar la composición, la distribución vertical a lo largo del intermareal, y las fluctuaciones estacionales de los Anfípodos y otros Peracáridos así como de las algas a las que se encuentran asociados en uno de los enclaves más bien conservados y protegidos del Parque Natural del Estrecho. Así como explorar las posibles relaciones entre los peracáridos y las macroalgas como sustrato.

Los datos suministrados en este estudio pueden ser usados como base, en futuros estudios comparativos y para fines de conservación y manejo, especialmente en áreas protegidas de gran interés ecológico donde es esencial el conocer y comprender la distribución espacial y las fluctuaciones estacionales de las especies presentes *in situ*.

En el anexo 1 se adjuntan fichas ilustrativas de las especies de anfípodos y otros crustáceos peracáridos encontrados durante el estudio y que conforman la comunidad rocosa intermareal de la Isla de Tarifa. Las fichas se han elaborado como herramienta rápida de identificación para estudios futuros. Cada ficha incluye una fotografía del ejemplar donde se indican los caracteres morfológicos diagnósticos y distintivos de la especie. Así mismo, se describe la distribución particular en la Isla de Tarifa, general en todo el mundo y notas sobre su ecología.

2.3 MATERIAL Y MÉTODOS

2.3.1 TRABAJO DE CAMPO

La recogida de las muestras se llevó a cabo en el punto más al sur de la Isla de Tarifa (Punta Marroquí, con 36°00'00.7"N, y 5°36'37.5"W). La amplitud del rango mareal en este lugar fue de aproximadamente unos 250 cm de altura (Fig. 2) considerándose a lo largo de dicho rango 5 cinturones de 0,5 metros cada uno para establecer la zonación de las algas intermareales y de los peracáridos asociados (cinturón 1, desde el nivel cero mareal hasta 0,5 m; cinturón 2, de 0,5 a 1,0 m; cinturón 3, de 1,0 a 1,5 m; cinturón 4, de 1,5 a 2,0 m y cinturón 5, de 2,0 a 2,5 m). Para establecer los diferentes cinturones se usó una regla, una escuadra y una cuerda. La primera altura se tomó a nivel 0 mareal, y el procedimiento se continuó hasta alcanzar una altura de 2,5 metros, coincidiendo con el límite superior de la comunidad intermareal (ver Fa *et al.*, 2002; Guerra-García *et al.*, 2006). En cada altura se tomaron tres réplicas, y de cada réplica se recogieron todos los especímenes de macroalgas y fauna asociada que quedaron delimitados por una cuadrícula con superficie de 20 x 20 cm mediante el raspado con una espátula.

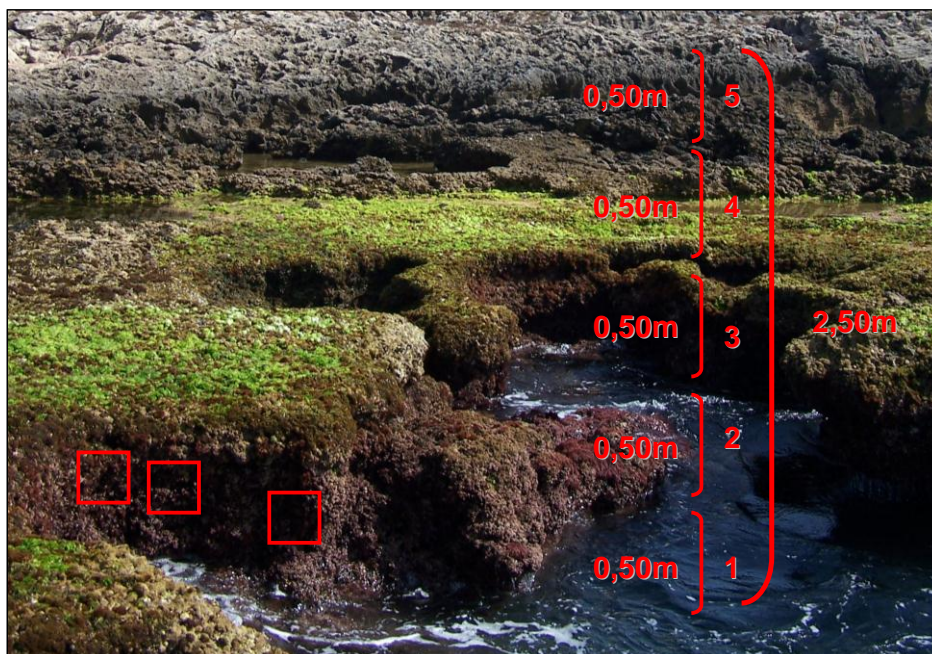


Figura 2. Esquema de la amplitud del rango intermareal. Delimitación de los 5 cinturones intermareales.

El muestreo se realizó cada dos meses en los diferentes cinturones intermareales, desde diciembre del 2005 hasta diciembre del 2007. En cada muestreo, se midió la temperatura del agua y la salinidad usando un conductímetro WTW LF-323.

2.3.2 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO

Las muestras se fijaron en etanol al 70-80%, se llevaron al laboratorio, y una vez allí se tamizaron con un tamiz de 0,5 mm de luz de malla para proceder a la separación de las distintas algas y de los peracáridos. Los peracáridos se contaron e identificaron hasta nivel de especie calculándose el número medio de individuos por m². Las macroalgas más abundantes de cada nivel se identificaron también hasta nivel de especie y la biomasa algal se expresó en gramos de peso seco por m² de superficie.

2.3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para cada uno de los cinco cinturones se calculó la media y la desviación estándar (DE) de la abundancia de peracáridos y la biomasa (peso seco) de las algas. La afinidad entre las muestras en base a la abundancia de macroalgas y peracáridos se estableció mediante un cluster usando el análisis de UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) y el índice de similaridad de Bray-Curtis. Las relaciones existentes entre las macroalgas y los peracáridos en cada cinturón intermareal a lo largo del periodo de estudio, fue explorado con un Análisis de Correspondencias Canónico (CCA). Los análisis multivariantes se llevaron a cabo usando el programa PRIMER (Clarke y Gorley, 2001) y el programa PC-ORD (McCune y Mefford, 1997).

2.4 RESULTADOS

2.4.1 PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

Los valores de salinidad permanecieron más o menos constantes (alrededor de 37psu) a lo largo de los dos años de muestreo. La temperatura del aire osciló entre 25 y 13 grados, mientras que la temperatura del agua se mantuvo tamponada entre 14,4 °C en febrero y 19,4 °C en agosto y octubre (Figura 3).

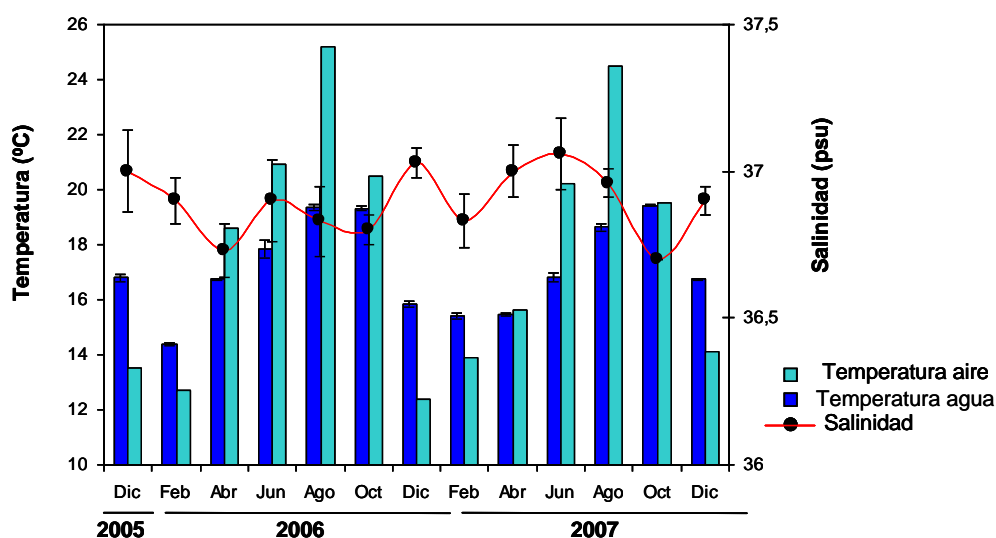


Figura 3.- Datos (Media \pm DE) de temperatura y salinidad en el área de estudio.

2.4.2 COMPOSICIÓN DE MACROALGAS POR CINTURÓN

El primer cinturón de 0-0,5 m, junto al nivel 0 de marea estuvo dominado por las algas rojas *Gelidium corneum* (Hudson) J.V. Lamouroux (= *G. sesquipedale*) y *Gymnogongrus patens* (Goodenough y Woodward) J. Agardh (Fig. 4). El cinturón 2 de 0,5 - 1 m estuvo constituido por algas de pequeño tamaño que constituían un césped formado por *Gelidium* y *Caulacanthus ustulatus* (Mertens ex Turner) Kützing, *Valonia utricularis* (Roth) C. Agardh, *Osmundea pinnatifida* (Hudson) Stackhouse (= *Laurencia pinnatifida*). Las algas coralíneas *Corallina elongata* J. Ellis y Solander y *Jania Rubens* (Linnaeus) J.V. Lamouroux dominaron el tercer cinturón de 1 a 1,5 m; el 4º cinturón estuvo dominado por las algas verdes: *Ulva rigida* C. Agardh y *Chaetomorpha aerea* (Dillwyn) Kützing, y *Fucus spiralis* Linnaeus fue la única especie que estuvo presente en el 5º cinturón (Fig. 4).

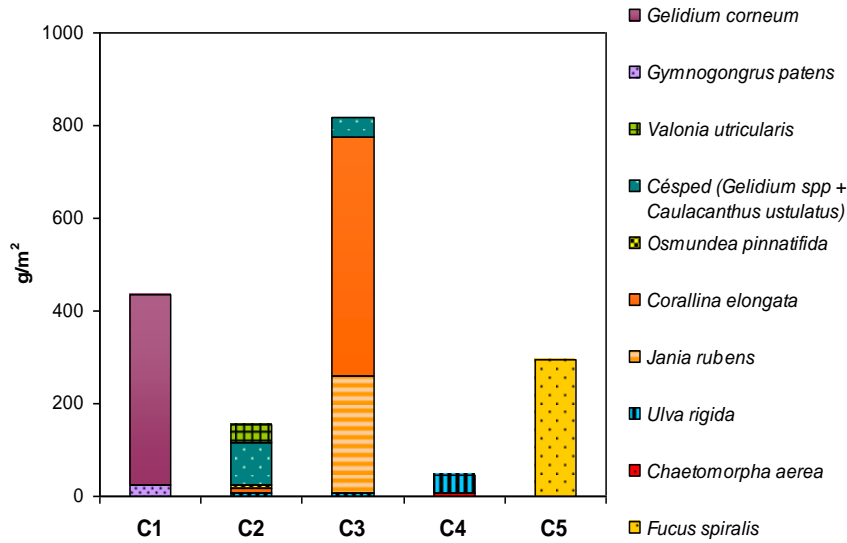


Figura 4. Composición algal en cada cinturón intermareal (C1-C5) y valor medio de biomasa (g/m²).

2.4.3 ABUNDANCIA ESTACIONAL DE MACROALGAS POR CINTURÓN

El tercer cinturón constituido por *Corallina elongata* y *Jania rubens* fue el cinturón que más contribuyó a la biomasa total algal con valores superiores a los 1500 g/m² durante el mes de abril, seguido por el primer cinturón con *Gelidium corneum* y el cuarto cinturón con las algas verdes (Figura 5). Los cinturones intermedios (2-4) mostraron los valores máximos de biomasa en abril-junio, mientras que el cinturón 1 y 5 mostraron los valores máximos entre junio y agosto. En cualquier caso, los datos obtenidos anualmente durante los dos años del estudio mostraron patrones similares, con altos valores de biomasa algal durante primavera y principios del verano, y bajos desde finales del verano hasta el invierno.

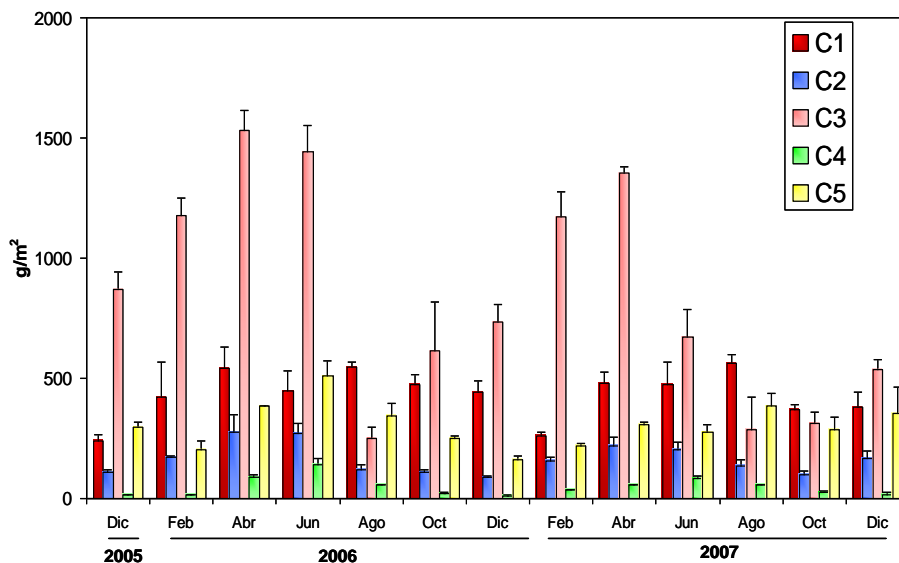


Figura 5.- Fluctuaciones estacionales de la biomasa algal (g/m²) en cada cinturón intermareal (C1-C5). Se representan los valores medios ± DE.

2.4.4 ABUNDANCIA ESPACIAL Y ESTACIONAL DE LAS PRINCIPALES ESPECIES DE MACROALGAS

Se encontró una estacionalidad en la biomasa algal muy marcada (Figura 6a,b). La mayoría de las especies mostraron sus mayores niveles de biomasa desde finales de la primavera hasta principios del verano. *Gelidium corneum* y *Gymnogongrus patens* del cinturón 1 (con

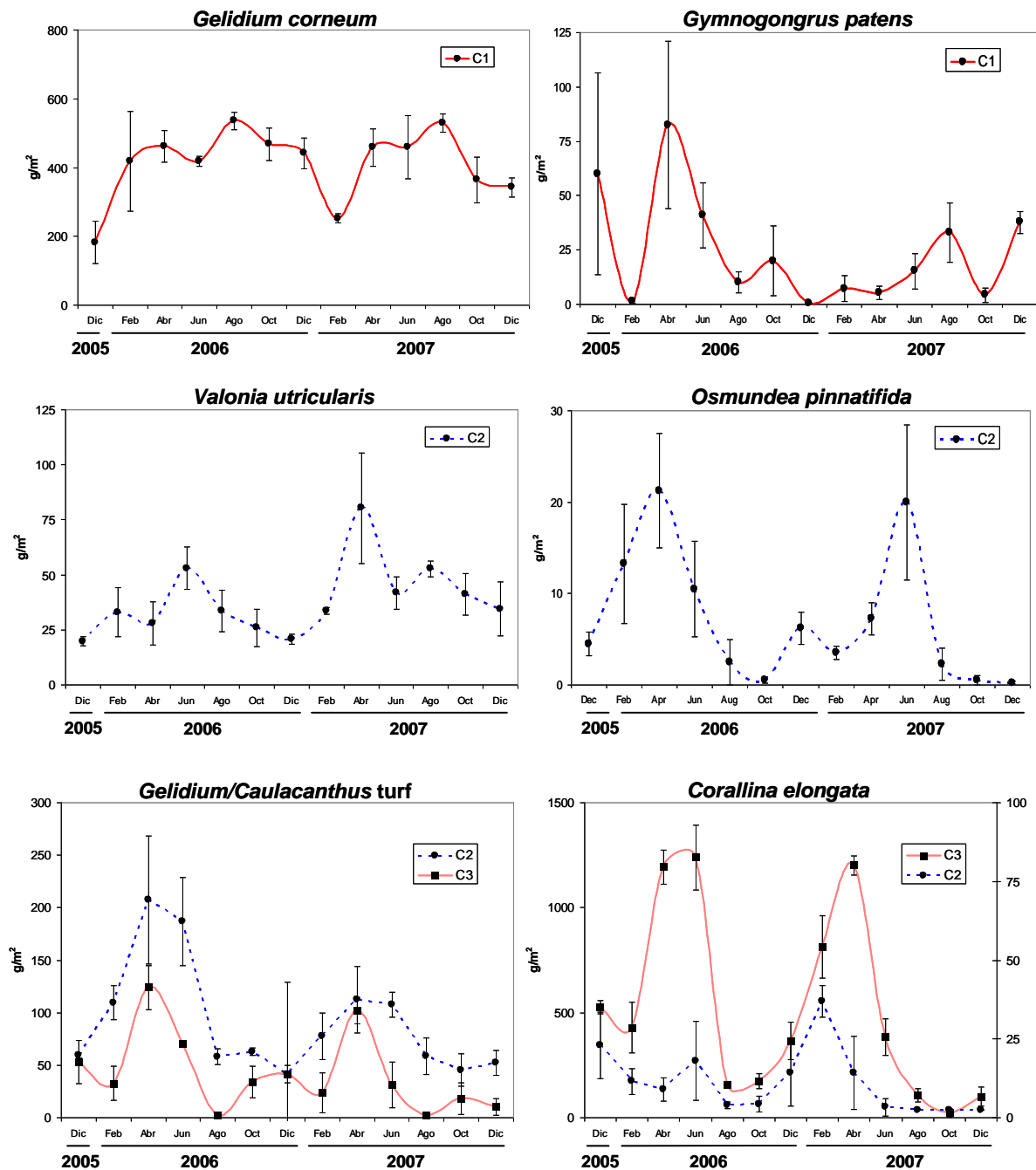


Figura 6a. Fluctuaciones estacionales de la biomasa algal (g/m²) de cada alga intermareal. C: Cinturón. Los valores representan la media \pm DE

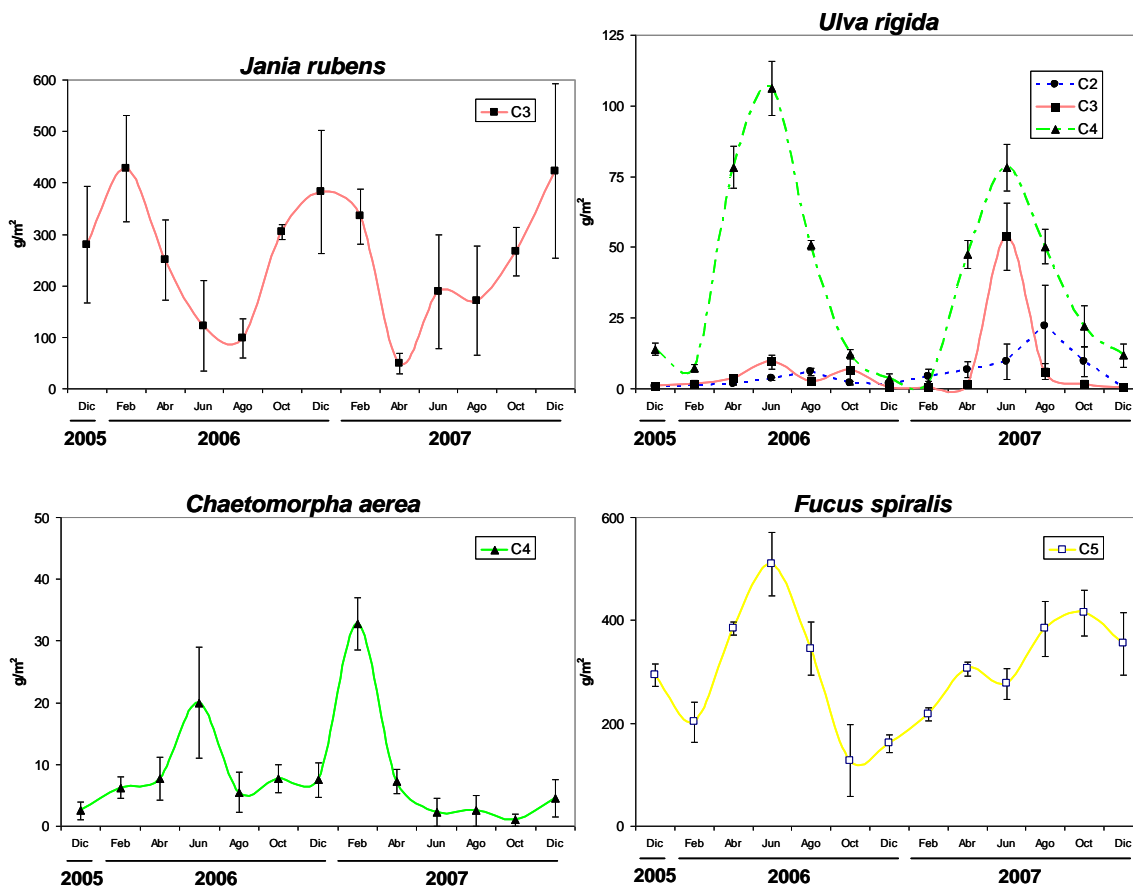


Figura 6b. Fluctuaciones estacionales de la biomasa algal (g/m^2) de cada alga intermareal. C: Cinturón. Los valores representan la media \pm DE

mayor influencia de la zona submareal) no mostró un patrón estacional claro: *G. corneum* presentó valores altos de biomasa en agosto y bajos en diciembre-febrero, mientras que *G. patens* se comportó irregularmente dependiendo del año (Figura 6a). Todas las algas dominantes del cinturón 2 (*V. utricularis*, *O. pinnatifida* y el césped de *Gelidium/Caulacanthus*) tuvieron picos de abundancia en abril-junio y mínimos en octubre-diciembre. *Corallina elongata* y *Jania rubens* de las plataformas pertenecientes al cinturón tres, mostraron un comportamiento opuesto: mientras que *C. elongata* presentó niveles de biomasa superiores a 1000 g/m^2 entre abril-junio y menores de 100 g/m^2 entre agosto-octubre-diciembre, la biomasa de *J. rubens* fue mayor en diciembre-febrero e inferior entre abril y agosto (Figura 6a,b). El alga verde *Ulva rigida* incrementó su biomasa a finales de la primavera y en verano, con valores máximos medidos en junio, mientras que durante el segundo año, los valores máximos fueron medidos en octubre (Figura 6b).

A pesar de la fluctuación obtenida para la mayoría de las especies, la composición de cada cinturón intermareal fue más o menos constante a lo largo de todo el año, tal y como se muestra en el análisis cluster basado en la biomasa algal (figura 7).

El índice de similitud de Bray Curtis mostró que los cinturones 1 y 5 fueron los más diferentes en comparación con los restantes cinturones, mientras que los cinturones 2 y 3 mostraron una similitud cercana al 30%.

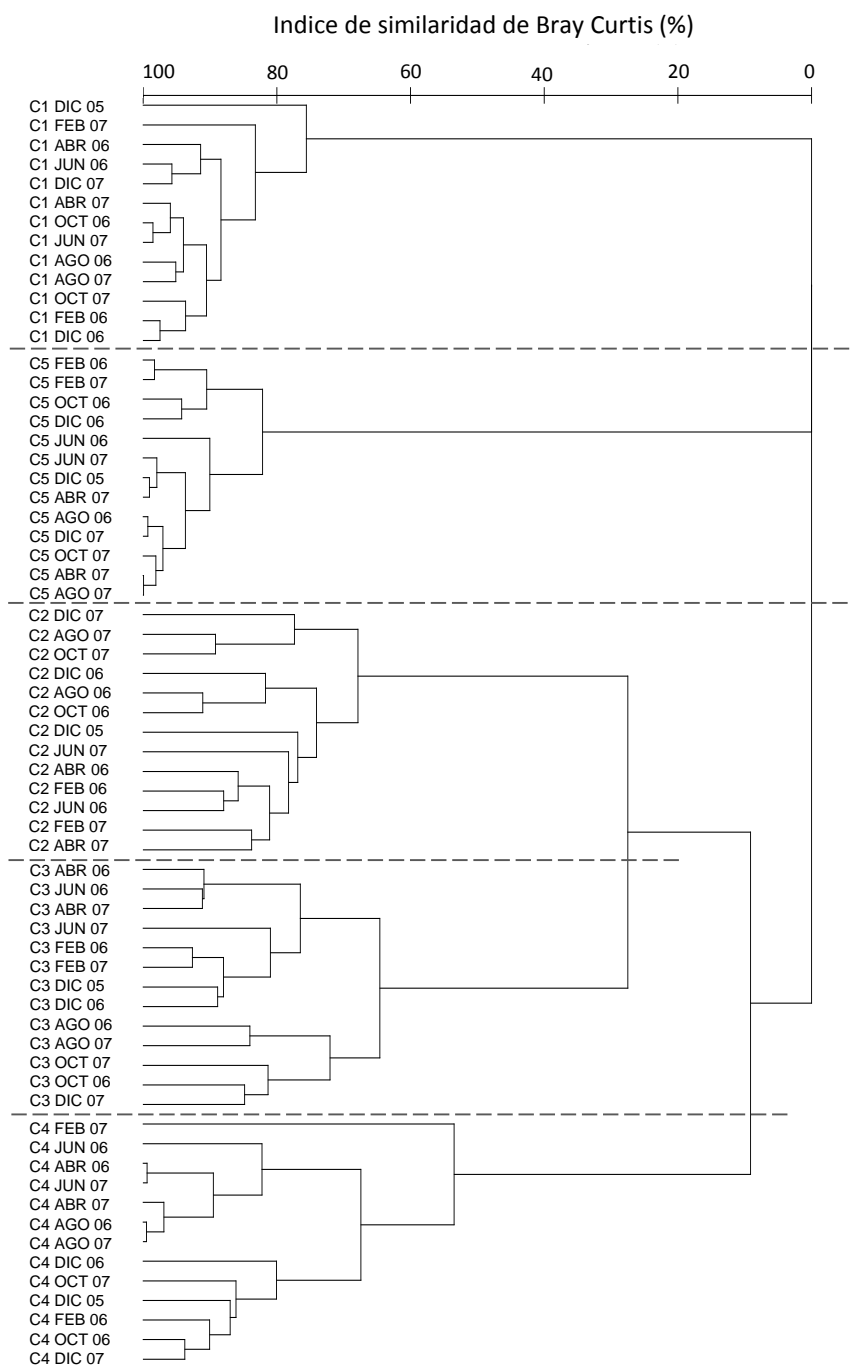


Figura 7. Dendrograma obtenido tras realizar el cluster a partir de la matriz de valores de biomasa algal. C= cinturón, DIC= diciembre, FEB= febrero, ABR= abril, JUN= junio, OCT= octubre, AGO= agosto.

2.4.5 COMPOSICIÓN TOTAL DE ANFÍPODOS Y OTROS PERACÁRIDOS

Al final de los dos años de muestreo se recolectaron un total de 25.749 individuos, comprendidos en 45 especies de peracáridos, pertenecientes a 3 órdenes: Amphipoda, Isopoda y Tanaidacea. Los anfípodos fueron los mejores representados en base al número total de especies (32) y al número de individuos (89% de la abundancia) seguido por los isópodos (11 especies y 11% de abundancia) y los tanaidáceos (2 especies y 1% de abundancia).

Dentro de los anfípodos, los gammáridos estuvieron representados por 27 especies y 15.688 individuos (68,5% de la abundancia, y los caprélidos por 5 especies con 7.227 individuos (31,5% de la abundancia) (Figura 8).

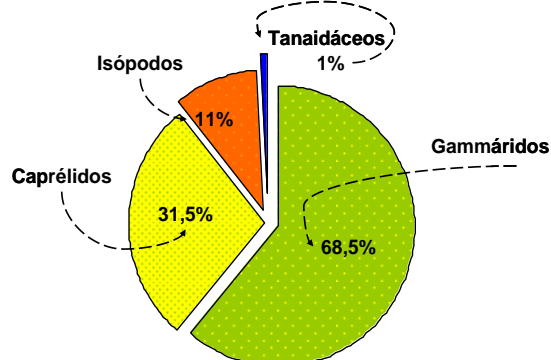


Figura 8. Representación de la abundancia de peracáridos totales.

2.4.6 DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE LOS PERACÁRIDOS EN LOS CINTURONES

En base a la distribución vertical, el mayor número de especies (31) se encontró en el cinturón 3, seguido del cinturón 1 (27 especies), cinturón 2 (25 especies), cinturón 4 (23 especies) y finalmente cinturón 5 con solo 9 especies de peracáridos (Tabla 1). El género *Hyale* y *Caprella*, fueron los géneros mejor representados en número de individuos a lo largo de todo el estudio. El cinturón 1 estuvo dominado por el caprélido *Caprella penantis* y el gammárido *Hyale schmidtii*, el cinturón 2 por el gammárido *Hyale stebbingi* y el isópodo *Ischyromene lacazei*, el cinturón 3 por el caprélido *Caprella grandimana* y el gammárido *Hyale stebbingi*, el cinturón 4 por *H. stebbingi*, y el cinturón 5 por *Hyale perieri*.

2.4.7 ABUNDANCIA ESTACIONAL DE LOS PERACÁRIDOS EN LOS CINTURONES

Las especies más abundantes, tales como *Hyale stebbingi*, *H. schmidtii*, *H. perieri*, *Stenothoe monoculoides*, *Caprella penantis*, *C. grandimana*, *Dynamene edwardsii* e *Ischyromene lacazei*, estuvieron presentes a lo largo de todo el año durante el 2006 y el 2007 (Tabla 1).

Las mayores abundancias de peracáridos se midieron entre los meses de abril-agosto (Fig. 9) coincidiendo con el mayor desarrollo de las algas al final de la primavera.

El cinturón 1 mostró valores máximos desde abril a junio, el cinturón 2 desde junio a agosto, el cinturón 3 y 4 en junio y el cinturón 5 en agosto. Los patrones de abundancias fueron muy similares en los dos años de estudio. Las fluctuaciones estacionales, claramente evidentes en términos de abundancia, no fueron tan claras en relación al número de especies (Fig. 9). El mayor número de especies en el cinturón 1 se midió durante el mes de agosto, en los cinturones 2, 3 y 4 alrededor de junio, y sin embargo el mayor número de especies en el cinturón 5 se registró en diciembre.

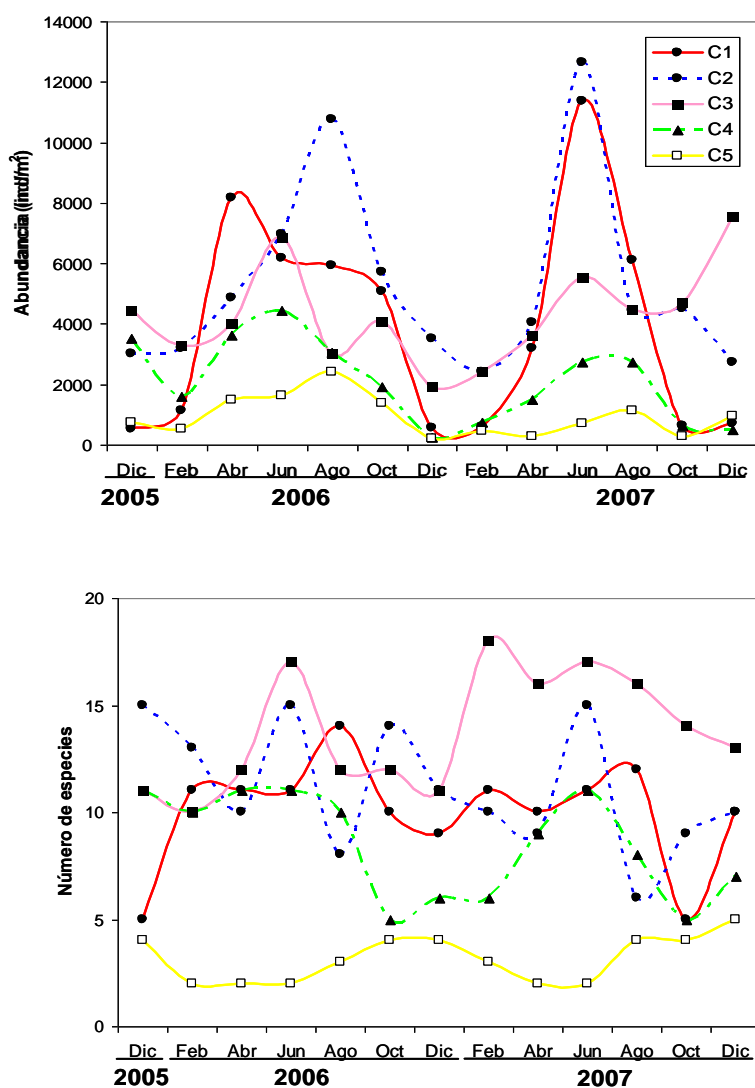


Figura 9. Fluctuaciones estacionales de la abundancia (ind/m^2) y el número de especies de peracáridos en cada cinturón intermareal. Los valores representan la media \pm DE.

2.4.8 ABUNDANCIA ESPACIAL Y TEMPORAL DE LAS PRINCIPALES ESPECIES DE PERACÁRIDOS

Las fluctuaciones estacionales de las especies más abundantes de cada cinturón se representan en las siguientes figuras. *Hyale perieri*, dominante en el cinturón 5, pero también en el cinturón 4 y 3, mostró densidades máximas en agosto del 2006 y del 2007, mientras que *H. schmidtii*, especialmente extendido en el cinturón 1 y 2, mostró las mayores abundancias en junio del 2006 y agosto del 2007 (Fig. 10).

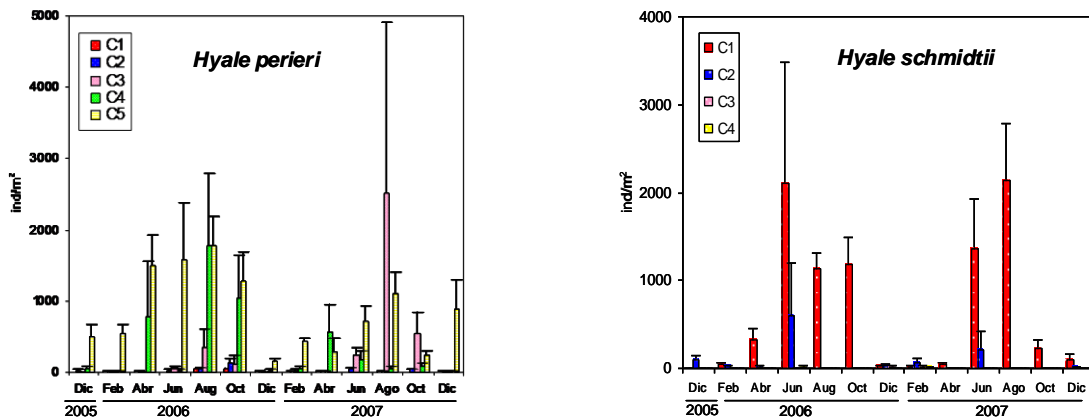


Figura 10. Fluctuación estacional de *H. perieri* e *H. schmidtii* (ind/m²). Media ± DE.

Hyale stebbingi mostró un comportamiento diferente dependiendo del cinturón; en el cinturón 2 los valores máximos se registraron en verano (junio-agosto) y en el cinturón 3 los valores máximos fueron medidos e invierno (diciembre-febrero) (Fig. 11).

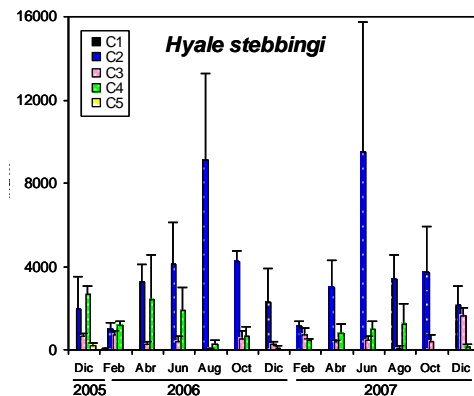


Figura 11. Fluctuación estacional de *H. stebbingi* (ind/m²). Media ± DE.

Caprella penantis, la especie dominante del cinturón 1, mostró densidades altas desde abril hasta agosto, mientras que *Caprella grandimana*,

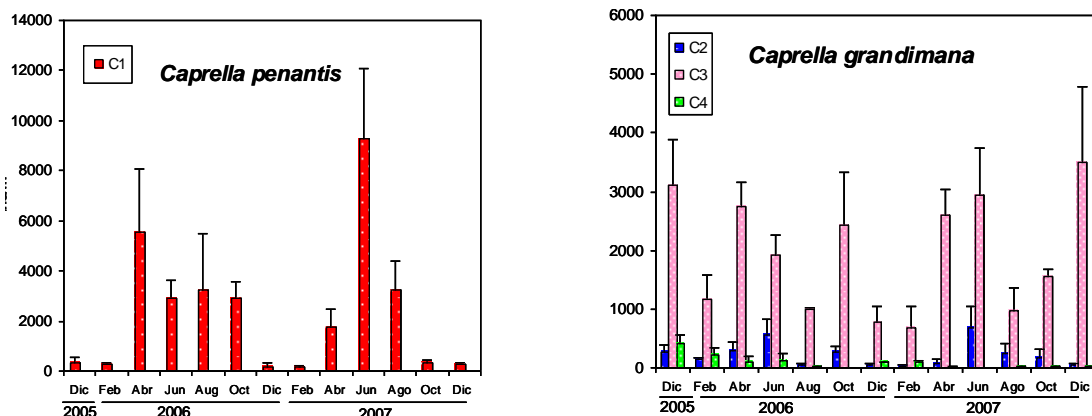


Figura 12. Fluctuación estacional de *C. penantis* y *C. grandimana* (ind/m²). Media ± DE.

la especie más común del cinturón 3, fue más abundante en diciembre (Fig. 12).

Los isópodos *Dynamene edwardsii* e *Ischyromene lacazei* no mostraron patrones claros, ambos tuvieron picos durante los meses de verano e invierno (Fig. 13).

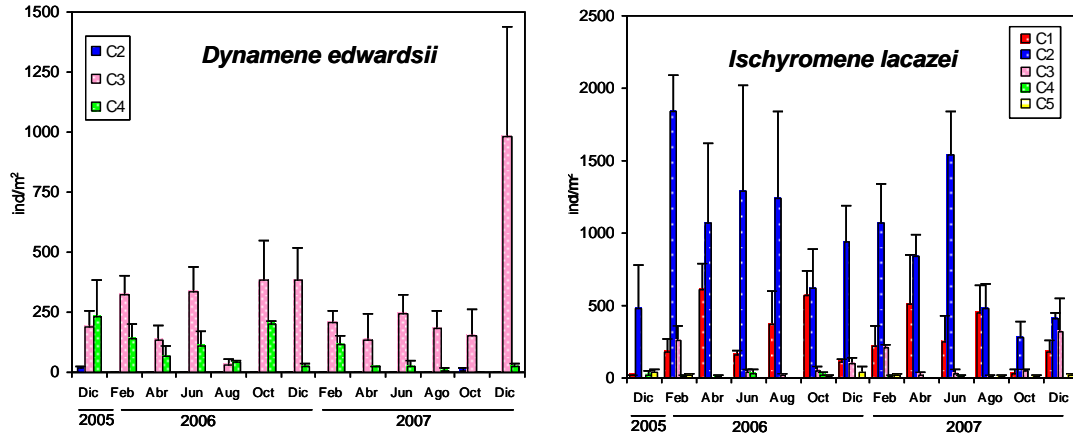


Figura 13. Fluctuación estacional de *D. edwardsii* e *I. lacazei* (ind/m²). Media ± DE.

En general, los peracáridos mostraron abundancias muy altas en primavera y principios del verano, al igual que ocurría con las macroalgas a las que se encuentran asociados. Sin embargo, los patrones de abundancia de los caprélidos del tercer cinturón y primero no siguieron un patrón tan evidente (Figura 14). *Caprella penantis* y *C. grandimana* fueron las dos especies de caprélidos más dominantes; *Caprella penantis* mostró claramente un patrón estacional de abundancia con un pico en abril y junio y unas densidades muy bajas en diciembre y febrero, mientras que las algas del cinturón 1 mantuvieron valores más o menos constantes durante todo el año (Figura 6a). *Caprella grandimana* mostró rangos de abundancias entre 1.000-4.000 ind/m² a lo largo de todo el año, sin embargo el alga *Corallina elongata* sufrió variaciones de su biomasa muy significativas (figura 6a).

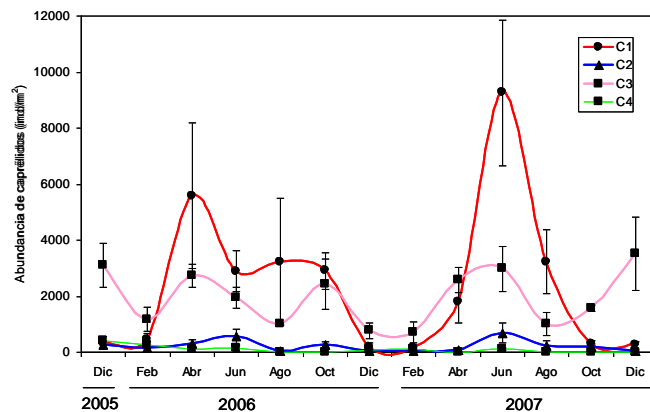


Figura 14. Fluctuaciones estacionales de la abundancia de caprélidos (ind/m²) en cada cinturón intermareal (C1-C4). No se encontraron caprélidos en C5. *Caprella penantis* se representa en el C1 y *C. grandimana* en el C3. Los valores son media ± DE.

2.4.9 ANÁLISIS MULTIVARIANTES

Los análisis de MDS (Figura 15) revelaron que las muestras se agrupaban de acuerdo a diferentes cinturones independientemente del periodo del año, señalando una composición muy constante a lo largo del gradiente vertical, desde el cinturón 1 (cercano a la zona submareal) hasta el 5 (cercana a la zona supralitoral). Los cinturones 1 y 5 presentaron la fauna de peracáridos más dispar, mientras que los cinturones 2, 3 y 4 presentaron más especies en común, estando más próximos en el MDS.

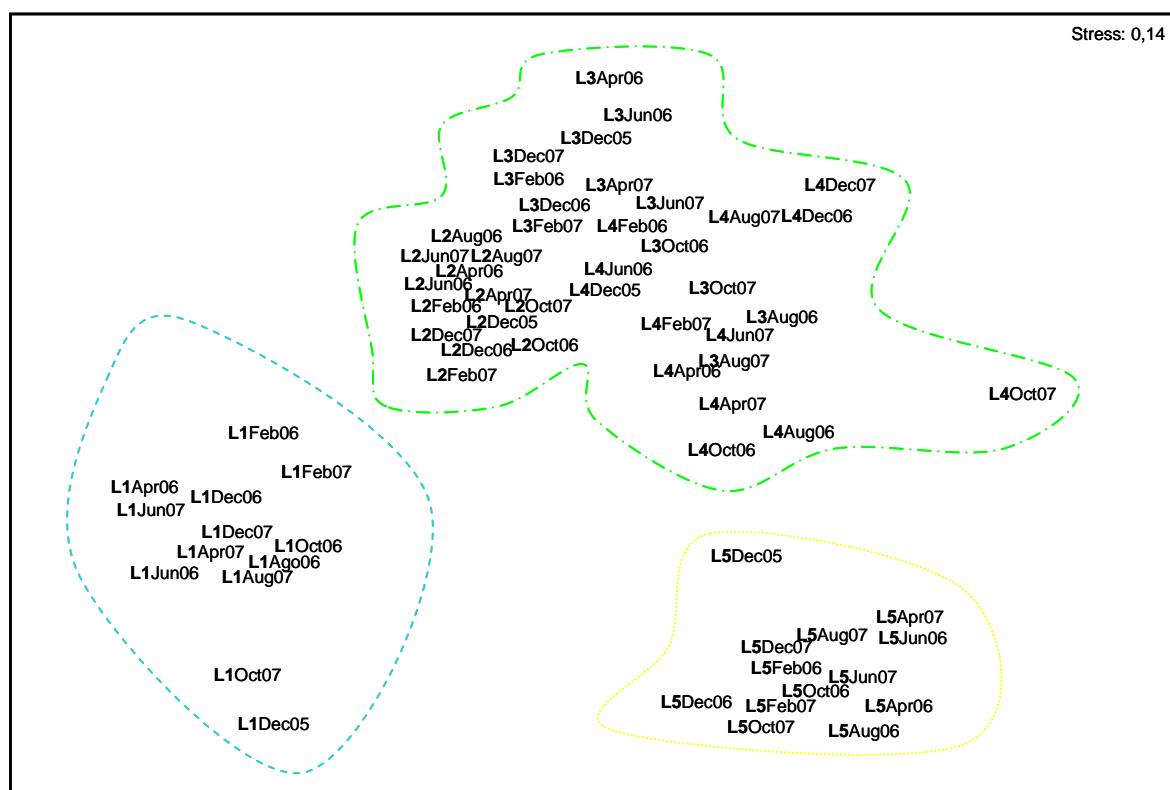


Figura 15. Análisis MDS en base a la matriz de datos de abundancia de peracáridos. L= cinturón, Dec= diciembre, Feb= febrero, Apr= abril, Jun= junio, Oct= octubre, AGO= agosto.

El eje 1 del análisis CCA absorbió el 20,2% del total de la varianza y se correlacionó negativamente principalmente con *G. corneum* y *G. patens* (Figura 16 y tabla 2). El eje 1 separó el cinturón 1, con mayor influencia de las olas, del resto de cinturones. Las especies tales como *Caprella penantis*, *C. equilibra*, *C. liparotensis*, *Ampithoe ramondi*, *Stenothoe dollfusi*, *Dynamene torelliae*, *Synisoma capito* y *Janira maculosa* estuvieron estrictamente asociados a las algas del cinturón 1, revelando que no pueden soportar un periodo de emersión muy largo. El segundo eje acumuló el 12,9% del total de la varianza y se correlacionó principalmente con *Corallina elongata* y *Jania rubens*, separando la fauna asociada de estas algas en el cinturón 3 del resto de cinturones.

Tabla 2. Resumen de los resultados del análisis CCA. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

	Eje 1	Eje 2	Eje 3
“Eigenvalue”	0.86	0.55	0.48
Correlación peracáridos-algas	0.99	0.89	0.94
Porcentaje de la varianza de especies	20.2	12.9	11.5
Correlación con algas			
<i>Gelidium corneum</i>	-0.99***	-	-
<i>Gymnogongrus patens</i>	-0.65**	-	-
<i>Valonia utricularis</i>	-	-0.56**	-
Césped	-	-0.48*	-
<i>Osmundea pinnatifida</i>	-	-0.3*	-
<i>Corallina elongata</i>	-	0.79***	-0.32*
<i>Jania rubens</i>	-	0.76***	-0.32*
<i>Ulva rigida</i>	0.24*	-	-
<i>Chaetomorpha aerea</i>	-	-	0.95***
<i>Fucus spiralis</i>	0.32*	-	-

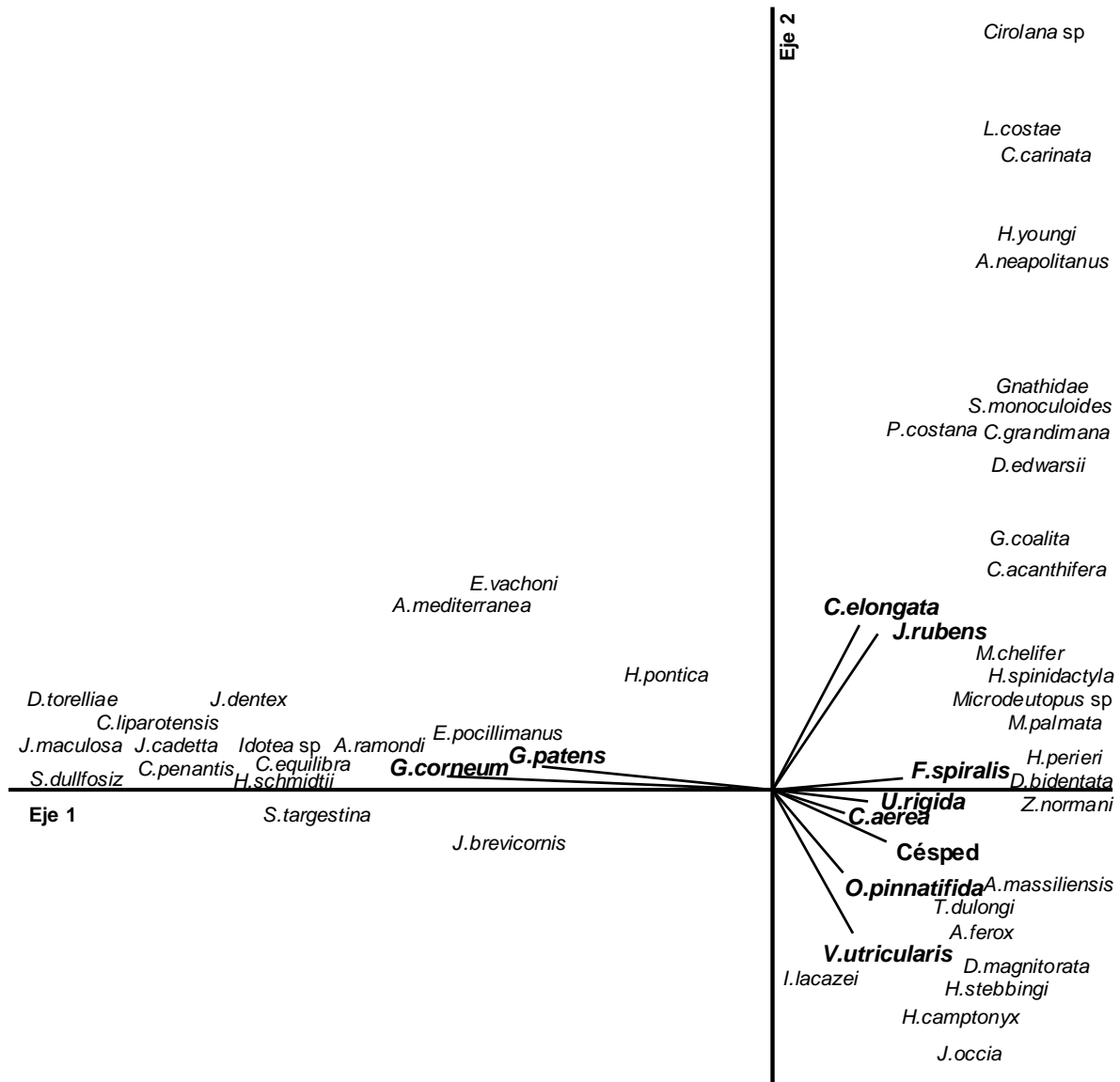


Figura 16. Representación gráfica de las especies de peracáridos y algas con respecto los dos ejes del Análisis de Correspondencias Canónico (CCA).

2.5 DISCUSIÓN

Las principales macroalgas intermareales de la Isla de Tarifa mostraron un comportamiento perenne. Las especies estuvieron presentes a lo largo de todo el año, aunque los valores máximos de biomasa se registraron a finales de primavera y principios del verano. Este comportamiento perenne probablemente fue el que favoreció que los crustáceos asociados también estuvieran presentes durante todo el año, y probablemente las variaciones cíclicas de los factores medioambientales tales como la temperatura del agua, la duración del fotoperiodo, y la acción de las olas fueron las que ocasionaron las fluctuaciones algales (Neto, 2000a). Las relaciones entre las condiciones medioambientales y la abundancia y fluctuación de las algas se ha debatido ampliamente, declarándose que los valores máximos de biomasa y crecimiento algal suelen coincidir con las aguas cálidas del verano y con una duración más larga de las horas de luz (Soeder y Stengel, 1974; Kautsky y van der Maarel, 1990; Neto, 2000a,b).

En el estudio realizado en la Isla de Tarifa, se observó que aunque las temperaturas más altas se registraron a finales del verano, los picos de biomasa algal se midieron más temprano (desde abril hasta junio) y a partir de agosto la mayoría de las algas dominantes sufrieron una disminución importante de su biomasa. Esto pudo estar ocasionado por las temperaturas extremas que se llegaron a registrar en el aire (ocasionalmente de 40°C) durante algunos días de julio y agosto (observaciones personales), las cuales fueron críticas para la mayoría de las algas. De hecho, las algas intermareales están periódicamente emergidas, expuestas al aire, donde experimentan una gran variedad de condiciones estresantes, incluyéndose la limitación de nutrientes, las altas temperaturas, la desecación y el estrés osmótico (Davinson y Pearson, 1996).

Connell (1972) en los años 70 sugirió el paradigma de que los límites de distribución de los organismos en los intermareales superiores se encontraban restringidos por factores físicos, mientras que los límites inferiores dependían de las interacciones biológicas. Neto (2000b) durante un estudio ecológico de las comunidades de algas intermareales en las Azores, encontró que en los niveles superiores mareales, los valores de biomasa más altos se registraban en invierno, donde la acción de las olas era mayor y la temperatura del aire menor, y lo contrario observó en los niveles inferiores con mayor biomasa en verano. Este estudio podría explicar los altos valores de biomasa de *Fucus spiralis* durante el invierno, localizado en los cinturones más altos de la zona de estudio.

Los intermareales bañados por aguas del Mar Mediterráneo, al igual que en nuestro estudio también presentaron los picos más altos de biomasa algal para la mayoría de las especies a finales de la primavera (Sala y Boudouresque, 1997). En la costa noroeste del Mar Amarillo, Zhuang *et al.* (2004) encontraron que los picos de biomasa algal se producían en agosto, mientras que la diversidad máxima de las especies se alcanzaba en abril. Neto (2000a) registró los mayores niveles de biomasa de *Ulva rigida* en el mes de verano.

Ballesteros (1998) encontró que *Corallina elongata* de los cinturones submareales de las costas Mediterráneas de España, mostraba su pico de biomasa hacia los meses de invierno, en vez de en primavera-verano como se midió en la Isla de Tarifa. Esto probablemente se encuentra directamente relacionado con los factores físicos que afectan a la zona del intermareal (como la desecación en verano, las fuertes tormentas invernales, los grandes rangos de temperatura entre el invierno y el verano, etc.) los cuales no afectan de forma tan directa al área submareal.

Gelidium corneum, una de las algas dominantes en Tarifa junto con *C. elongata*, está relacionada con áreas limpias no contaminadas, con baja carga sedimentaria y con alto grado de exposición, y puede ser considerada una buena especie indicadora de hábitats no perturbados (Gorostiaga *et al.*, 1998; Díez *et al.*, 1999, 2003). De hecho, la Isla de Tarifa, a diferencia de otras áreas contaminadas antropogénicamente del sur de España, se ha mantenido en un excelente estado de conservación. Anadón y Fernández (1986) midieron el pico de biomasa para esta especie durante primavera-verano en la costa norte de la Península Ibérica, obteniéndose los mismos resultados que el nuestro estudio. *G. corneum* es el principal material usado para la producción de agar en Marruecos, y la explotación de éste alga es una parte importante de la economía de ese país; sin embargo, la especie está en peligro de ser sobre-explotada (Mouradi-Givernaud *et al.*, 1999, Zidane *et al.*, 2006). Probablemente, la recolección de estas algas para propósitos de la industria debería de producirse durante los meses de verano, cuando el alga se encuentra más desarrollada, aunque su presencia se mantiene a lo largo de todo el año.

Las fluctuaciones estacionales de los peracáridos fue en términos generales coincidentes con la estacionalidad de las algas, mostrando mayores abundancias desde abril hasta agosto. Sin embargo, a pesar de la fuerte disminución de biomasa que se produjo en el cinturón 3 (a causa de *C. elongata* principalmente) durante el verano por las altas temperaturas, la densidad de peracáridos (principalmente representado por el caprélido *C. grandimana*) se mantuvo con valores constantes de 2.000 ind/m². Por otro lado, *Gelidium corneum* del cinturón 1 mantuvo sus valores de biomasa algal a lo largo de todo el año (200-500 g/m² aproximadamente) y sus peracáridos asociados, principalmente *Caprella penantis*,

mostraron fluctuaciones de más de 5000 ind/m² desde abril hasta octubre y menos de 500 ind/m² desde diciembre hasta febrero. Este patrón muestra que la densidad de crustáceos asociados en las algas del intermareal, no sólo depende de la distribución y disponibilidad de las algas como sustrato, sino que también depende de factores externos, tales como el hidrodinamismo, el oxígeno, las condiciones climáticas, la competencia, herbivoría o la depredación (Araújo *et al.*, 2005).

Prathep *et al.* (2003), durante un estudio temporal y espacial sobre la acumulación de sedimentos en los céspedes de algas, y su impacto sobre la fauna asociada, encontró que la mayoría de los organismos se veían muy influenciados por la acumulación de los sedimentos, y los cambios temporales en el césped. Posiblemente, el cinturón 1, muy cercano al cinturón submareal, se encuentra más expuesto a la acción de las olas, y es más sensible a las tormentas invernales, afectando negativamente a las poblaciones de *C. penantis*, por lo que se reduce su densidad durante los meses de invierno. Por el contrario, *C. grandimana* perteneciente al cinturón 3, es capaz de mantener altas densidades en la plataforma de *Corallina elongata* a pesar de la elevada desecación producida durante los meses de verano por las altas temperaturas. El hecho de que *C. grandimana* no sufriera una variación tan brusca de su abundancia durante los meses de verano pudo deberse a la presencia del alga *J. rubens* en el cinturón 3, la cual presentaba picos de biomasa en verano justo cuando la biomasa de *C. elongata* disminuía. Este comportamiento particular de *J. rubens* con picos de biomasa diferentes a la mayoría del resto de algas (posiblemente para evitar la competencia) podría contribuir positivamente al mantenimiento de las poblaciones de crustáceos y también de caprélidos en el cinturón 3 durante todo el año, incluso cuando la biomasa de *C. elongata* se veía fuertemente disminuida en los meses de agosto a diciembre.

Aunque el gammárido *Hyale perieri*, y el isópodo *Dynamene bidentata* se distribuyeran por todos los cinturones intermareales, fueron los más abundantes en el cinturón 5 asociados a *F. spiralis*. Estas dos especies probablemente son las más resistentes ante la desecación durante la marea baja, de forma que pueden evitar la competencia y la depredación de otras áreas. Curiosamente, en un estudio de Viejo y Arrontes (1992), se encontró que la actividad alimenticia del isópodo *D. bidentata* se veía beneficiada por la actividad del gammárido *H. nilssoni*, que proporcionaba una superficie de alimentación adecuada en *Fucus vesiculosus*. Lo mismo podría estar ocurriendo en la Isla de Tarifa entre *H. perieri*, *D. bidentata* y el alga *F. spiralis*.

Según McBane y Croker (1983) determinadas especies tienden a vivir entre las algas de los niveles superiores intermareales para evitar la depredación, sobre todo de los peces y los cangrejos. De hecho, el género *Hyalé* se encuentra muy bien adaptado a vivir entre las algas de los niveles intermareales superiores (Tararam *et al.*, 1986; Baldinger y Gable, 1995). Chavanich y Wilson (2000) también sugirieron que *H. nilssonii* podría distribuirse en los niveles superiores gracias a su capacidad de tolerar la desecación y así evitar la competencia por el espacio o por la comida en niveles inferiores.

En la Isla de Tarifa, como hemos observado, la mayoría de las especies mostraron sus picos de abundancia desde abril hasta agosto. En relación al número de especies en cada cinturón, los valores mayores se obtuvieron en el cinturón 1 en agosto, en los cinturones 2,3, y 4 alrededor de junio, y en el cinturón 5 al contrario que en los demás en diciembre. El hecho de que esto ocurra puede deberse a que durante los meses de invierno se produce la llegada de algunas especies adyacentes del cinturón 4, donde las algas casi desaparecen durante los meses de invierno, y las especies asociadas se ven obligadas a migrar del cinturón 4 al cinturón 5 durante el periodo desfavorable.

Por otro lado, encontramos que *Hyalé stebbingi* se comportó de diferente forma dependiendo del cinturón en el que se distribuía; en el cinturón 2 los mayores valores de abundancia fueron en verano (junio-agosto) mientras que en el cinturón 3 los mayores valores fueron en invierno (diciembre-febrero). Las algas del cinturón 3 (principalmente *C. elongata*) sufren un fuerte descenso de su biomasa en agosto, mientras que en invierno la biomasa es todavía relativamente alta. En el cinturón 2 al contrario que en el 3 se mantiene considerablemente la biomasa durante el mes de agosto y probablemente *H. stebbingi* se distribuye en este cinturón disminuyendo el número de individuos en el cinturón 3 durante el verano, y por tanto se ve directamente afectada por la fluctuación de su sustrato. De hecho, Ingólfsson y Agnarsson (2003) estudiaron que muchas especies de peracáridos se desplazaban de las respectivas zonas que ocupaban durante la marea baja, y que algunas especies como los anfípodos *Anonyx sarsi*, pueden ser muy comunes en todos los cinturones durante la marea alta, pero luego ausentarse de la franja intermareal durante la marea baja.

En el estudio de la Isla de Tarifa realizado durante la bajamar se obtuvo una composición bastante estable de cada cinturón a lo largo de los dos años de muestreo. A pesar de que algunas especies mostraran una fluctuación muy marcada en términos de abundancia, la zonación vertical se mantuvo a lo largo de todo el año. Esta estabilidad de la composición de los peracáridos ya se había observado anteriormente en las comunidades

de fondos blandos (Moreira *et al.*, 2008a, b) pero muy pocos estudios se habían realizado en los litorales intermareales rocosos.

Atendiendo a los patrones biogeográficos de los peracáridos intermareales asociados a las principales macroalgas, Guerra-García *et al.* (2009b) realizaron un estudio de los peracáridos asociados al alga *Corallina elongata* en el lado norte y sur del Estrecho de Gibraltar, y obtuvieron un total de 45 especies, la mayoría de ellas presentes también en la Isla de Tarifa. Pereira *et al.* (2006) realizaron un estudio de la fauna de peracáridos intermareales a lo largo de la costa Portuguesa (costa Atlántica de la Península Ibérica) y documentaron un total de 57 taxones. Aunque algunas especies fueron comunes en Portugal y la Isla de Tarifa, tales como los anfípodos *Caprella penantis*, *Stenothoe monoculoides*, *Hyale stebbingi*, *H. schmidtii*, *H. perieri*, el isópodo *Dynamene bidentata* y el tanaidáceo *Tanais dulongii*, otras especies fueron diferentes. El anfípodo *Amphitholina cuniculus*, *Amphithoe gammaroides*, *Microprotopus longimanus* y el isópodo *Dynamene magnitorata* y *Cymodoce truncata*, fueron muy abundantes a lo largo de la Costa Atlántica de la Península Ibérica, pero estuvieron ausentes o fueron muy poco abundantes en el Estrecho de Gibraltar. Por el contrario, el anfípodo *Apherusa mediterranea*, *Melita palmata*, *Stenothoe tergestina*, *Caprella grandimana*, y el isópodo *Dynamene edwardsi*, fueron especies muy dominantes en el Estrecho de Gibraltar, pero estuvieron ausentes a lo largo de la costa Atlántica. Las especies *Hyale spinidactyla* e *Hyale cf youngi* sólo habían sido encontradas con anterioridad en el Océano Atlántico, y la especie *Jassa cadetta* sólo había sido referenciada en el norte del Mar Adriático obteniéndose así nuevas citas de éstas especies (Krapp-Schickel *et al.*, 2010). Este tipo de estudios faunísticos son básicos para realizar correctamente futuros estudios biogeográficos. Un previo y correcto conocimiento de las especies que habitan un área es esencial para llevar a cabo estudios ecológicos y experimentales con rigor.

Encontrar series de datos centrados en literatura ecológica a lo largo de varios años es muy difícil ya que son estudios muy costosos, que conllevan mucho tiempo, y a menudo imposibles de realizar (Simkanin *et al.*, 2005). Sin embargo, el conocimiento de las variaciones de las algas y de su macrofauna asociada es esencial para futuros estudios de monitorización, y conservación, y para el correcto manejo y toma de decisiones especialmente en zonas protegidas tales como la Isla de Tarifa en el Estrecho de Gibraltar. El estudio realizado constituye la primera base de datos de las fluctuaciones de los peracáridos de los intermareales rocosos del Estrecho de Gibraltar, una de las regiones biogeográficas más interesantes entre el Atlántico y el Mediterráneo. El resultado del estudio indica que la distribución de los peracáridos intermareales del Estrecho de Gibraltar muestra

una clara zonación mareal. La mayoría de las especies se reproducen continuamente durante todo el año, y sus fluctuaciones estacionales (con picos de abundancia entre abril-agosto) están directamente relacionados a la fluctuación de las principales macroalgas a las que se encuentran asociados. En cualquier caso, es necesario llevar a cabo futuros estudios experimentales para llegar a conocer cómo afectan otros factores tales como la competencia, la depredación, y las condiciones climáticas que también influyen en la zonación de los peracáridos y en sus cambios de abundancia estacional.

2.6 BIBLIOGRAFÍA

- Alfonso MI, Bandera E, López-González PJ y García-Gómez JC (1998) The cumacean community associated with a seaweed as a bioindicator of environmental conditions in the Algeciras Bay (Strait of Gibraltar). *Les Cahiers de Biologie Marine*, 39: 197-205.
- Anadón R y Fernández C (1986) Comparación de tres comunidades de horizontes intermareales con abundancia de *Gelidium latifolium* (Greuz.) Born. et Tour. en la costa de Asturias (N de España). *Investigaciones Pesqueras*, 50: 353-366.
- Araújo R, Bárbara I, Sousa-Pinto I y Quintino V (2005) Spatial variability of intertidal rocky shore assemblages in the northwest coast of Portugal. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 64: 658-670.
- Arrontes J y Anadón R (1990) Seasonal variation and population dynamics of isopods inhabiting intertidal macroalgae. *Scientia Marina*, 54: 231-240.
- Baldinger AJ y Gable MF (1995) The occurrence of amphipods and other peracarid crustaceans in the rocky littoral zone of Bermuda. *Polskie Arch. Hydrobiol.*, 42: 431-439.
- Ballesteros E (1988) Composición y estructura de la comunidad infralitoral de *Corallina elongata* Ellis y Solander, 1786, de la Costa Brava (Mediterráneo occidental). *Investigaciones Pesqueras*, 52: 135-151.
- Bolton JJ, Leliaert F, De Clerck O, Anderson RJ, Stegenga H, Engledow HE y Coppejans E (2004) Where is the western limit of the tropical Indian Ocean seaweed flora? An analysis of intertidal seaweed biogeography on the east coast of South Africa. *Marine Biology*, 144: 51-59.
- Buschmann AH (1990) Intertidal macroalgae as refuge and food for Amphipoda in Central Chile. *Aquatic Botanic*, 36:237-245.
- Castelló J y Carballo JL (2001) Isopod fauna, excluding Epicaridea, from the Strait of Gibraltar and nearby areas (Southern Iberian Peninsula). *Scientia Marina*, 65: 221-241.
- Chavanich S y Wilson KA (2000) Rocky intertidal zonation of gammaridean amphipods in Long Island Sound, Connecticut. *Crustaceana*, 73: 853-846.
- Clarke KR y Gorley RN (2001) Primer (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: User Manual /Tutorial. PRIMER-E Ltd., Plymouth
- Connell JH (1972) Community interactions on marine rocky intertidal shores. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3: 169-192.
- Conradi M, López-González PJ y García-Gómez JC (1997) The amphipod community as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula) based on a spatio-temporal distribution. P. S. Z. N. *Marine Ecology*, 18: 97-111.

- Davison IR y Pearson GA (1996) Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology*, 32: 197-211
- Díez I, Secilla A, Santolaria A y Gorostiaga JM (1999) Phytobenthic intertidal community structure along an environmental pollution gradient. *Marine Pollution Bulletin*, 38: 463-472.
- Díez I, Santolaria A y Gorostiaga JM (2003) The relationship of environmental factors to the structure and distribution of subtidal seaweed vegetation of the western Basque coast (N Spain). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 56: 1041-1054.
- Fa DA, Finlayson C, García-Adiego E, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2002) Influence of some environmental factors on the structure and distribution of the rocky shore macrobenthic communities in the Bay of Gibraltar: preliminary results. *Almoraima*, 28: 73-88.
- García-Gómez JC, Corzo JR, López-Fe CM, Sánchez-Moyano JE, Corzo M, Rey J, Guerra-García JM, y García-Asencio IM (2003) Metodología cartográfica submarina orientada a la gestión y conservación del medio litoral: mapa de las comunidades bentónicas del frente litoral norte del Estrecho de Gibraltar. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 149-163.
- Gorostiaga JM, Santolaria A, Secilla A y Díez I (1998) Sublittoral benthic vegetation of the eastern Basque coast (N. Spain): Structure and environmental factors. *Botanica Marina*, 41: 455-465.
- Guerra-García JM (2001) Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia*, 55: 27-38.
- Guerra-García JM y García-Gómez JC (2000) La fauna submarina de la Isla de las Palomas (Tarifa, Cádiz). Temas de Flora, Fauna y Ecología del Campo de Gibraltar. *Cuadernos del Instituto II, Campo de Gibraltar*, 7-17.
- Guerra-García JM y Takeuchi I (2002) The Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa, with the description of three species of Caprella, a key to species of Caprella and bibliographical discussion. *Journal of Natural History*, 36: 675-713.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2000) Redescription of *Caprella hirsuta* Mayer, 1890 (Crustacea, Amphipoda, Caprellidea) from the Strait of Gibraltar. *Miscellánea Zoológica*, 23: 69-78.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2001) Two new hairy species of Caprella (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar, with a redescription of *Caprella grandimana*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(4): 1014-1030.
- Guerra-García JM, Maestre MJ, Gozález AR, y García-Gómez JC (2006) Assessing a quick monitoring method using rocky intertidal communities as a bioindicator: a multivariate approach in Algeciras Bay. *Environmental Monitoring and Assessment*, 116: 345-361.
- Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Espinosa F y García-Gómez JC (2009) Is the north of the Strait of Gibraltar more diverse than the South side? A case study using the intertidal

peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(2): 387-397.

Hsü KJ, Ryan WBF y Cita M (1973) Late Miocene desiccation of the Mediterranean. *Nature*, 242: 240-244.

Ingólfsson A y Agnarsson I (2003) Amphipods and isopods in the rocky intertidal: dispersal and movements during high tide. *Marine Biology*, 143: 859-866.

Jimeno A y Turón X (1995) Gammaridea and Caprellidea of the northeast coast of Spain: Ecological distribution on different types of substrata. *Botanica Marina*, 42: 495-516.

Kautsky H, y Van der Maarel E (1990) Multivariate approaches to the variation in phytobenthic communities and environmental vectors in the Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 60: 169-184.

Krapp-Schickel T (1993) Suborder Caprellidea. 773-809 in S.Ruffo, ed. *The Amphipoda of the Mediterranean*. Mémoires de l'Institut Oceanographique, Monaco 13.

Lewis JR (1964) *The Ecology of Rocky Shores*. English Universities Press Ltd, London.

McBane CD y Croker RA (1983) Animal-algal relationships of the amphipod *Hyale nilsooni* (Rathke) in the rocky intertidal. *Journal of Crustacean Biology*, 3: 592-601.

McCune B y Mefford MJ (1997) PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. MJM Software Design, Gleneden Beach, 77 pp.

Moreira J, Gestoso L y Troncoso JS (2008a) Diversity and temporal variation of peracarid fauna (Crustacea: Peracarida) in the shallow subtidal of a sandy beach: Playa America (Galicia, NW Spain). *Marine Ecology*, 81: 1069-1089

Moreira J, Lourido A y Troncoso JS (2008b) Diversity and distribution of peracarid crustaceans in shallow subtidal soft bottoms at the Ensenada de Baiona (Galicia, NW Spain). *Crustaceana*, 81: 1069-1089.

Morgan NHW y Mathieson AC (1983) Intertidal macroalgae and macroinvertebrates: seasonal and spatial abundance patterns along an estuarine gradient. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 16: 113-129.

Mouradi-Givernaud A, Hassani LA, Givernaud T, Lemoine Y y Benharbet O (1999) Biology and agar composition of *Gelidium sesquipedale* harvested along the Atlantic coast of Morocco. *Hydrobiologia* 399: 391-395.

Neto A (2000a) Observations on the biology and ecology of selected macroalgae from the littoral of São Miguel (Azores). *Botanica Marina*, 43: 483-498.

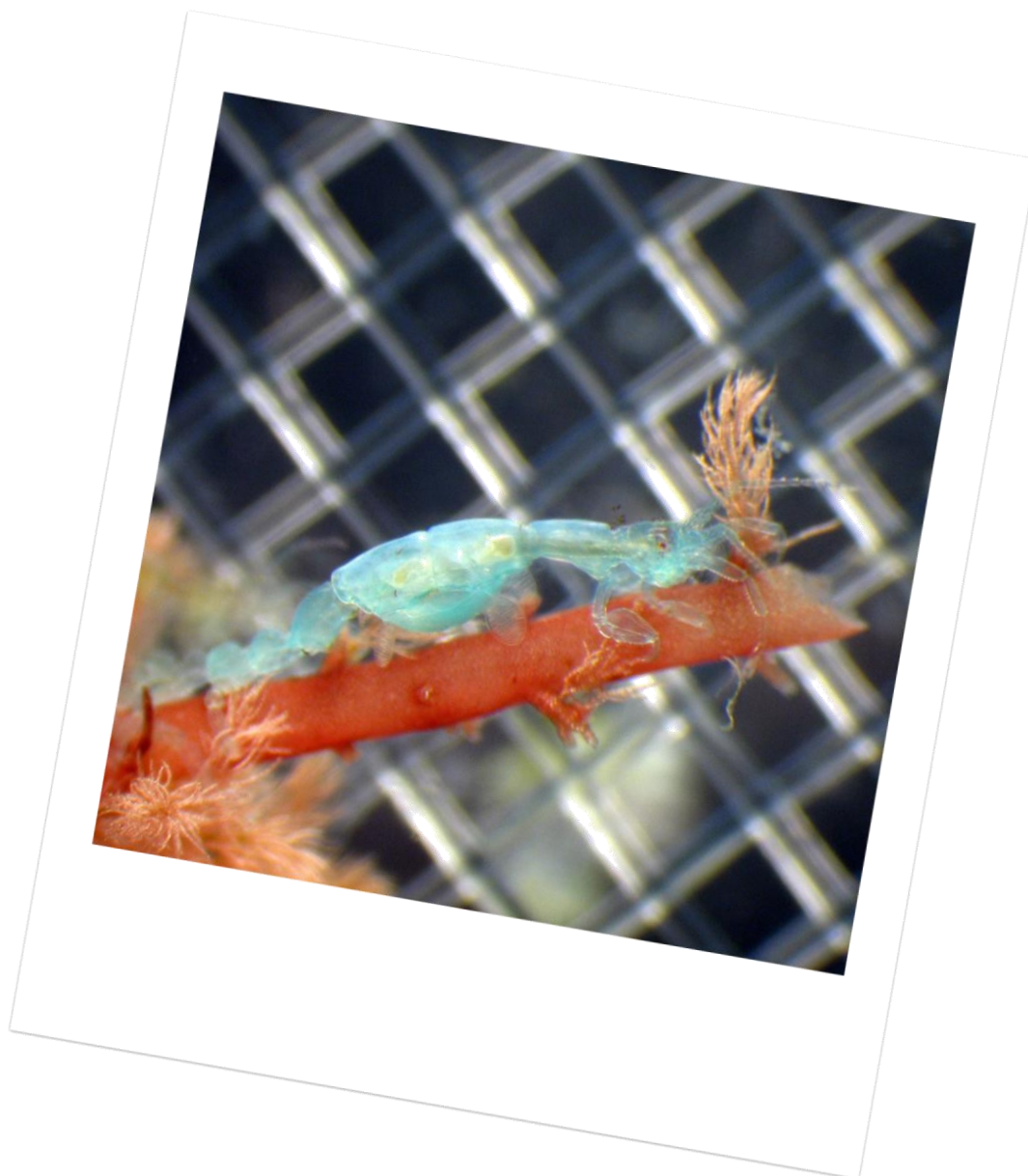
Neto A (2000b) Ecology and dynamics of two intertidal algal communities on the littoral of the island of São Miguel (Azores). *Hydrobiologia*, 432: 135-147.

- Pedersén M y Snoeijs P (2001) Patterns of macroalgal diversity, community composition and long-term changes along the Swedish west coast. *Hydrobiologia*, 459: 83-102.
- Pereira SG, Lima FP, Queiroz NC, Ribeiro PA, y Santos AM (2006) Biogeographic patterns of intertidal macroinvertebrates and their association with macroalgae distribution along the Portuguese coast. *Hydrobiologia*, 555: 185-192.
- Prathep A, Marrs RH y Norton TA (2003) Spatial and temporal variations in sediment accumulation in an algal turf and their impact on associated fauna. *Marine Biology* 142: 381-390.
- Sala E y Boudouresque CF (1977) The role of fishes in the organization of a Mediterranean sublittoral community. I: Algal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 212: 25-44.
- Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially Crustacea, as a bioindicador in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *Journal of Coastal Research*, 14: 1119-1133.
- Sánchez-Moyano JE, García-Asencio EM y García-Gómez JC (2007) Effects of temporal variation of the seaweed *Caulerpa prolifera* cover on the associated crustacean community. *Marine Ecology*, 28: 324-337.
- Sanz C, Estacio FJ, Sánchez-Moyano JE y Carballo JL (1994) Tanaidáceos de la Bahía de Algeciras (Mediterráneo occidental). Actas VIII Simposio Ibérico de Estudios del Bentos Marino, Blanes, España, 21-26 Febrero 1994. Barcelona: Publicaciones UB, pp. 356-357.
- Simkanin C, Power AM, Myers A, McGrath D, Southward A, Mieskowska N, Leaper R y O'Riordan R (2005) Using historical data to detect temporal changes in the abundance of intertidal species on Irish shores. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85: 1329-1340.
- Soeder C y Stengel E (1974) Physico-chemical factors affecting metabolism and growth rate. In Stewart, WDP y Pierce CE [Eds.] *Algal Physiology and Biochemistry*. Blackwell, Oxford, UK, pp. 714-740.
- Stephenson TA y Stephenson A (1972) Life between tidemarks on rocky shores. Freeman WH and Company, San Francisco.
- Tararam AS, Wakabara Y y Leite FPP (1986) Vertical distribution of amphipods living on algae of a Brazilian intertidal rocky shore. *Crustaceana*, 51: 183-187.
- Underwood AJ (1981) Structure of a rocky intertidal community in New South Wales: patterns of vertical distribution and seasonal changes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 51 : 57-85.
- Viejo RM y Arrontes J (1992) Interactions between mesograzers inhabiting *Fucus vesiculosus* in northern Spain. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 162: 97-111.

Zhuang SH, Chen LX, Zhang y Cao YD (2004) Seasonality of macroalgal assemblages in a wave-eroded intertidal granite shore at Chengshan Cape, on the northwest coast of the Yellow Sea. *Hydrobiologia*, 529: 145-156.

Zidane H, Orbi A, Sqalli N, Zidane F, Talbaoui M, Hasnaoui M y Fakhaoui M (2006) Survey of the cycle of reproduction of red algae *Gelidium sesquipedale* (Turner) Thuret (case of the maritime zone of El Jadida-Jarf Lasfer of Morocco. *Environmental Technology*, 27: 993-943.

CAPÍTULO 3



CICLOS DE VIDA BAJO CONDICIONES DE LABORATORIO DE LOS CAPRÉLIDOS DEL ESTRECHO DE GIBRALTAR

PARTE 1



**ESTUDIO DEL CICLO DE VIDA,
EN CONDICIONES DE LABORATORIO,
DE LOS PRINCIPALES CAPRÉLIDOS DE LA ISLA DE
TARIFA:**

***CAPRELLA GRANDIMANA* Y *CAPRELLA PENANTIS*
(CRUSTACEA: AMPHIPODA)**

3.1 RESUMEN

El ciclo de vida de 112 juveniles procedentes de 26 hembras ovígeras de *Caprella grandimana* (*Amphipoda*, *Crustacea*) y 202 juveniles de *C. penantis* procedentes de 19 hembras recogidas en la Isla de Tarifa, Sur de España, se estudiaron por primera vez en condiciones de laboratorio a 17°C, y 12 h de luz, 12 h de oscuridad. Tras la emergencia de los juveniles de la bolsa de incubación de las hembras, inicio de la Instar I, se introdujeron dentro de pequeños recipientes y se alimentaron con la mezcla de diatomeas *Phaeodactylum tricornutum* y *Tetraselmis chuii* (1:1). Mientras que los juveniles de *C. penantis* sufrieron una tasa de mortalidad muy alta durante sus primeras fases del ciclo, los individuos de *C. grandimana* mantuvieron una tasa de supervivencia alta a lo largo de todo el estudio.

El ciclo de vida de *C. grandimana* pudo caracterizarse completamente:

- a) Las hembras resultaron más longevas que los machos (120 días frente a 90 días) realizando un mayor número de mudas (18 frente a 9), y manteniendo estables sus periodos de muda hasta el final.
- b) Los machos presentaron una “fase larga terminal” al final de su ciclo, al aumentar sus intervalos de muda progresivamente, permaneciendo en su última instar una media de 32,4 días; un valor significativamente mayor a los intervalos de muda anteriores.
- c) Los juveniles no se pudieron reconocer directamente como machos o hembras mediante la observación directa con la lupa binocular hasta la Instar III.
- d) Los machos mantuvieron una tasa de crecimiento alta y constante hasta la muerte (long máx: 6,7 mm), y las hembras siguieron creciendo hasta alcanzar su talla máxima (5,4 mm) tras la cual la tasa de crecimiento disminuyó.
- e) El número de segmentos flagelares en el primer par de antenas también incrementó más rápidamente tras cada instar en machos que en hembras.
- f) Las hembras alcanzaron la madurez sexual en la Instar V y VI con una media de 38,4 días, depositando en su bolsa de incubación su primera puesta de

huevos. Diez días más tarde los juveniles emergieron de la bolsa de incubación dando lugar a un periodo generacional de 49,1 días para la especie.

- g)** El número medio de huevos que produjo cada hembra fue 7,4 y el número de juveniles que finalmente llegaron a emerger de la bolsa fue 4,5.
- h)** La longitud media de la hembra en cada instar y el número de huevos y juveniles que emergieron en cada puesta siguieron una correlación positiva.
- i)** No se observó cuidado parental.

Sobre la importancia de los caprélidos en los ecosistemas Mediterráneos, es la primera vez que una especie mediterránea es criada exitosamente bajo condiciones de laboratorio. Estos estudios son básicos para futuras investigaciones ecotoxicológicas y posibles usos de estas especies de caprélidos, en acuicultura, como bioindicadores, etc.

3.2 INTRODUCCIÓN

El Estrecho de Gibraltar es una región de gran importancia ambiental que alberga a un alto número de especies endémicas del Mar Mediterráneo. Alrededor del 30,8% de las especies descritas en sus aguas son endemismos Mediterráneos. Sin embargo, el conocimiento de la variedad de especies de Anfípodos y más concretamente de Caprélidos ha sido escaso hasta la última década, a partir de la cual gracias a un gran esfuerzo investigador, se ha avanzado bastante, principalmente a nivel taxonómico (Guerra-García, 2001; Guerra-García y Takeuchi, 2002; Guerra-García *et al.*, 2000b, 2001, 2002a). A nivel ecológico y más aún a nivel de estudios centrados en ciclos de vida, tasas de crecimiento y tiempos de maduración en poblaciones de caprélidos, los estudios han sido mucho más escasos, y ello justifica la necesidad de seguir investigando para poder ampliar el grado de conocimiento actual. En la presente memoria se incluyen los resultados del estudio de los ciclos de vida de los caprélidos.

Los estudios sobre la ecología de los caprélidos de la región europea, realizados mediante la recogida directa de muestras en el campo, están muy limitados a pocas especies: Hughes (1978) estudió los individuos de *Pseudoprotella phasma* procedentes de las costas surestes de Inglaterra los cuales presentaban un ciclo de vida de 6 a 9 meses con tan solo tres generaciones por año. Las hembras ovígeras de *Caprella acanthifera* de las costas Irlandesas recogidas desde abril hasta junio y desde octubre hasta noviembre por Costello y Myers (1989), sugirieron que *C. acanthifera* producía dos generaciones por año y por tanto se reproducía solamente dos veces cada año (Takeuchi y Hirano, 1991). La reproducción de *Caprella equilibra* de un lago estuarino de la parte norte del Mar Adriático mostró picos entre abril y septiembre, y paradas en invierno, produciéndose más de una generación por año (Sconfiatti y Luparia, 1995), y sin embargo, la densidad de *Phthisica marina* de una zona estuarina del suroeste de España fue superior en los meses de invierno y de primavera que durante los de verano y otoño; de hecho, no hubo un cese completo de la actividad reproductora de esta especie desde agosto hasta noviembre (Guerra-García *et al.*, 2000a).

Por tanto, de toda la información existente relacionada con la biología de los periodos reproductivos de los caprélidos y basada en especies de otras latitudes, se llega a la conclusión de que las especies de aguas frías como *Caprella septentrionallis*, *Pseudoprotella phasma*, y *Caprella acanthifera*, o bien muestran periodos reproductivos

cortos o poseen un número limitado de generaciones durante todo el año (Heptner,1963; Hughes, 1978; Costello y Myers, 1989); sin embargo, especies recogidas en aguas cálidas de Japón (*Caprella danilevskii*, *Caprella tsugarensis*, *Caprella decipiens*, *Caprella verrucosa*, y *Caprella okadaï*) y en costas de California (*C. californica* y *C. gorgonica*), continúan su periodo reproductivo durante todo el año sin interrupción (Keith, 1971; Lewbel, 1978; Imada y Kikuchi, 1984; Aoki, 1988; Takeuchi *et al.*,1990).

Hoy en día está aumentando el interés por el estudio del crecimiento y la reproducción de los caprélidos criados bajo condiciones controladas de laboratorio ya que como Takeuchi e Hirano (1991) señalaron, es muy difícil estimar la estructura generacional de los caprélidos y en general de los anfípodos basándose sólo en los datos de distribución de frecuencias de tamaño, procedentes de la recogida de muestras mensuales en el campo, debido a las grandes fluctuaciones que se producen en el número de individuos durante periodos de tiempo muy cortos. De acuerdo con esto, los intervalos de muda, las tasas de crecimiento y el tiempo de maduración podrían estudiarse mucho mejor bajo condiciones de laboratorio.

Pseudoprotella phasma, *C. danilevskii*, *C. okadaï*, y la invasora *C. mutica* han sido las únicas especies de las que se ha estudiado su ciclo de vida bajo condiciones de laboratorio, desde su emergencia de la bolsa de incubación de las hembras ovígeras recolectadas directamente en el campo, hasta las fases finales de su vida. De esta forma se han conocido todos los procesos de muda, maduración, y número de juveniles emergidos de cada hembra en cada fase de su ciclo (Harrison, 1940; Takeuchi e Hirano, 1991, 1992a; Cook y Willis, 2007).

Estudios recientes centrados en el conocimiento de la fauna de peracáridos en el Estrecho de Gibraltar, mostraron la existencia de cinco especies de caprélidos asociados al alga *Corallina elongata*: *Caprella acanthifera*, *C. grandimana*, *C. hirsuta*, *C. liparotensis* y *C. penantis*, siendo *Caprella grandimana* y *C. penantis* las dos especies más comunes en toda la región y mostrando densidades superiores a los 2.000-3.000 individuos por litro de alga respectivamente (Guerra-García *et al.*, 2009b). Como hemos visto anteriormente, en los cinturones intermedios del intermareal de la Isla de Tarifa dominados por las algas *C. elongata* y *Gelidium corneum*, fueron también *Caprella grandimana* y *C. penantis* las especies más comunes y dominantes en toda la zona intermareal de la Isla, con densidades superiores a los 4.000-10.000 individuos/m² de superficie respectivamente (Guerra-García *et al.*, 2009c).

Caprella grandimana se encuentra distribuida por el Mar Mediterráneo (Krapp-Schickel, 1993) y por las Costas Africanas desde Cabo Espartel hasta Cabo Blanco (Marruecos) (Bellan-santini y Ruffo, 1998). En el Estrecho de Gibraltar se encuentra asociada principalmente a las algas *Corallina elongata* y *Jania rubens*, dos algas perennes que están presentes durante todo el año en los cinturones intermedios de la zona intermareal.

Todo su cuerpo es liso y delgado a excepción de los pereonitos 5-7, que poseen unos pequeños tubérculos (ver Fig. 1). La cabeza no presenta rostro. La antena 1 es de una longitud similar a la mitad de la longitud del cuerpo, con el flagelo ligeramente más corto que el pedúnculo, y sin presentar largas sedas. El propodio del gnatópodo 2 del macho es elíptico, tan largo como ancho, el margen dorsal con pocas setas cortas, y la palma convexa con un saliente muy picudo que delimita una concavidad rellena por un saco membranoso, y que acaba distalmente con una proyección triangular.

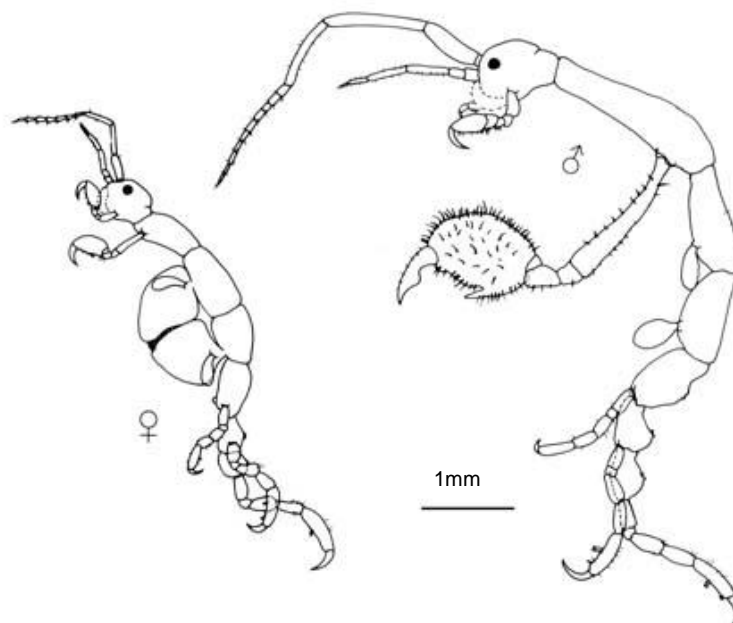


Figura 1. Vista lateral de *Caprella grandimana* procedente de la Isla de Tarifa. Redibujada de Guerra-García *et al.* (2001b).

En el año 2001, Guerra-García *et al.* describieron la especie basándose en individuos de *C. grandimana* recogidos directamente del Estrecho de Gibraltar, y destacaron, como diferencia notable a los anteriormente descritos, la presencia en los machos de un apéndice abdominal biarticulado en vez de uniarticulado.

C. penantis se caracteriza por ser una especie de distribución cosmopolita, ampliamente distribuida por aguas tropicales, subtropicales y cálidas de todos los océanos del mundo (Vassilenko, 1991). Su cuerpo es mucho más robusto que el de *C. grandimana* y los individuos adultos llegan a alcanzar un tamaño superior a los individuos de *C. grandimana*. La cabeza se caracteriza por la presencia de un rostro pronunciado. La base del gnatópodo 2 es más corta que el própodo, y el margen dorsal carece de sedas. Los palpos (márgenes internos) de los pereiópodos 5-7 son cóncavos (Figura 2).

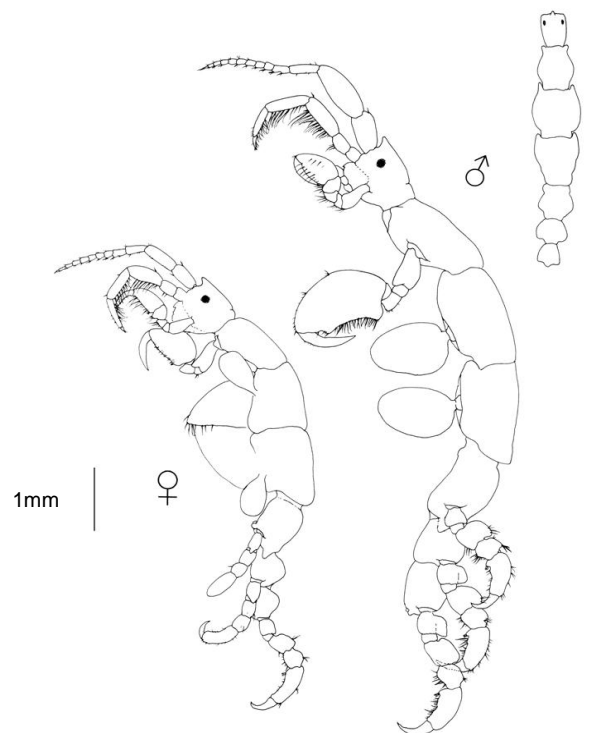


Figura 2. Vista lateral de *Caprella penantis* redibujada de Guerra-García *et al.* (2006)

Esta especie se ha encontrado asociada tanto a algas rojas como marrones, *Posidonia*, hidrozooos, briozoos, Alcionaria, Zoantharia, esponjas, *Arbacia* (Equinodermos), y *Libinia* (Decápodo), (Krapp-Schickel, 1993). Guerra-García y García-Gómez (2001), encontraron esta especie en áreas expuestas del intermareal e infralitoral con alto hidrodinamismo, asociado a diferentes especies de algas entre ellas *Asparragopsis armata*, en donde alcanzó densidades entorno a los 16.000 ind/m² en la Isla de Tarifa (Pacios *et al.*, 2011).

Objetivo. El presente estudio tiene como objetivo principal conocer el ciclo de vida de *C. grandimana*, y de *C. penantis* como especies de caprélidos dominantes en el ecosistema intermareal del Estrecho de Gibraltar. A pesar de la importancia que los caprélidos han demostrado tener en los ecosistemas Mediterráneos como bioindicadores de la contaminación ambiental (Guerra-García *et al.*, 2009a), y como constituyentes indispensables en las cadenas tróficas (Woods, 2009), esta es la primera vez en la que dos de las especies más abundantes del intermareal del Estrecho de Gibraltar se estudian bajo condiciones de laboratorio.

Estos estudios ecológicos sobre ciclos de vida constituyen la base para poder realizar en laboratorio futuras investigaciones ecotoxicológicas y permiten facilitar su manipulación con mayor base de conocimiento ante posibles aplicaciones futuras, sobre todo en el campo de la acuicultura.

3.3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.3.1 TRABAJO DE CAMPO

El muestreo se llevó a cabo en La Isla de Tarifa ($36^{\circ}00'00.7''\text{N}$, $5^{\circ} 36'37.5''\text{W}$). La Isla de Tarifa es una reserva marina perteneciente al “Parque Natural del Estrecho”, que se localiza en el Estrecho de Gibraltar. La isla representa el enclave más meridional de Europa y sus ecosistemas intermareales están entre los más diversos y preciados de toda la Península Ibérica.

3.3.2 TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN LABORATORIO

Para llevar a cabo el experimento, durante los meses de diciembre del 2007 y marzo del 2008, se recolectaron del cinturón 3 del intermareal (véase capítulo 2) durante la marea baja 26 hembras ovígeras de *C. grandimana* de las algas *C. elongata* y *J. rubens* y del cinturón 1, 19 hembras ovígeras de *C. penantis* del alga *Gelidium corneum*. En el laboratorio cada hembra se separó individualmente en pequeños vasitos con 6,5 cm de diámetro por 6 cm de altura y con un volumen de 120 ml. Una malla de plástico, de 1 mm de luz, se usó como substrato para la sujeción de las hembras, la cual al ir acumulando suciedad diariamente se remplazó con una frecuencia de una semana por otra completamente limpia.

De las 26 hembras ovígeras de *C. grandimana* emergieron un total de 122 juveniles, los cuales fueron estudiados durante todo su ciclo de vida (Figura 3). Y de las 19 hembras

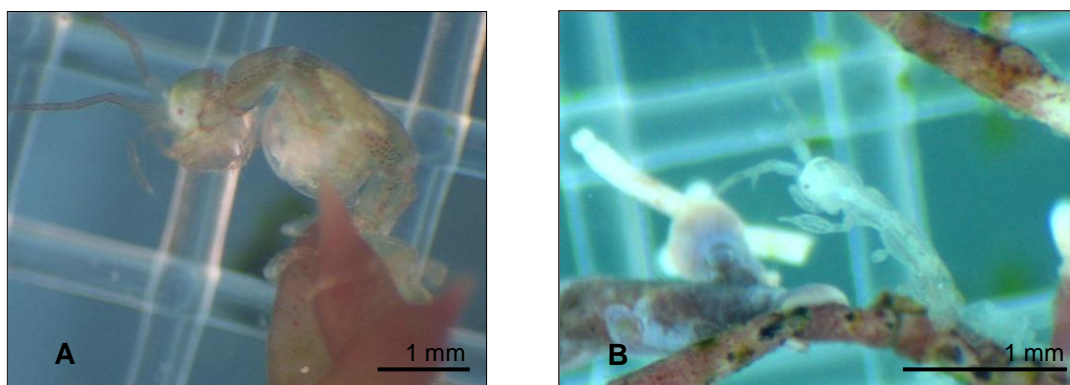


Figura 3. A) Hembra ovígera de *Caprella grandimana* recolectada en la Isla de Tarifa. Puede observarse los embriones en su bolsa de incubación. B) Juvenil de *C. grandimana* recién emergido de la bolsa de incubación de la hembra sobre un tallo del alga *Corallina elongata*.

de *C. penantis* emergieron un total de 202 juveniles. Los juveniles recién salidos de la bolsa de incubación de las hembras fueron introducidos en nuevos vasitos en grupos de 5 individuos como máximo sin la presencia de la hembra, ya que no se observó en ningún momento algún comportamiento relacionado con el cuidado parental en ninguna de las dos especies. Durante los primeros días, se introdujeron pequeños tallos de *J. rubens*, *C. elongata* y *G. corneum* en cada vaso para que los juveniles tuvieran un sustrato al que agarrarse, siendo luego sustituidos por la malla de plástico.

Una vez que los nuevos individuos llegaron a la madurez sexual, se eligieron parejas formadas por una hembra madura y un macho maduro, las cuales se distribuyeron independientemente en los vasitos, y una vez que la hembra quedaba fecundada por el macho y se podían observar los huevos en la bolsa de incubación, era aislada sin la presencia de machos.

Las condiciones a las que se mantuvieron los individuos durante todo el experimento fueron de 17° C con un fotoperiodo de 12h luz: 12h oscuridad. La temperatura a la que se decidió realizar el estudio fue similar a la temperatura media que presentaba la zona de muestreo donde se recogieron las hembras ovígeras, a lo largo de todo el año (observaciones personales, ver también Guerra-García *et al.*, 2004a).

El agua de mar utilizada para el cultivo fue agua artificial (ReefSalt of Seachem™) elaborada con una salinidad de 35,5 g/l. El agua de cada vasito se cambió diariamente y como alimento se usó una mezcla de algas constituida por las colonias de las diatomeas liofilizadas *Phaeodactylum tricornutum* y *Tetraselmis chuii* (1:1), ya que estudios anteriores relacionados con la alimentación de los caprélidos señalaron que *C. penantis* y *C. grandimana* se alimentaban de diatomeas, según individuos de *C. penantis* estudiados en las costas de Japón (Sano *et al.*, 2003) y según la composición de ácidos grasos presentes en individuos de *C. grandimana* del Estrecho de Gibraltar, los cuales sugerían una alta

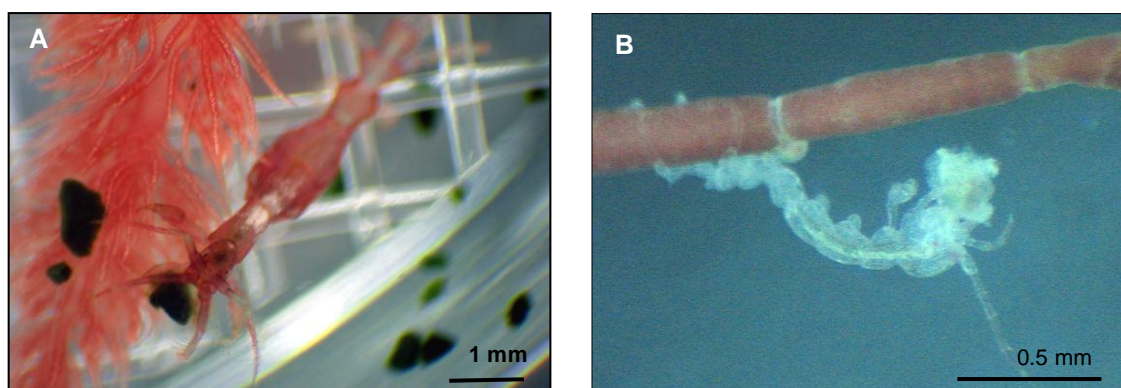


Figura 4. Hembra de *C. penantis* (A) y Juvenil de *C. grandimana* (B) alimentándose de una colonia de diatomeas.

contribución de diatomeas en su dieta (Guerra-García *et al.*, 2004). Las colonias de las diatomeas liofilizadas se prepararon diariamente resuspendiéndolas en el agua artificial y suministrando con una pipeta un pequeño número de colonias una vez al día, en cada vasito. Los individuos de *C. grandimana* y *C. penantis* sujetaban las colonias de diatomeas con ayuda de su primer par de gnatópodos y las disgregaban poco a poco usando sus maxilípedos (Figura 4), consultar video en el cd que acompaña la memoria.

Todos los individuos se observaron diariamente bajo una lupa binocular (Motic ® Microscopes) para seguir todos los procesos de alimentación, crecimiento, muda, salida de juveniles del saco de incubación y comportamiento reproductivo. Los caprélidos fueron mudando sucesivamente desde que emergían de la bolsa de incubación hasta que morían pasando por las distintas fases o instars. En el momento de la salida de los juveniles de la bolsa de incubación de la hembra se consideraron pertenecientes a la primera fase, o Instar I de acuerdo con el sistema adoptado por Takeuchi e Hirano (1991).

En cada instar tras cada muda, se midió la longitud del cuerpo y se contó el número de artejos flagelares de la primera antena. La longitud se midió mientras estos permanecían con sus pereonitos completamente estirados sobre la malla. El estado de madurez en las hembras se clasificó en inmaduro, premaduro y maduro dependiendo de la morfología de los oosteguitos de los pereonitos III y IV (ver Takeuchi, 1989).

El número de huevos que se desarrollaron dentro de la bolsa de incubación se contó con la lupa binocular, gracias a la transparencia de los oosteguitos de la bolsa de incubación. El número de juveniles que finalmente emergieron de cada hembra tras cada fecundación también se contó.

3.3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se calcularon los valores medios y la desviación estandar (DE) de la supervivencia, longevidad, intervalos de muda, longitud corporal, número de artejos flagelares, tiempo de maduración y número de huevos y juveniles emergidos del total de individuos estudiados.

Las diferencias entre la duración del ciclo de vida, y la longitud del cuerpo entre machos y hembras, así como la diferencia entre el tiempo transcurrido desde la última muda hasta la muerte con el resto de intervalos de muda en los machos, fue analizado usando el programa SPSS. Los datos fueron testados para verificar normalidad usando el test de Kolmogorov-Smirnov y al no cumplirse la normalidad ni la igualdad de varianzas (test de Barlett), se usó el test no paramétrico de comparación de medias Kruskal-Wallis.

3.4 RESULTADOS

Los resultados obtenidos a lo largo del crecimiento de los nuevos juveniles de *C. grandimana* fueron suficientes para describir completamente el ciclo de vida de dicha especie; sin embargo, la fuerte tasa de mortalidad que sufrieron los nuevos juveniles de *C. penantis* durante las primeras fases de su crecimiento hizo imposible completar su ciclo de vida. De los 202 juveniles iniciales que emergieron de las hembras ovígeras de *C. penantis* recogidas en la Isla de Tarifa, tan solo 26 individuos llegaron a realizar la primera muda, y tan solo 2 individuos llegaron a alcanzar la Instar VIII mudando 7 veces. No se consiguió que ningún individuo llegara a la madurez sexual y presentara huevos en su bolsa de incubación. La falta de datos, debido al pequeño tamaño muestral que quedó, hizo imposible continuar con el ciclo de vida de *C. penantis*.

3.4.1 CAPRELLA PENANTIS

3.4.1.1 Fecundidad de las hembras ovígeras recolectadas

El número medio de juveniles que emergieron de la bolsa de incubación de las 19 hembras ovígeras de *C. penantis* fue $11 \pm 5,3$ individuos. Alcanzándose un máximo de 23 individuos en una hembra y un mínimo de 4.

3.4.1.2 Tasa de supervivencia de los juveniles

La tasa de supervivencia se caracterizó por ser muy baja, sobre todo en las primeras fases de vida de los juveniles, antes de realizar su primera muda. (Figura 5). De un total de **202** individuos, tan solo el **8%** de los juveniles totales llegaron a realizar su primera muda, pudiendo ser sexados por medio de la lupa 2 hembras y 5 machos y la tasa de supervivencia media fue solamente de $9,7 \pm 11,8$ días alcanzando solo dos individuos un máximo de **70** días.

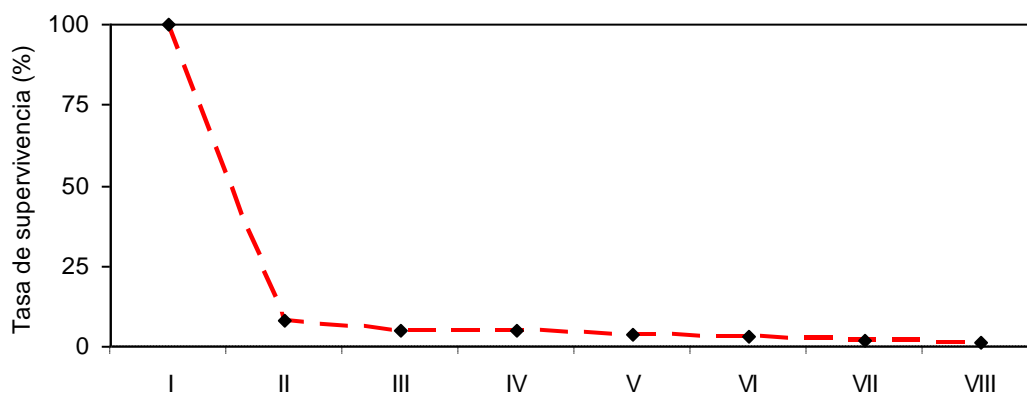


Figura 5. Tasa de supervivencia de los juveniles de *C. penantis*, criados a 17°C bajo las condiciones de laboratorio detalladas anteriormente.

3.4.2 *CAPRELLA GRANDIMANA*

3.4.2.1 *Fecundidad de las hembras ovígeras recolectadas*

El número medio de juveniles que emergieron de la bolsa de incubación de las 26 hembras ovígeras fue de $4,5 \pm 2,1$ individuos. Alcanzándose un máximo de 9 individuos por hembra y un mínimo de 1.

3.4.2.2 *Duración del ciclo de vida y supervivencia de *C. grandimana**

De un total de 112 individuos juveniles, procedentes de las 26 hembras ovígeras recogidas en la Isla de Tarifa, llegaron a la etapa adulta y pudieron ser sexados por medio de la lupa 49 hembras y 53 machos. La tasa media de supervivencia fue de $104,5 \pm 40,3$ días a 17°C. Las hembras vivieron $120,2 \pm 44,7$ días (media \pm DE) y los machos $89,9 \pm 29,3$ días (media \pm D.E.), alcanzando un máximo de 209 y 127 días respectivamente (Tabla 1); los análisis estadísticos demostraron que las hembras tuvieron un ciclo de vida significativamente más largo que los machos, (Kruskal Wallis = 15,6, $P < 0.001$).

Tabla 1. Principales características del ciclo de vida de *C. grandimana* criada en condiciones de laboratorio.

Características	M/H	Rango	Media	\pm DE	n
Duración (días)	M	36-127	89.9	29.3	53
	H	38-209	120.2	44.7	49
Número de mudas	M	3-9	7	1.4	51
	H	3-18	10	3.5	49
Longitud corporal de individuos maduros(mm)	M	4.5-6.7	5,4	0.8	51
	H	2.9-4.8	4	0.4	42
Nº. medio de juveniles emergidos tras cada reproducción.	H	1-15	5	3.5	57
Nº. medio de huevos.	H	1-18	7.6	3.8	231
Tiempo de incubación (días)	H	7-13	10.5	1.3	49
Madurez sexual en hembras (días)	H	21-67	38.4	8.5	45

Tanto las hembras como los machos mostraron una tasa de supervivencia muy alta durante sus primeros periodos del ciclo; sin embargo, dicha tasa comenzó a disminuir a partir de la instar VI durante la fase reproductiva (Fig.6a). Los machos sufrieron una bajada muy brusca de la tasa de supervivencia durante las tres últimas instar, llegando tan solo un 13% de los machos totales a la última instar (Fig.6b).

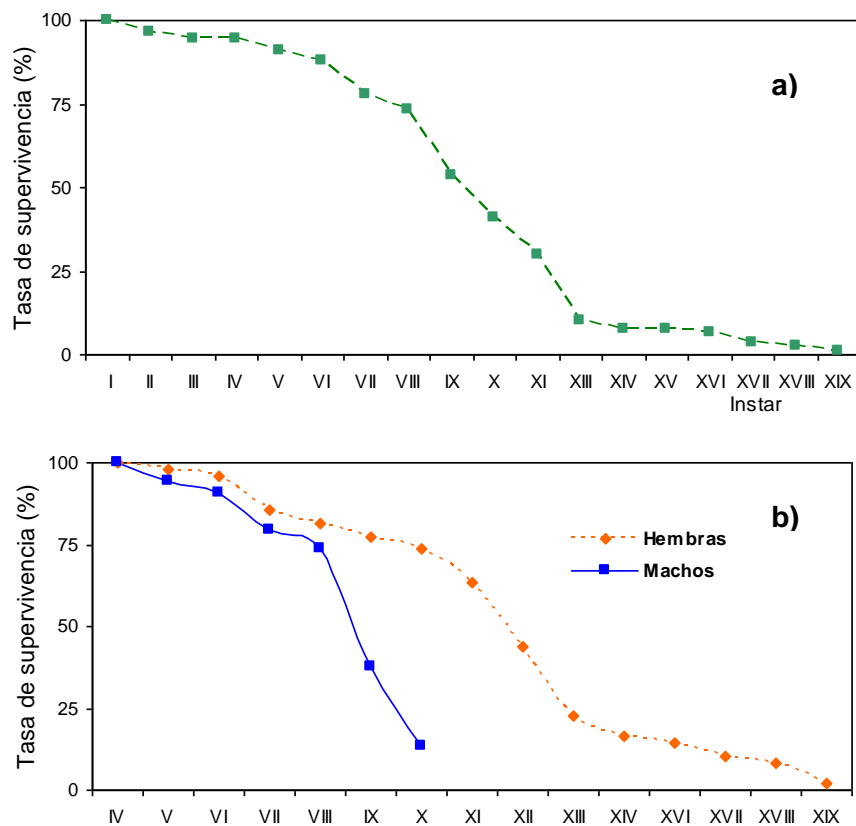


Figura 6. a) Tasa de supervivencia de la especie *C. grandimana* en cada instar bajo condiciones de laboratorio. b) Tasa de supervivencia en machos y hembras de *C. grandimana*. Los juveniles de las Instar I-III no pudieron ser separados en machos y hembras, por no poder diferenciarse directamente bajo la observación con la lupa binocular.

3.4.2.3 Ciclo de muda

Las hembras presentaron una tasa de muda superior a los machos, ya que una vez que llegaban a la madurez sexual y comenzaban a tener descendencia, cada vez que los juveniles emergían de su bolsa de incubación, la hembra volvía a mudar para poder ser fecundada de nuevo. Esto es debido a que solamente puede ser fecundada por el macho poco tiempo después de mudar, cuando la nueva cutícula todavía no se ha endurecido lo suficiente para permitir la fecundación. La figura 7 indica el número y la duración de cada instar en los machos y en las hembras. Los machos sólo llegaron a alcanzar la Instar **X**, mudando tan solo 9 veces, mientras que las hembras continuaron mudando hasta la Instar **XVIII**, mudando 18 veces (Tabla 1). Tras mudar, fue común ver a los caprélidos comiéndose sus propias mudas.

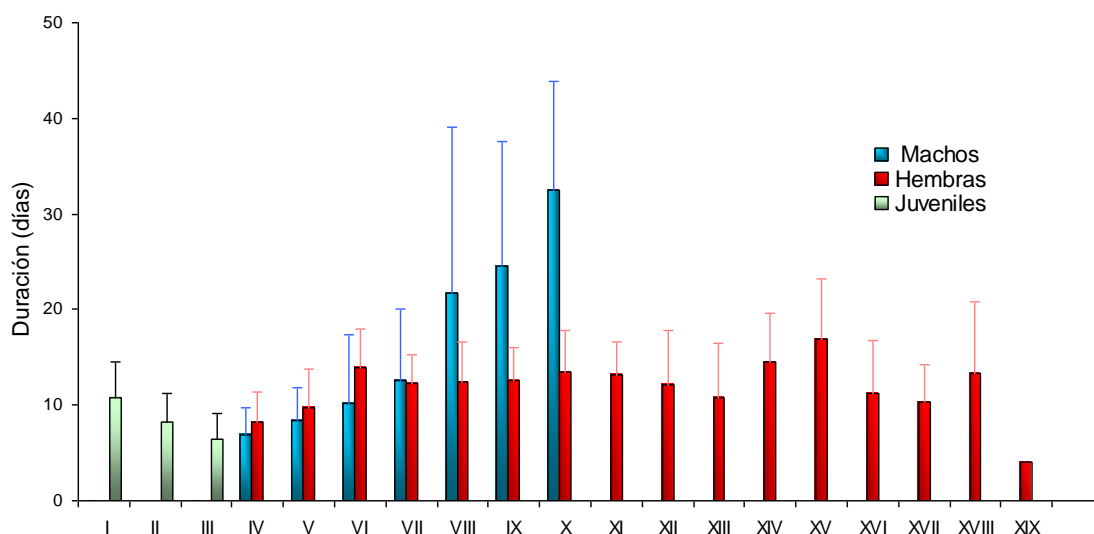


Figura 7. Duración en días de cada instar (Media±DE) en machos y en hembras de *Caprella grandimana*. Los juveniles de las Instars I - III no fueron separados en machos y hembras, ya que los sexos no pudieron ser identificados por medio de la lupa binocular.

Los juveniles desde la Instar I hasta la IV mudaron cada **6,4 - 10,8** días. A partir de la cuarta instar los machos y las hembras ya pudieron ser diferenciados directamente por medio de la lupa binocular gracias a que en las pequeñas hembras se producía un ensanchamiento de los oosteguitos 3 y 4 que darían lugar a la futura bolsa de incubación en las hembras maduras (Figura 8).

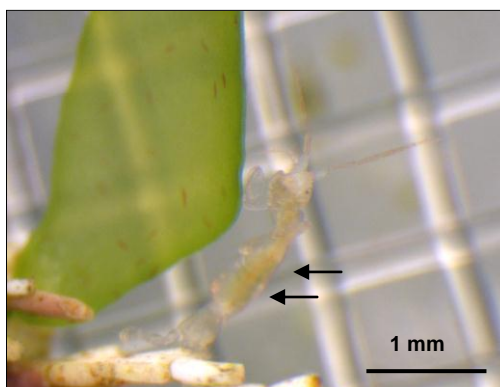


Figura 8. Hembra juvenil de *C. grandimana*. Se comienza a apreciar un ensanchamiento de los oosteguitos 3 y 4.

En machos, el tiempo transcurrido entre cada muda, fue incrementándose desde la Instar IV con **6,9 ± 2,9** días hasta **32,4 ± 11,4** días en la Instar X. El tiempo que transcurrió desde la última vez que mudaron hasta que murieron fue de **32,5 ± 14,1** días, el cual fue significativamente más largo a todos los intervalos de muda anteriores (Kruskal Wallis = 34,4, $P < 0,001$). Por tanto puede decirse que los machos de *C. grandimana* presentan una

fase final de larga duración debido a un retraso en el periodo de muda. Durante esta última fase del ciclo de vida, se observó que los machos fueron acumulando sobre la superficie de sus cuerpos gran cantidad de partículas en suspensión que llegaban a recubrir completamente toda la superficie de sus cuerpos (Figura 9).



Figura 9. Macho de *C. grandimana* recubierto de detritus.

En hembras, el intervalo de muda también aumentó gradualmente desde $8,2 \pm 3,1$ a $13,9 \pm 4,1$ días hasta alcanzar la madurez reproductiva en la Instar V y a partir de ella la tasa de muda se estabilizó en $10,8 - 16,9$ días hasta la Instar XVIII. A diferencia de los machos, en las hembras el intervalo desde la última muda hasta la muerte, no fue significativamente más largo al resto de los intervalos de muda anteriores (Fig. 7).

3.4.2.4 Tasa de crecimiento: Longitud del cuerpo y número de artejos flagelares de la antena 1.

Las tasas de crecimiento de los juveniles fueron similares durante las primeras fases de crecimiento ya que no fue posible diferenciar entre hembras y machos directamente por medio del binocular. Tras la Instar IV, los machos presentaron una tasa de crecimiento superior a las de las hembras, aumentando su longitud corporal más rápidamente tras cada muda. La relación entre la longitud corporal en cada instar se muestra en la Figura 10.

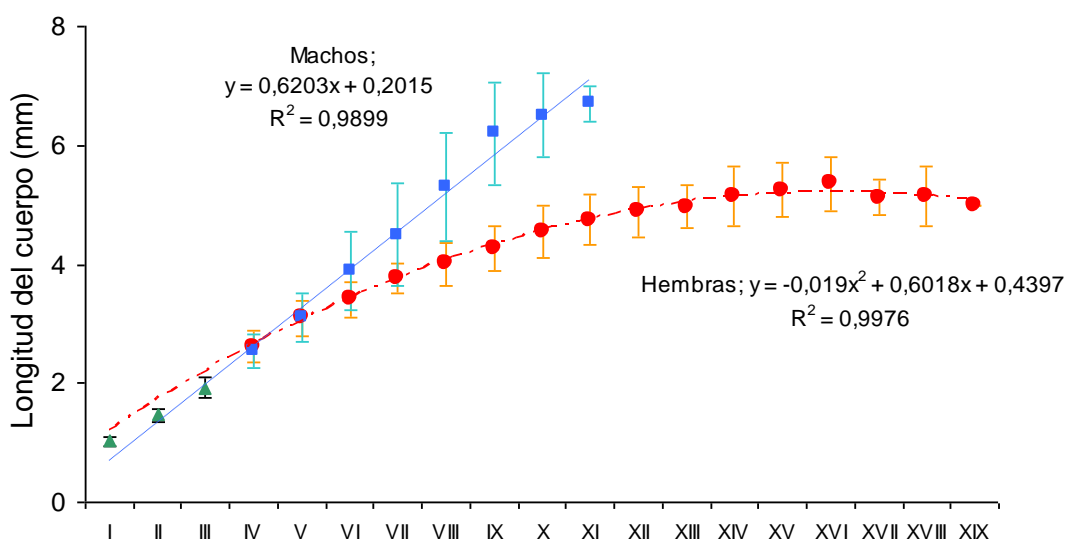


Figura 10. Relación entre la longitud corporal total de machos y hembras de *Caprella grandimana* en cada instar (Media±DE). Los juveniles de la instar I-III no se separaron en machos y en hembras, ya que los sexos no podían ser diferenciados.

Los machos siguieron una tasa de crecimiento lineal, alcanzando un valor medio de **6,7mm** en la Instar XI. Sin embargo, en hembras, la tasa de crecimiento siguió una curva polinómica, aumentando rápidamente en estadios tempranos del desarrollo y disminuyendo una vez pasada la Instar XVI. La longitud máxima fue de **6,7mm** en machos y de **5,4mm** en hembras (Tabla 1). Se encontraron diferencias significativas en relación a la longitud del cuerpo entre machos y hembras a partir de la Instar VI (Kruskal Wallis, $P < 0,001$).

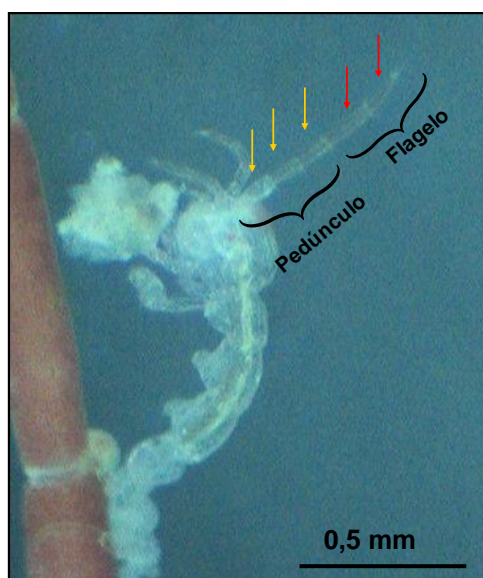


Figura 11. Esquema de la relación del número de artejos del flagelo y del pedúnculo del 1^{er} par de antenas, de una Instar I de *C. grandimana*.

El número de artejos presentes en el flagelo de la antena 1 de los juveniles recién salidos de la bolsa de incubación fue siempre igual a **2**, más los **3** artejos basales del pedúnculo de la antena (Figura 11). Los machos fueron añadiendo un artejo en el flagelo de la antena 1 tras cada muda hasta alcanzar la Instar IX y las hembras hasta la Instar VII. Tras esto, tanto los machos como las hembras incrementaron menos de un artejo después de cada muda (Fig.12). El número total de artejos en el flagelo fue siempre superior en los machos que en las hembras a lo largo de todas las instar desde la diferenciación de los sexos.

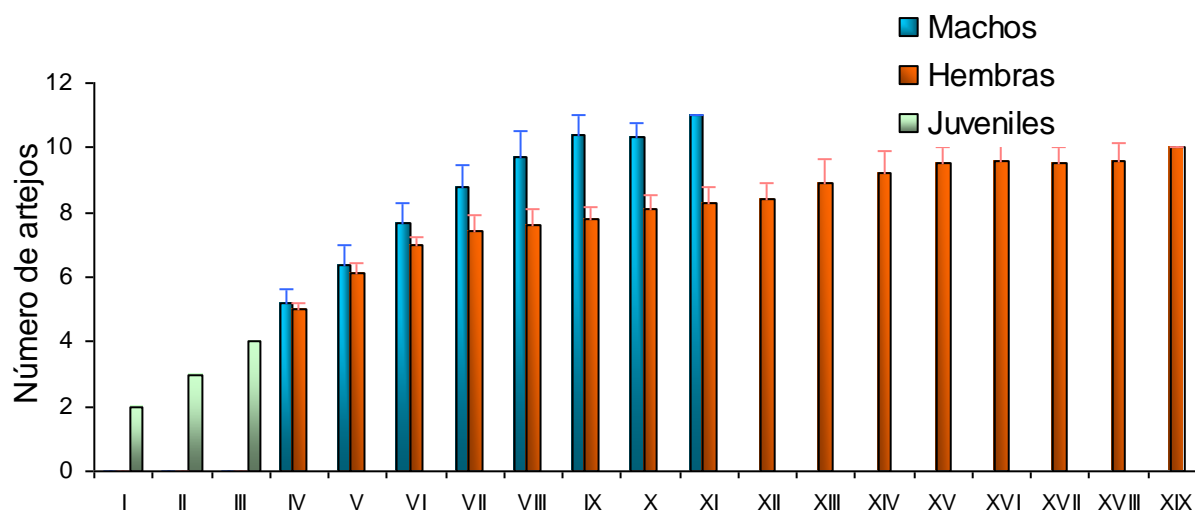


Figura 12. Número de artejos flagelares (Media \pm DE) en la antena 1 en cada instar. Hasta la Instar IV las hembras y los machos no pudieron ser diferenciados, por tanto el número de artejos fue el mismo.

El número máximo de artejos obtenidos en machos y hembras maduras fue de **11** y **10** respectivamente, sin tener en cuenta los artejos basales, ya que el número de artejos basales de la antena 1 fue siempre **3** a lo largo de todo el ciclo de vida tanto en hembras como en machos.

3.4.2.5 Maduración y sex ratio a lo largo del ciclo de vida

El 86% de las hembras alcanzaron el estado maduro en la Instar V y VI y tan solo el 11% en la Instar VII. Por tanto, la madurez media se alcanzó a los **38,4 \pm 8,5** días de la emergencia de los juveniles de la bolsa de incubación de las hembras ovígeras recogidas en la Isla de Tarifa (Tabla 1). La descendencia que pudo ser sexada de las hembras ovígeras recogidas de la zona de muestreo arrojó un número similar de hembras y de machos (**49** hembras / **53** machos), pero el número de machos a lo largo del estudio fue disminuyendo, ya que morían en estadios tempranos, por lo que el número de machos fue relativamente mas bajo que el número de hembras al llegar a fases finales del ciclo de vida.

3.4.2.6 Comportamiento reproductivo

No se observó ningún comportamiento pre-copulatorio en machos de *C. grandimana* durante el estudio, los machos no sujetaron a la hembra hasta que pudiera ser fertilizada para protegerla contra otros machos como en otras especies, en vez de esto, sólo palpaban con su primer par de gnatópodos y con el primer par de antenas la superficie de la hembra para comprobar si estaba receptiva.

Justo cuando la hembra acababa de mudar, y se encontraba preparada para poder ser fecundada, los machos sujetaban a la hembra dorsalmente con su primer gnatópodo y con sus pereiópodos se agarraban al cuerpo y a los pereiópodos formando el par precopulatorio de la misma forma que se describió el comportamiento reproductivo de *Caprella laeviuscula* por Caine (1991), y *Caprella scaura* por Lim y Alexander (1986). Tras la cópula, una masa de huevos aparecía dentro de la bolsa de incubación. (Figura 13). Ninguna hembra presentó huevos en su bolsa de incubación en ausencia de macho. El periodo de incubación de los embriones fue estudiado como el periodo desde la ovoposición de la masa de huevos en la bolsa de incubación hasta la salida de los juveniles de la bolsa. El tiempo medio de incubación para esta especie fue de $10,5 \pm 1,29$ días. De este modo, el tiempo generacional medio se estimó en **48,9** días a 17°C (Tabla 3).

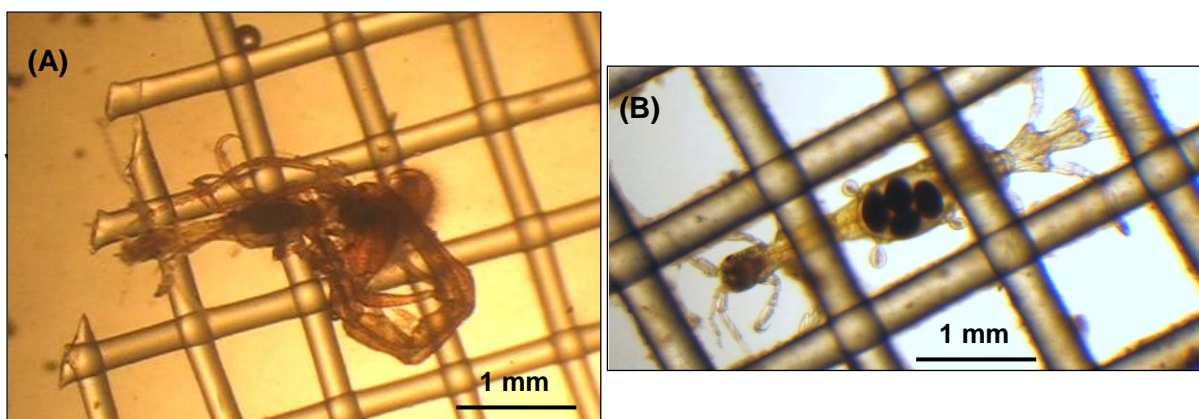


Figura 13. (A) Momento de cópula entre el macho y la hembra de *C. grandimana*. Hembra fecundada con presencia de huevos en la bolsa de incubación (Ver video de cópula adjunto en el cd).

El número medio de embriones o huevos producidos por cada hembra tras cada fecundación fue $7,6 \pm 3,8$, incrementando desde 4 en la Instar V hasta 18 en la Instar XVIII. El número medio de juveniles que finalmente emergieron de la bolsa de incubación fue $5 \pm 3,5$, la mitad del número total de huevos que fueron liberados tras la fecundación en la bolsa de incubación. En la Instar XVIII se alcanzó un máximo de 15 juveniles (Tabla 1). Por lo tanto, el número de huevos/juveniles producidos por una hembra en una única reproducción incrementó con la edad de la hembra, y también se encontró una correlación lineal positiva entre la longitud corporal de la hembra y el número de huevos/juveniles producidos (Fig. 14). Fue frecuente observar una caída o desaparición de los huevos de la bolsa de incubación de la hembra durante el periodo de incubación en el 31% de los casos en los que las hembras quedaban fecundadas.

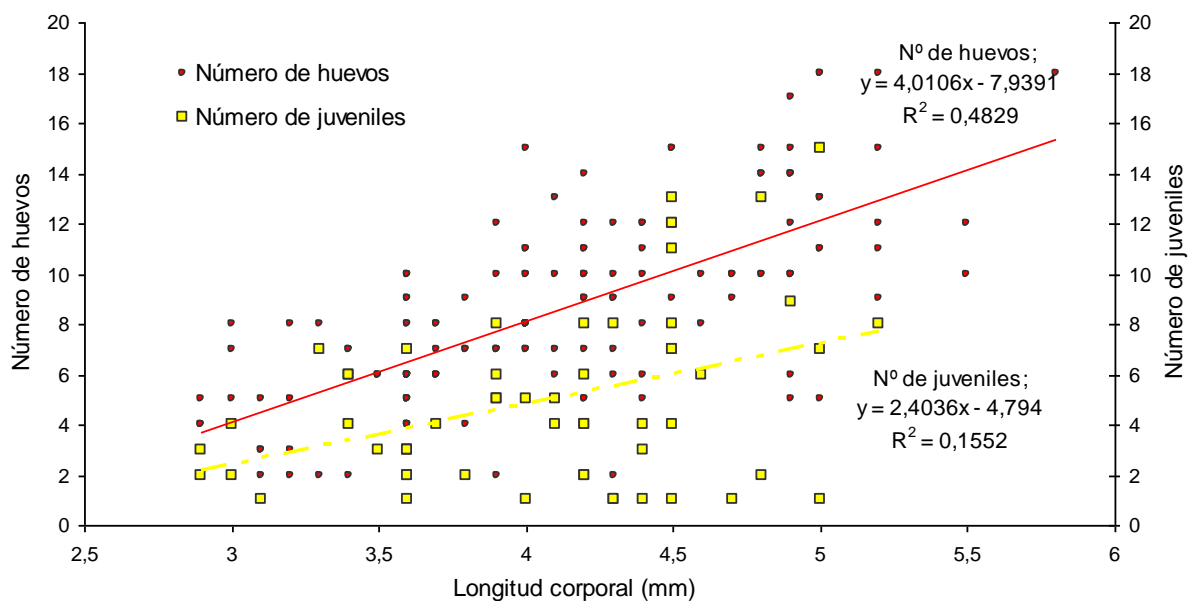


Figura 14. Correlación del número de huevos totales y el número de juveniles que emergían de la bolsa de incubación con la longitud total del cuerpo de la hembra de *Caprella grandimana*. Número de huevos (N= 231 hembras con huevos en la bolsa de incubación). Número de juveniles (n= 57 hembras con huevos que dieron lugar al menos a un juvenil). Ambas correlaciones fueron significativas con $P < 0,001$.

3.5 DISCUSIÓN

Esta ha sido la primera vez en la que una de las especies de aguas templadas más comunes de nuestra latitud como es *Caprella grandimana*, se consigue cultivar exitosamente a lo largo de todas sus fases de crecimiento para completar su ciclo de vida. *C. grandimana* demostró ser una especie muy resistente, que fue capaz de mantener una tasa de supervivencia del 94% en las primeras fases de crecimiento, a pesar de las posibles condiciones desfavorables que podían originarse como consecuencia de la cría en el laboratorio, tales como concentraciones altas de amonio en el agua por el exceso de comida (Chen, 1990), bajas concentraciones de oxígeno en los vasitos de cría o el estrés ocasionado a los individuos por la manipulación para la toma de datos.

Por otro lado, fue imposible llegar a completar el ciclo de vida de *Caprella penantis*, debido a la alta mortalidad que se produjo en sus primeras etapas del ciclo, sobre todo cuando los juveniles recién emergidos de la madre tenían que realizar su primera muda. Esta alta mortalidad pudo estar relacionada con el carácter más sensible de *C. penantis*; según Guerra-García y García-Gómez (2001), los individuos estudiados en Ceuta, siempre fueron encontrados en zonas del intermareal muy expuestas, con un alto grado de hidrodinamismo y por tanto con una alta tasa de renovación de oxígeno en el medio y también con bajos niveles de materia orgánica en suspensión, por lo que uno de los factores que pudo aumentar esta tasa de mortalidad fue la baja concentración de oxígeno en los vasitos de cría y el exceso de materia orgánica que podría llegar a acumularse aunque los vasitos fueran limpiados diariamente.

Por tanto, el hecho de que *C. penantis* se distribuyera solamente en el primer cinturón intermareal de la Isla de Tarifa pudo deberse a que como hemos dicho esta especie suele situarse en zonas con alto nivel de hidrodinamismo y una alta renovación. Para poder vivir en zonas con alto hidrodinamismo, *C. penantis* ha desarrollado una serie de características que le permiten agarrarse fuertemente al sustrato en el que habitan; posee somitos alargados, con bases del gnatópodo 2 cortas y con branquias dobladas basalmente. Su cuerpo es mucho más robusto que el de *C. grandimana* y esto le permite sujetarse fuertemente y conseguir habitar áreas que se encuentran más expuestas al impacto de las olas o a fuertes corrientes (Takeuchi e Hirano, 1995, Guerra-García *et al.*, 2002b). Esta especie suele adoptar una postura en “paralelo” con los pereonitos del cuerpo estirados y

dispuestos paralelamente al sustrato, lo que le permite alimentarse mientras se sujeta fuertemente al sustrato con su primer par de gnatópodos y con sus pereiópodos 5, 6 y 7.

C. penantis y *C. grandimana* difirieron en el número de juveniles que emergieron de la bolsa de incubación de las hembras recogidas en la zona de muestreo. Mientras que *C. penantis* daba lugar a una media de 11 juveniles y un máximo de 23, *C. grandimana* solo producía 4,5 juveniles y 9 de máximo. Esto junto con las tasas de supervivencia en las primeras fases de vida podría indicar que *C. grandimana* tendería a seguir una estrategia de la K con pocos individuos tras cada reproducción y una alta supervivencia, y *C. penantis* tendería a seguir la estrategia de la r con muchos individuos y una baja supervivencia.

Una vez que los juveniles emergieron de la bolsa de incubación de las hembras no se encontraron evidencias de cuidado parental por parte de las hembras de *C. grandimana* y *C. penantis*. Nada más nacer, los juveniles se dispersaban por los vasitos y no permanecían cerca de la madre. Durante la primera instar usaban los pequeños tallos de *C. elongata* o de *G. corneum* como sustrato habitual, y no se observó a ningún juvenil subido encima de la madre; siempre se encontraban sujetos directamente al tallo de *Corallina*, de *Gelidium* o a la malla.

Sin embargo, muchas especies de caprélidos poseen cuidado parental y algunas incluso llevan a sus crías sobre su cuerpo cuando ya han mudado varias veces (Aoki y Kikuchi, 1991; Thiel, 1997) (Figura 15). Según Aoki (Aoki, 1999), las especies de caprélidos

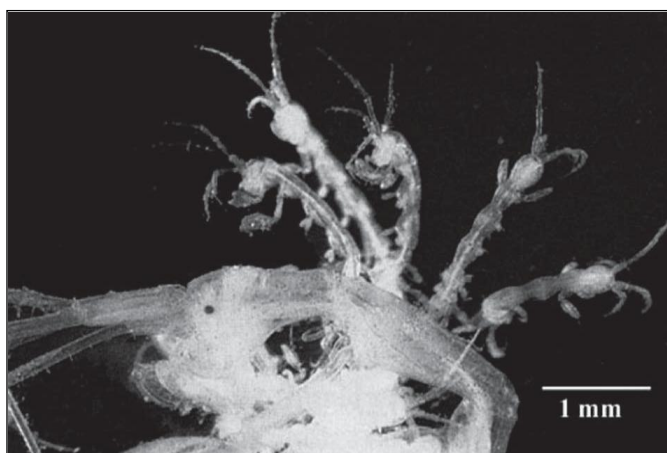


Figura 15. Hembra con juveniles adheridos a la superficie del cuerpo en una especie de caprélido con cuidado parental. Foto de Thiel (1997).

que producen juveniles de muy pequeño tamaño durante la primera instar (<1,3mm) y viven sobre macrófitos con tallos y ramas muy anchas, tales como *Sargassum patens*, necesitan usar habitats secundarios como pequeñas epífitas o necesitan del cuidado maternal para sujetarse al sustrato y ser capaces de sobrevivir. En el caso de *C. grandimana* y *C. penantis* que se encuentran asociadas a algas como

C. elongata y *G. corneum* con ramas muy estrechas y finas que permiten a las pequeñas instar sujetarse fuertemente a ellas, pueden hacer que los juveniles de *C. grandimana* y de *C. penantis* no necesiten la ayuda de epífitas o del cuidado maternal en sus primeros

estadios de vida y por ello no hace falta que se origine ningún comportamiento de cuidado parental en estas especies.

En el ciclo de vida de *C. grandimana* las hembras mudaron más veces y tuvieron un ciclo de vida significativamente más largo que los machos, lo mismo que ocurrió con las hembras de *C. okadai* y de *C. danilevskii*, durante su cultivo en condiciones de laboratorio (Takeuchi e Hirano ;1991, 1992a); sin embargo, mientras que el tiempo transcurrido entre muda y muda permaneció constante tanto en machos como en hembras a lo largo de todo el ciclo de vida de esas dos especies, en machos de *C. grandimana* este intervalo fue aumentándose gradualmente hasta que el tiempo transcurrido entre la última muda y la muerte fue significativamente más largo que el resto de intervalos entre mudas. Durante esta "fase terminal", los machos comenzaron a recubrirse de detritus y otras partículas hasta que tenían todos los gnatópodos y los pereonitos llenos de detritus. Este fenómeno no ha sido encontrado antes en ninguna especie de caprélido o gammárido en condiciones de laboratorio, aunque, algunos individuos adultos totalmente desarrollados de *C. grandimana* recogidos en la zona de muestreo también presentaron sus cuerpos completamente cubiertos con detritus, por lo que parece que los machos durante sus últimas instars del ciclo van perdiendo la capacidad de mudar y permanecen con la misma cutícula durante mucho tiempo acumulando partículas hasta la muerte.

Las hembras, al contrario que los machos, no siguieron el mismo patrón y permanecieron con una tasa de muda más o menos constante a lo largo de todo su ciclo.

Los patrones de adicción de artejos flagelares en la antena 1 también fueron diferentes entre los machos y las hembras. Al igual que con *C. danilevskii* y *C. okadai* (Takeuchi e Hirano 1991, 1992a), los machos alcanzaban un número superior de artejos antes que las hembras y una vez que llegaban a la madurez sexual, los machos seguían aumentando el número mientras que las hembras permanecían estables. Las hembras maduras de *C. grandimana* siempre permanecieron con un mínimo de 10 artejos en su antena 1, por lo que sería fácil reconocer si las hembras recogidas directamente del campo son o no capaces de reproducirse de acuerdo con el número de artejos en su antena 1.

El tiempo que transcurre desde la salida del juvenil de la bolsa de incubación hasta que llega a ser totalmente maduro y da lugar su primera descendencia es conocido como tiempo de generación y, junto con el desarrollo embrionario, está fuertemente influido por la temperatura en los anfípodos (Takeuchi e Hirano, 1992b; Cook *et al.*, 2007). A 17°C, *C. grandimana* tuvo un periodo generacional de 49,1 días, mientras que las especies de caprélidos que fueron criadas por Takeuchi a 20°C, *C. danilevskii* y *C. okadai* tardaron una

media de 25,9 - 25,6 días respectivamente (Takeuchi e Hirano, 1991). A 16°C según la ecuación de Belehrádek tardan 34,6 - 34,7 días (Takeuchi e Hirano, 1992b), por lo que una subida de la temperatura hace aumentar la rapidez del proceso. Sin embargo estas especies parecen tener una tasa de crecimiento y maduración más rápida que *C. grandimana*. Por otro lado, se ha observado que el periodo generacional de los gammáridos es superior al de los caprélidos cuando crecen a la misma temperatura ambiental (Takeuchi e Hirano, 1991), y se sugirió que podía deberse a la falta de apéndices abdominales en los caprélidos y que sí poseen los gammáridos, utilizándolos para producir corrientes respiratorias y para nadar. Si el periodo generacional de *C. grandimana* obtenido a 17°C es comparado con el periodo generacional de los gammáridos a 17°C tales como *Orchestia mediterranea*, *Orchestia gammarellus*, *Orchestia remyi roffensis* (Wildish, 1972), los caprélidos siguen teniendo periodos generacionales más rápidos que los gammáridos a la misma temperatura.

El número medio de juveniles que llegaron a emerger de la bolsa de incubación fue inferior al número medio de embriones o huevos producidos por cada hembra tras cada fecundación (de 4,5 a 7,6). Esto fue debido a que durante el periodo de reproducción de las hembras maduras, se observó que muchas de las hembras que presentaban huevos en sus bolsas de incubación, sufrían con frecuencia una pérdida de un alto número de huevos o incluso llegaban a perderlos todos teniendo la hembra que mudar de nuevo para poder ser fecundada. Un estudio muy reciente sobre *C. mutica* (Hosono, 2009) mostró que las hembras también perdían o les desaparecían los huevos durante el periodo de incubación cuando éstas estaban siendo criadas a bajas temperaturas, (10^o-5^oC). En *C. laeviuscula*, estudiada por Caine (1991), también se observó que el número de juveniles que finalmente emergían de la bolsa de incubación, era alrededor de la mitad del número de huevos que portaba en el interior de la bolsa, y se sugirió que podría existir un "nurse effect" donde los juveniles podrían comerse a otros huevos en una etapa de desarrollo mas retrasada antes de la emergencia del saco incubador.

Aún así, el número de juveniles que finalmente emergían del saco incubador en *C. grandimana* en una única reproducción de una hembra era sólo de 5 individuos, incrementándose hasta 15, un número muy bajo comparado con un máximo de 82 juveniles que eran producidos por las hembras de *C. mutica* (Cook *et al.*, 2007), o los 50 y 32, que eran capaces de producir las hembras de *C. danilevskii* y *C. okadai* respectivamente en el laboratorio, (Takeuchi, 1992b). La temperatura no parece influir en el número de juveniles que emergen de la bolsa de incubación de las hembras de *C. mutica* (Hosono, 2009), sin embargo, si se compara la longitud corporal de las hembras de cada especie de caprélido con el número medio de huevos que produce, se observa que existe una relación positiva. A

mayor longitud corporal, mayor es el número de huevos producidos. La tabla 2 muestra como las hembras de *Caprella dilatata* y *C.equilibra* de mayor tamaño son capaces de producir un mayor número de huevos, que *C. grandimana* y *C. hirsuta*, de menor tamaño. Por tanto el número de huevos que es capaz de producir cada especie puede ser debido a que una bolsa de incubación de mayor tamaño permite albergar un mayor número de huevos en su interior.

La finalidad de este estudio tiene implicaciones para futuros desarrollos de tests de ecotoxicología sobre todo con *C. grandimana*. Esta especie es capaz de crecer y reproducirse en cautividad, y esto representa uno de los primeros avances para poder evaluar el efecto de diferentes contaminantes sobre el crecimiento y reproducción de esta especie. Además, nuestro estudio proporciona un conocimiento básico sobre el ciclo de vida de la especie y el tiempo de supervivencia, la tasa de crecimiento, el tiempo de maduración y de fecundidad. Todos ellos juegan un importante papel para el uso potencial de estas especies en acuicultura. Como señaló Woods (2009), los caprélidos anfípodos son un recurso infravalorado para la acuicultura.

Tabla 2. Los datos sin asteriscos representan los valores medios y el rango del material procedente del Estrecho de Gibraltar. (al menos n=20 individuos de cada especie fueron medidos de cada sexo) (Baeza-Rojano *et al.*, no publicados). *Valores tomados de Krapp-Schickel, 1993. **Datos tomados de Takeuchi e Hirano, 1992b a 20°C. ***Datos tomados de individuos de Japón (datos no publicados). ****Datos tomados de Ashton *et al.* (artículo en prensa). *****Datos recogidos de Guerra-García *et al.* 2000b.

	Longitud machos (mm)	Longitud hembras (mm)	Nº huevos
<i>Caprella acanthifera</i>	8,3(6,8-9,6) (9,3-13)*	4,8(3,9-6,7) (3,3-6,0)*	12(3-21)
<i>Caprella danilevskii</i>	8,3(6,7-10,9) (8,5-9)*	4,7(4,1-5,6) (6,6-7)*	22(8-50)**
<i>Caprella dilatata</i>	9,7(7,5-14,8)	6,8(5,2-10)	37(15-75)
<i>Caprella equilibra</i>	9,8(6,4-12,8) (13-20)*	6,2(6-8,1) (8,5-12)*	32(25-40) 53(16-151)***
<i>Caprella grandimana</i>	5,7(4,0-7,6) 3,8*	4,2(3,1-5,2)	7,6(4-18)
<i>Caprella hirsuta</i>	4,1(3,1-4,9)***** (3,5-4,5)*	2,7(2,2-3,5)***** (3-3,5)*	4(2-8)*****
<i>Caprella liparotensis</i>	6,1(5,2-7,8) (7,5-12)*	4,5(3,7-5,1) (4,5-7)*	15(5-24)
<i>Caprella penantis</i>	7,7(6,5-10,2)	4(3,2-4,9)	18(8-29)
<i>Caprella mutica</i>	10,4(8,29-12,9)****	7(6,32-7,8)****	65(50-82)****
<i>Phtisica marina</i>	7,3(4,3-11,2) (9-17,5)*	4,7(2-5,8) (7-16)*	15(3-40)
<i>Pseudoprotella phasma</i>	7,9(5,6-10,9) 11*	6,2(4,7-7,7) (5,8-7,6)*	35(30-40)

3.6 BIBLIOGRAFÍA

- Aoki M (1988) Factors affecting population fluctuations of caprellid amphipods inhabiting *Sargassum patens* bed (Preliminary report). *Benthos Research*, 32: 42-49.
- Aoki M (1999) Morphological characteristics of young, maternal care behaviour and microhabitat use by caprellids amphipods. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79: 629-638.
- Aoki M, y Kikuchi T (1991) Two types of maternal care for juveniles observed in *Caprella monoceros* Mayer, 1890 and *Caprella decipiens* Mayer, 1890 (Amphipoda. Caprellidae). *Hydrobiologia*, 223: 229-237.
- Bellan-Santini D y Ruffo S (1998) Faunistics and zoogeography. In Ruffo S. (ed.) The Amphipoda of the Mediterranean. *Mémoires de l'Institut Océanographique, Monaco*, 13: 895-911.
- Caine EA (1991) Reproductive behaviour and sexual dimorphism of a caprellid Amphipod. *Journal of Crustacean biology*, 11(1): 56-63.
- Chen JC, Ting YY, Lin JN, y Lin MN (1990) Lethal effects of ammonia and nitrite on *Penaeus chinensis* juveniles. *Marine Biology*, 107: 427-431.
- Cook EJ, Willis KJ y Lozano-Fernandez M (2007) Survivorship, growth and reproduction of the non-native *Caprella mutica* Schurin, 1935 (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia*, 590: 55-64.
- Costello MJ y Myers AA (1989) Breeding periodicity and sex ratios in epifaunal marine Amphipoda in Lough Hine, Ireland. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 29: 409-419.
- Guerra-García JM (2001) Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia*, 55: 27-38.
- Guerra-García JM y García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). P.S.Z.N.: *Marine Ecology*, 22(4): 357-367.
- Guerra-García JM y Takeuchi I (2002) The Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa, with the description of three species of *Caprella*, a key to species of *Caprella* and biographical discussion. *Journal of Natural History*, 36: 675-713.
- Guerra-García JM, Corzo J, García-Asencio I y García-Gómez JC (2000a) Seasonal fluctuations of *Phtisica marina* Slabber (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) in estuarine zone of Southwest Spain. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 47: 527-531.

- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2000b) Redescription of *Caprella hirsuta* Mayer, 1890 (Crustacea, Amphipoda, Caprellidea) from the Strait of Gibraltar. *Miscellánia Zoológica*, 23: 69-78.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2001) Two new hairy species of *Caprella* (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar, with a redescription of *Caprella grandimana*. *Journal of Crustacean Biology*, 21(4): 1014-1030.
- Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (2002a) *Caprella caulerpensis* (Crustacea: Amphipoda), a new species associated with *Caulerpa prolifera* from the Strait of Gibraltar. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82: 843-846.
- Guerra-García, Corzo JM y García-Gómez JC (2002b) Clinging behaviour of the Caprellidea (Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Crustaceana*, 75: 41–50.
- Guerra-García JM, Martínez-Pita I y Pita ML (2004) Fatty acid composition of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Scientia Marina*, 68(4): 501-510.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Díaz-Pavón JJ, Pacios I, y García-Gómez JC (2009a) The amphipods *Caprella penantis* and *Hyale schmidtii* as biomonitors of trace metal contamination in intertidal ecosystems of Algeciras Bay, Southern Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 765-786.
- Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Espinosa F y García-Gómez JC (2009b) Is the north of the Strait of Gibraltar more diverse than the South side? A case study using the intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(2): 387-397.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas P, Pacios I, Díaz Pavón JJ y García-Gómez JC (2009c) Spatial patterns and seasonal fluctuations of the Intertidal Caprellidae (Crustacea; Amphipoda) from Tarifa Island, Southern Spain. *Zoologica Baetica*, 20: 59-72.
- Harrison RJ (1940) On the biology of the Caprellidae. Growth and moulting of *Pseudoprotella phasma* Montagu. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 124: 483-493.
- Heptner MV (1963) Reproductive biology and life cycle of *Caprella septentrionalis* Krøyer (Amphipoda, Caprellidae) in the White Sea. *Zoologicheskii Zhurnal*, 42: 1619-1630.
- Hosono T (2009) Effect of temperature on the duration of reproductive cycles of female *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda) in the laboratory. *Marine Biodiversity Records*, 1-6. doi:10.1017/S1755267209990583; Vol. 2; e140; Published online
- Hughes RG (1978) Life-histories and abundance of epizoites of the hydroid *Nemertesia antennina* (L.). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 58: 313-332.

- Imada K y Kikuchi T (1984) Studies on some reproductive traits of three Caprellids (Crustacea: Amphipoda) and their seasonal fluctuations in the Sargassum bed. Publicado en *Amakusa Marine Biological Laboratory*, 7: 151-172.
- Keith DE (1971) Substrate selection in caprellid amphipods of southern California, with emphasis on *Caprella californica* Stimpson and *Caprella equilibra* Say (Amphipoda). *Pacific Science*, 25: 387-394.
- Krapp-Schickel T (1993) Suborder Caprellidea. 773-809 in S.Ruffo, ed. The Amphipoda of the Mediterranean. *Mémoires de l'Institut Oceanographique*, Monaco 13.
- Lewbel GS (1978) Sexual dimorphism and intraspecific aggression, and their relationship to sex ratios in *Caprella gorgonia* Laubitz and Lewbel (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 33: 133-151.
- Lim STA y Alexander CG (1986) Reproductive Behaviour of the Caprellid Amphipod, *Caprella Scaura typica*, Mayer 1890. *Marine Behaviour y Physiology*, 12: 217-230.
- Pacios I, Guerra-García JM, Baeza-Rojano E y Cabezas MP (2011) The non-native seaweed *Asparagopsis armata* supports a diverse crustacean assemblage. *Marine Environmental Research*, 71: 275-82.
- Sano M, Omori M y Taniguchi K (2003) Predator-prey systems of drifting seaweed communities on the Tohoku coast, northern Japan, as determined by feeding habitat analysis of phytal animals. *Fisheries Science*, 69: 260-268. doi:10.1046/j.1444-2906.2003.00616.x
- Sconfiatti R y Luparia P (1995) Population ecology of the amphipod *Caprella equilibra* Say in a lagoon estuary (Northern Adriatic Sea, Italy). P.S.Z.N.I: *Marine Ecology*, 16: 1-11.
- Takeuchi I (1989) Taxonomic and ecological studies of the Caprellidea (Crustacea, Amphipoda) inhabiting the Sargassum zone. Tesis doctoral no publicada. Facultad de Agricultura, Universidad de Tokio.
- Takeuchi I y Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110(3): 391-397.
- Takeuchi I y Hirano R (1992a) Growth and reproduction of the epifaunal amphipod *Caprella okadai* Arimoto (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 161: 201-212.
- Takeuchi I y Hirano R (1992b) Duration and size of embryos in epifaunal amphipods *Caprella danilevskii* Czerniavski and *C. okadai* Arimoto (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 164: 161-169.

- Takeuchi I y Hirano R (1995) Clinging behaviour of the epifaunal caprellids (Amphipoda) inhabiting the Sargassum zone on the Pacific coast of Japan, with its evolutionary implications. *Journal of Crustacean Biology*, 15(3): 481-492.
- Takeuchi I, Yamakawa H y Fujiwara M (1990) Density fluctuation of Caprellid amphipods (Crustacea) inhabiting the red alga *Gelidium amansii* (Lamouroux) Lamouroux, with emphasis on *Caprella okadai* Arimoto. *La mer*, 28: 30-36.
- Thiel M (1997) Another caprellid amphipod with extended parental care: *Aeginina longicornis*. *Journal of Crustacean Biology*, 17(2): 275-278.
- Vassilenko SV (1991) Eco-physiological characteristic of some common caprellid species in the Possjet Bay (The Japan Sea). *Hydrobiologia*, 335: 71-76.
- Wildish DJ (1972) Post embryonic growth and age in some littoral Orchestia (Amphipoda, Talitridae). *Crustaceana* (Suppl.) 3: 267-274.
- Woods CMC (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture*, 289(3-4): 199-211.

PARTE 2



**CICLO DE VIDA BAJO CONDICIONES
DE LABORATORIO DE LOS CAPRÉLIDOS
DE LA FAMILIA CAPRELLIDAE:
CAPRELLA EQUILIBRA Y *CAPRELLA DILATATA*
Y PHTISICIDAE: *PHTISICA MARINA*, DEL SUR DE LA
PENÍNSULA IBÉRICA**

3.7 RESUMEN

Tres de las especies de caprélidos más abundantes del sur de la Península Ibérica, dos de la familia Caprellidae (*Caprella equilibra* y *Caprella dilatata*) y una de la familia Phtisicidae (*Phtisica marina*) fueron cultivadas durante todo su ciclo de vida bajo condiciones controladas de laboratorio (20°C, 12h luz: 12h oscuridad, salinidad 35 gL⁻¹) con el fin de conocer con mayor profundidad características individuales de su ciclo biológico. Las tres especies mostraron características biológicas similares a pesar de pertenecer a dos familias diferentes. La amplitud del ciclo biológico desde la emergencia de los juveniles hasta su muerte fue de 18 a 92 días, siendo *C. dilatata* la especie más longeva. El periodo generacional estuvo comprendido entre 29-34 días, alcanzándose la madurez sexual en 20-34 días y presentando un tiempo de incubación rápido de 3 a 6 días. Los procesos de muda fueron continuos a lo largo de todo el ciclo de vida (entre 3 y 12), siendo *P. marina* la que realizó un menor número. Las hembras realizaron un mayor número de mudas, mientras que los machos mudaron menos y fueron prolongando sus periodos intermuda con la longevidad. En ambas especies el crecimiento de los machos fue superior al de las hembras, alcanzando mayor longitud corporal (3,0-10,4mm frente a 3,0-7,5 mm) y mayor número de artejos flagelares en las antenas 1 en sus instars finales. Las curvas de crecimiento fueron lineales para los machos, mientras que las hembras estabilizaron su crecimiento con curvas logarítmicas. La fecundidad de las hembras estuvo directamente relacionada con la longitud corporal de la hembra, emergiendo mayor número de juveniles de las hembras de mayor tamaño. El mayor número de eventos reproductivos por hembra fue de 4 con un máximo de 46 a 56 crías totales. El comportamiento precopulatorio fue muy claro en *P. marina*, sujetando el macho a la hembra por medio de sus pereiópodos 3-5 y no se observó un cuidado parental marcado en ninguna de las tres especies. El conocimiento de los parámetros biológicos de estas especies es fundamental para comprender como fluctúan sus poblaciones en condiciones naturales, y conocer los procesos que a nivel individual ocurren en la población. Así mismo, este estudio refleja que las tres especies consideradas son fácilmente cultivables bajo condiciones de laboratorio permitiendo su uso para pruebas ecotoxicológicas o como posible fuente de alimento para animales de pequeño tamaño en centros de acuicultura.

3.8 INTRODUCCIÓN

3.8.1 Taxonomía y ecología de las especies

Caprella equilibra Say 1818, *Caprella dilatata* Krøyer 1843 y *Phtisica marina* Slabber 1769, son tres de las especies más abundantes del sur de la Península Ibérica. En la Isla de Tarifa, en la zona más meridional de la Península Ibérica, *C. equilibra*, junto con *Caprella liparotensis* y *Caprella penantis* se encontró presente en la zona más baja de los cinturones intermareales dominados por el alga roja *Gelidium corneum* (Guerra-García *et al.*, 2009a); también es muy frecuente encontrarla en el interior de puertos y a lo largo de la región Atlántica asociada a algas intermareales (Guerra-García *et al.*, 2010). *Caprella dilatata* se encuentra sobre todo sobre estructuras flotantes como boyas o cuerdas en estuarios y puertos y *Phtisica marina* sobre algas por toda la Península Ibérica (Guerra- García *et al.*, 2010).

Caprella equilibra es una especie cosmopolita que se encuentra entre los 0-500 metros de profundidad. Se caracteriza por presentar el cuerpo liso, a excepción de una proyección aguda localizada entre la inserción de los gnatópodos 2. El cefalón se encuentra aplastado anteriormente. La longitud máxima en machos es de 22 mm, y en hembras de 12 mm. Los machos de gran tamaño presentan los artejos 2-3 del pedúnculo de la antena 1 ligeramente más cortos que la antena 2. En hembras y en pequeños machos, el pedúnculo

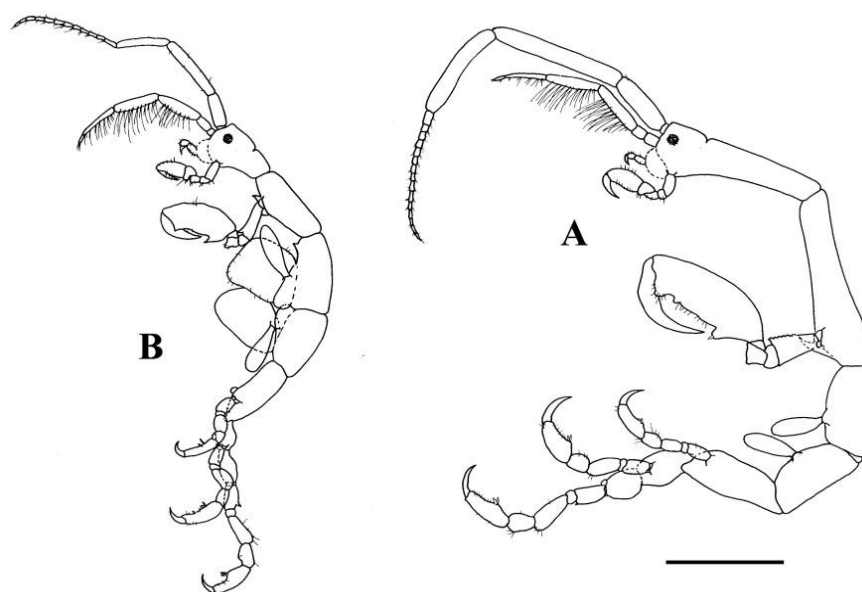


Figura 1. Vista lateral de *Caprella equilibra* macho (A) y hembra (B). Escala 1mm. (Riera *et al.*, 2003).

de la antena 1 algunas veces es más corto que la antena 2. El propodio del gnatópodo 1 posee dos espinas de agarre o *grasping spines* proximales, con el margen de agarre del dácilo y del propodio serrado. La basis del gnatópodo 2 es corta y robusta, menor que la mitad de la longitud del pereionito 2, con el margen anterodistal terminado en una proyección triangular. La palma del propodio tiene numerosas setas, una única *grasping spine* proximal, un diente rectangular distal y un diente ligeramente proximal. Las branquias son de ovaladas a elípticas en los machos mayores. El propodio de los pereiópodos 5-7 es robusto con dos *grasping spines* proximales, palma con púas de agarre y muchas setas (Figura 1).

Ha sido recolectada de numerosos sustratos tales como fanerógamas marinas, algas verdes y rojas, hidrozooos, briozoos y ascidias coloniales (McCain, 1968; Krapp-Schickel, 1993), incluso se han encontrado especímenes asociados a los pleópodos del crustáceo stomatópodo *Squilla empusa* (O'Brien, 1975). Es muy frecuente encontrarla también en estructuras artificiales tales como boyas o pantalanés flotantes en el interior de puertos (Caine, 1987; Thiel et al., 2003; Guerra-García et al., 2010, 2011) ya que esta especie soporta aguas contaminadas y tranquilas (Fiorencis, 1940).

Caprella dilatata posee una distribución Atlántico-mediterránea. Se ha recolectado en las costas de España, Francia, Italia, Egipto, Algeria y Ceuta (McCain y Steinberg, 1970; Krapp-Schickel, 1993; Guerra-García y Takeuchi, 2002) y en las costas americanas tanto del norte como del sur (Masunari y Takeuchi, 2006). Es una especie principalmente infralitoral, pudiéndose encontrar hasta los 20 m de profundidad (Guerra-García, 2001). Según Krøyer (1843) su cuerpo se caracteriza por su robustez, siendo más ancho que alto sobre todo en ejemplares viejos, con pereiópodos fuertes. Los pereionitos son lisos sin ninguna espina. El margen frontal de la cabeza está provisto de un rostro (proyección frontal). Las antenas 1 son casi iguales a 2/5 de la longitud de los animales, con el segundo artejo del pedúnculo suboval.

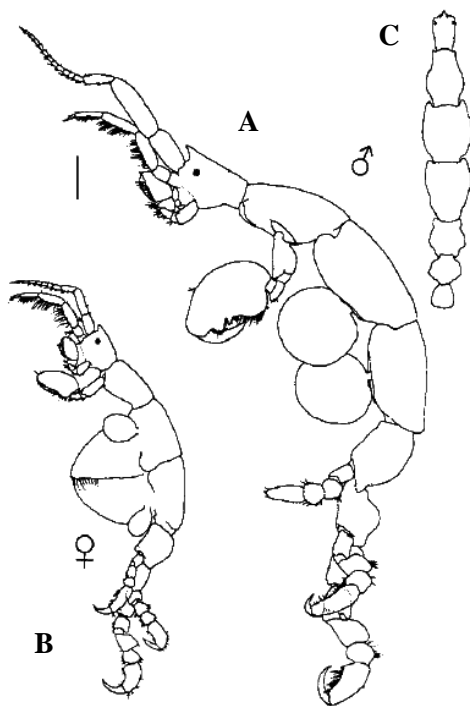


Figura 2. Vista lateral del macho (A) y la hembra (B) de *Caprella dilatata*. Vista dorsal (C). Escala 1mm. (redibujado de Guerra-García et al., 2006).

Las antenas 2 son un poco más cortas que las superiores. Los ojos poseen un anillo negro angosto rodeado por otro blanco. Las branquias son casi redondeadas. Los pereiópodos 5, 6 y 7 están ensanchados en el artejo 1 y 3 siendo más anchos que largos (figura 2). Esta especie se suele encontrar en zonas poco profundas asociada a algas (Krapp-Schickel, 1993; Guerra-García, 2001; Jacobucci *et al.*, 2002), briozoos y esponjas (Masunari y Takeuchi, 2006), pero sobre todo es muy frecuente encontrarla sobre la superficie de cuerdas y boyas de barcos (Krøyer, 1843) y en muy grandes cantidades asociados a las cuerdas para la cría del mejillón hasta los 6 m de profundidad (Masunari y Takeuchi, 2006), o en las jaulas de acuicultura (Fernández-González y Sánchez-Jerez, 2011).

Phtisica marina está ampliamente distribuida por el Océano Atlántico, Pacífico y Mar Mediterráneo (McCain, 1968; Krapp-Schickel, 1993) habiéndose encontrado especímenes hasta los 660 m de profundidad. La presencia de los pereiópodos 3 y 4 hacen fácilmente identificable esta especie. Posee un cefalosoma redondeado sin rostro, cuerpo delicado y liso. La antena 1 tiene longitud variable, desde $\frac{1}{2}$ de la longitud del cuerpo hasta igualar la longitud corporal. La antena 2 tiene una longitud similar a la del pedúnculo de la antena 1. El margen interno del gnatópodo 1 posee dos *grasping spines* y de 4-5 espinas accesorias. El gnatópodo 2 está situado a mitad del pereionito 2, la palma es convexa con un diente subproximal y 3 pequeños delimitando una concavidad con un saco membranoso muy desarrollado en machos adultos, dátilo muy curvado. Los pereiópodos 6-7 son normales y el propodio tiene un par de *grasping spines*. Las branquias son alargadas (Figura 3).

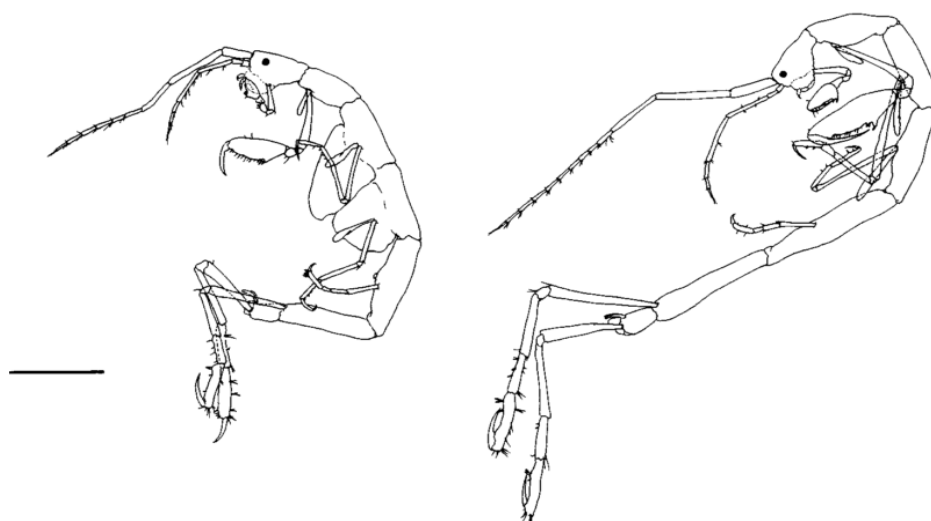


Figura 3. Vista lateral del macho (A) y la hembra (B) de *Phtisica marina* (Riera *et al.*, 2003). Escala= 1mm.

La especie *P. marina* es cosmopolita, se encuentra en algas verdes y pardas, siendo abundante en *Stypocaulon scoparium* en el sur de la Península Ibérica (Sánchez-Moyano y García-Gómez, 1998; Pereira *et al.*, 2006; Guerra-García *et al.*, 2009b), en hidrozooos, ascidias, antozoos, esponjas, briozoos y en el sedimento (Guerra-García *et al.*, 2001). Es una de las especies de caprélido más abundante en las praderas de fanerógamas del Sur de España (González *et al.*, 2008) y también se encuentra asociado a algas invasoras tales como *Caulerpa racemosa* (Vázquez-Luis *et al.*, 2009). Esta especie es capaz de habitar aguas turbias, con materia orgánica en suspensión (Guerra-García y García-Gómez, 2001).

3.8.2 Estudios previos de sus ciclos de vida y fluctuaciones poblacionales.

El ciclo biológico de *C. equilibra* se estudió *in situ* en una laguna estuarina del Mar Adriático, donde se observó que los individuos se reproducían más de una vez al año, presentando picos en abril y septiembre, disminuyendo en verano debido a las altas temperaturas y deteniéndose la cría en invierno (Sconfietty y Luparia, 1995). Resultados similares se obtuvieron en las fluctuaciones poblacionales anuales de una zona estuarina del suroeste de España, encontrándose hembras reproductivas durante todo el año, con picos reproductivos durante marzo-abril y principios de otoño (de septiembre a diciembre) y densidades muy bajas en verano (Sánchez-Moyano *et al.*, datos no publicados). En Cádiz, Conradi *et al.* (2000), detectaron grandes densidades a finales del verano comienzo del otoño (septiembre-noviembre) sobre el briozoo *Bugula neritina* y Guerra-García *et al.* (2009a) encontraron esta especie presente en la zona intermareal de la Isla de Tarifa de febrero a abril pero con bajas densidades.

Los estudios relacionados con el ciclo de vida de *Caprella dilatata* son muy escasos. Apareció en la fase final del estudio llevado a cabo en una zona estuarina del suroeste de la Península Ibérica por Sánchez-Moyano *et al.* (datos no publicados) sobre el briozoo *Bugula neritina* en el mes de enero. En otros estudios llevados a cabo en Brasil (Estado de Santa Catarina), se cita que *C. dilatata* llegó a ser muy numerosa durante los meses de verano sobre las líneas de cuerda de cultivo de mejillones, incluso causando irritación en la piel de los recolectores (Masunari y Takeuchi, 2006). Las densidades sobre el alga *Sargassum filipendula* en la región subtropical de Brasil también aumentaron durante los meses de verano junto con el aumento de especies epífitas (Jacobucci *et al.*, 2009). Durante el estudio llevado a cabo por Sconfietty y Luparia (1995) *C. dilatata* también estuvo presente junto con *C. equilibra* en una laguna estuarina del norte del Mar Adriático, presentando mayores densidades en verano y otoño, pero estando ligada estrictamente a la sección inferior de la

ría, con fluctuaciones de salinidad reducida y con fuerte intercambio con el mar, lo que indica que *C. dilatata* posee un menor grado de eurihalinidad que *C. equilibra*.

Por otro lado, las fluctuaciones estacionales de *Phtisica marina* fueron estudiadas por Guerra-García *et al.* (2000) en una zona estuarina del suroeste de España sobre las algas *Cystoseira usneoides* y *Sargassum vulgare*, encontrándose densidades 10 veces superiores durante los meses de invierno y primavera (enero-mayo), que durante los meses de verano y otoño (junio-diciembre). Conradi *et al.*, (2000) también obtuvieron mayores densidades durante los meses invernales y primaverales sobre el sustrato *Bugula neritina*.

En la mayoría de los estudios la abundancia de caprélidos estuvo directamente relacionada con la presencia y el ciclo de vida de las algas o el sustrato en el que se encontraban, así como de las condiciones de temperatura, salinidad y concentración de oxígeno de las zonas.

Objetivo. El principal objetivo de nuestro estudio fue estudiar el ciclo de vida en condiciones de laboratorio de estas tres especies de caprélidos del sur de la Península Ibérica con el fin de conocer con mayor profundidad características individuales de su ciclo biológico, las cuales son muy complicadas de obtener mediante la recogida periódica de muestras poblacionales en el campo. Parámetros tales como su crecimiento, número de mudas, longevidad de machos y hembras, tiempo de maduración o periodo generacional, y fecundidad, así como la observación de posibles patrones de comportamiento característicos de cada especie fueron estudiados a lo largo del cultivo.

3.9 MATERIALES Y MÉTODOS

3.9.1 Recogida de individuos

Las hembras ovígeras de *C. equilibra* se obtuvieron de ramas de briozoos (*Bugula neritina*) y macroalgas (*Corallina elongata*) que se encontraban adheridas a la superficie de los pantalanes flotantes del puerto deportivo de La Línea en Cádiz (36°09'35.68"N-5°21'33.95"O). Las hembras de *C. dilatata* también se obtuvieron de las ramas de los briozoos (*Bugula neritina*) e hidrozoos (*Ectopleura crocea*) crecidos sobre cuerdas y pantalanes flotantes del puerto de El Rompido en Huelva (37°12'58.52"N-7°07'43,82"O) y las hembras de *Phtisica marina* se recolectaron de la zona estuarina cercana a la desembocadura del Río Piedras en el Portil, Huelva (37°12'36.93"N-7°03'42.48"O).

3.9.2 Manejo de individuos y condiciones del cultivo

La metodología seguida fue la realizada por Baeza-Rojano *et al.* (2011). Las hembras ovígeras individualizadas se introdujeron en pequeños recipientes de 7cm x 7cm x 5cm (ancho x largo x alto) de 120ml de volumen, con una pequeña malla de plástico de 1mm de diámetro de poro y 0,3mm de grosor para el agarre de los caprélidos. Cuando los juveniles emergían del cuerpo de la madre, en el caso de que no se observara cuidado maternal, se separaban en grupos de 5 y se colocaban en nuevos recipientes sin la presencia de la madre. Cuando los juveniles alcanzaban la madurez sexual, un macho y una hembra eran introducidos por cada recipiente para llevar a cabo el control de la cópula, fecundidad de la hembra y número de puestas. Los recipientes fueron llenados con agua de mar artificial fabricada a partir de agua osmotizada y sal (ReefSalt of Seachem™), llevado a una salinidad de 35 gL⁻¹. El agua se renovó diariamente. Los individuos se mantuvieron en una cámara de incubación a una temperatura de 20°C y un fotoperiodo de 12h luz: 12h oscuridad.

3.9.3 Alimentación.

Caprella equilibra es considerada detritívora y depredadora, alimentándose de pequeños crustáceos y copépodos (Guerra-García y Tierno de Figueroa, 2009) y *C. dilatata* y *Phtisica marina* se consideran oportunistas, ya que aunque el detritus es el principal

contenido digestivo, también se alimenta de pequeños crustáceos, macroalgas, y diatomeas. De este modo, la alimentación consistió en una mezcla de diatomeas liofilizadas (*Phaeodactylum tricornutum* y *Tetraselmis chuii*, 1:1) que eran disueltas en agua artificial para la formación de pequeños agregados, nauplios de *Artemia* que eran eclosionados previamente a su uso a partir de quistes de *Artemia* y comida de pez desmenuzada a modo de detritus. Todo ello era mezclado en una sola ración y se suministraba con pipetas en pequeñas gotas. Consultar cd que acompaña la memoria para los videos de individuos comiendo diatomeas, o cazando artemia y juveniles comiendo nauplios de artemia.

3.9.4 Recogida de datos

Tras la emergencia de los nuevos juveniles de la bolsa de incubación de las hembras procedentes del campo, se siguió todo el ciclo de vida de estos juveniles hasta su muerte. Se estudió el periodo intermuda desde su etapa juvenil hasta su etapa madura, el incremento en la longitud corporal total del cuerpo, así como el incremento del número de artejos flagelares de la primera antena tras cada periodo intermuda. La longitud total del individuo, desde el comienzo de la cabeza hasta el final del pereionito 7 fue medida cuando los individuos se encontraban completamente estirados sobre la superficie de la malla. Se estudió el tiempo de maduración, tiempo de incubación de los huevos en la bolsa junto con la emergencia de los juveniles, tiempo de generación y la fecundidad o el número de juveniles emergidos por evento reproductivo. Todos los individuos fueron observados regularmente mediante una lupa binocular (Motic ® Microscopes) para llevar a cabo el estudio de estos parámetros, así como para detectar determinadas pautas de comportamiento de la especie, tales como comportamientos de precópula entre el macho y la hembra, tipo de cópula realizada y presencia de cuidado maternal hacia los juveniles.

3.9.5 Análisis estadístico

Los resultados se expresan siempre utilizándose el valor medio y el error estándar (ES) de la media. Las posibles diferencias entre la duración de los ciclos de vida entre las diferentes especies estudiadas y los diferentes sexos, así como el número de mudas realizadas y el número de artejos máximo alcanzado se exploraron empleándose un ANOVA (Underwood, 1981) de dos factores, factor 1: especie y factor 2: sexo, ambos fijos y ortogonales. Para la realización de los ANOVA de forma balanceada, se escogieron al azar el mismo número de individuos para cada caso a estudiar. Para el estudio entre sexos en el

tamaño corporal en cada instar dentro de cada especie y la fecundidad y tiempo de incubación de las hembras, se realizaron ANOVAS de una vía. La normalidad de los datos se comprobó mediante el test de Kolmogorov Smirnov y la homogeneidad de varianzas mediante el test de Cochran. Los programas estadísticos empleados fueron GMAV5 y SPSS 17.

3.10 RESULTADOS

3.10.1 Fecundidad de las hembras ovígeras recolectadas

El número medio de juveniles que emergieron de la bolsa de incubación de las hembras recolectadas fue de $21,0 \pm 1,7$ juveniles para la especie *C. equilibra*, $21,8 \pm 4,9$ juveniles para *C. dilatata*, y $18,9 \pm 2,2$ juveniles para *P. marina*. El mayor número de juveniles emergidos fue de 43, 39 y 39 respectivamente y el menor número de 9,10 y 9 juveniles respectivamente.

3.10.2 Duración del ciclo de vida

La duración del ciclo de vida fue muy similar entre las especies (Tabla 1). Los individuos de *C. equilibra* tuvieron una vida media en condiciones controladas de laboratorio de $39,2 \pm 2,7$ días, con un máximo de 65 días y un mínimo de 18 días en aquellos individuos que llegaron a alcanzar la madurez. Los individuos de *P. marina* sobrevivieron durante $43,1 \pm 5,2$ días, llegando a alcanzar un máximo de 92 días y un mínimo de 20, y finalmente, *C. dilatata* obtuvo una media de $58,6 \pm 3,1$ días, con un máximo de 71 y un mínimo de 28, siendo la especie de mayor longevidad ($F=6,52$; $p<0,005$) (Tabla 2). No se obtuvieron diferencias significativas de la longevidad entre machos y hembras de las tres especies, aunque se obtuvieron valores normalmente superiores para las hembras (Tabla 1).

Tabla 1. Características del ciclo de vida de *C. equilibra*, *C. dilatata* y *P. marina* bajo condiciones controladas de laboratorio (temperatura 20°C, salinidad 35 g/l, M, macho, H, hembra).

Características del ciclo de vida	Especie	Sexo	Rango	Media	±ES	n
Duración (días)	<i>C. equilibra</i>	M	23 - 53	37,1	2,9	10
		H	18 - 65	41,3	4,4	10
	<i>C. dilatata</i>	M	43 - 71	59,9	3,8	10
		H	28 - 71	56,9	5,2	10
	<i>P. marina</i>	M	20 - 86	38,2	7,7	10
		H	21 - 92	48,1	6,9	10
Número de mudas	<i>C. equilibra</i>	M	4 - 8	5,9	0,7	10
		H	4 - 10	7,2	0,4	10
	<i>C. dilatata</i>	M	4 - 8	6,8	0,5	10
		H	4 - 11	7,8	0,5	10
	<i>P. marina</i>	M	3 - 7	4,2	0,5	10
		H	3 - 12	5,4	0,9	10
Longitud corporal (mm)	<i>C. equilibra</i>	M	3,9 - 8	5	0,3	8
		H	3,6 - 6,2	4,4	0,2	10
	<i>C. dilatata</i>	M	3 - 10,4	4,7	0,4	10
		H	3 - 5,9	4,1	0,2	8
	<i>P. marina</i>	M	4,8 - 8,5	5,4	0,6	7
		H	4,8 - 7,5	5,2	0,3	6
Número medio de juveniles	<i>C. equilibra</i>	H	6 - 24	12,7	3,1	10
	<i>C. dilatata</i>	H	3 - 24	9,2	3,1	9
	<i>P. marina</i>	H	2 - 27	9,8	2,3	10
Tiempo de incubación (días)	<i>C. equilibra</i>	H	4 - 6	5,3	0,2	12
	<i>C. dilatata</i>	H	3 - 5	4,1	0,2	10
	<i>P. marina</i>	H	4 - 6	4,6	0,2	11
Madurez sexual (días)	<i>C. equilibra</i>	H	23 - 33	29	1,4	6
	<i>C. dilatata</i>	H	21 - 32	26,3	1,9	8
	<i>P. marina</i>	H	20 - 34	24,5	2,1	9
Periodo generacional (días)	<i>C. equilibra</i>	H		34,3		
	<i>C. dilatata</i>	H		30,4		
	<i>P. marina</i>	H		29,1		

Tabla 2. Resultados del ANOVA de dos factores para la duración del ciclo de vida, número de mudas totales y número máximo de artejos flagelares de la antena 1. MS cuadrados medios, P nivel de significación, df grados de libertad, ns no significativo.

* Significativo ($p < 0.05$), ** Significativo ($p < 0.01$), ***Significativo ($p < 0,001$). (n=10).

Fuente de variación	df	Duración ciclo			df	Número de mudas totales			df	Número máximo de artejos			F versus
		MS	F	P		MS	F	P		MS	F	P	
Especie = Es	2	1997,45	6,52	0,0029**	2	26,51	5,62	0,0061**	2	132,2	18,19	0,0000***	Es X Se
Sexo = Se	1	212,81	0,69	0,4084	1	24,06	5,1	0,0280*	1	0,6	0,08	0,7749	Res
Es x Se	2	315,11	1,03	0,3646	2	0,81	0,17	0,8417	2	8,6	1,18	0,3140	Res
Residual	54	306,55			54	4,7222			54	7,2667			
Cochran's test		C= 0,3241 (ns)				C = 0,2604 (ns)				C = 0,4457(ns)			
Transformación		ninguna				ninguno				ninguna			

3.10.3 Ciclos de muda

Durante el proceso de muda, para evitar la caída del sustrato, los individuos quedaban sujetos a la malla por algún tipo de estructura o glándula localizada en la región dorsal del cuerpo, entre el pereionito 1 y 2. De este modo todos los pereiópodos y el resto del cuerpo quedaban libres para la salida de la cutícula antigua, la cual comenzaba a escindirse a partir de esta región de la cabeza. Ver video y foto en cd adjunto.

Los machos de *C. equilibra* llegaron a alcanzar la Instar IX realizando 8 mudas mientras que las hembras continuaron mudando dos veces más hasta alcanzar la Instar XI. El número medio de mudas para hembras fue de 7,2 y 5,9 para machos. Los machos de *C. dilatata* también alcanzaron la Instar IX y las hembras llegaron a mudar tres veces más alcanzando la Instar XII. El número medio de mudas fue de $6,8 \pm 0,5$ y $7,8 \pm 0,5$ para machos y hembras respectivamente. En el caso de *P. marina* los machos solo alcanzaron la Instar VIII, mientras que las hembras llegaron a alcanzar la Instar XIII. El número medio de mudas fue de $4,2 \pm 0,5$ y $5,4 \pm 0,9$ respectivamente, siendo significativamente inferior al número de mudas de las otras dos especies ($F= 5,62$; $p<0,01$) (Tabla 2). En las tres especies los machos presentaron un menor número de mudas que las hembras ($F=5,10$; $p<0,05$) (Tabla 2). Los periodos intermuda fueron fluctuantes y no se pudo apreciar un patrón claro (Tabla 3), sin embargo al representar estos periodos intermuda con la longitud corporal del individuo, se observó una tendencia al aumento del número de días entre una muda y la siguiente en machos conforme aumentaba la longitud corporal del individuo (Figura 4).

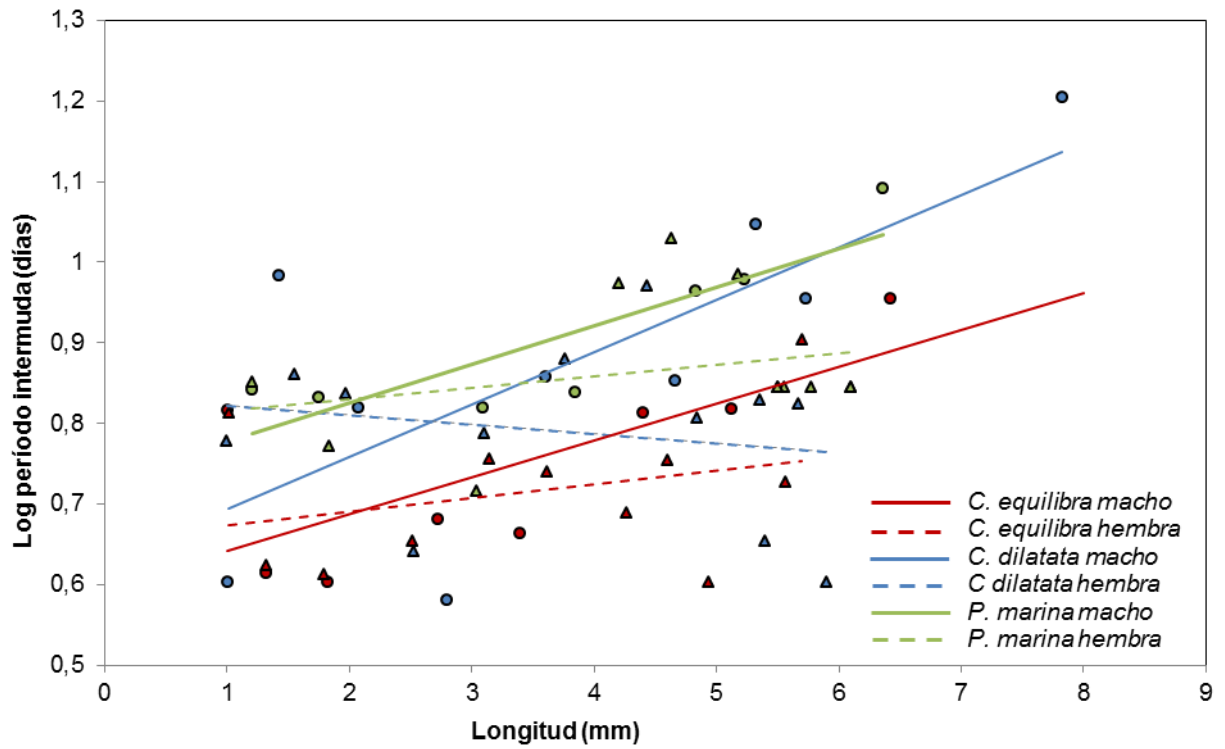


Figura 4. Duración del periodo intermuda en machos y hembras de las tres especies de caprellidos: *C. equilibra*, *C. dilatata* y *P. marina* en relación a la longitud corporal de los individuos. Las líneas de tendencia lineales son representadas para cada especie y sexo. *C. equilibra* macho: $r=0,72$ $p<0,05$; *C. dilatata* macho: $r= 0,73$ $p<0,05$; *P. marina* macho: $r= 0,87$ $p<0,05$; *C. equilibra* hembra: $r= 0,31$; *C. dilatata* hembra $r= 0,19$; *P. marina* hembra: $r= 0,27$. *C. equilibra*: rojo, *C. dilatata*: azul, *P. marina*: verde. Machos: círculo, Hembras: triángulo, Líneas de tendencia continuas: macho, discontinuas: hembra.

Tabla 3. Duración (días) de cada instar para *Caprella equilibra*, *Caprella dilatata* y *Phtisica marina*. Los sexos no pudieron ser diferenciados hasta la Instar IV. Los datos se representan como Media \pm ES.

		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
<i>C. equilibra</i>	Machos (\pm ES)				4,8 (0,5)	4,6 (0,6)	6,5 (0,8)	6,6 (0,9)	9 (0,6)				
	Hembras (\pm ES)				4,5 (0,4)	5,7 (0,7)	5,5 (0,8)	4,9 (0,9)	5,7 (0,8)	4 (0,8)	5,3 (0,7)	8 (0)	
	Juveniles (\pm ES)	6,3 (0,3)	4,3 (0,2)	4,2 (0,2)									
<i>C. dilatata</i>	Machos (\pm ES)				3,8 (0,4)	7,2 (1,5)	7,1 (1,1)	11,1 (1,7)	9 (1,1)	16 (2,7)			
	Hembras (\pm ES)				4,4 (1,1)	6,1 (0,7)	7,6 (1,1)	9,3 (1,8)	6,4 (1,5)	6,7 (0,8)	4,5 (1,2)	6,7 (0,9)	4 (0)
	Juveniles (\pm ES)	4,5 (0,3)	8,7 (0,6)	6,3 (0,6)									
<i>P. marina</i>	Machos (\pm ES)				6,8 (2,5)	9,2 (2,7)	9,5 (5,5)	12,3 (0)					
	Hembras (\pm ES)				9,4 (1,8)	10,7 (2,9)	9,7 (1,9)	7 (0)	7 (0)	7 (0)	7 (0)	7 (0)	7 (0)
	Juveniles (\pm ES)	7 (0,2)	7 (0,4)	6,1 (0,5)									

3.10.4 Crecimiento

El crecimiento de los individuos fue estudiado a partir del incremento del número de artejos en el flagelo de la antena 1, y el incremento en la longitud corporal total de los individuos. En las tres especies los machos mostraron una tasa de crecimiento superior a la de las hembras, con un mayor incremento en el número de artejos flagelares en su primer antena, y unas curvas de crecimiento corporal exponenciales. Todos los juveniles al emerger de la bolsa de incubación presentaron 3 artejos basales y dos artejos flagelares en su pedúnculo. Tras cada muda el número de artejos flagelares aumentó progresivamente, permaneciendo el número de artejos basales constante.

Fue común encontrar individuos de la especie *C. dilatata* a los que se le había producido la caída o la rotura de los artejos flagelares finales.

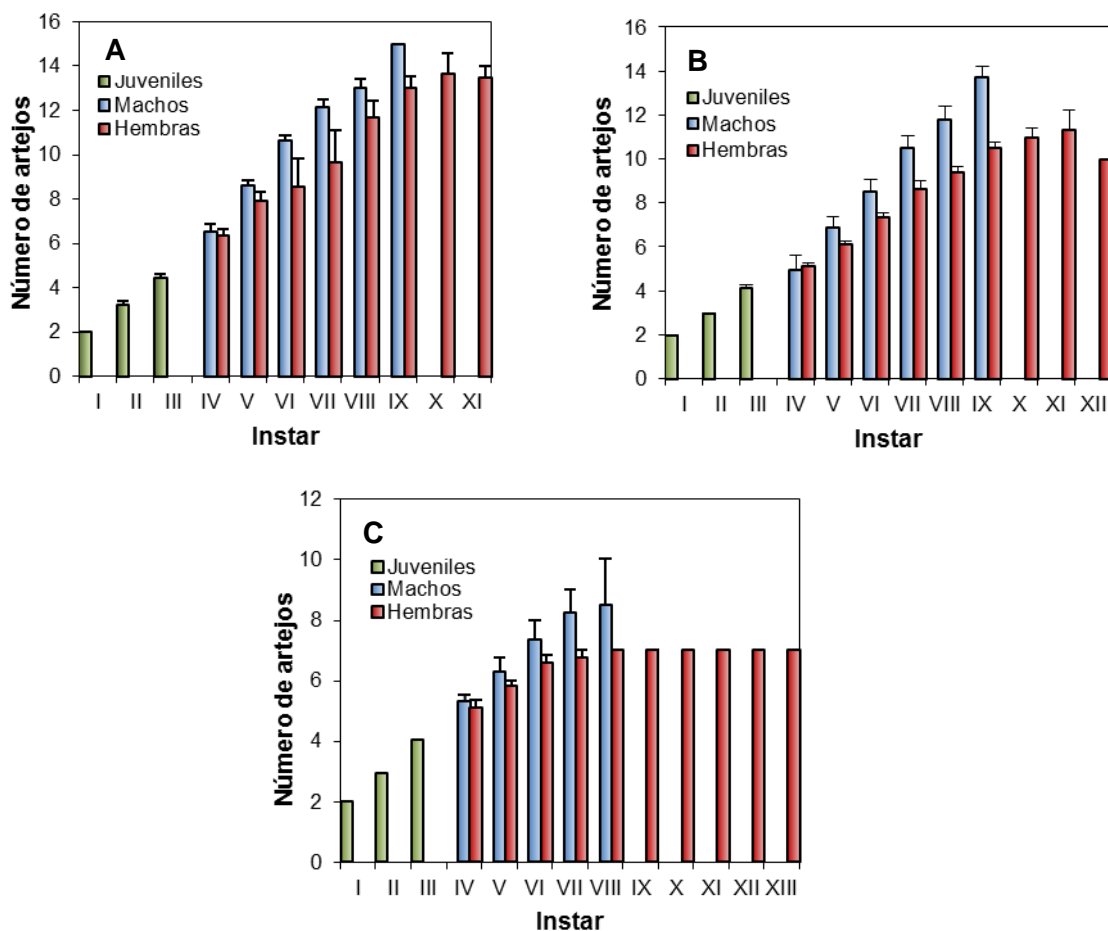


Figura 5. Número de artejos flagelares presentes en la antena 1 en machos y hembras de las especies de *C. equilibra* (A), *C. dilatata* (B) y *P. marina* (C) en cada instar de su crecimiento (Media \pm ES).

Caprella equilibra alcanzó los 14 artejos en las hembras y los 15 artejos en los machos. El incremento del número de artejos en los machos fue de dos tras cada muda de la Instar IV. Los individuos de *C. dilatata* hembras aumentaron de uno en uno el número de sus artejos tras cada muda, parando su incremento en las dos últimas instars. Los individuos machos, aumentaron el número individualmente hasta la Instar IV, produciéndose los mayores aumentos durante las Instar V-XII con incrementos de tres artejos tras cada muda. El máximo número fue de 15 para machos y 12 para hembras (Figura 5). *Phthisica marina* fue la especie con menor número de artejos ($F= 18,19$; $p<0,001$) (Tabla 2), presentando un máximo de 10 en machos y de 7 en hembras, necesitando en el caso de las hembras más de una muda para aumentar el número.

La talla máxima de *C. equilibra* fue de 8 mm para machos y 6,2 mm para hembras, el tamaño medio para los individuos maduros fue de $5 \pm 0,3$ mm en machos y $4,4 \pm 0,2$ mm en hembras, se obtuvieron diferencias significativas entre machos y hembras a partir de la Instar VI ($F= 8,21$; $P<0,05$). Los machos de *C. dilatata* alcanzaron 10,4 mm y las hembras 5.9 mm, la talla media fue de $4,7 \pm 0,4$ mm para machos y $4,1 \pm 0,2$ mm para hembras, y al igual que con *C. dilatata* se obtuvieron diferencias significativas entre sexos a partir de la Instar VI ($F= 4,37$; $P<0,05$). *Phthisica marina* alcanzó tamaños mayores con 8,5 mm en machos y 7,5 mm en hembras, la media fue de $5,4 \pm 0,55$ y $5,2 \pm 0,3$ para machos y hembras respectivamente (Tabla 1). Aunque para cada instar los machos siempre fueron superiores en tamaño a las hembras, no se obtuvo diferencias significativas en *P. marina* para ninguna instar. El crecimiento general para los machos como se puede observar en la figura 6 fue más rápido que en las hembras. Los machos mostraron crecimientos con líneas de tendencia lineales y polinómicas, mientras que las hembras siguieron líneas de tendencia logarítmicas debido a la estabilización de su tamaño durante las últimas instars de su ciclo (Figura 6).

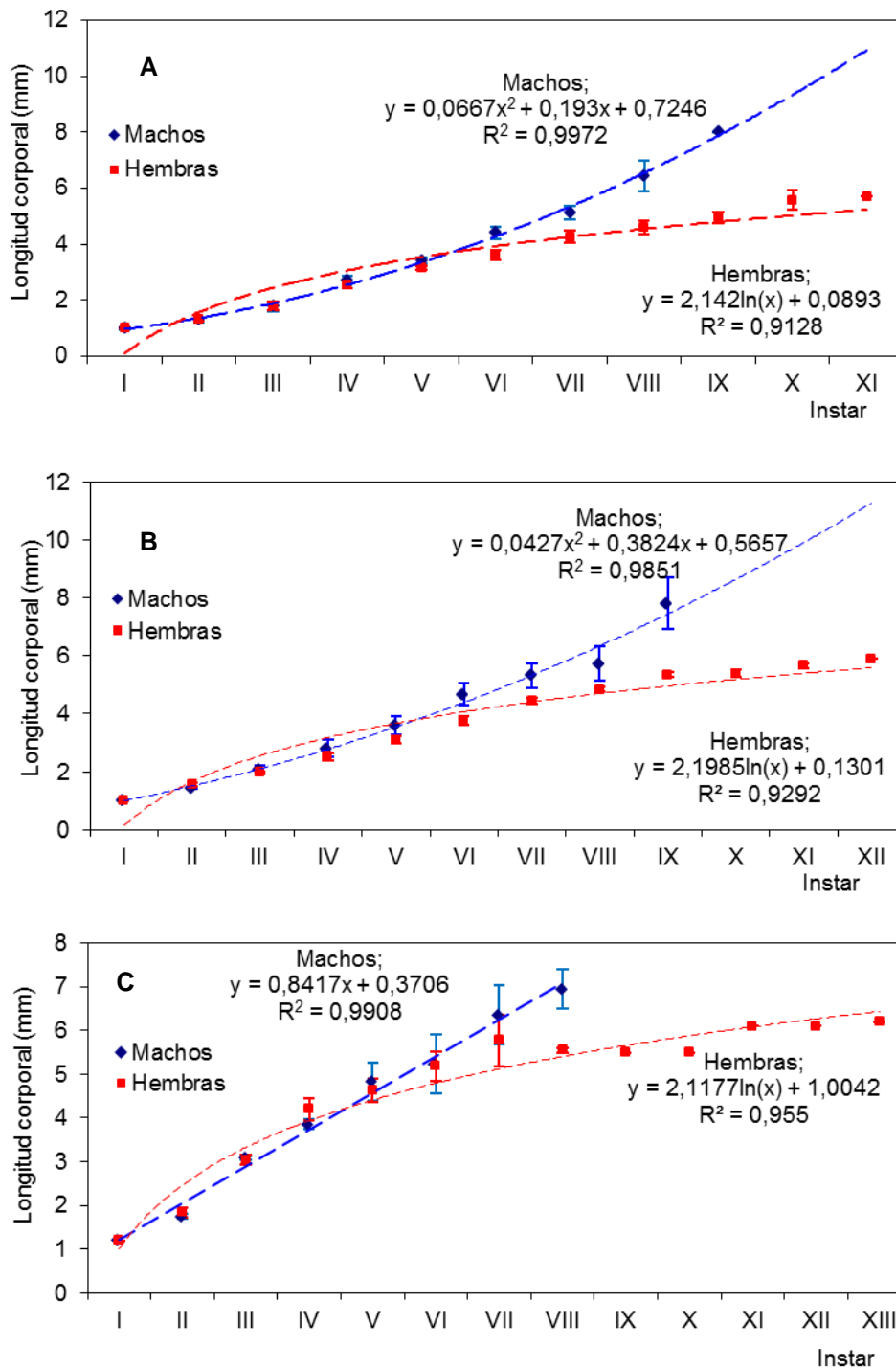


Figura 6. Relación entre la longitud corporal total de machos y hembras de *C. equilibra* (A), *C. dilatata* (B) y *P. marina* (C) en cada instar (Media \pm ES). ($p < 0,001$).

3.10.5 Fecundidad

Los individuos de *C. equilibra* comenzaron a diferenciarse entre machos y hembras a partir de la Instar IV, tras la tercera muda. *Caprella dilatata* y *Phtisica marina* se pudieron sexar también a partir de la Instar IV, y en algunos casos a partir de la Instar V. La diferenciación entre machos y hembras se llevó a cabo por el ensanchamiento de los oosteguitos en las hembras para dar lugar a la bolsa de incubación. Las hembras llegaron a la madurez a los 20-34 días de su ciclo de vida, comprendidos normalmente entre las Instar V y VI. *P. marina* fue la más temprana con una media de 24,5 días, más tarde *C. dilatata* con 26,3 días y por último *C. equilibra* con 29 días. Los rangos de los valores pueden observarse en la tabla 1. No se observaron diferencias significativas entre especies.

3.10.6 Comportamiento reproductivo

Caprella equilibra y *C. dilatata* no presentaron un comportamiento precopulatorio claro. En *C. equilibra* el macho se acercaba y palpaba con su primer par de antenas y su primer par de gnatópodos la parte dorsal del cuerpo de la hembra y en el caso de que se encontrara receptiva tras la muda, la sujetaba con sus pereiópodos y la fecundaba formando el par precopulatorio. En *C. dilatata* el macho permanecía cerca de la hembra guardándola hasta que se producía la cópula, similar al patrón "Tipo I" observado por Aoki (1996) en donde el macho y la hembra permanecían en posición paralela mientras el macho sujetaba con sus pereiópodos primeros el cuerpo de la hembra. Durante la cópula (Figura 7) el macho de *C. equilibra* sujetaba a la hembra con su primer par de gnatópodos y con sus

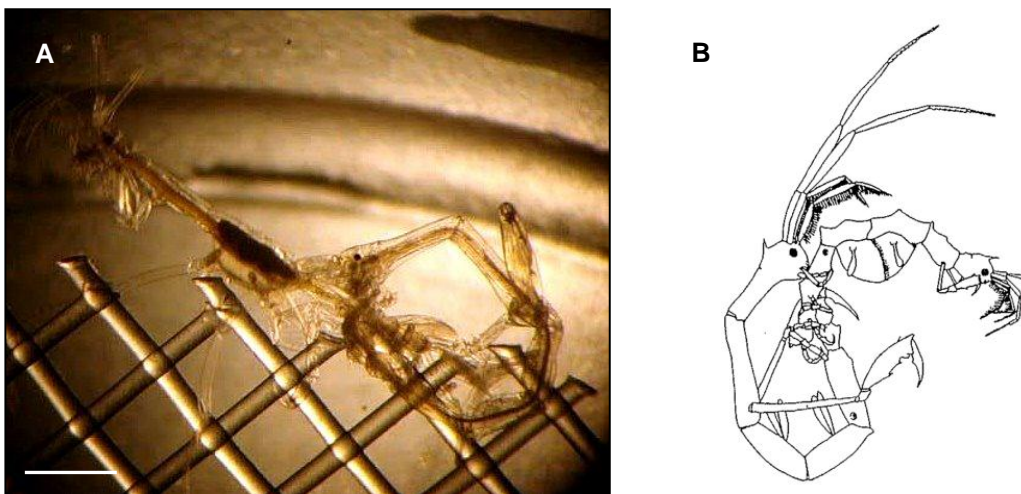


Figura 7. Cópula entre el macho y la hembra de la especie *C. equilibra* bajo condiciones de laboratorio. Cópula descrita por Lim & Alexander (1986) de la especie *C. scaura*. Escala 1mm.

pereiópodos adoptando la posición descrita por Lim and Alexander (1986) para *Caprella scaura* (Fig 7).

El macho se colocaba por debajo de la hembra y sujetaba con sus pereiópodos el pereionito 6 y 7 de la hembra, entonces se producía la introducción del par de papilas copuladoras del macho en las aperturas genitales de la hembra, las cuales se encuentran localizadas ventralmente al final del pereionito quinto.

En *Phtisica marina* se pudo observar un comportamiento precopulatorio muy claro, en donde los machos guardaban a las hembras durante varios días, transportándolas con sus pereiópodos 3,4 y 5 y manteniéndolas debajo de su cuerpo hasta que se producía la muda y se llevaba a cabo la cópula. Las hembras que poseían su bolsa de incubación llena de embriones en desarrollo también eran guardadas por los machos hasta la emergencia de los nuevos juveniles, la muda de la hembra y la nueva cópula. En la figura 8 se puede observar cómo se dispone la hembra debajo del macho sujetándose con los pereiópodos 3-5 a los pereiópodos del macho. Consultar vídeo de cópula y precópula en cd adjunto.

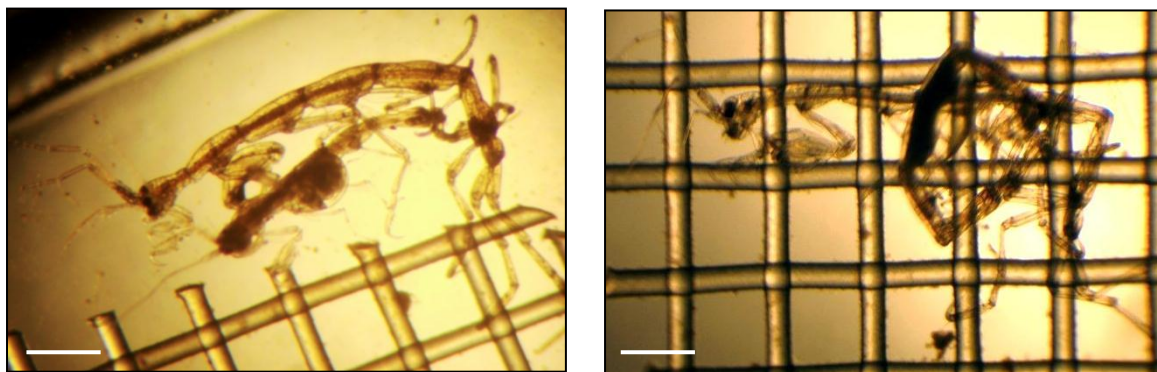


Figura 8. Comportamiento precopulatorio del macho y la hembra de *P. marina*. Nótese cómo el macho sujeta el cuerpo de la hembra por medio de los pereiópodos 3-5, quedando libres los gnatópodos y los pereiópodos 6 y 7 para agarrarse al sustrato. Escala 1mm.

3.10.7 Ovoposición

Tras la cópula se llevaba a cabo la ovoposición de los huevos. En *C. equilibra* se pudo observar cómo al finalizar la cópula, el macho permanecía sujetando a la hembra, mientras esta comenzaba el proceso de ovoposición. En la región dorsal del pereionito tercero y cuarto de la hembra se pudo ver por transparencia una masa de huevos oscuros en el interior de los dos pares de ovarios alargados y grandes. Esta masa oscura fue moviéndose lentamente por los oviductos mientras que la hembra flexionaba el cuerpo dorsoventralmente por los pereionitos cuarto-quinto para poner en contacto los márgenes internos de las placas de los oosteguitos por su extremo posterior con las aberturas genitales. De este modo los óvulos eran liberados lentamente desde las aberturas genitales en el interior de un saco hacia el interior de la bolsa de incubación formada por las placas de los oosteguitos (Figura 9). La masa de huevos fue rellenando poco a poco el espacio de la bolsa de incubación (Consultar video en cd que acompaña a esta memoria). El periodo de incubación de los huevos, medido desde que se llevaba a cabo la ovoposición hasta que se producía la salida de los juveniles de la bolsa de incubación, estuvo comprendido entre 3 y 6 días. Se encontraron diferencias significativas ($F=7,06$; $P<0,01$) teniendo *C. dilatata* el menor tiempo de incubación: $4,1 \pm 0,2$ días, frente a los $4,6 \pm 0,2$ días de *P. marina* y los $5,3 \pm 0,2$ días de *C. equilibra* (Tabla 1).

De este modo, el periodo generacional final para las especies fue de 29 días para *P. marina*, 30,4 días para *C. dilatata* y 34,3 días para *C. equilibra*, todos a una temperatura de 20°C.

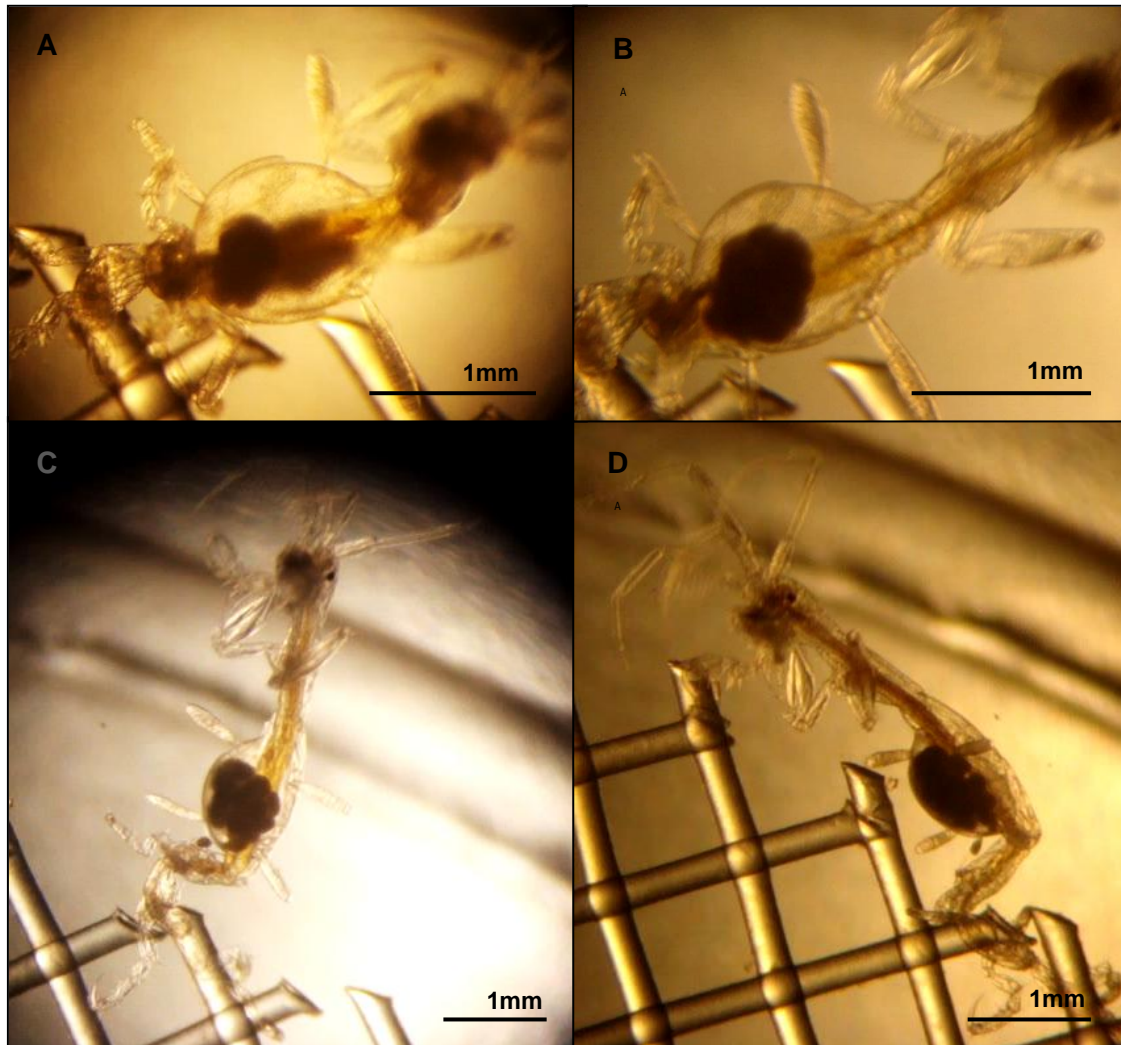


Figura 9. Proceso de ovoposición en *C. equilibra*. Salida progresiva (A-B-C-D) de los huevos (masa oscura) desde el par de ovarios localizados dorsalmente hacia la cavidad de la bolsa de incubación formada por los oosteguitos 3 y 4.

3.10.8 Fertilidad

Caprella equilibra tuvo una media de $12,7 \pm 3,1$ juveniles en cada evento reproductivo, llegando a alcanzar 24 crías en la última Instar XI, *P. marina* obtuvo una media de $9,8 \pm 2,3$ crías, con un máximo de 27 en la Instar IX, y *C. dilatata* presentó una media de $9,2 \pm 3,1$ juveniles con un máximo de 24 en su última instar del ciclo (Tabla 1). El número de juveniles producidos siguió una relación positiva con la instar en la que se encontraba la hembra, así como con la longitud corporal de la hembra (Figura 10). Mayores hembras produjeron mayor número de juveniles. En general el número de huevos que pudo apreciarse en el interior de la bolsa de incubación por transparencia de la cutícula fue superior al número de juveniles que acababan por emerger, y se observó en hembras de *C. equilibra*, que el grado de desarrollo de todos los huevos no fue igual de rápido, presentando en el interior de la bolsa individuos totalmente formados y eclosionados, junto con embriones en formación. El mayor número de eventos reproductivos fue de 4 para *C. dilatata*, dando lugar a 46 crías totales durante todo su ciclo biológico. El tiempo transcurrido entre una nueva camada y otra fue de $7,2 \pm 1,4$ días (n=10). En *C. equilibra* también hubo un máximo de 4 eventos reproductivos por hembra, con un máximo de 53 crías totales, y una media de $10,4 \pm 2,3$ (n=5) días entre juveniles emergidos y *P. marina* tuvo igual comportamiento con un máximo de 53 crías a lo largo de 4 eventos reproductivos con una media de $13,2 \pm 3,1$ días (n=4) entre la emergencia de nuevos juveniles.

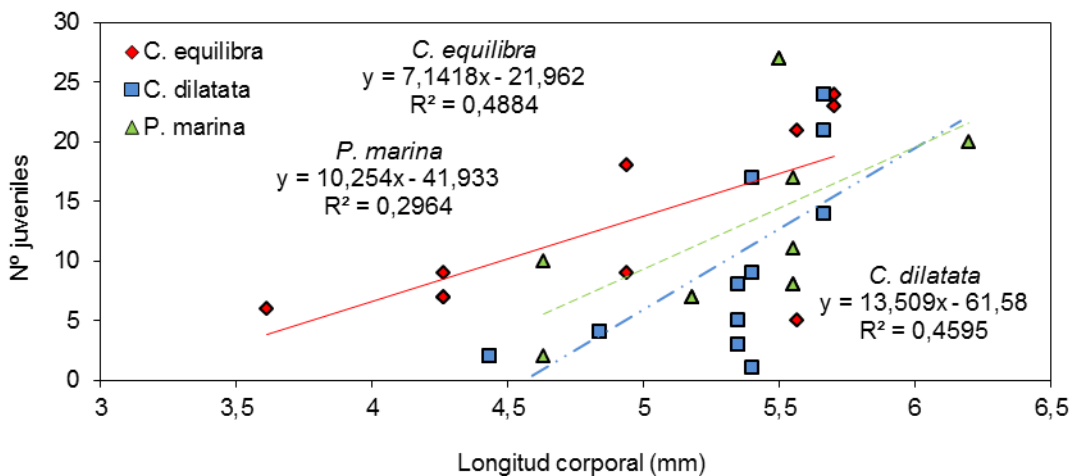


Figura 10. Correlación del número de juveniles emergidos de la bolsa de incubación en cada evento reproductivo con la longitud total corporal de *C. equilibra*, *C. dilatata* y *P. marina*. (n= 10, 11, 10; P<0,05)

3.10.9 Cuidado parental

Ninguna de las tres especies presentó un patrón de cuidado parental claro como en el caso de *Caprella scaura* o *Caprella monoceros* (Aoki, 1999) con juveniles recién emergidos permaneciendo sobre el cuerpo de la madre.

En los tres casos, cuando se producía la emergencia de los juveniles, estos bajaban del cuerpo de la madre hacia la malla de plástico y permanecían durante algunas horas alrededor de la madre, produciéndose su dispersión más tarde.

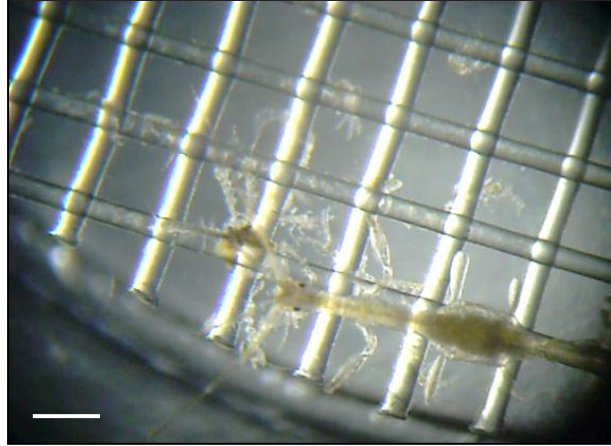


Figura 11. Juveniles de *C. equilibra* permaneciendo junto a la madre tras la emergencia de la bolsa de incubación. Escala 1mm.

En el caso de *C. equilibra* se observó como en algunas ocasiones uno o dos juveniles permanecían sobre el cuerpo de la madre alimentándose de las partículas que estaban depositadas sobre ella, incluso disponiéndose sobre la cabeza de la hembra entre las antenas, para acceder con mayor facilidad al alimento de la madre. Ver video y figura 12. En *P. marina*, tras la emergencia de los juveniles estos permanecían durante pocas horas sujetos a los pereiópodos intermedios de la hembra para luego pasar a sujetarse a la malla.

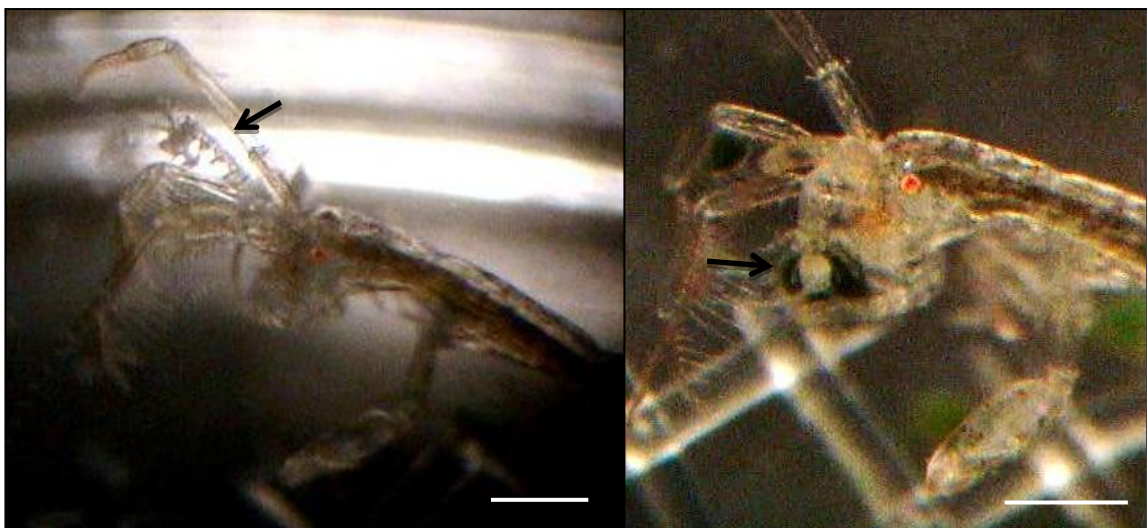


Figura 12. Juvenil de *C. equilibra* sobre las antenas de la madre alimentándose de las colonias de diatomeas de las que se alimenta la madre. Escala, 1mm.

3.10.10 **Comportamientos agresivos y de canibalismo**

Fue común observar comportamientos agresivos entre los individuos de las tres especies. Los machos adultos de *C. equilibra* mostraron comportamientos agresivos entre ellos similares a los observados y descritos por Lim y Alexander (1986) en *C. scaura* (Consultar video en cd que acompaña a esta memoria). Las hembras de *C. dilatata* se alimentaban de sus propias crías en varias ocasiones y las hembras adultas de *P. marina* eran muy agresivas con los machos, llegando incluso a matarlos.

3.11 DISCUSIÓN

Conocer los ciclos de vida de las especies de anfípodos detalladamente mediante el cultivo bajo condiciones controladas es fundamental para entender con mayor claridad y precisión los fenómenos poblacionales que ocurren a mayor escala en los ecosistemas naturales. Los resultados obtenidos en el estudio nos muestran cómo tres de las especies más abundantes de los ecosistemas intermareales del Estrecho de Gibraltar, en el sur de la Península Ibérica, tuvieron comportamientos muy similares en sus ciclos biológicos. Incluso *Phtisica marina*, perteneciendo a una familia diferente, Phtisicidae (Takeuchi, 1993) también presentó las mismas características biológicas que las otras dos especies pertenecientes a la familia Caprellidae.

3.11.1 Similaridad con otras especies estudiadas

En general, el periodo generacional para estas tres especies, desde su emergencia de la bolsa de incubación hasta la producción de la primera generación de juveniles, fue muy rápido, alrededor de un mes, de 29 a 34 días. Estos valores son muy similares a los valores obtenidos por Takeuchi e Hirano, 1991 y Takeuchi e Hirano, 1992 al cultivar bajo condiciones controladas a 20 °C, *Caprella danilevskii*, *Caprella okadai*, *Caprella brevisrostris* Mayer y *Caprella generosa* Arimoto procedentes de las costas templadas japonesas, obteniendo periodos generacionales similares de 30 días. En cuanto al periodo de incubación, también se obtuvieron valores muy similares al de las especies de aguas templadas de Japón (*C. danilevskii* y *C. okadai*), comprendido entre los 4 a los 5 días. Por el contrario, para *C. grandimana*, otra de las especies más abundantes del Sur de la Península Ibérica, el periodo generacional fue de 49 días y necesitó de unos 10 días para la emergencia de los juveniles de la bolsa de incubación debido a su cultivo a 17°C en lugar de 20°C (Baeza-Rojano *et al.*, 2011). Esto indica que estas especies están fuertemente influenciadas por la temperatura de su ambiente, de modo que temperaturas bajas aumentan el periodo intermuda, atrasan la ovoposición de las hembras y aumentan la duración de la embriogénesis, sin embargo no producen un aumento o disminución en el número de crías producidas (Hosono, 2009).

El dimorfismo sexual estuvo muy bien marcado tanto en sus características físicas, como en relación a sus características del ciclo biológico. Físicamente según Caine (1991),

los machos se caracterizan por presentar un mayor desarrollo de sus pereionitos 1 y 2 y de sus gnatópodos, mientras que las hembras desarrollan más los pereionitos 3 y 4. En cuanto a la longitud corporal, todos los machos de las especies mediterráneas descritas por Krapp-Schickel (1993), son superiores en tamaño a las hembras y alcanzan un número superior de artejos flagelares en sus antenas 1. En nuestro estudio las tres especies de caprélidos se caracterizaron por tasas de crecimiento más elevadas para alcanzar una longitud corporal superior a la de las hembras y por presentar un patrón de adición de artejos flagelares en sus antenas I más rápido y más abundante que en el caso de las hembras. Los mismos patrones se obtuvieron durante el crecimiento de las especies observadas por Harrison (1940), Lewbel (1978), Takeuchi e Hirano (1991, 1992) y Cook *et al.* (2007). Las hembras, por el contrario, se caracterizaron por presentar un mayor número de mudas, y un periodo intermuda inferior al de los machos, similar al obtenido por Takeuchi e Hirano (1991, 1992). Los caprélidos mudaron continuamente a lo largo de toda su vida sin presentar anecdisis final, por lo que pueden ser considerados de crecimiento indeterminado, sin embargo al ir alcanzando su tamaño máximo, los periodos intermudas fueron alargándose en los machos, y en hembras el incremento en tamaño fue mínimo durante las últimas fases de crecimiento (figura 4). El número de mudas fue superior en hembras que en machos, ya que las hembras presentaron una longevidad superior a la de los machos, y al igual que ellos siguieron mudando hasta la muerte incrementándose el número de mudas.

3.11.2 Condiciones del cultivo

En general, las longitudes corporales medias y máximas alcanzadas durante el estudio bajo condiciones controladas, fueron inferiores a las longitudes medidas directamente en individuos de ambientes naturales. Los machos de *C. equilibra* alcanzaron una media de 9,8 mm en el medio natural frente a los 5 mm de media bajo condiciones de cultivo, *C. dilatata* presentó una media de 9,7 mm frente a los 4,7 mm del cultivo y *P. marina* una media de 7,3 mm frente a los 5,4 mm del cultivo (datos no publicados). Los machos siempre presentaron tamaños medios superiores a las hembras. Sainte-Marie (1991), encontró un patrón similar en el 97% de las especies de anfípodos gammáridos estudiados. En la fecundidad encontramos el mismo patrón, presentando mayores fecundidades los individuos crecidos en ambientes naturales frente a los cultivados, 32 huevos en *C. equilibra*, 37 huevos en *C. dilatata*, y 15 huevos en *P. marina* de media (datos no publicados). El número de huevos producidos bajo condiciones de cultivo fue difícil de contabilizar debido a que en muchas hembras los oosteguitos no eran lo suficientemente

transparentes como para poder observarlos por transparencia, pero el número de crías emergidas fue considerablemente menor al número de huevos de las especies salvajes.

Al igual que en *C. danilevskii* y *C. okadai*, la reproducción fue continuada desde que las hembras alcanzaron la madurez sexual hasta que murieron, presentando nuevos huevos en su bolsa de incubación en cada instar tras la emergencia de los antiguos juveniles y la posterior muda de la cutícula antigua de la hembra. Sin embargo, al contrario que con las especies japonesas, el período entre camadas fue superior al periodo intermuda, debido a que en elevadas ocasiones, se producía la caída o no se completaba el desarrollo de los huevos de la bolsa. Aun así, las hembras produjeron un máximo de 4 camadas a lo largo de su ciclo, frente las 5,4 y las 3,8 de media en *C. danilevskii* y *C. okadai*.

Tanto la variación en el crecimiento como la fecundidad, pudo deberse a una menor calidad de las condiciones ambientales durante el cultivo, con una menor calidad del alimento, una peor calidad del agua aunque esta fuera cambiada con frecuencia, y un aumento del estrés por el manejo de los individuos para la obtención de los datos. Aun así, las tres especies de caprelidos fueron capaces de crecer y completar sus ciclos de vida sin dificultad mostrando su resistencia para poder ser cultivadas bajo condiciones controladas de laboratorio para diversos fines, tanto ecotoxicológicos, como posibles aplicaciones en acuicultura como alimento vivo para larvas (Woods, 2009). Sin embargo, para la consecución de este último fin, sería preciso seguir estudiando las condiciones del cultivo con el fin de optimizar el crecimiento y la fecundidad que la especie en cuestión puede llegar a alcanzar. Por ejemplo, *C. equilibra* de Japón puede llegar a alcanzar los 151 huevos por evento reproductivo (datos no publicados), *C. dilatata* y *P. marina* pueden alcanzar los 75 y 45 huevos (datos no publicados), y otras especies como *Caprella mutica* pueden producir hasta 316 huevos en una única reproducción (Fedotov, 1991) lo que permitiría una elevada tasa de crecimiento en el cultivo con un suministro continuo de juveniles a la población.

3.11.3 Comportamiento precopulatorio

El comportamiento precopulatorio de *P. marina* estuvo muy bien marcado y fue muy evidente incluso en condiciones artificiales de cría. Se pudo comprobar cómo el tercer y cuarto par de pereiópodos característicos de esta especie, eran usados principalmente para la sujeción entre el macho y la hembra durante la formación del par pre-copulatorio previo al proceso de cópula. *Caprella dilatata* presentó un comportamiento precopulatorio de “Tipo I” similar al descrito por Aoki (1996). Sin embargo, individuos adultos de tamaño superior recogidos directamente del medio natural, presentaron en ocasiones parejas precopulatorias

del “Tipo 0”, en donde el macho portaba a la hembra con su pereiópodo quinto, mientras esta adoptaba una posición en herradura (Ver Aoki, 1996). En condiciones de laboratorio, no se llegó a observar este tipo de comportamiento. Según Takeshita y Henmi (2010) esto es debido a que el comportamiento precopulatorio de una especie puede variar por muchos factores tales como por el tamaño de los individuos de la población o por la sex- ratio, y no estar ligado solamente a la especie por su filogenia como Aoki (1996) sugirió.

3.11.4 Fluctuaciones en el medio natural

A pesar de que las características biológicas de estas especies son muy similares bajo condiciones controladas de laboratorio, cuando se encuentran en un ambiente cambiante como el medio natural pueden mostrar diferencias en su abundancia dependiendo de su sensibilidad o tolerancia a determinados factores externos como la temperatura y la salinidad. De este modo, *C. dilatata* y *C. equilibra*, que suelen compartir ecosistemas estuarinos (Sconfietty y Luparia, 1995), presentan diferentes patrones anuales de abundancia. *C. dilatata* se encuentra en el hidrozoo *Ectopleura crocea* y el briozoo *Bugula neritina*. Se trata de una especie más sensible a la baja salinidad que *C. equilibra* (Sconfietty y Luparia, 1995) lo que se traduce en un descenso del número de individuos durante los meses de otoño e invierno, mientras que presenta grandes densidades durante los meses previos al verano. *Caprella equilibra*, se encuentra sobre todo asociada al briozoo *Bugula neritina* aunque también se ha encontrado presente en el hidrozoo *Ectopleura* en el mismo área que *C. dilatata*, y sus poblaciones suelen ser más constantes, disminuyendo durante los meses de verano y aumentando a principios de primavera y de otoño (datos no publicados). De este modo ambas especies, aún presentando el mismo patrón biológico, pueden convivir en el mismo hábitat, sufriendo variaciones por su diferente grado de sensibilidad a los diferentes factores ambientales, pero siendo capaces de reponer sus poblaciones en periodos de tiempo considerablemente cortos gracias a sus cortos periodos generacionales observados, y a sus ciclos iteróparos multivoltinos.

P. marina no compartió el mismo hábitat que *C. equilibra* y *C. dilatata*, pero sus poblaciones también fueron abundantes, sobre todo durante los meses de primavera e invierno (Conradi *et al.*, 2000; Guerra-García *et al.*, 2000), siendo capaz de reponer sus poblaciones con gran rapidez y pudiendo fluctuar el número de individuos de la población en periodos muy cortos de tiempo.

3.12 CONCLUSIÓN

El presente estudio nos permite conocer las principales características biológicas de tres de las especies de caprélidos más abundantes del sur de la Península Ibérica, mostrando ciclos biológicos muy similares al estudiarlos bajo condiciones controladas en el laboratorio. Presentaron tasas de crecimiento rápidas, con maduración sexual temprana al alcanzar el mes de vida, reproducción continuada desde la maduración y aumento progresivo del número de juveniles emergidos con la longitud corporal de la hembra. Este patrón similar obtenido en el ciclo de vida de estas especies de caprélidos, permitiría el uso y la elección de aquellas especies que mejor se adecuaran para su cría y uso como alimento en acuicultura, facilitando, además, la selección de especies de tamaño adecuado para su uso como alimento y cultivándolas a temperaturas templadas para su mejor y más rápido crecimiento.

3.13 BIBLIOGRAFÍA

- Aoki M (1996) Precopulatory mate guarding behavior of caprellid amphipods observed in Amakusa, Kyushu, Japan. Publications from the Amakusa Marine Biological Laboratory, Kyushu University 12: 71-78.
- Aoki M (1999) Morphological characteristics of young, maternal care behaviour and microhabitat use by caprellid amphipods. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79: 629-639.
- Caine E (1987) Potential effect of floating dock communities on a South Carolina estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 108(1):83-91.
- Caine E (1991) Reproductive behavior and sexual dimorphism of a caprellid amphipod. *Journal of Crustacean Biology*, 11(1): 56-63.
- Conradi M, López-González PJ, Cervera JL y García-Gómez JC (2000) Seasonality and spatial distribution of peracarids associated with the bryozoan *Bugula neritina* in Algeciras Bay, Spain. *Journal of Crustacean Biology*, 2: 334-349.
- Fedotov PA (1991) Population and production biology of amphipod *Caprella mutica* in Posyet Bay, Sea of Japan. *Biologiya Morya*, 4: 53-60.
- Fernández-González V y Sánchez-Jerez P (2011) Effects of sea bass and sea bream farming (Western Mediterranean Sea) on peracarid crustacean assemblages. *Animal Biodiversity and conservation*, 34: 179-190.
- Fiorencis A (1940) I Caprellidi del mare Adriatico presso Rovigno. *Thalassia*, 4: 1-34.
- Guerra-García JM (2001) Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia*, 55 (1): 27-38.
- Guerra-García JM y Tierno de Figueroa JM (2009) What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? *Marine Biology*, 156(9): 1881-1890.
- Guerra-García J, Corzo J, Garcia-Asencio I y García-Gómez JC (2000) Seasonal fluctuations of *Phtisica marina* Slabber (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) in estuarine zone of southwest Spain. *Polskie Archiwum Hydrobiologii*, 47: 527-531.

- Guerra-García JM y García-Gómez JC (2001) Spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *PSZN: Marine Ecology*, 22: 357-367.
- Guerra-García JM y Takeuchi I (2002) Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa, with the description of three species of Caprella, a key to the species of Caprella, and biogeographical. *Journal of Natural History*, 36: 675-713.
- Guerra-García JM, Redondo-Gómez S, Espina AG, Castillo JM, Luque T, García-Gómez, JC y Figueroa ME (2006) *Caprella penantis* Leach, 1814 and *Caprella dilatata* Kroyer, 1843 (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar: a molecular approach to explore intra and interspecific variation. *Marine Biology Research*, 2: 100-108.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Pacios I, Diaz-Pavon J y García-Gomez JC (2009a). Spatial patterns and seasonal fluctuations of the intertidal Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) from Tarifa Island, Southern Spain. *Zoologica Baetica*, 20: 59-71.
- Guerra-García JM, Sánchez J y Ros M (2009b) Distributional and ecological patterns of caprellids (Crustacea: Amphipoda) associated with the seaweed *Stypocaulon scoparium* in the Iberian Peninsula. *Marine Biodiversity Records*, 2, 1-8.
- Guerra-García JM, Ros M, Gordillo I, Cabezas M, Baeza-Rojano E, Izquierdo D, Corzo J, Dominguez J, Varona S (2010) Distribution patterns of intertidal and shallow water caprellids associated with macroalgae along the Iberian Peninsula. *Zoologica Baetica*, 21: 101-129.
- Guerra-García JM, Ros M, Dugo-Cota A, Burgos V, Flores-León AM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP y Núñez J (2011) Geographical expansion of the invader *Caprella scaura* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) to the East Atlantic coast. *Marine Biology*, 158: 2617-2622.
- Guerra-García JM, Ros M, Gordillo I, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Izquierdo D, Corzo J, Domínguez J y Varona S (2010) Distribution patterns of intertidal and shallow water caprellids associated with macroalgae along the Iberian Peninsula. *Zoologica Baetica*, 21: 101-129.
- González A, Guerra-García JM, Maestre M, Ruiz-Tabares A, Espinosa F, Gordillo I, Sánchez-Moyano J y García-Gómez JC (2008) Community structure of caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) on seagrasses from southern Spain. *Helgoland Marine Research*, 62: 189-199.
- Harrison R (1940) On the biology of the Caprellidae. Growth and moulting of *Pseudoprotella phasma* Montagu. *Journal of the Marine Biological Association of United Kingdom*, 124: 483-493.
- Hosono T (2009) Effect of temperature on the duration of reproductive cycles of female *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda) in the laboratory. *Marine Biodiversity Records*, 2: 1-6.

- Jacobucci GB, Moretti D, Silva EM y Leite FPP (2002) Caprellid amphipods on *Sargassum cymosum* (Phaeophyta): depth distribution and population biology. *Nauplius*, 10 (1): 27-36.
- Jacobucci GB, Tanaka MO y Leite FPP (2009) Temporal variation of amphipod assemblages associated with *Sargassum filipendula* (Phaeophyta) and its epiphytes in a subtropical shore. *Aquatic Ecology*, 43(4): 1031-1040.
- Krapp-Schickel T (1993) Suborder Caprellidea. In: RUFFO, S. (Editor), The Amphipoda of the Mediterranean. Mémoires de l'Institut Oceanographique, Monaco, 13: 773-809.
- Lewbel G (1978) dimorphism and intraspecific aggression, and their relationship to sex ratios in *Caprella gorgonia* Laubitz & Lewbel (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 33: 133-151.
- Lim S y Alexander C (1986) Reproductive behaviour of the caprellid amphipod, *Caprella scaura* typica, Mayer 1890. *Marine Behaviour and Physiology*, 12: 217-230.
- Masunari S y Takeuchi I (2006) Redescription of *Caprella dilatata* Krøyer, 1843 (Caprellidae: Amphipoda: Crustacea) from Brazil, with note on its biogeographical distribution in South America. *Zootaxa*, 1298: 49-60.
- McCain JC (1968) The Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) of the western North Atlantic. *United States National Museum Bulletin*, 278: 1-147.
- McCain JC y Steinberg JE (1970) "Amphipoda 1, Caprellidea 1. Family Caprellidae". En: Lano, G. A. y Warren, I. E. (eds), *Crustaceorum Catalogus*, 2: 1-78.
- O'Brien F (1975) *Caprella equilibra* Say, 1818, first report of its occurrence in Massachusetts and its association with the stomatopod *Squilla empusa* Say, 1818. *Crustaceana*, 29: 220-221.
- Pereira SG, Lima FP, Queiroz NC, Ribeiro PA y Santos AM (2006) Biogeographic patterns of intertidal macroinvertebrates and their association with macroalgae distribution along the Portuguese coast. *Hydrobiologia* 555: 185-192.
- Riera R, Guerra-García JM, Brito M y Núñez J (2003) Estudio de los caprellídeos de Lanzarote, islas Canarias (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea). *Vieraea*, 31: 157-166.
- Sánchez-Moyano JE y García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially Crustacea, as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *Journal of Coastal Research*, 14: 1119-1133.
- Sconfiatti R y Luparia P (1995) Population ecology of the amphipod *Caprella equilibra* Say in a lagoon estuary (Northern Adriatic Sea, Italy). *P.S.Z.N.I: Marine Ecology*, 16: 1-11.

- Takeshita F y Henmi Y (2010) The effects of body size , ownership and sex-ratio on the precopulatory mate guarding of *Caprella penantis* (Crustacea : Amphipoda), 90(2): 275-279.
- Takeuchi I (1993) Is the Caprellidea a monophyletic group? *Journal of Natural History*, 27: 947-964.
- Takeuchi I e Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110: 391-397.
- Takeuchi I e Hirano R (1992) Growth and reproduction of the epifaunal amphipod *Caprella okadai* Arimoto (Crustacea : Amphipoda : Caprellidea). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 161: 201-212.
- Thiel M, Guerra-García JM, Lancellotti DA y Vásquez N (2003) The distribution of littoral caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) along the Pacific coast of continental Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76: 297-312.
- Underwood AJ (1981) Techniques of analysis of variance in experimental biology and ecology. *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review* 19: 513-605.
- Vázquez-Luís M, Sánchez-Jerez P y Bayle-Sempere J (2008) Changes in amphipod (Crustacea) assemblages associated with shallow-water algal habitats invaded by *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* in the western Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research*, 65: 416-426.

CHAPTER 4



APPLICATIONS IN AQUACULTURE

PART 1



**NUTRITIONAL ANALYSIS, ESPECIALLY LIPIDS, OF
AMPHIPODS FROM THE STRAIT OF GIBRALTAR.
APPLICATIONS IN AQUACULTURE**

4.1 ABSTRACT

Four gammarid and four caprellid amphipods from the Strait of Gibraltar were analysed to study their nutritional contents. *Caprella dilatata*, *Caprella equilibra*, *Caprella grandimana*, *Caprella penantis*, *Elasmopus rapax*, *Hyale perieri* and *Jassa cadetta* from marine water habitat and *Gammarus sp.* from freshwater habitat. Lipids, proteins, carbohydrates, ash and humidity were measured.

Proteins and ash were the most abundant (37.9-44.6% and 29.3-39.7% dry weight, respectively). The lipid and carbohydrate content showed lower levels (5.1-9.6% and 3.1-9.1% dry weight, respectively). No significant differences were found between species. Caprellids were characterised by a higher percentage of polyunsaturated fatty acids, while the freshwater gammarid species showed the lowest levels.

According to lipid classes caprellids were characterised by higher phospholipid levels and lower triacylglycerol levels, as well as a higher content of polar lipids than the gammarids. General composition can be related to habitat characteristics, diets and environmental conditions. Advantages and disadvantages of the use of these organisms in aquaculture are discussed.

4.2 INTRODUCTION

Amphipods are among the most diverse and numerically dominant organisms of benthic fauna (Cunha *et al.*, 1997; Dauby *et al.*, 2001; Lourido *et al.*, 2008) and play an important role in the structuring of benthic assemblages (Duffy and Hay, 2000). The order Amphipoda, includes small crustaceans characterized by important morphological adaptations to colonise different habitats, as well as their tolerance to several environmental conditions. Gammarids have successfully adapted to both marine and freshwater ecosystems, while the caprellids constitute an exclusively marine group.

The Strait of Gibraltar is an interesting zoogeographical zone where an interchange of species between the Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea is seen to occur. Their rocky intertidal shores are characterised by high amphipod densities (Guerra-García *et al.*, 2009a; Izquierdo and Guerra-García, 2010; Krapp-Schickel *et al.*, 2010; Guerra-García *et al.*, 2011) which are usually found attached to seaweeds, feeding mainly on detritus or organic matter (Guerra-García and Tierno de Figueroa, 2009).

Species in the low latitudes and warm waters show iteroparous and multivoltine life history patterns (Sainte-Marie, 1991; Baeza-Rojano *et al.*, 2011) contributing to their high densities. Also, they present large brood size, high partial fecundity, early maturation and direct development without larval stages (Grabowski *et al.*, 2007). These characteristics indicate that the amphipods could serve as an adequate alternative live or dead feed resource for aquaculture, where the range of diets used for larval or juvenile finfish stages culturing is limited.

Nutritional content, mainly fatty acids, have been analysed in the gammarid species (e.g. Nair and Anger, 1979; Köprücü and Özdemir, 2005; Kolanowski *et al.*, 2007; Hyne *et al.*, 2009), showing that they have high levels of beneficial polyunsaturated fatty acids, docosahexaenoic acid (DHA (22:6(n-3)) and eicosapentaenoic acid (EPA, (20:5(n-3)) and high levels of protein being used as alternative protein sources in the complete diets for farmed fish (Moren *et al.*, 2006), mainly in the diets prepared for Atlantic salmon, Atlantic halibut, Atlantic cod and rainbow trout (Mathias *et al.*, 1982; Parsons *et al.*, 1985; Moren *et al.*, 2006; Suontama *et al.*, 2007). Although caprellid fatty acids have been also studied (Kawashima, 1999; Guerra García *et al.*, 2004; Woods, 2009; Cook *et al.*, 2010) and C, N, H and S have been analysed (Takeuchi, 1998; Guerra-García *et al.*, 2009b), there is a lack of

information available on the relative nutritional value of caprellids for marine finfish, apart from some recent information on their fatty acid composition (Guerra-Garcia *et al.*, 2004).

Therefore, the objective of this paper is to analyse the nutritional contents of eight of the most abundant species of amphipods (gammarids and caprellids) from the Strait of Gibraltar, including seven marine water species and one freshwater species, particularly focussing on the main fatty acids, total lipid classes, proteins, carbohydrates and ash in each species, and to explore the possible differences between the gammarid and caprellid composition.

4.3 MATERIAL AND METHODS

4.3.1 ORGANISMS

Eight of the most abundant amphipod species from the intertidal zone of the Strait of Gibraltar were selected for the study; four gammarid species (*Jassa falcata*, *Elasmopus rapax*, *Hyale perieri*, and the fresh water species *Gammarus sp.*) and four caprellid species (*Caprella dilatata*, *C. equilibra*, *C. penantis*, and *C. grandimana*). The individuals were handpicked from among the intertidal algae along the coast and from bryozoans attached to buoys and ropes in the harbour (Table 1). Freshwater gammarids were collected from the roots and rooted leaves by the riverside.

Table 1. Amphipods from the Strait of Gibraltar used for the study. Details of locality, date of sampling, and substrata are given. The number of samples of each species = 3. Each sample contains a pull of individuals enough for the nutritional analysis (around 50mg)

Species	Locality	Date	Substrata
<i>Caprella penantis</i>	Tarifa (Cádiz)	May, 2010	<i>Gelidium corneum</i> , <i>Asparragopsis armata</i>
<i>Caprella equilibra</i>	La Línea (Cádiz)	May, 2010	<i>Bugula neritina</i> , <i>Corallina elongata</i>
<i>Caprella grandimana</i>	Tarifa (Cádiz)	May, 2010	<i>Corallina elongata</i> , <i>Jania rubens</i> ,
<i>Caprella dilatata</i>	El Portil (Huelva)	November, 2009	<i>Bugula neritina</i> , <i>Zoobotryon verticillatum</i>
<i>Hyale perieri</i>	Tarifa (Cádiz)	May, 2010	<i>Corallina elongata</i> , <i>Jania rubens</i> ,
<i>Elasmopus rapax</i>	La Línea (Cádiz)	May, 2010	<i>Bugula neritina</i>
<i>Jassa cadetta</i>	La Línea (Cádiz)	May, 2010	<i>Bugula neritina</i>
<i>Gammarus sp</i>	Huézna River (Sevilla)	May, 2010	Leafs and roots

After the primary preliminary sorting conducted in situ, the sample material was then transported to the laboratory in plastic containers, differentiated into species, immediately freeze-dried and stored at -80°C for later analysis. As a size reference, the maximum length of the largest male of each species was recorded. Samples stored contained replicates of 300 mg pools of individuals of the same species, sufficient to perform the chemical protocols.

Some amphipod samples were freeze-dried for 24 hours at -50°C for chemical analysis, while the rest were stored frozen to analyse dry weight and ash.

4.3.2 CHEMICAL ANALYSES

4.3.2.1 Lipids

The lipid fraction was extracted according to the Folch-Lee method. Three replicate samples of each species were analysed. The moisture content was determined from 40 mg of dry samples using the method of Horwitz (1980). Total lipid was extracted with chloroform:methanol (2:1v/v) containing 0.01% of butylated hydroxytoluene (BHT) as an antioxidant (Christie 1982). The organic solvent was evaporated under a stream of nitrogen and the lipid content was determined gravimetrically.

Lipid classes were separated by one-dimensional double development high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) using methyl acetate/isopropanol/chloroform/methanol/0.25% (w/v) KCl (25:25:25:10:9 by volume) as the polar solvent system and hexane/diethyl ether/glacial acetic acid (80:20:2 by volume) as the neutral solvent system. Lipid classes were quantified by charring with a copper acetate reagent, followed by calibrated scanning densitometry using a CAMAG TLC Scanner 3 dual wavelength lying spot scanner (Shimadzu, Kyoto, Japan) (Olsen and Henderson 1989).

Total lipid extracts were subjected to acidcatalysed transmethylation for 16:00 hours at 50°C, using 1mL of toluene and 2mL of 1% sulphuric acid (v/v) in methanol. The resulting fatty acid methyl esters (FAME) were purified by thin-layer chromatography (TLC), and visualized with iodine in chloroform:methanol (2:1 v/v) 98% (v/v) containing 0.01% BHT (Christie 1982). Before transmethylation, tricosanoic acid (23:0) was added to the TL as an internal standard. Fatty acid methyl esters (FAME) were separated and quantified using a Shimadzu GC 2010 (Shimadzu) gas chromatograph equipped with a fame-ionization detector (250°C) and a fused Tecnokroma – Suprawax-280TM (15 m x 0.1 mm I.D.). Helium was used as carrier gas and the oven initial temperature was 150°C, followed by an increase at a rate of 30°C min⁻¹ to a final temperature of 250°C for 7 min. Individual FAME were identified by reference to authentic standards and to a well-characterized fish oil. Butylated hydroxytoluene, potassiumchloride, potassium bicarbonate and 20, 70-dichlorofluorescein were supplied by Sigma Chemical (St Louis, MO, USA). Thin-layer chromatography (20 cm x 20 cm x 0.25mm) and HPTLC (10 cm x 10 cm x 0.15mm) plates, pre-coated with silica gel (without fluorescent indicator), were purchased from Macheren-Nagel (Düren, Germany). All organic solvents for GC used were of reagent grade and were purchased from Panreac (Barcelona, Spain).

4.3.2.2 Carbohydrates and proteins content

Total carbohydrate content of each diet was determined using the method of Anthrone (Fraga, 1956) and total proteins analyses were determined using the method of Lowry (Lowry *et al.*, 1951) modified by Bensadoun and Weinstein (1976) and Hess *et al.* (1978).

4.3.2.3 Dry weight and ash

A pull of 30 individuals of each species was weighed and stove-dried for 24 hours at 110°C to obtain the dry weight per individual. The ash content was determined after incineration at 550°C for 24 hours in a muffle furnace.

4.3.3 Statistical analysis

The general chemical composition of the amphipod species (protein, lipid, ash, and carbohydrate) as well as the average caprellid and gammarid general composition have been expressed as mean \pm standard error ($X \pm SE$) in percentage of dry weight. The possible differences noted between the caprellid and gammarid composition were tested using the one-way analysis of variance (ANOVA), after verifying normality using the Kolmogorov-Smirnov test, and the homogeneity of variances using the Levene test. The data of individual fatty acids and lipid classes are expressed as a percentage of the total fatty acids and lipid classes, respectively. Homogeneous amphipod groups were separated employing the Tukey test based on nutritionally important fatty acids. Principal component analysis (PCA) was conducted on the fatty acid and lipid class matrices for the ordination of amphipod species. Besides, the affinity among the species based on the fatty acid matrix were established through cluster analysis using UPGMA (unweighted pair group method; Sneath and Sokal, 1973), based on Euclidean distances. Also, nonparametric analysis of similarity (ANOSIM), and permutation tests for multivariate analysis of similarity (PERMANOVA) were conducted to explore the significant differences between the caprellid and gammarid groups using fatty acid and lipid class matrices, and the percentage of similarity analysis (SIMPER) was used to determine the fatty acids and lipid classes involved in the dissimilarity between the caprellid and gammarid species.

Univariate analyses were conducted with SPSS v.14, and multivariate analyses were carried out using the PC-ORD program (McCune and Mefford, 1997) and PRIMER6 & PERMANOVA+ package (Clarke and Gorley, 2001).

4.4 RESULTS

4.4.1 GENERAL CHEMICAL COMPOSITION

Amphipod species from the Strait of Gibraltar differed in maximum body length and wet weight (Table 2). The water content (humidity) varied between 79.0 and 72.3%, the average humidity of the caprellid species being higher at 76.3% than the gammarid species at 73.8%. However, no significant differences were measured.

Table 2. Maximum length of males, wet weight, dry weight and humidity of Strait Gibraltar amphipods. Values are represented as average \pm standard error.

Species	Male length (mm)	Average wet wt. Per individual (mg)	Average dry wt. Per individual (mg)	Humidity (%)
<i>Caprella dilatata</i>	15	19.85 \pm 2.21	4.12 \pm 0.36	79.05 \pm 0.48
<i>Caprella equilibra</i>	10	2.23 \pm 0.16	0.52 \pm 0.03	76.83 \pm 0.43
<i>Caprella grandimana</i>	7	0.72 \pm 0.08	0.2 \pm 0.02	73.45 \pm 0.19
<i>Caprella penantis</i>	12	2.63 \pm 0.09	0.63 \pm 0.03	75.75 \pm 0.33
<i>Elasmopus rapax</i>	9	7.92 \pm 1.4	2.07 \pm 0.39	74.32 \pm 0.18
<i>Jassa cadetta</i>	6	1.7 \pm 0.19	0.44 \pm 0.05	73.75 \pm 0.29
<i>Hyale perieri</i>	8	3.3 \pm 0.34	0.91 \pm 0.09	72.31 \pm 0.23
<i>Gammarus sp.</i>	8	3.01 \pm 0.29	0.76 \pm 0.07	74.8 \pm 0.33

The general chemical composition of the different species of amphipods did not show significant differences. All the species were characterised by high levels of protein (37.9–44.6%) and ash (29.3–39.7%) and low levels of carbohydrates (3.1–9.1%) and lipids (5.1–9.6%) (Figure 1). *Caprella grandimana*, *E. rapax*, *H. perieri*, and *Gammarus sp.* were the species with the higher levels of proteins (44.5 \pm 1.9%, 39.5 \pm 1.3%, 44.6 \pm 0.9%, and 41.3 \pm 0.6%, respectively) and lower levels of ash (31.2 \pm 2.3%, 29.3 \pm 1.5%, 29.7 \pm 2.1%, and 36.3 \pm 1%, respectively). *Caprella equilibra*, *H. perieri* and *Gammarus sp.* had higher levels of lipids (7.9 \pm 0.3%, 8.5 \pm 0.9% and 9.6 \pm 0.4%, respectively) and *C. dilatata*, *C. grandimana* and *Gammarus sp.* had higher carbohydrate levels (7.2 \pm 0.6%, 7.7 \pm 0.4% and 9.1 \pm 0.4%, respectively), (Figure 1).

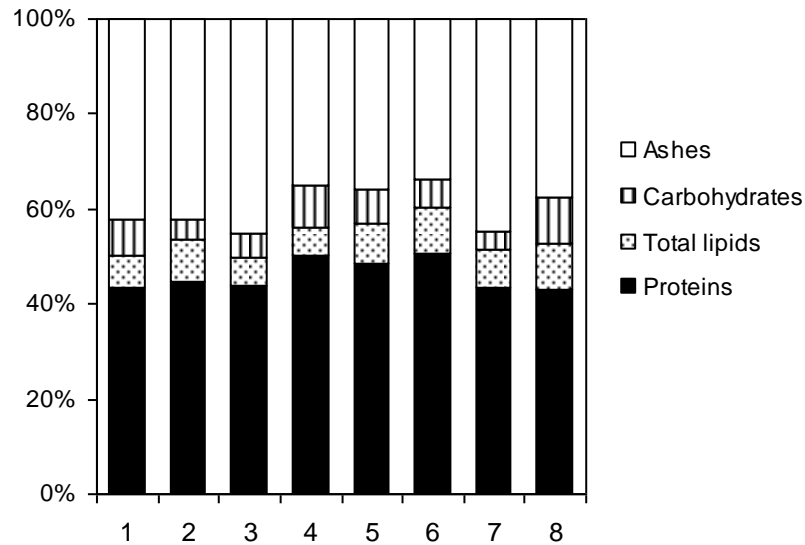


Figure 1. General chemical composition of the different species of amphipods. 1: *Caprella dilatata*, 2: *Caprella equilibra*, 3: *Caprella penantis*, 4: *Caprella grandimana*, 5: *Elasmopus rapax*, 6: *Hyale perieri*, 7: *Jassa cadetta*, 8: *Gammarus sp.* Proteins, total lipids, carbohydrates and ashes were analysed and represented in percentage.

Fig. 2 represents the percentage per dry weight of proteins, carbohydrates, lipids and the ash of caprellids and gammarids. The protein and carbohydrate content were similar in both, with $40.6 \pm 0.9\%$ in the caprellid and $40.8 \pm 1.4\%$ in the gammarid protein content (A), and $5.8 \pm 0.9\%$ in the caprellid and $5.7 \pm 1.2\%$ in gammarid carbohydrate level (B). Although higher ash levels were detected in the caprellids than in the gammarids, no significant differences were noted ($36.9 \pm 1.9\%$ to $33.6 \pm 2.5\%$) (C).

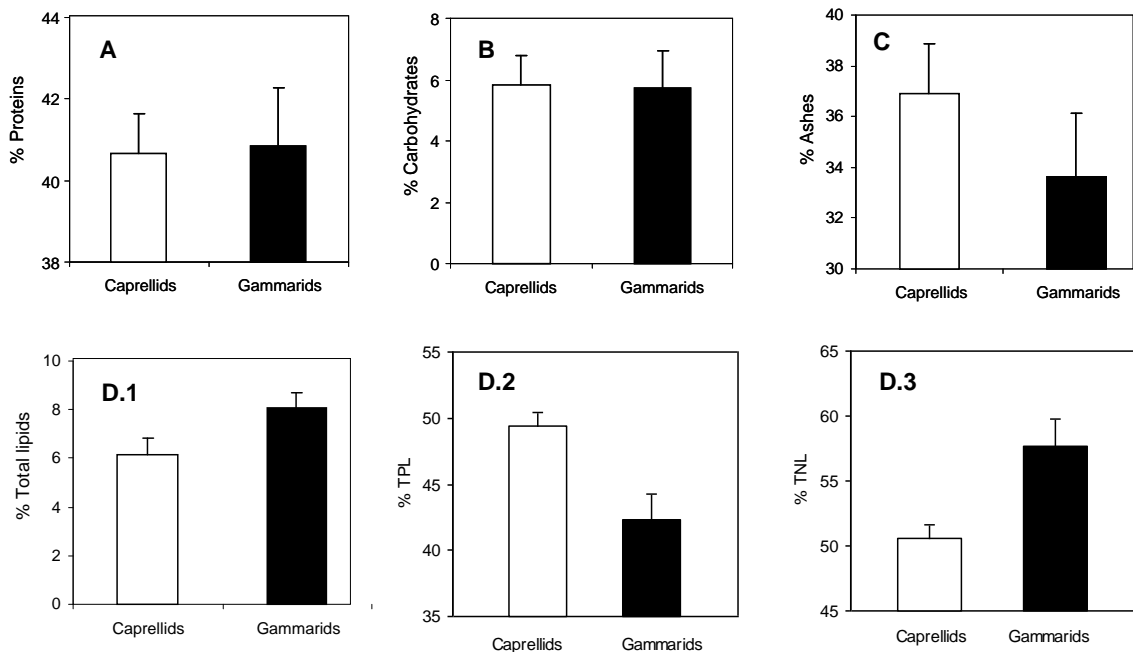


Figure 2. Percentage per dry weight of proteins (A), carbohydrates (B), ashes (C) and lipids (D), distinguishing total polar lipids (TPL) (D.2) and total neutral lipids (TNL) (D.3) between caprellid species and gammarid species averages.

Regarding lipids, the caprellids showed lower levels than the gammarids ($6.15 \pm 0.65\%$ to $8.06 \pm 0.62\%$) (D.1), and significant differences ($P < 0.05$) were found between total polar lipids ($F = 9.86$) and total neutral lipids ($F = 9.85$). Total polar lipids were more abundant in the caprellids ($49.41 \pm 1.05\%$), and total neutral lipids in gammarids ($57.72 \pm 2.01\%$) (D.2, D.3).

4.4.2 FATTY ACIDS

The predominant fatty acids in all the amphipod samples were the saturated fatty acids 16:0 (16.9–24.8%), followed by the monounsaturated ones 18:1(n-9) (10.6–24.2%), and the polyunsaturated acids 20:5(n-3) (8.51–17.7%), 22:6(n-3) (0.8–13.9%) and 20:4(n-6) (5.8–1.7%) (Table 3). The polyunsaturated fatty acids (PUFA) constituted 38.3% of the total fatty acids, while the saturated fatty acids were 31.7% and monounsaturated fatty acids 24.4%.

NUTRITIONAL ANALYSIS OF AMPHIPODS FROM THE STRAIT OF GIBRALTAR

Table 3. Percentage of fatty acid composition in the gammaridea and caprellidea from the Strait of Gibraltar. PUFA: Polyunsaturated; Mon: Monounsaturated; Sat: Saturated; AA: Arachidonic acid; EPA: Eicosapentaenoic acid; DHA: Docosahexanoic acid; DPA: Docosapentaenoic acid.

	<i>Caprella dilatata</i>	<i>Caprella equilibra</i>	<i>Caprella penantis</i>	<i>Caprella grandimana</i>	<i>Elasmopus rapax</i>	<i>Hyale perieri</i>	<i>Jassa sp</i>	<i>Gammarus sp</i>
Saturated								
14:0	1.89	2.07	1.99	1.67	3.33	2.33	2.22	2.76
15:0	0.65	0.73	0.70	0.68	0.67	0.75	0.59	0.92
16:0	17.79	20.98	21.56	21.98	20.65	24.83	19.71	16.98
17:0	0.93	1.39	1.44	0.99	1.09	0.54	1.37	1.38
18:0 dma	1.29	2.60	1.93	2.50	1.89	1.53	2.35	0.96
18:0	4.43	4.91	5.20	4.23	5.27	3.65	6.32	4.46
20:0	0.12	0.52	0.29	0.19	0.25	0.19	0.45	0.38
Total	27.11	33.21	33.10	32.23	33.15	33.81	33.02	27.84
Monounsaturated								
15:1	0.20	0.00	0.07	0.00	0.11	0.07	0.08	0.00
16:1(n-7)	3.83	4.16	2.80	5.27	3.64	3.15	3.39	5.48
16:1(n-5)	0.21	0.23	0.23	0.24	0.18	0.17	0.22	0.39
17:1	0.18	0.00	0.03	0.21	0.04	0.57	0.02	0.15
18:1(n-9)	10.84	10.63	12.57	10.66	17.79	13.77	12.27	24.23
18:1(n-7)	1.96	2.42	2.56	6.72	2.39	5.24	2.45	3.64
18:1(n-5)	0.20	0.16	0.24	0.12	0.19	0.19	0.15	0.21
20:1(n-9)	1.65	1.81	1.47	1.04	1.16	1.10	1.18	1.22
20:1(n-7)	0.53	0.44	0.27	0.71	0.48	0.52	0.39	0.35
22:1(n-11)	0.19	0.32	0.26	0.21	0.28	0.25	0.25	0.15
22:1(n-9)	0.32	0.29	0.57	0.31	0.22	0.23	0.18	0.13
Total	20.08	20.45	21.07	25.48	26.49	25.25	20.58	35.94
Polyunsaturated								
16:2(n-4)	0.57	0.42	0.30	0.54	0.39	0.48	0.42	0.44
16:3(n-4)	0.54	0.57	0.32	0.49	0.55	0.41	0.54	0.71
18:2(n-6)	1.29	1.66	1.49	1.99	2.06	4.11	1.96	9.80
18:3(n-6)	0.00	0.15	0.14	0.39	0.14	0.41	0.14	0.13
18:3(n-4)	0.62	0.50	0.39	0.34	0.37	0.31	0.47	0.66
18:3(n-3)	0.96	0.56	0.61	1.69	0.64	5.92	0.73	4.65
18:4(n-3)	1.61	1.36	0.69	0.76	0.85	2.38	1.80	0.15
20:2(n-6)	0.98	0.92	0.79	0.73	0.72	0.77	0.80	1.17
20:3(n-6)+21:0	0.05	0.15	0.26	0.46	0.17	0.51	0.22	0.18
20:4(n-6) AA	4.48	1.75	3.48	5.87	2.80	5.43	2.14	2.36
20:3(n-3)	0.45	0.37	0.30	0.59	0.23	0.90	0.33	0.60
20:4(n-3)	0.88	0.51	0.44	0.34	0.32	0.75	0.55	0.08
20:5(n-3) EPA	17.14	17.69	15.87	16.02	16.10	8.90	17.67	8.52
22:2(n-6)	0.34	0.43	0.57	0.71	0.52	0.38	0.42	0.18
22:5(n-3) DPA	0.78	0.93	0.80	0.73	0.45	1.44	0.72	0.66
22:5(n-6)	0.91	0.19	0.36	0.52	0.18	0.18	0.11	0.07
22:6(n-3) DHA	13.57	12.14	13.98	4.53	8.81	2.08	11.84	0.86
Total	45.17	40.32	40.80	36.71	35.28	35.34	40.85	31.21
Total (n-3) PUFA	35.39	33.57	32.69	24.66	27.39	22.36	33.63	15.51
Total (n-6) PUFA	8.05	5.26	7.10	10.68	6.59	11.77	5.78	13.89
Ratio (n-6):(n-3)	0.23	0.16	0.22	0.43	0.24	0.53	0.17	0.90
DHA/EPA	0.79	0.69	0.88	0.28	0.55	0.23	0.67	0.10
DHA/AA	3.03	6.93	4.02	0.77	3.15	0.38	5.53	0.36
EPA/AA	3.82	10.10	4.56	2.73	5.75	1.64	8.26	3.61
Mon/PUFA	0.44	0.51	0.52	0.69	0.75	0.71	0.50	1.15
Mon/Sat	0.77	0.66	0.67	0.85	0.84	0.78	0.67	1.32

When the fatty acid matrix was used in the multivariate analyses to explore the similarity among the species, the PCA analysis divided the amphipod species into three groups (Figure 3). Axis 1 absorbed 41.3% of the total variance separating the *Gammarus sp.* (freshwater gammarid) of the species *C. dilatata*, *E. rapax*, *C. penantis*, *C. equilibra* and *Jassa cadetta*. Thus n-3, n-3/HUFA, EPA/DHA, Mon/n-3H and Mon/PUFA were significantly correlated with Axis 1 with $p < 0.001$. 15:0, 18:2(n-6), 20:5(n-3), Mon/PUFA, n-6, n-3/n-6, AA/DHA, Mon/SAT were correlated with $p < 0.01$. Axis 2 absorbed 24.1% of the total variance and separated *Gammarus sp.* and *C. dilatata*, *E. rapax*, *C. penantis*, *C. equilibra* and *J. cadetta* from *C. grandimana* and *H. perieri*. The fatty acids, 17:0 and 20:4(n-6), were significantly correlated with Axis 2 ($p < 0.01$).

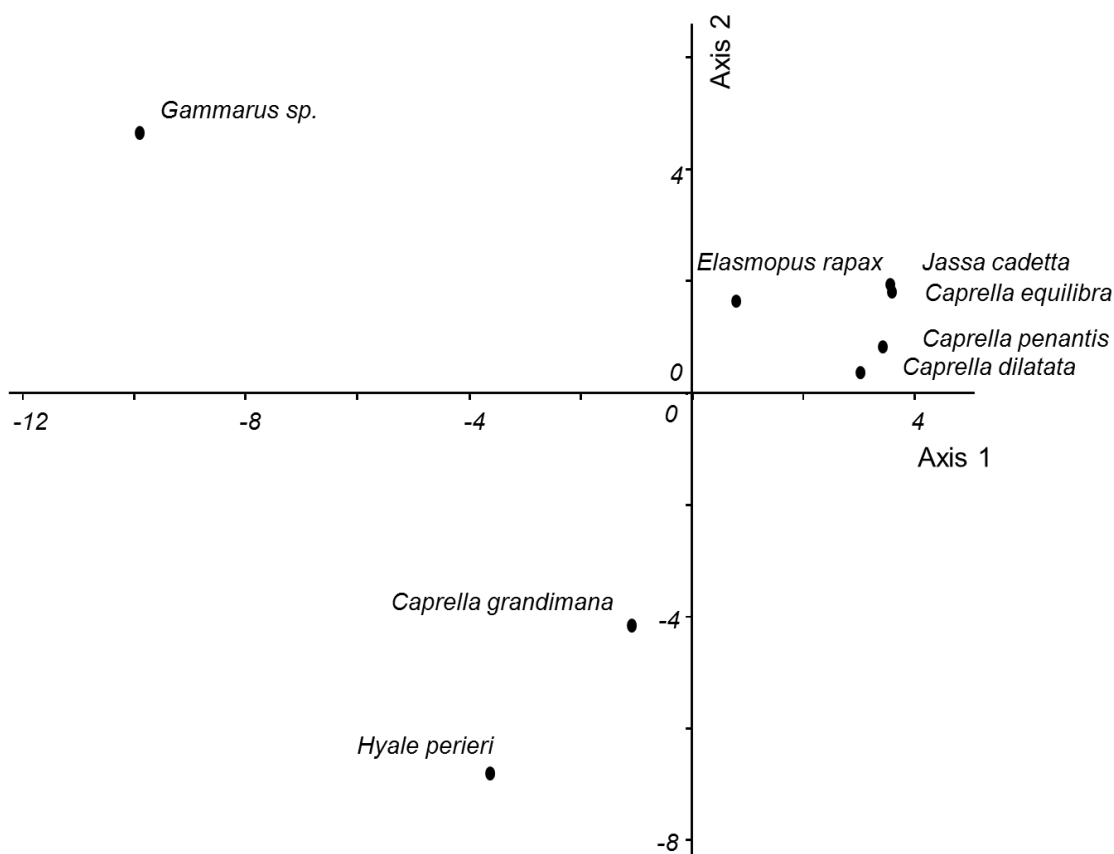


Figure 3. PCA analysis based on Pearson and Kendall Correlations of the caprellid and gammarid species according to the fatty acid composition (Fig.4)

Cluster analysis based on the Euclidean distance showed that two species groups could be clearly differentiated (Fig. 4). The first group included only one species, *Gammarus sp.*, while the second group could be further split into two subgroups: the species *C. grandimana* and *Hyale perieri* in one subgroup, and *C. dilatata*, *Elasmopus rapax*, *C. penantis*, *C. equilibra* and *Jassa cadetta* in the other subgroup.

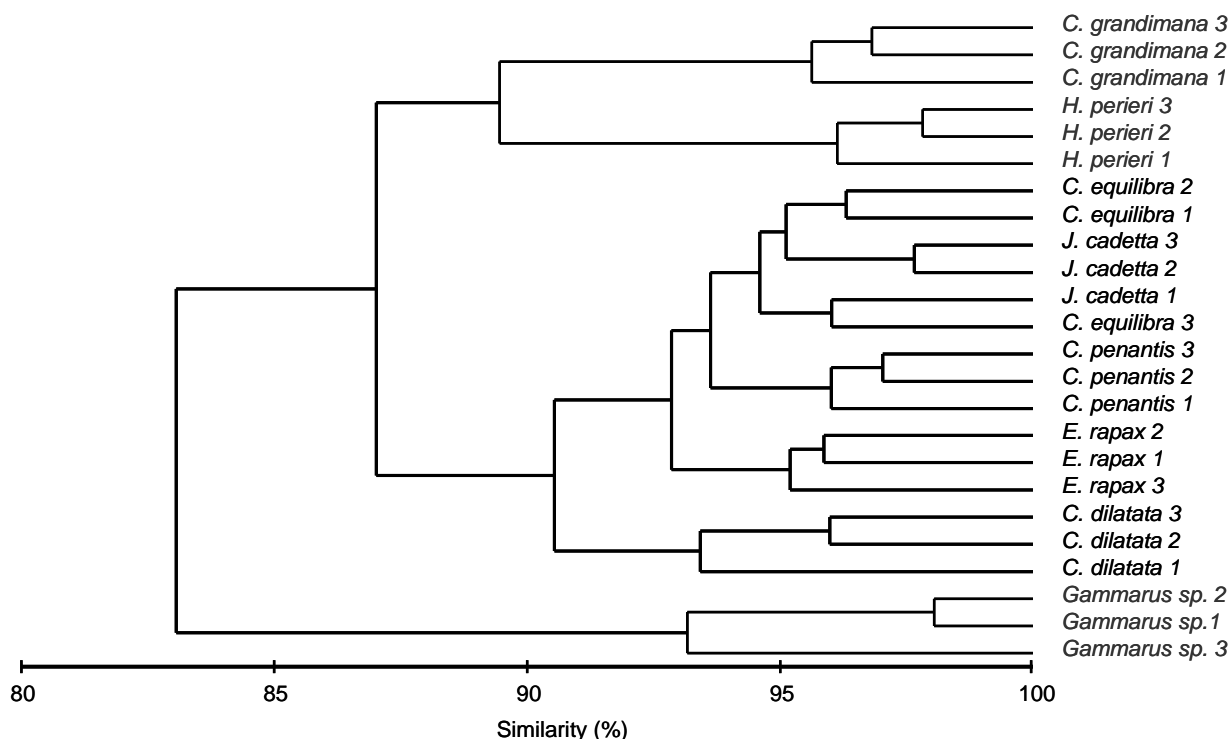


Figure 4. Dendrogram of similarity (Cluster) between the caprellid species and the gammarid species, produced from percentage data of fatty acids.

The results obtained from the ANOSIM to check if caprellids and gammarids contained different fatty acid compositions showed that there were significant differences between them ($R = 0.28$, $p = 0.003$). When the freshwater gammarids were excluded from the matrix data because of their difference in composition from the marine amphipods, significant differences were also found ($R = 3.04$, $p = 0.009$). The PERMANOVA analysis also showed differences between the caprellids and gammarids ($F = 7.03$, $p = 0.001$), even when the freshwater gammarids were removed from the analysis ($F = 3.04$, $p = 0.044$). SIMPER analysis based on the same fatty acids matrix showed that the average dissimilarity among caprellids and gammarids was only 18.9%, the fatty acids being 22:6(n-3), 18:1(n-9) and 20:5(n-3) which contributed the most to the dissimilarity.

Fatty acids 22:6(n-3), 20:5(n-3), 20:4(n-6), 18:3(n-3), 18:2(n-6), 18:1(n-9) and 18:1n-7 are the fatty acids most variable among the species and include some of the most nutritionally important fatty acids used in aquaculture requirement. Table 4 indicates the significantly different groups of amphipods for each fatty acid.

Table 4. Significantly different groups of amphipods for each fatty acid

22:6(n-3)	<u>Gammarus sp</u>	<u>H. perieri</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>E. rapax</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>C. equilibra</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>C. penantis</u>
20:5(n-3)	<u>Gammarus sp</u>	<u>H. perieri</u>	<u>C. penantis</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>E. rapax</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>C. equilibra</u>	<u>J. cadetta</u>
20:4(n-6)	<u>C. equilibra</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>Gammarus sp</u>	<u>E. rapax</u>	<u>C. penantis</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>H. perieri</u>	<u>C. grandimana</u>
18:3(n-3)	<u>C. equilibra</u>	<u>C. penantis</u>	<u>E. rapax</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>Gammarus sp</u>	<u>H. perieri</u>
18:2(n-6)	<u>C. dilatata</u>	<u>C. penantis</u>	<u>C. equilibra</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>E. rapax</u>	<u>H. perieri</u>	<u>Gammarus sp</u>
18:1(n-9)	<u>C. equilibra</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>C. penantis</u>	<u>H. perieri</u>	<u>E. rapax</u>	<u>Gammarus sp</u>
18:1(n-7)	<u>C. dilatata</u>	<u>E. rapax</u>	<u>C. equilibra</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>C. penantis</u>	<u>Gammarus sp</u>	<u>H. perieri</u>	<u>C. grandimana</u>
16:00	<u>Gammarus sp</u>	<u>C. dilatata</u>	<u>J. cadetta</u>	<u>E. rapax</u>	<u>C. equilibra</u>	<u>C. penantis</u>	<u>C. grandimana</u>	<u>H. perieri</u>

4.4.3 LIPID CLASSES

According to the lipid classes, triacylglycerol (30.9–20.5%), phosphatidylcholine (21.1–14.3%), phosphatidylethanolamine (15.3–11.72%) and esterols (16.7–9.96%) were the lipid classes found most abundantly in the amphipods (Table 5).

Table 5. Percentage of lipid class composition in the gammaridea and caprellidea from the Strait of Gibraltar. LPC: lysophosphatidylcholine; SM: sphingomyelin; PC: phosphatidylcholine; PS: phosphatidylserine; PI: phosphatidylinositol; PG: phosphatidylglycerol; PE: phosphatidylethanolamine; UKPL: unknown polar lipids; Pigm: pigments; DAG: diacylglycerol; MAG: monoacylglycerol; FFA: free fatty acid; ST: esterols; TG: triacylglycerol; MK: methyl ketones; EK: ethyl ketones; SE: sterol ester; WE: wax ester; HC: hydrocarbons; TPL: total polar lipid; TNL: total neutral lipid.

	<i>Caprella dilatata</i>	<i>Caprella equilibra</i>	<i>Caprella penantis</i>	<i>Caprella grandimana</i>	<i>Elasmopus rapax</i>	<i>Hyale perieri</i>	<i>Jassa cadetta</i>	<i>Gammarus sp.</i>
LPC	0.82	0.88	0.89	0.53	0.39	0.40	0.26	0.23
SM	0.62	0.00	0.23	0.47	0.42	0.62	0.74	0.20
PC	17.87	20.69	20.59	21.11	18.33	14.76	19.71	14.27
PS	5.15	4.22	4.78	4.74	3.67	4.28	4.41	2.79
PI	3.89	3.55	3.11	3.02	2.63	2.81	3.19	2.87
PE	13.49	14.74	15.32	15.29	12.65	13.16	14.95	11.72
UKPL	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.59	0.00	0.00
Pigm	4.83	5.03	6.78	5.01	3.87	4.00	3.93	5.26
DAG + MAG	1.84	1.27	1.19	1.56	0.99	3.00	1.01	0.57
ST	9.96	14.24	16.27	16.73	15.93	10.82	14.38	15.80
FFA	5.76	5.21	5.82	5.11	3.33	5.51	4.75	5.85
TG	22.46	23.40	20.52	21.60	30.43	29.07	25.99	30.94
MK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.84	0.00	0.00
EK	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.00	0.00
SE	2.99	1.05	0.00	0.26	2.93	2.29	2.53	1.96
WE	2.41	1.09	0.00	1.28	2.20	2.62	1.14	5.63
HC	7.91	4.63	4.51	3.29	2.24	0.84	3.01	1.92
TPL	46.67	49.11	51.69	50.17	41.95	42.61	47.18	37.34
TNL	53.34	50.89	48.30	49.84	58.05	57.39	52.82	62.65

When PCA analyses were conducted with the data matrix (Fig. 5), Axis 1 explained 45.1% of the total variance and it separated the caprellid species (*C. penantis*, *C. equilibra*, *C. grandimana* and *C. dilatata*) from the gammarid species (*H. perieri*, *E. rapax*, *Gammarus sp.*, and *J. cadetta*), though *J. cadetta* was nearer to the caprellid group. Triacylglycerol correlated positively with this Axis, with $p < 0.001$, and total neutral lipid, total polar lipid, phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine with $p < 0.05$. Axis 2 explained 23.8% of the variance separating *H. perieri* from *E. rapax* and *Gammarus sp.* correlating diacylglycerol with $p < 0.001$ and sterols with $p < 0.05$.

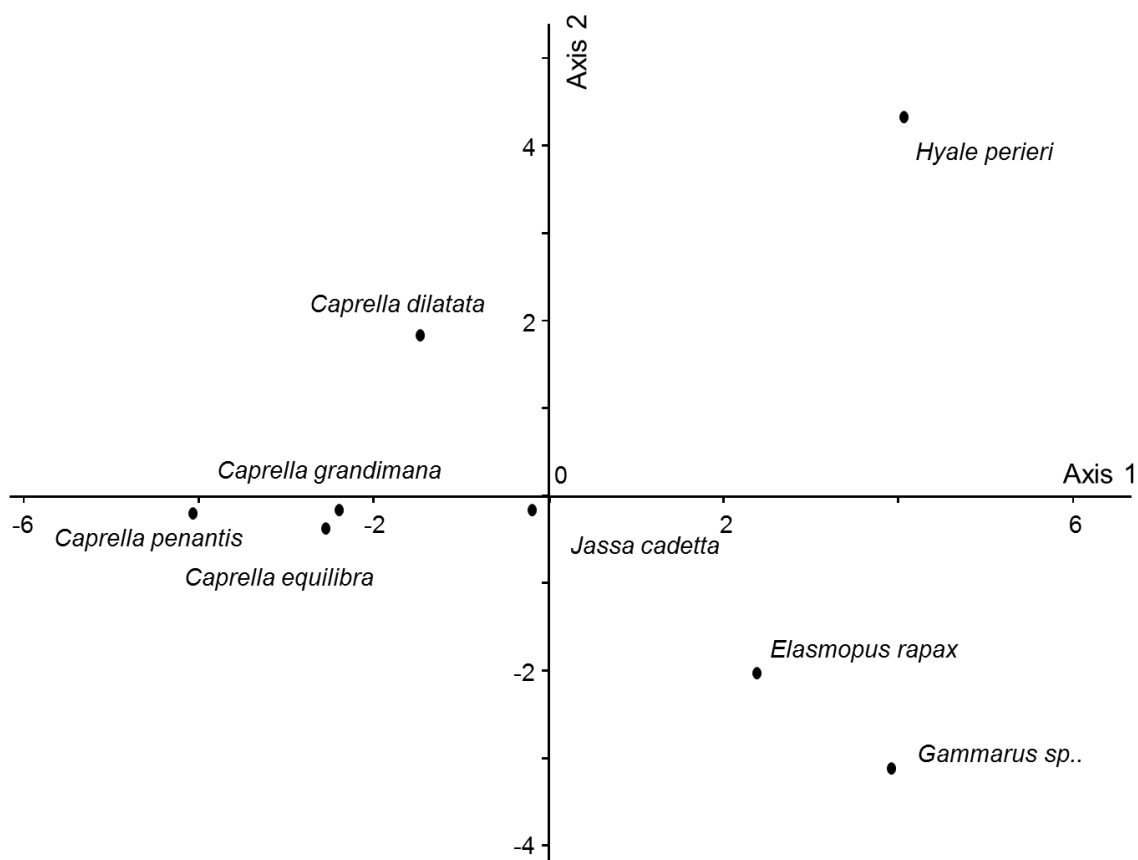


Figure 5. PCA analysis based on Pearson and Kendall Correlations of the caprellid and the gammarid species according to the lipid class composition.

ANOSIM showed that the caprellid species can be differentiated from the gammarid species by their lipid class composition ($R = 0.47$, $p = 0.001$), and SIMPER determined that total polar lipids, total neutral lipids and triacylglycerol were the lipid classes that contributed to the dissimilarity between them.

4.5 DISCUSSION

4.5.1 Nutritional composition

Knowledge of the biochemical composition of marine organisms becomes significant for finding out new live prey that can be successfully used to improve the actual production in aquaculture. The present study reveals the manner in which the gammarid and caprellid species from the Strait of Gibraltar present a similar nutritional composition based on the percentage of proteins, lipids, carbohydrates and ash.

These organisms are rich in proteins, which represent the main biochemical class of organic compounds (40% of DW), followed by relatively lower levels of carbohydrates and lipids, (less than 10% of DW). Earlier studies conducted in amphipods revealed similar ranges with a higher percentage of proteins (Percy, 1979; Nair and Anger, 1980; Perrone *et al.*, 2003; Poretti *et al.*, 2003). Similar to our amphipod species, values of 5.9 and 7.7% of DW in lipids have been measured in *Gammarus pulex* and *Carinogammarus roeselii*, respectively (Geng, 1925). However, higher lipid levels have been found in deep-sea amphipods species (Lehtonen, 1996); deep-living populations of *Monoporeia affinis* reached lipid levels of 45% dry weight in their tissues; however, high seasonal variations were found, with the lowest level at 15%.

Animals living in ecosystems with unpredictable food inputs of necessity must have efficient energy storage systems in their bodies, to be able to cope with long periods of poor food conditions. Therefore, as lipid accumulation is the most widespread long-term energy storage strategy (Lehtonen, 1996), it explains the extended variation in the lipid content of the species, as lipids can be rapidly accumulated at the time of peak food availability and then gradually be utilised for metabolic purposes during the extended periods of food scarcity. For the arctic marine amphipod *Onisimus affinis*, the lipid content ranged from 14 to 27% of DW (Percy, 1979), while the antarctic amphipod *Orchomonella plebs* had values as high as 53% of DW (Pearse y Giese, 1966). *Paramoera walkeri* showed high variations of its lipid content, releasing a minimal content of 15% during the early winter (Rakusa-Suszczewski and Dominas, 1974). In other species, the rise in the lipid content coincided with the peak of reproductive activity, and once reproduction was over, the lipid levels decreased.

By contrast, in habitats where food is always available, amphipods do not accumulate large lipid reserves (Percy, 1979), and therefore, show little variation in the lipid levels during the year (Moore, 1976; Nair and Anger, 1980). Hence, the species under study are not expected to show high fluctuations in lipid composition, as the Strait of Gibraltar has a Mediterranean climate where no great temperature fluctuation ever occurs. However, future studies should address the measuring of lipids during the entire year.

The carbohydrate content of marine crustaceans is generally very low and does not appear to represent a significant nutritional reserve (Raymont and Conover, 1961). Normally, in the biochemical composition of marine crustaceans, a high protein content is always found in combination with a low carbohydrate concentration (Percy, 1979; Perrone *et al.*, 2003), and their proportions generally do not show significant variations during the seasons. In our results, the freshwater gammarid, *Gammarus sp.*, revealed the highest carbohydrate proportions (9.1%); however, no significant differences were observed between the gammarid and caprellid levels.

After protein content, ash was the second component found in abundance in these amphipods. In species such as *Eurythenes gryllus*, the ash ranged from 21.8 to 39.0% dry weight (Perrone *et al.*, 2003). *Gammarus salinus* showed relatively constant levels, about 24% of the dry weight, and *Orchestia gammarella* about 20% (Moore, 1976). In *J. falcata* from the North Sea, chitin was determined separately from the total ash. Chitin is a substance practically indigestible by most predators, and it is the main component of the exoskeleton of the arthropods like crustaceans. Thus, being amphipods, they are one of the major chitin producers (Cauchie, 2002). *Jassa falcata* had 22.6 ± 4.9 of chitin and 8.5 ± 2.4 of ash. There were no noticeable differences between the gammarid and caprellid levels; however, caprellids appeared to possess higher levels of ash in their tissues than the gammarids (36.9 ± 1.9 – $33.6 \pm 2.5\%$), probably due to the different ratios of surface area/body volume (S/V), as caprellids are morphologically characterised with longer and more slender bodies than gammarids, whose bodies are thicker and rounder and which would decrease the S/V ratio.

The present study reveals that individual gammarids and caprellids from the intertidal zone of the Strait of Gibraltar contain high levels of polyunsaturated fatty acids. In fact, polyunsaturated fatty acids constituted the most abundant group, with a proportion of 38.3%, while the other gammarid species, from the hadal depths, are characterised by higher levels of monounsaturated fatty acids in relation to the rest of the components (Perrone *et al.*, 2003). Nevertheless, generally, several investigations have proved that amphipods are known for their high polyunsaturated levels (Graeve *et al.*, 1997) with high dominance in 20:4 (n-6) (ARA), 20:5(n-3) (EPA) and 22:6(n-3) (DHA). The n3 long-chain polyunsaturated fatty

acids (EPA and DHA) have been mainly associated with marine organisms (see review by Sargent, 1976; Morris and Culkin, 1976; Sargent and Whittle, 1981) and are not normally the important lipid components of freshwater flora and fauna (e.g. Ackman *et al.*, 1971). All the marine species in our study contained high levels of these fatty acids; only *Gammarus sp.* from the Huéznar River had the lowest level. The ratio (n-6)/(n-3) was around 0.16 and 0.53 in the marine amphipods, and 0.90 in the freshwater gammarid, showing a higher proportion in (n-6) than (n-3) in the freshwater gammarid. In fact, the PCA done on the fatty acid composition, separated the *Gammarus sp.* from the rest of amphipod species, indicating that the low composition of n-3, high n-3/HUFA, low DHA/EPA, high Mon/n-3H and low Mon/PUFA were significantly correlated with this Axis. Also, both the PCA and cluster, besides segregating *Gammarus sp.* in a group, also isolated *C. grandimana* and *H. perieri* in another group. In these two species, the fatty acids 17:0 and 20:4n6 correlated with Axis 2 in the PCA analysis.

Caprella grandimana and *H. perieri* were collected from the intertidal zone of Tarifa island which is inhabited by a high concentration of macroalgae (Guerra-Garcia *et al.*, 2010a; Guerra-Garcia *et al.*, 2011). This fact could explain the high content in 20:4(n-6) as this fatty acid is indicative of a macroalgal diet, because 20:4(n-6) originates from the macroalgae, and is incorporated unmodified into the amphipod lipids (Graeve *et al.*, 2001). Guerra-García *et al.* (2004) analysed *C. grandimana* fatty acids from the Strait of Gibraltar and obtained identical results. This species differed from the rest of the caprellid species analysed, and was characterised by higher concentrations of 18:1(n-7) and 20:4(n-6) and lower percentages of 22:6(n-3). These results, along with the higher values of the biomarker ratio 20:5(n-3)/22:6(n-3) and the lower ratio 18:1(n-9)/18:1(n-7), suggested a greater contribution of diatoms and macroalgae in their diet, explaining their separation with the remaining species of amphipods.

Another factor that could explain the difference between *Gammarus sp.*, *H. perieri* and *C. grandimana*, could be due to the temperature differences in their habitats. *Gammarus sp.* lives in a small water body of a river, while *H. perieri* and *C. grandimana* live in the higher levels of the intertidal zone, both habitats being exposed to high temperature fluctuations; it is known that polyunsaturated fatty acids are essential for the fluidity of the membranes (Arts and Kohler, 2008). However, high temperature fluctuations reduce the n3 fatty acid in membranes to avoid hyperfluidity because n3 for a given chain length will be more unsaturated than the n6 acid (Morris, 1984). Therefore, temperature differences could also explain the low levels of n-3 PUFA and high n-6 PUFA in these species.

Therefore, in summary, the fatty acid composition of the amphipod species could be said to be related to habitat characteristics, diets and environmental conditions. However, in contrast to these arguments, the ANOSIM analysis and PERMANOVA analysis were found to detect significant differences between the gammarid and caprellid fatty acids, and although the SIMPER analysis detected an average dissimilarity of only 18.9%, fatty acids 22:6(n-3), 18:1(n-9) and 20:5(n-3) showed the most dissimilarity, as species such as *C. penantis*, *C. dilatata* and *C. equilibra* were characterised by high levels in 22:6(n-3), and together with *C. grandimana*, higher levels of EPA. Thus, relating to the species of amphipods selected for this study, the caprellids contained the highest DHA and EPA levels in their tissues.

Significantly, *H. perieri*, contrary to the rest of amphipods analysed, was noted to have the highest levels in 18:2(n-6), 18:3(n-3) and 18:4(n-3) in its constitution, low levels of EPA and the presence of unknown polar lipids and rare neutral lipids like methyl ketones (alkenones) and ethyl ketones. The alkenones are unusual neutral lipids of the polyunsaturated long-chain (C₃₇₋₃₉) produced by prymnesiophyte algae like *Isochrysis sp.*, and have found wide use as biomarkers for palaeothermometry because of their high stability (Eltgroth *et al.*, 2005). *Hyale perieri* appears to be an herbivore as small algae cells can be observed in their gut (Torrecilla-Roca and Guerra-García, 2012); however, diatoms or microalgae can also be ingested while the animal grasps the algal surface, increasing these alkenones and fatty acid levels typical of species like *Isochrysis galvana*.

Regarding the lipid classes, greater differences were found between the gammarid and caprellid species than with the fatty acid content. ANOSIM, as well as fatty acid content, revealed significant differences between them, but PCA showed greater differences between the gammarid and caprellid species, in the total polar and neutral lipids, phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE), these being particularly responsible for the differences. Further, SIMPER corroborated that the total polar lipids, total neutral lipids and triacylglycerols were the lipid class which contributed more to this dissimilarity. Triacylglycerols were found more abundantly in the gammarid species in the present study (30.4–26%), and they are considered to be the major energy storage lipid in benthic amphipods (Clarke *et al.*, 1985; Kattner and Krause, 1987; Hagen, 1988) especially in situations of food scarcity. The major energy storage component in *M. affinis*, with respect to lipids, was triacylglycerols (Hill *et al.*, 1992; Lehtonen, 1995); however, earlier studies dealing with the intertidal gammarid *Corophium volutator* from the Bay of Fundy revealed higher phospholipid levels than triglyceride levels (Ackman *et al.*, 1979). Caprellids, by contrast,

were richer in phospholipids with higher levels in PE and PC. Phospholipids are important constituents of membranes (Lehninger, 1975) and are particularly important in crustaceans where they also constitute the principal circulating (haemolymph) lipid (Gilbert and O'Connor, 1970). Phospholipids are composed of saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids, whose distribution and proportion are regarded as highly important in the functional and structural roles of the biomembranes (Arts and Kohler, 2008). 20:5(n-3); 22:6(n-3); the saturated ones 16:0 are typical of marine organisms and are generally more predominant in phospholipids than in triglycerols (Moore, 1976; Sargent y Henderson, 1986; Tande y Henderson, 1988; Albers *et al.*, 1996); however, no significant differences between phospholipid and triglycerol fatty acid composition were found in a previous study with the caprellid species from northern Japan (Kawashima *et al.*, 1999); therefore, more studies are warranted in the future to identify if the amphipod species from the Strait of Gibraltar differ in their compositions.

4.5.2 Applications in aquaculture

Currently, there is a reduced quantum of live feed that is successfully used in aquaculture. Artemia, copepods and rotifers are the most popular live feed for fish larvae. Other species such as mysids and crustacean zoea are also used as live feed for the bigger larval species, like the cephalopods. However, greater efforts are being focused on identifying adequate formulated diets to replace these organisms, and thus reduce their production cost and support. Although this new feed source adds new advantages to aquaculture, other factors call for improvement as survival and growth of some of the larval species are still questionable. Digestibility appears to be one of the main problems. The digestive systems of the larvae are still rudimentary and incapable of processing such formulated diets, thus decreasing their survival and growth. Another factor appears to be mobility. While live prey are continuously swimming in the water and stimulate the larval feeding responses, formulated diets sink quickly to the bottom. Therefore, live feed is still necessary in aquaculture, as better results are obtained from using them.

The nutritional composition of such normal prey fluctuates highly even within each group, as there are several factors involved. The protein content in rotifers ranges from 28 to 63%, while the lipid content varies from 9 to 28% of dry weight, (Lubzens *et al.*, 1989; Frolov *et al.*, 1991; Nagata y Whyte, 1992; Øie & Olsen, 1997). The carbohydrate content ranges from 10.5 to 27% of dry weight, showing much higher levels than in our present results (Whyte & Nagata, 1990; Frolov *et al.*, 1991; Nagata & Whyte, 1992). In copepods, the protein

content ranges from 24 to 82% of dry weight, the highest in the species from medium latitudes (Bamstedt, 1986); the lipid content also varies with latitude, season and food availability, ranging between 2 and 73% (Bamstedt, 1986; Ajiboye *et al.*, 2010). The nutritional content of *Artemia* depends on the life stages that are used and because *Artemia* contains a high ratio of gut content to body volume, its composition is highly dependent on its diet; however, *Artemia* is considered an inferior food source when compared with other zooplankton species, due to its low DHA levels in its tissues. Therefore, its nutritional content is enhanced enriched with artificial products.

Although amphipods show wide ranging sizes among the species, and pools of animals from different instars and sizes can be used (1–20 mm), they could be of more effective use in the maturation of fish larvae or cephalopod larvae which need larger live feed sizes, such as mysids. Live mysids have been frequently used as food for cephalopods (e.g. cuttlefish and squid) during the early stages of their life (Forshyte & Hanlon, 1980; Domingues *et al.*, 2001) as mysids contain high levels of proteins required for octopus growth (Eusebio *et al.*, 2010; Rosas *et al.*, 2011). Recent studies were conducted with amphipod and cephalopod growth, obtaining good results (Baeza-Rojano *et al.*, 2010; Baeza-Rojano *et al.*, 2012); however, different results were obtained between the gammarid and caprellid species used as live food, the gammarid species providing better results than the caprellid species (Baeza-Rojano *et al.*, 2010).

Nutritional content in caprellids had been poorly investigated before the current study. Our results have shown that species such as *C. dilatata*, *C. equilibra* and *C. penantis* possess high PUFA levels, higher phospholipid levels and higher polar lipid levels than gammarids. Interestingly, EPA (20:5(n-3)), DHA (22:6(n-3)) and ARA (20:4(n-6)) are known for their relevant importance in successfully raising marine fish and crustacean larvae, due to the incapacity of these animals to synthesise these fatty acids from the shorter chain (Sargent *et al.*, 1997); although some of them are able to synthesise, they do so at a rate insufficient to meet the requirements for their normal growth.

Another important requirement for several marine fish and shrimp larvae appears to be phospholipids (PL) (Coutteau *et al.*, 1997). Purified diets with PL supplementation have a beneficial effect in terms of survival, growth and resistance to stress test, and studies evaluating single PL demonstrated that phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylinositol (PI) have proved to be the most efficient in most species (Coutteau *et al.*, 1997). In cephalopod larvae, PLs also greatly influence larvae development (Fuentes *et al.*, 2011) increasing their survival, and lastly, polar lipids are more readily digested by the larvae and may also facilitate the digestion of other lipids in the undeveloped gut of marine fish larvae

(Koven *et al.*, 1993) and crustaceans (Watanabe & Kiron, 1995; Moren *et al.*, 2006;). Thus, larval fish may more easily assimilate DHA and other essential fatty acids than *Artemia*, where these essential fatty acids are present mainly as neutral lipids (McEvoy *et al.*, 1998). Therefore, it appears that the caprellids from the Strait of Gibraltar have ideal nutritional content to be used as live feed, and gammarids like *E. rapax* and *J. cadetta* also showed patterns similar to the caprellids with higher PUFA levels in relation to the other two gammarid species.

Nevertheless, on the negative side, the ash content was relatively high in the gammarids and even more in the caprellids, reaching values identical to proteins. High ash levels are considered inadequate for feeding larvae because it reduces the digestibility (Koprucu & Ozdemir, 2005) and produces skeletal deformities in fishes (Moren *et al.*, 2006; Opstad *et al.*, 2006; Suontama *et al.*, 2007). However, although chitin levels were not analysed in this paper, the known upper chitin levels in amphipods can have widespread commercial interest, as chitin and its deacetylated derivative, chitosan, have cosmetic, biomedical and pharmaceutical applications (Muzzarelli, 1996) and other studies have investigated the possibility that chitin could find use as an immunostimulatory additive for fish feed, providing protection against fish pathogenic bacteria (Ringø *et al.*, 2012).

Other differences in composition deal with the main chemical elements. Earlier studies have shown that the cationic concentrations of Na⁺, K⁺ and Mg²⁺ are significantly higher in the caprellid species (Guerra-Garcia *et al.*, 2010b), probably due to different activity patterns associated with different feeding strategies. Also, C, H, N and S contents were measured in the most common peracarid species inhabiting the intertidal ecosystems of southern Spain showing that the S content was significantly higher in the caprellids (1.5%) than the gammarids (1.1%) (Guerra-Garcia *et al.*, 2009b). Further, the caprellids have been proposed as a bioindicator species due to their high capacity for accumulating heavy metals such as Cr, Hg and Zn (Guerra-García *et al.*, 2010c), a fact that has far reaching significance while using them as live feed because it may increase the metal levels in fish, mollusc and crustacean tissues, which are dangerous to human health. For example, high Cd levels found in the Arctic amphipods (*Temisto* sp.) were considered unsuitable for fish, as their Cd levels exceeded the EU's specified upper limit (Moren *et al.*, 2006).

4.6 CONCLUSION

Overall, amphipods show both advantages and disadvantages in their use as natural live prey. The intertidal amphipods from the Strait of Gibraltar have been found to be suitable for use as natural live feed. The protein, lipid and carbohydrate contents are adequate for normal fish, crustacean and mollusc growth, and also bear close similarity to the live prey currently used in aquaculture. In spite of the caprellids showing the best fatty acid and lipid class composition compared with the gammarids, other characteristics such as ash level or metal content should also be considered. Therefore, further studies are warranted to reveal the role of these amphipods in their use in aquaculture.

4.7 REFERENCES

- Ackman RG, Hooper SN & Frair W (1971) Comparison of the fatty acid compositions of depot fats from fresh-water and marine turtles. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 40: 931-944.
- Ackman RG, Nash DM & McLachlan J (1979) Lipids and fatty acids of *Corophium volutator* from Minas Basin. *Nova Scotian Institute of Science*, 29: 501-516.
- Ajiboye OO, Yakubu AF, Adams TE, Olaji ED & Nwogu NA (2010) A review of the use of copepods in marine fish larviculture. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21: 225-246.
- Albers CS, Kattner G & Hagen W (1996) The compositions of wax esters, triacylglycerols and phospholipids in Arctic and Antarctic copepods: evidence of energetic adaptations. *Marine Chemistry*, 55: 347-358.
- Arts MT & Kohler CC (2008) Health and condition in fish: the influence of lipids on membrane competency and immune response. In: *Lipids in Aquatic Ecosystems*. (ed. by MT Arts, MT Brett & MJ Kainz), pp. 237-256. Springer, New York.
- Båmstedt U (1986) Chemical composition and energy content. In: *The Biological Chemistry of Marine Copepods*. (ed. by EDS, Comer & SCM, O'Hara), pp. 1-58. Clarendon Press, Oxford.
- Bensadoun A & Weinstein D (1976) Assay of proteins in the presence of interfering materials. *Analytical Biochemistry*, 70: 241-250.
- Baeza-Rojano E, García S, Garrido D, Guerra-García JM & Domingues P (2010) Use of amphipods as alternative prey to culture cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. *Aquaculture*, 300: 243-246.
- Baeza-Rojano E, Guerra-García JM, Cabezas MP & Pacios I (2011) Life history of *Caprella grandimana* (Crustacea: Amphipoda) reared under laboratory conditions. *Marine Biological Research*, 7: 85-92.
- Baeza-Rojano E, Domingues P, Guerra-García JM, Capella S, Noreña-Barroso E, Caamal-Monsreal C & Rosas C (2012) Marine gammarids (Crustacea: Amphipoda): a new live prey to culture *Octopus maya* hatchlings. *Aquaculture Research*. doi: 10.1111/j.1365-2109.2012.03169.x
- Cauchie HM (2002) Chitin production by arthropods in the hydrosphere. *Hydrobiologia*, 470: 63-95.
- Christie WW (1982) A simple procedure for rapid transmethylation of lycerolipids and cholesteryl esters. *Journal of Lipid Research*, 23: 1072-1075.
- Clarke KR & Gorley RN (2001) PRIMER v5: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.

- Clarke A, Skadsheim A & Holmes LJ (1985) Lipid biochemistry and reproductive biology in two species of Gammaridae (Crustacea: Amphipoda). *Marine Biology*, 88: 247-263.
- Cook EJ, Shucksmith R, Orr H, Ashton GV & Berge J (2010) Fatty acid composition as a dietary indicator of the invasive caprellid, *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda). *Marine Biology*, 157: 19-27.
- Coutteau P, Geurden I, Camara M, Bergot P & Sorgeloos P (1997) Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture*, 155: 149-164.
- Cunha MR, Sorbe JC & Bernades C (1997) On the structure of the neritic suprabenthic communities from the Portuguese continental margin. *Marine Ecology Progress Series*, 157: 119-137.
- Dauby P, Scailteur Y & De Broyer C (2001) Trophic type diversity within the eastern Weddell Sea amphipod community. *Hydrobiologia*, 443: 69-86.
- Domingues P, Sykes A & Andrade J (2001) The use of *Artemia* sp. or mysids as food source for hatchlings of the cuttlefish (*Sepia officinalis* L.); effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture Research*, 9: 319-331.
- Duffy JE & Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecological Monographs*, 70: 237-263.
- Eltgroth ML, Watwood RL & Wolfe GV (2005) Production and cellular localization of neutral long-chain lipids in the haptophyte algae *Isochrysis galbana* and *Emiliania huxleyi*. *Journal of Phycology*, 41: 1000-1009.
- Eusebio PS, Coloso RM & Gapasin RSJ (2010) Nutritional evaluation of mysids *Mesopodopsis orientalis* (Crustacea: Mysidacea) as live food for grouper *Epinephelus fuscoguttatus* larvae. *Aquaculture*, 306: 289-294.
- Forsythe JW & Hanlon RT (1980) A closed marine culture system for rearing *Octopus joubini* and other large-egged benthic octopods. *Laboratory Animal*, 14: 137-142.
- Fraga F (1956) Determinación del glucógeno en moluscos con el reactivo de antrona. *Investigación Pesquera*, 3: 69-74.
- Frolov AV, Pankov SL, Geradz KN, Pankova SA & Spektrova LV (1991) Influence of the biochemical composition of food on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, 97: 181-202.
- Fuentes L, Sánchez FJ, Lago MJ, Iglesias J, Pazo G & Linares F (2011) Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three Artemia-based diets complemented

with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. *Scientia Marina*, 75: 771-777.

Geng H (1925) Der Futterwert der natürlichen Fisch-Nahrung. *Zeit. J. Fischerei and deren Hilfswissenschaften*, 23: 137-165.

Gilbert LI & O'Connor JD (1970) Lipid metabolism and transport in arthropods. In: *Chemical Zoology*, Vol. 5. (ed. by M Florkin & BT Scheer), pp. 229-254. Academic Press, New York.

Grabowski M, Bacela K & Konopacka A (2007) How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea) - comparison of life history traits. *Hydrobiologia*, 590: 75-84.

Graeve M, Kattner G & Piepenburg D (1997) Lipids in Arctic benthos: does the fatty acid and alcohol composition reflect feeding and trophic interactions?. *Polar Biology*, 18: 53-61.

Graeve M, Dauby P & Scailteur Y (2001) Combined lipid, fatty acid and digestive tract content analyses: a penetrating approach to estimate feeding modes of Antarctic amphipods. *Polar Biology*, 24: 853-8621.

Guerra-García JM & Tierno de Figueroa JM (2009) What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on?. *Marine Biology*, 156: 1181-1890.

Guerra-García JM, Martínez-Pita I & Pita ML (2004) Fatty acid composition of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Scientia Marina*, 68: 501-510.

Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Espinosa F & García-Gómez JC (2009a) Is the north side of the Strait of Gibraltar more diverse than the south side? A case study using the intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89: 387-397.

Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Pacios-Palma I & García-Gómez J (2009b) Carbon, nitrogen, hydrogen and sulphur components of intertidal caprellids (Crustacea) from southern Spain. *Aquatic Biology*, 8: 39-43.

Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E & García-Gómez JC (2010a) Spatial patterns and seasonal fluctuations of intertidal macroalgal assemblages from Tarifa Island, southern Spain: relationship with associated crustacea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91: 107-116.

Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E & García-Gómez JC (2010b) Na, K, Ca and Mg of intertidal caprellids (Crustacea: Amphipoda). *Marine Biology Research*, 6: 321-326.

Guerra-García JM, Ruiz-Tabares A, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Díaz-Pavón JJ, Pacios I, Maestre M, González AR, Espinosa F & García-Gómez JC (2010c) Trace metals in Caprella

(Crustacea: Amphipoda). A new tool for monitoring pollution in coastal areas? *Ecological Indicators*, 10: 734-743.

Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP & García-Gómez JC (2011) Vertical distribution and seasonality of peracarid crustaceans associated with intertidal macroalgae. *Journal of Sea Research*, 65: 256-264.

Hagen W (1988) Zur Bedeutung der Lipide im antarktischen. *Zooplankton. Ber Polarforsch*, 49: 1-129 (English version 1989: On the significance of lipids in Antarctic zooplankton. *Canadian Translation of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5458: 1-149.

Hess HH, Lees MB & Derr JE (1978) A linear Lowry-Folin assay for both water-soluble and sodium dodecyl sulfate-solubilized proteins. *Analytical Biochemistry*, 85: 295-300.

Hill C, Quigley MA, Cavaletto JF & Gordon W (1992) Seasonal changes in lipid content and composition in the benthic amphipods *Monoporeia affinis* and *Pontoporeia femorata*. *Limnology and oceanography*, 37: 1280-1289.

Horwitz W (1980) *Methods of Analysis*, 13th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

Hyne VR, Sánchez-Bayo F, Bryan DA, Johnston LE & Mann MR (2009) Fatty acid composition of the estuarine amphipod, *Melita plumulosa* (Zeidler): Link between diet and fecundity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28: 123-132.

Izquierdo D & Guerra-García JM (2010) Distribution patterns of the peracarid crustaceans associated with the alga *Corallina elongata* along the intertidal rocky shores of the Iberian Peninsula. *Helgoland Marine Research*, 65: 233-243.

Kattner G & Krause M (1987) Changes in lipids during the development of *Calanus finmarchicus* s.l. from copepodid 1 to adult. *Marine Biology*, 96: 511-518.

Kawashima H, Takeuchi I & Ohnishi M (1999) Fatty acid compositions in four of caprellid amphipod species (Crustacea) from Otsuchi and Mutsu bays in northern Japan. *Journal of the Japan Oil Chemists' Society*, 48: 595-600.

Kolanowski W, Stolyhwo A & Grabowski M (2007) Fatty acid composition of selected fresh water gammarids (Amphipoda, Crustacea): A potentially innovative source of omega-3 LC PUFA. *Journal of the American Chemical Society*, 84: 827-833.

Koprucu K & Ozdemir Y (2005) Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 250: 308-316.

- Koven WM, Kolkovski S, Tandler A, Kissil GW & Sklan D (1993) The effects of dietary lecithin and lipase as a function of age, on n-9 fatty acids incorporation in the tissue lipids of *Sparus aurata* larvae. *Fish Physiology and Biochemistry*, 10: 357-364.
- Krapp-Schickel T, Guerra-García JM, Baeza-Rojano E & Cabezas MP (2010) Taxonomy and ecology of some gammaridean species (Crustacea: Amphipoda) from Tarifa Island, southern Spain. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91: 447-453.
- Lehninger AL (1975) *Biochemistry*, second ed. Worth Publishers, New York.
- Lehtonen KK (1995) Geographical variability in the bioenergetics characteristics of *Monoporeia* / *Pontoporeia* spp. populations from the northern Baltic Sea, and their potential contribution to the benthic nitrogen mineralization. *Marine Biology*, 123: 555-564
- Lehtonen KK (1996) Ecophysiology of the benthic amphipod *Monoporeia affinis* in an open-sea area of the northern Baltic Sea: seasonal variations in body composition, with bioenergetic considerations. *Marine Ecology Progress Series*, 143: 87-98.
- Lourido A, Moreira J & Troncoso JS (2008) Assemblages of peracarid crustaceans in subtidal sediments from the Ría de Aldán (Galicia, NW Spain). *Helgoland Marine Research*, 62: 289-301.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL & Randall RJ (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Lubzens E, Tandler A & Minloff G (1989) Rotifers as food in Aquaculture. *Hydrobiologia*, 186/187: 387- 400.
- Mathias A, Martin J, Yurkowski M, Lark JGI, Papst M & Tabachek JL (1982) Harvest and nutritional quality of *Gammarus lacustris* for trout culture. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111: 83-89.
- McEvoy LA, Naess T, Bell JG & Lie Ø (1998) Lipid and fatty acid composition of normal and malpigmented Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed enriched Artemia: a comparison with fry fed wild copepods. *Aquaculture*, 163: 237-250.
- Mccune B. & Mefford MJ (1997) PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 3,0. MjM Software. Gleneden Beach, Oregon, USA.
- Moore JW (1976) The proximate and fatty acid composition of some estuarine crustaceans. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 4: 215-224.

- Moren M, Suontama J, Hemre G, Karlsen O, Olsen R, Mundhei H & Julshamn K (2006) Element concentrations in meals from krill and amphipods, - Possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish. *Aquaculture*, 261: 174-181.
- Morris RJ (1984) The endemic faunae of lake Baikal: their general biochemistry and detailed lipid composition. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 222: 51-78.
- Morris RJ & Culkin F (1976) Marine lipids; analytical techniques and fatty acid ester analyses. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 14: 391-433.
- Muzzarelli RAA (1996) Chitin. In: *The Polymeric Materials* (ed. by JC Salamone), pp. 1303-1310. Encyclopedia. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Nagata WD & Whyte JNC (1992) Effects of yeast and algal diets on the growth and biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller) in culture. *Aquaculture Research*, 23: 13-21. doi: 10.1111/j.1365-2109.1992.tb00591.x
- Nair KKC & Anger K (1980) Seasonal variation in population structure and biochemical composition of *Jassa falcata* (Crustacea, Amphipoda) off the island of Helgoland (North Sea). *Estuarine Coastal and Marine Science*, 11: 505-513.
- Øie G & Olsen Y (1997) Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. *Hydrobiologia*, 358: 251-258.
- Olsen RE & Henderson RJ (1989) The rapid analysis on neutral and polar marine lipids using double development HPTLC and scanning densitometry. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 129: 189-197.
- Opstad I, Suontama J, Langmyhr E & Olsen R (2006) Growth, survival, and development of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) weaned onto diets containing various sources of marine protein. *ICES Journal of Marine Sciences*, 63: 320-325.
- Pearse JS & Giese AC (1966) The organic constitution of seven benthonic invertebrates from McMurdo Sound, Antarctica. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 18: 47-57.
- Parsons TR, Sharp JC & Li WKW (1985) The cultivation of marine amphipods and their use as food for young salmonids. *Sonderdruck aus Zeitschrift angewandte Ichthyologie*, 1: 77-84.
- Percy J (1979) Seasonal changes in organic composition and caloric content of an arctic marine amphipod, *Onisimus* (= *Boeckosimus*) *affinis* H.J. Hansen. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 40: 183-192.

- Perrone F, Croce ND & Dell'anno A (2003) Biochemical composition and trophic strategies of the amphipod *Eurythenes gryllus* at hadal depths (Atacama Trench, South Pacific). *Chemistry and Ecology*, 19: 441-449.
- Poretti TI, Casset MA & Momo F (2003) Composición química y dinámica poblacional de *Hyaella curvispina* en el arroyo las flores (Cuenca del río Luján). *Biología Acuática*, 20: 45-48.
- Rakusa-Suszczewski S & Dominas H (1974) Chemical composition of the Antarctic amphipod *Paramoera walkeri* Stebbing and chromatographic analysis of its lipids. *Polish Archives of Hydrobiology*, 21: 261-268.
- Raymont JEG & Conover RJ (1961) Further investigations on the carbohydrate content of marine zooplankton. *Limnology & Oceanography*, 6: 154-164.
- Ringø E, Zhou Z, Olsen RE & Song SK (2012) Use of chitin and krill in aquaculture - the effect on gut microbiota and the immune system: a review. *Aquaculture Nutrition*, 18: 117-131.
- Rosas C, Sánchez A, Pascual C, Aguila J, Maldonado T & Domingues P (2011) Effects of two dietary protein levels on energy balance and digestive capacity of *Octopus maya*. *Aquaculture International*, 19: 165-180.
- Sainte-Marie B (1991) A review of the reproductive bionomics of aquatic gammaridean amphipods: variation of life history traits with latitude, depth, salinity and super family. *Hydrobiologia*, 189: 189-227.
- Sargent JR (1976) The structure, metabolism and function of lipids in marine organisms. In: *Biochemical and Biophysical Perspectives in Marine Biology* (ed. by D Malins & JR Sargent), pp. 159-212. Academic Press, New York.
- Sargent JR & Whittle KJ (1981) Lipids and hydrocarbons in the marine food web. In: *Analysis of Marine Ecosystems* (ed. by A Longhurst), pp. 491-533. Academic Press, New York.
- Sargent JR & Henderson RJ (1986) Lipids. In: *Biological chemistry of marine copepods* (ed. by EDS Corner & S O'Hara), pp. 59-108. University Press, Oxford.
- Sargent JR, McEvoy LA & Bell JG (1997) Requirements, presentation and sources of polyunsaturated fatty acids in marine fish larval feeds. *Aquaculture*, 155: 117-127.
- Sneath PHA & Sokal (1973) Numerical taxonomy - the principles and practice of numerical classification. WH Freeman and Company, San Francisco.
- Suontama J, Kiessling A, Melle W, Waagbø R & Olsen RE (2007) Protein from Northern krill (*Thysanoessa inermis*), Antarctic krill (*Euphausia superba*) and the Arctic amphipod (*Themisto*

libellula) can partially replace fish meal in diets to Atlantic salmon (*Salmo salar*) without affecting product quality. *Aquaculture Nutrition*, 13: 50-58.

Takeuchi I (1998) Dry weight, carbon and nitrogen components of caprellid amphipods (Crustacea) inhabiting *Sargassum yezoense* community of Otsuchi Bay, northeastern Japan. *Marine Biology*, 130: 417-423.

Tande KS & Henderson RJ (1988) Lipid composition of copepodite stages and adult females of *Calanus glacialis* in Arctic waters of the Barents Sea. *Polar Biology*, 8: 333-339.

Torrecilla-Roca I & Guerra-García JM (2012) Feeding habits of the peracarid crustaceans associated to the alga *Fucus spiralis* in Tarifa Island, Cádiz (Southern Spain). *Zoologica baetica*, 23: 39-47.

Watanabe T & Kiron V (1995) Broodstock management and nutritional approaches for quality offsprings in the Red Sea Bream. In: *Broodstock Management and Egg and Larval Quality* (ed. by NR Bromage & RJ Roberts), Cambridge Univ. Press, Cambridge.

Whyte JNC, Nagata WD (1990) Carbohydrate and fatty acid composition of the rotifer, *Brachionus plicatilis*, fed monospecific diets of yeast and phytoplankton. *Aquaculture*, 89: 263-368.

Woods C (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture*, 289: 199-211.

PART 2



**USE OF AMPHIPODS
AS ALTERNATIVE PREY TO CULTURE CUTTLEFISH
(*SEPIA OFFICINALIS*) HATCHLINGS**

4.8 ABSTRACT

The effects of feeding two alternative live prey (exclusively caprellids (*Caprella equilibra*) or several species of gammarids, mainly *Erichthonius brasiliensis*, *Jassa marmorata* and *Elasmopus* sp.), to cuttlefish hatchlings were compared to feeding mysids (*Mesopodopsis slabberi*), which are normally used during the first weeks of the life cycle. Weight (g) and growth rates (GR, % BWd⁻¹) were determined. Cuttlefish hatchlings fed with mysids and gammarids grew faster (6.7±0.4 and 5.7±0.9% BW d⁻¹, respectively) compared to caprellids (1.6±0.2% BW d⁻¹). Survival was higher (96.7±5.8%) for hatchlings fed mysids, compared to 83.3±15.3% and 76.7±5.8%, for those fed gammarids and caprellids, respectively. According to the results obtained, gammarids could be used as an alternative prey to mysids, while *Caprella equilibra* did not deliver appropriate growth rates and should be disregarded as alternative prey for rearing early stages (hatchlings) of *Sepia officinalis*. This is the first study revealing a successful use of amphipods, mainly gammarids, as alternative prey for cuttlefish hatchlings.

4.9 INTRODUCTION

Cephalopods can be cultured with both natural live or dead prey (Boletzky and Hanlon, 1983; Toll and Strain, 1988; DeRusha *et al.*, 1989; Castro, 1991; Castro *et al.*, 1993; DiMarco *et al.*, 1993; Castro and Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2002, 2005, 2006). Nevertheless, during the first part of their life, live prey have to be provided, with mysids being the live prey that promotes better growth (Domingues *et al.*, 1998, 1999, 2001a, 2003a). The lack of alternative prey that can be successfully used to culture early stages is an important bottleneck for cephalopod large-scale culture (Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2003a, 2004). Adult *Artemia* has been used to culture cuttlefish hatchlings with poor results on growth and survival (Domingues *et al.*, 2001b). *Sepia officinalis* is one of the most easily cultured cephalopods, and has been cultured in aquaria since the late 1960s (Richard, 1971; Pascual, 1978; Boletzky and Hanlon, 1983; Forsythe *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1998; Domingues *et al.*, 2001a, 2001b, 2002, 2003b). According to Pinczon du Sel *et al.* (2000), amphipods are the main prey for *S. officinalis* during the first 3 months. Among these, caprellids and gammarids could be possible alternative prey to mysids, since they are easier to collect and also less expensive to culture, as they can feed on suspended organic matter (Caine, 1974) and can be cultured at high densities.

Caprellid amphipods are small crustaceans that inhabit littoral zones on erect hydrozoans, bryozoans, macroalgae and seagrass (Guerra-García and Tierno de Figueroa, 2009). They are relatively sedentary and important components of epibiotic communities, colonizing also artificial structures. Under appropriate conditions, caprellids can attain high biomass, particularly in environments with high organic content, such as around fish farms (Guerra-García *et al.*, 2004; Woods, 2009). They are opportunistic feeders which have fast growth, quick time to reproductive maturity and short interbrood periods (Woods, 2009) and also graze on epibiotic fauna and flora (Caine, 1974). Their importance as prey for many coastal species is high (Caine, 1989, 1991; Woods, 2009). The nutritional value of caprellids has been studied; Woods (2009) reported high concentrations of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) in these animals, making them good candidates for larval stage culture of several species, but differences in body composition should be taken in consideration, as they reflect different feeding habits among species (Guerra-García *et al.*, 2004; Guerra-García and Tierno de Figueroa, 2009).

Some species, such as *Caprella mutica*, have been cultured in the laboratory for over 5 years and several generations (Nakajima and Takeuchi, 2008). The life-history traits of 214 gammaridean species were reviewed by Sainte-Marie (1991), who stated that life-history patterns of gammarid amphipods are influenced by latitude, depth and salinity. Morino (1978) classified breeding activity and life history of amphipods into four categories and concluded that low-latitude species tend to breed throughout the year and have short life spans. According to Cunha *et al.* (2000), low-latitude, warm-water amphipods show iteroparous, multivoltine life-history patterns. Gammarids, similar to caprellids, show short life cycles. They are an important natural dietary component in a variety of coastal marine finfish, and also can be cultured in controlled conditions (Prato *et al.*, 2006; Aravind *et al.*, 2007). In fact, amphipods in general are potentially very useful as aquaculture resource. In this sense the present research was designed to evaluate the effect of alternative live prey on growth and survival of cuttlefish hatchlings during the first 3 weeks of their life. Two alternative live prey were used: 1) caprellids, *C. equilibra* and 2) several species of gammarids, mainly *Erichthonius brasiliensis*, *Jassa marmorata* and *Elasmopus sp.*, and compared to mysids (*Mesopodopsis slabberi*), which are normally used during the first weeks of the life cycle (Domingues *et al.*, 2001b).

4.10 MATERIAL AND METHODS

4.10.1 Organisms

Sepia officinalis were obtained from eggs collected in Portil Beach, Huelva (south Spain) during July 2009, and hatched in the “Centro IFAPA – Agua del Pino”, in Cartaya, Spain. The experiment lasted 21 days, corresponding to the hatchling stage where hatchlings are usually fed live prey. All cuttlefish were born on the same day and from the same egg cluster. The embryonic development of eggs was assured using the technology described in Sykes *et al.* (2006). A flow-through system composed of nine rectangular tanks was used. Each tank had a total volume of 10 L and a bottom area of 1410 cm² (Fig. 1).



Figure 1. Photograph of the system used for the experimental trials, constituted by rectangular tanks

Water flow was of 10 Lh⁻¹. Each diet had three replicates with 10 hatchlings each. The 90 hatchlings weighed 0.102±0.018 g at the start of the experiment, with no significant differences ($p>0.05$) among replicates. Water was filtered through an industrial sand filter, decanted, and before entering the tanks, passed through a 25- μ m mesh filter and a UV bacteriological filter. Water temperature, salinity and dissolved oxygen were measured every morning. Temperature and dissolved oxygen were measured with a CRISON OXI45 probe; salinity was measured with a Kikuchi optical salinity meter. Mean culture temperature was 20.5±1.5 °C. Mean salinity was 36.7±0.9‰ and dissolved oxygen values were 7.5±0.1 mg/L and always near saturation (98.8±0.7%). Low light intensity was used to maintain low stress levels (Koueta and Boucaud-Camou, 2003).

4.10.2 Diets

Three groups of natural live prey were used: 1) caprellids belonging to the species *C. equilibra*, 2) a mixture of several species of gammarids, mainly *E. brasiliensis*, *J. marmorata* and *Elasmopus sp.*, and 3) the control mysids (*M. slabberi*), which are normally used during the first weeks of the life cycle. Live prey was collected from the wild. Mysids were collected in saltwater ponds close to the bottom in very shallow water, using small aquarium nets, while caprellids and gammarids were collected from algae and bryozoans attached to buoys and ropes used to anchor boats in the harbour (Figure 2).



Figure 2. Different natural prey used during the trial: A, Caprellids, B, Gammarids, C, Mysids

Prey was provided ad libitum, every day, such that there was always abundant live prey in each tank, to assure that this was not a limiting factor. Average total size of prey was of 8 mm, 7mm and 7 mm, for caprellids, gammarids and mysids, respectively.

Every cuttlefish was weighed individually on a weekly basis (Fig. 3), and data was used to calculate mean instantaneous growth rate (MIGR). Mortality was accounted in all diets tested.



Figure 3. Procedure to follow weighting the individuals

4.10.3 Statistical analysis

The experiment was run simultaneously for the three diets. After every weighing period, statistical analysis was performed to determine differences in weight among groups. ANOVA (Zar, 1999) was performed on the three replicates of each group, and if no significant differences were found among the three replicates, all cuttlefish in those groups fed the same diet were gathered, and ANOVA was performed to compare differences in

weight. ANOVA was also performed to compare growth rates. Homogeneity of variances was verified with the Cochran test (Zar, 1999).

4.11 RESULTS

Average cuttlefish wet weight is showed in Fig. 4. Significant differences ($p < 0.05$) were found among cuttlefish fed the three different prey at the end of the experiment. Final weight was 0.412 ± 0.057 g, 0.324 ± 0.043 g and 0.149 ± 0.009 g for hatchlings fed mysids, gammarids and caprellids, respectively. Hatchlings fed mysids were larger ($p < 0.05$) than those fed gammarids, and these were also larger ($p < 0.05$) compared to those fed caprellids.

Highest overall growth rates were obtained with the control (mysids) and gammarids (6.7 ± 0.4 and $5.7 \pm 0.9\%$ BW d^{-1} , respectively), and they were not different ($p > 0.05$). Caprellids promoted very low growth rates ($1.6 \pm 0.2\%$ BW d^{-1}), which were significantly lower ($p < 0.05$) compared to the other two prey. Survival was of $96.7 \pm 5.8\%$, $83.3 \pm 15.3\%$ and $76.7 \pm 5.8\%$ for hatchlings fed mysids, gammarids and caprellids, respectively, and was not significantly different ($p > 0.05$) among diets.

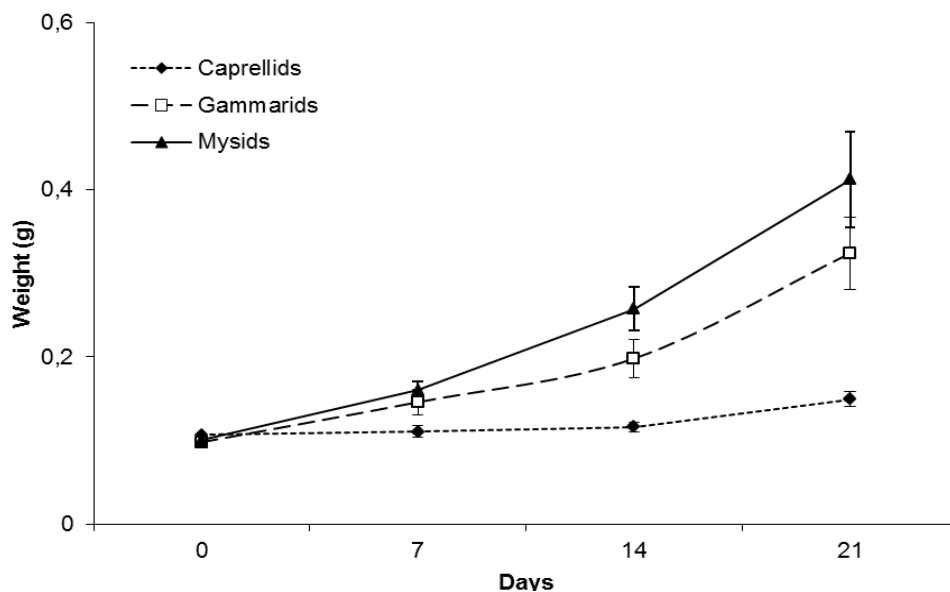


Figure 4. Growth (g) of *Sepia officinalis* hatchlings cultured for 21 days, fed with three live prey (mysids, caprellids and gammarids). Hatchlings were weighed every 7 days. Bars indicate standard deviations.

4.12 DISCUSSION

The dependence on adequate natural prey such as mysids, which are expensive to culture, has been one of the bottlenecks for the largescale culture of cephalopods such as cuttlefish. Less expensive live prey could reduce considerably production costs and enable largescale culture (O'Dor *et al.*, 1983; DeRusha *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 1991; DiMarco *et al.*, 1993; Domingues *et al.*, 2000, 2006). Amphipods (gammarids and caprellids) are among the most adaptable species in the world (Woods, 2009). Due to their opportunistic feeding, fast growth and reproductive cycles, their culture would be considerably less expensive compared to mysid culture, which requires a constant supply of *Artemia* nauplii for their culture (Domingues *et al.*, 1998). This would make them good candidates to be used as first live prey for cuttlefish hatchlings, and greatly reduce production costs.

Results obtained from the present research indicate that caprellids (*C. equilibra*) is not a good alternative prey for cuttlefish hatchlings during this delicate phase of the life cycle. Growth rates obtained ($1.6 \pm 0.2\% \text{ BW d}^{-1}$), were considerably lower compared to when using mysids and gammarids ($5\% \text{ BW d}^{-1}$), or those reported for similar water temperatures (Domingues *et al.*, 2002, 2003a, 2003b, 2004). Previous to this study, another caprellid species (*C. dilatata*) was used in preliminary experiments. Nevertheless, they were larger ($>10\text{mm}$) and hatchlings had great difficulty in preying upon them (Baeza-Rojano, Unpublished data). Therefore, this smaller caprellid species (*C. equilibra*) was used, and although hatchlings were able to prey on them, growth was low, in spite of, survival was not very low (77%). (View videos on the cd attached to the manuscript).

Although there is a lack of studies dealing with the nutritional value of amphipods, caprellids contain relatively high levels of beneficial polyunsaturated fatty acids, particularly DHA (22:6n-3) and EPA (20:5n-3) (Woods, 2009), similar to mysids (Domingues *et al.*, 2003b). Consequently, other factors, such as the hardness of caparace may make it difficult for cuttlefish hatchlings to manipulate and digest these prey. Further studies, probably using smaller caprellids species with softer carapaces, should be conducted to access their acceptability as live food for the cuttlefish. Contrary, gammarids seem to be good candidates as an alternative diet for *S. officinalis* hatchlings. In fact, although they attained smaller weights ($p < 0.05$) compared to mysids, growth rates obtained with gammarids ($5.7\% \text{ BWd}^{-1}$) were not lower compared to when feeding mysids ($6.7\% \text{ BWd}^{-1}$).

Since gammarid production should be less expensive compared to mysid culture, their use as prey for the early stages of the cuttlefish life cycle could significantly reduce costs of cuttlefish large-scale culture. The life cycle of marine benthic Gammaridea, the dominant suborder of the Amphipoda, has also been studied for several species in the laboratory (see Takeuchi and Hirano, 1991; Prato *et al.*, 2006; Aravind *et al.*, 2007; Grabowski *et al.*, 2007). For the same temperature, life cycle duration is significantly longer in gammarids than in caprellids. Takeuchi and Hirano (1991) pointed out that this could result from the lack in the Caprellidea of abdominal appendages which the Gammaridea use for producing respiratory beating and for swimming. In general, caprellids remain stationary when clinging to the substrate. This may allow caprellids to expend less energy on metabolism, leaving more energy for reproduction. Furthermore, Vassilenko (1991) showed that within the order Amphipoda the metabolic rate of caprellids is 1.5 times lower than that of gammarids. According to Vassilenko (1991), this may be a result of the loss of ability to swim rapidly and the adoption of a climbing mode of life by caprellids. Thus, the Caprellidea might tend to mature and produce embryos earlier than do the Gammaridea. In this sense, caprellids would be potentially better candidates to be used in mass aquaculture cultures, due to their shorter generation length.

In spite of this, the present study shows that cuttlefish hatchlings prefer gammarids to caprellids as a prey. These differences could be also related to the activity patterns of specimens in the experimental trays. Gammarids were continuously swimming from one place to another, while caprellids tend to be less active, clinging at the bottom of the tray. Caprellids lack pleopods and the swimming activity is extremely reduced in comparison with gammarids (Thiel *et al.*, 2003). Consequently, gammarids were probably more conspicuous for hatchlings, which need mobile prey that attract their attention.

Although the present work confirms that amphipods seem to be a valid prey for cuttlefish hatchlings, future studies based on other caprellid species different from *C. equilibra* should be necessary to confirm that gammarids are potentially better than caprellids.

4.13 REFERENCES

- Aravind NP, Sheeba P, Nair KKC & Achuthankutty CT (2007) Life history and population dynamics of an estuarine amphipod, *Eriopisa chilensis* Chilton (Gammaridae). *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 74: 87-95.
- Boletzky S & Hanlon RT (1983) A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusks. *Memoirs of the National Museum of Victoria*, 44: 147-187.
- Caine EA (1974) Comparative functional morphology of feeding in three species of caprellids (Crustacea: Amphipoda) from the Northwestern Florida Gulf coast. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 15: 81-96.
- Caine EA (1989) Caprellid amphipod behaviour and predatory strikes by fish. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 126: 173-180.
- Caine EA (1991) Caprellid amphipods: fast food for the reproductively active. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 148: 27-33.
- Castro BG (1991) Can *Sepia officinalis* L. be reared on artificial food? *Marine Behavior and Physiology*, 19: 35-38.
- Castro BG & Lee PG (1994) The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 199: 1007-1016.
- Castro BG, DiMarco FO, DeRusha RH & Lee PG (1993) The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 170: 241-252.
- Cunha MR, Moreira MH & Sorbe JC (2000) Predicting amphipods brood size variation in brackish environments: an empirical model for *Corophium multisetosum* Stock, 1952 (Corophiidae) in Ria de Aveiro (NW Portugal). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 248: 207-223.
- DeRusha RH, Forsythe JW, DiMarco FP & Hanlon RT (1989) Alternative diets for maintaining and rearing cephalopods in captivity. *Journal of Laboratory Animal Science*, 39: 306-312.
- DiMarco FP, Turk PE, Scimeca JM, Browning WJ & Lee PG (1993) Laboratory survival, growth and digestive gland histology of squids reared on living and non-living fish diets. *Journal of Laboratory Animal Science*, 43: 226-231.

- Domingues P, Turk P, Andrade JP & Lee PG (1998) Pilot scale production of mysid shrimp in a static water system. *Aquaculture International*, 6: 387-402.
- Domingues P, Turk P, Andrade JP & Lee PG (1999) Culture of the mysid, *Mysidopsis almyra* (Bowman), (crustacean: Mysidacea) in a static water system: Effects of density and temperature on production, survival and growth. *Aquaculture Research*, 30: 135-143.
- Domingues P, Fores R, Turk PE, Lee PG & Andrade JP (2000) Mysid Culture: Lowering costs with alternative diets. *Aquaculture Research*, 31: 719-728.
- Domingues P, Kingston T, Sykes A & Andrade J (2001a) Growth of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquaculture Research*, 32: 923- 930.
- Domingues P, Sykes A & Andrade J (2001b) The use of Artemia or mysids as food for hatchlings of the cuttlefish *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758; effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International*, 9: 319-331.
- Domingues P, Sykes A & Andrade J (2002) The effects of temperature in the life cycle of two consecutive generations of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758), cultured in the Algarve (South Portugal). *Aquaculture International*, 10: 207-220.
- Domingues P, Sykes A, Sommerfield A, Almansa E, Lorenzo A & Andrade J (2003a) Effects on feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International*, 11: 397-410.
- Domingues P, Poirier R, Dickel L, Almansa E, Sykes A & Andrade P (2003b) Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International*, 11: 225-242.
- Domingues P, Sykes A, Sommerfield A, Almansa E, Lorenzo A & Andrade J (2004) Growth and survival of cuttlefish (*Sepia officinalis*) of different ages fed crustaceans and fish. Effects of frozen and live prey. *Aquaculture*, 229: 239-254.
- Domingues PM, Demarco FP, Andrade JP, & Lee PG (2005) The effects of diets with amino acid supplementation on the survival, growth and body composition of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Aquaculture International*, 13: 423-440.
- Domingues PM, Bettencourt V & Guerra A (2006) Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Milieu*, 56: 109-120.
- Forsythe J, DeRusha R & Hanlon R (1994) Growth, reproduction and life span of *Sepia officinalis* (Cephalopoda: Mollusca) cultured through seven consecutive generations. *Journal of Zoology London*, 233: 175-192.

- Grabowski M, Bacela K & Konopacka A (2007) How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea)-comparison of life history traits. *Hydrobiology*, 590: 75-84.
- Guerra-García JM & Tierno de Figueroa JM (2009) What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? *Marine Biology*, 156: 1181-1890.
- Guerra-García JM, Martínez-Pita I & Pita M (2004) Fatty acid composition of the caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from the Straits of Gibraltar. *Scientia Marina*, 68: 1-10.
- Koueta N & Boucaud-Camou E (2003) Combined effects of photoperiod and feeding frequency on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. in experimental rearing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 296: 215-226.
- Lee PG (1994) Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 25: 35-51.
- Lee PG, Forsythe JW, DiMarco FP, DeRusha RH & Hanlon R (1991) Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bulletin of Marine Science*, 49: 362-372.
- Lee P, Turk P, Forsythe J & DiMarco F (1998) Cephalopod culture: physiological, behavioural and environmental requirements. *Suisanzoshoku*, 46: 417-422.
- Morino H (1978) Studies on the Talitridae (Amphipoda, Crustacea) in Japan III. Life History and breed activity of *Orchestia platensis* Kröyer. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 24: 245-267.
- Nakajima K & Takeuchi I (2008) Rearing method for *Caprella mutica* (Malacostraca: Amphipoda) in an exhibition tank in the Port of Nagoya public aquarium, with notes on reproductive biology. *Journal of the Crustacean Biology*, 28: 171-174.
- O'Dor RK, Mangold K, Boucher-Rodoni R, Wells MJ & Wells J (1983) Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology*. 11: 239-258.
- Pascual E (1978) Crecimiento y alimentación de tres generaciones de *Sepia officinalis* en cultivo. *Investigación pesquera*, 42: 421-442.
- Pinczon du Sel G, Blanc A & Daguzan J (2000) The diet of the cuttlefish *Sepia officinalis* (mollusca: cephalopoda) during its life cycle in the Northern Bay of Biscay (France). *Aquatic Science*, 61: 167-178.
- Prato E, Biandolino F & Scardicchio C (2006) Postembryonic growth, development and reproduction of *Gammarus aequicauda* (Martynov, 1931) (Gammaridae) in Laboratory Culture. *Zoological Studies*, 45: 503-509.

- Richard A (1971) Contribution à l'étude expérimentale de la croissance et de la maturation sexuelle de *Sepia officinalis* L. (Mollusque, Céphalopode). Thèse 248, Univ. Lille, 264p.
- Sainte-Marie B (1991) A review of the reproductive bionomics of aquatic gammaridean amphipods: variation of life history traits with latitude, depth, salinity and super family. *Hydrobiology*, 189: 189-227.
- Sykes A, Domingues P, Correia M & Andrade P (2006) Cuttlefish culture: State of the art and future trends. *Vie et Milieu*, 56: 129-137.
- Takeuchi I & Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110: 391-397.
- Thiel M, Guerra-García JM, Lancellotti DA & Vásquez N (2003) The distribution of littoral caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea) along the Pacific coast of continental Chile. *Revista Chilena de historia Natural*, 76: 297-312.
- Toll RB & Strain CH (1988) Freshwater and terrestrial food organisms as an alternative diet for laboratory culture of cephalopods. *Malacologia*, 29: 195-200.
- Vassilenko SV (1991) Eco-physiological characteristics of some common caprellid species in the Possjet Bay (the Japan Sea). *Hydrobiology*, 223: 181-187.
- Woods C (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture*, 289: 199-211.
- Zar J (1999) Biostatistical analysis. 4th Edition (Ryu, T., ed.). Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River, N.J., 663p.

PART 3



**MARINE GAMMARIDS (CRUSTACEA: AMPHIPODA):
A NEW LIVE PREY TO CULTURE *OCTOPUS MAYA*
HATCHLINGS**

4.14 ABSTRACT

The effects of feeding two alternative live prey *Hyalella azteca* (freshwater gammarids) and *Hyale media* (marine gammarids) to *Octopus maya* hatchlings were compared with feeding adult *Artemia sp.*, traditionally used during the first weeks of the life cycle. Hatchlings were fed *ad libitum* these three live preys during the first 15 days, and a paste elaborated with fresh squid and shrimp during the next 15 days when hatchling can be fed prepared diets. Weight (g) and specific growth rates (% day⁻¹) were determined every 15 days. *Octopus maya* hatchlings fed with marine gammarids grew larger ($6.9 \pm 0.2\%$ day⁻¹) compared with hatchlings fed *Artemia sp.* or freshwater gammarids ($4.8 \pm 0.2\%$ and $5.0 \pm 0.3\%$ day⁻¹ respectively). Survival was also higher ($92.2 \pm 6.8\%$) for hatchlings fed marine gammarids, than for those fed *Artemia sp.* ($74.5 \pm 23.8\%$) or freshwater gammarids ($41.2 \pm 21.2\%$). The content of acylglycerides, cholesterol and proteins in *O. maya* fed marine gammarids suggested a better nutrient assimilation by the hatchlings. Also, polyunsaturated fatty acids levels (EPA and DHA) were more abundant in marine gammarids, possibly contributing to the higher growth rates observed. This is the first study revealing a successful use of marine gammarids as alternative prey for octopus hatchlings culture.

4.15 INTRODUCTION

Cephalopod culture is normally based on natural live or dead prey (Boletzky and Hanlon, 1983; Toll and Strain, 1988; DeRusha *et al.*, 1989; Castro *et al.*, 1993; DiMarco *et al.*, 1993; Castro and Lee, 1994; Domingues *et al.*, 2005; Domingues *et al.*, 2006). The most delicate phase for cephalopods culture is the early life stage where paralarvae and juvenile hatchlings have low growth and high mortality rates when suitable prey is not provided.

Live mysids have been the diet that promotes better growth during the early stages of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Domingues *et al.*, 1998, 1999; Domingues *et al.*, 2001a; Domingues *et al.*, 2003a). Other prey such as shrimp *Palaemonetes varians* (Sykes *et al.*, 2006) and crustacean zoeae (Iglesias *et al.*, 2007) also promoted adequate growth for *S. officinalis* and *Octopus vulgaris*, respectively. Adult *Artemia* was used to culture *S. officinalis* cuttlefish (Domingues *et al.*, 2001b) with poor results, and is no longer used to culture this species. For *O. vulgaris* paralarvae, several researchers have also used *Artemia* and enriched *Artemia* (Imamura, 1990; Hamazaki *et al.*, 1991), but poor results on growth and survival were obtained. The use of other prey, such as crustacean zoeas (Móxica *et al.*, 2002; Carrasco *et al.*, 2005; Fuentes *et al.*, 2011) allowed researcher to complete life cycle of *O. vulgaris* under culture conditions (Iglesias *et al.*, 2002, 2004).

Octopus maya is an endemic cephalopod species from the Yucatán Peninsula. It is one of the most important fishing resources of the area (Cabrera and Defeo, 2001) being the fourth fishery in the Gulf of Mexico and the Caribbean Sea (CONAPESCA, 2010), and reaching high prices in the market. This cephalopod species is characterized by fast growth rates up to 8% body weight per day, high feeding rates and high food conversions (30 - 60%) (Hanlon and Forsythe, 1985), and can grow up to 1 kg in 4 months and up to 3 kg in 9 months at 25 °C (Van Heukelem, 1983). Furthermore, this species has large eggs with direct embryonic development, allowing reliable juvenile production without the high mortality observed in other species with paralarvae phases, such as *O. vulgaris* (Van Heukelem, 1977; Iglesias *et al.*, 2007). These characteristics make *O. maya* a good candidate for aquaculture.

Van Heukelem (1976, 1977) cultured *O. maya* under laboratory conditions and obtained adequate growth during the first 45 days, using a mixed diet of, live *Artemia*, zooplankton, bits of frozen crab, isopods and amphipods (gammarids and caprellids). Consequently, the use of amphipods during the first weeks of growth could also be

potentially very useful as an alternative live prey as an aquaculture resource (Woods, 2009), including cephalopods culture (Hanlon and Forsythe, 1985).

The order Amphipoda includes small crustacean of suborders Gammaridea and Caprellidea. They are one of the most important groups of invertebrates associated with macrophytes and are common natural prey for cephalopods, being the main food for *S. officinalis* in the Northern Bay of Biscay (France) during the first 3 months of growth (Pinczon du Sel, Blanc and Daguzan, 2000). Until now, it is known that life-history traits of gammaridean species are influenced by latitude, depth and salinity (Sainte-Marie, 1991). Low-latitude and warm-water amphipods show iteroparous and multivoltine life-history patterns (Cunha *et al.*, 2000). They have been characterized by a combination of large brood size, high partial fecundity, early maturation and appearance of a higher number of generations per year (Grabowski *et al.*, 2007). Even more, these species also present higher tolerance towards several environmental conditions, as elevated salinity and human degradation of the environment. Because of this, gammarids could be potentially an alternative prey to *Artemia* or mysids.

The present research was designed to evaluate the effects of using alternative live prey to wild *Artemia* adults (Ar) on growth and survival of *O. maya* hatchlings during the first 2 weeks of their life, prior to the use of an artificial diet (fresh squid and shrimp paste) to enhance hatchlings growth. Two alternative live prey were used: (1) marine gammarids (Gm) of the species *Hyalella azteca* (Saussure, 1858) and (2) freshwater gammarids (Gf) of the species *Hyale media* (Dana, 1853), since these two species were the more abundant in the area. To determine the nutritional conditions of octopus hatchlings fed each diet and the nutritional conditions of the different preys, protein, acylglycerides, cholesterol, glucogen and glucose were analysed from fresh tissues. Fatty acids from live prey were also studied to obtain information on the effects of nutritional content of prey on growth, survival and nutritional condition of octopus.

4.16 MATERIAL AND METHODS

4.16.1 Culture system

One hundred and eighty new born octopuses (*O. maya*) were obtained under controlled conditions from a single spawning female acclimated in the maturation area of the National University of Mexico (UNAM) located in Sisal, Yucatán, México (Figure 1).

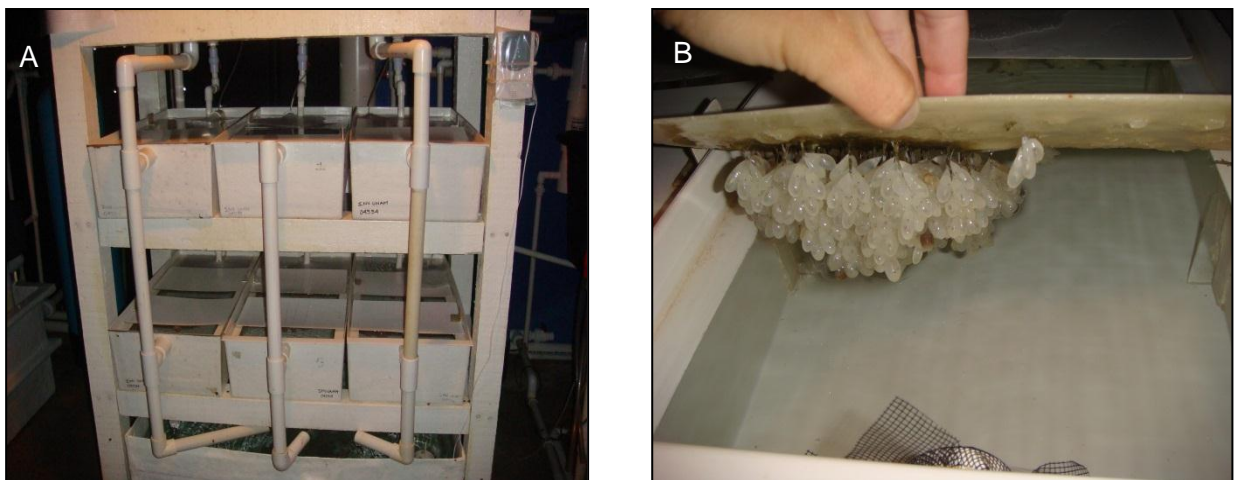


Figure 1. (A) Incubation system with sea-water recirculation under controlled conditions providing a propitious environment for embryonic development of the octopuses. (B) Mass of eggs deposited in a nest anchored to the cover of the incubation system.

Twenty hatchlings were distributed randomly into each of the 9 rectangular grey tanks, with water volume of 7 L, dimensions of 76 cm x 48 cm x 20 cm (length x width x height) and connected to a flow through seawater system. Three tanks were used for each diet (marine gammarids, freshwater gammarids and *Artemia* sp.). All tanks were provided



Figure 2. Water system used for the experimental study. Rectangular grey tanks were provided with *Megalongena corona bispinosa* conch shells.

with clean *Megalongena corona bispinosa* conch shells (3 shells per octopus) in order to provide shelter and hiding places, thus reducing stress and cannibalism (Figure 2).

Water quality was maintained through the use of mechanical filtration (5 μm) and UV filter prior to entering the culture system, and water flow was maintained at 20 L h⁻¹. Temperature varied between 25 \pm 1 °C by controlling temperature of a 1500 L external tank using a titanium heater. Salinity was 34 \pm 2 g L⁻¹ and aeration was provided to all tanks individually, to maintain dissolved oxygen above 5 mg L⁻¹. Water quality parameter measurements were obtained with a Hach model HQ 40d. Low light intensity (30 lux cm⁻²) was provided by two 30 W fluorescent bulbs covered with a red filter in order to maintain low stress levels (Koueta and Boucaud-Camou, 2003).

4.16.2 Diets

The experiment lasted for 30 days, corresponding to the hatchling stage. Octopuses were fed three live prey during the first 15 days (Figure 3), marine gammarids (Gm) of the species *Hyale media*, freshwater gammarids (Gf) of the species *Hyalella azteca* and adult



Figure 3. Different live preys used during the first 15 days of octopus hatchling growth. A, *Artemia* adults. B, Freshwater gammarids: *Hyalella Azteca*. C, Marine gammarids: *Hyale media*. D, Weighted daily portion provided by tank.

Artemia sp. (Ar) as a control (Figure 3). *Hyale media* (2 - 6 mm in length) were collected from green intertidal algae attached to rocks in Sisal beach (Yucatan), while *Hyalella azteca* (2 - 5 mm in length) were provided by a company located in Hunucmá, Yucatán, where fresh water ornamental fish are raised and gammarids grow freely. Adult *Artemia* sp. (2 - 8 mm in length) were collected in salt marches in Celestún, Yucatán. Octopuses were fed once a day with an amount of diet equivalent to the octopuses wet weight per day except for the freshwater gammarids diet. In this case, since freshwater gammarids only lived for about 20 minutes in saltwater, half weight of this live prey was introduced in the tanks twice a day so that octopuses had access to live gammarids for longer periods.

After 15 days, an artificial diet (paste) was fed to the experimental octopuses. The paste was elaborated with fresh squid (45%), shrimp (45%), gelatine (7%) and vitamin and mineral mix (3%). This diet was provided twice a day (at 09:00 h and 15:00 h) (figure 4).



Figure 4. Artificial paste provided from day 15 to day 30. The paste was stuck to an empty shell for its easy manipulation.

4.16.3 Growth and survival

Each octopus was weighed on days 1, 15 and 30 of the experiment, and data were used to calculate growth (g) and specific growth rate (SGR, % day⁻¹). Survival (%) was accounted in all diets tested after 15 and 30 days.

Specific growth rate: (SGR, % day⁻¹) was determined as:

$$\text{SGR} = [(\text{Ln}W2 - \text{Ln}W1) / t] * 100$$

Where, W2 and W1 are the final and initial wet weights of the octopuses, Ln the natural logarithm, and t the number of experimental days.

4.16.4 Nutritional analyses

Three hatchlings of each tank were arbitrary selected after 15 days and 3 others after 30 days for the nutrition analysis. Total protein, acylglycerides and cholesterol were measured from the digestive gland and glycogen content was measured from arm muscle. The same parameters were also analysed from the live preys (Gm, Gf and Ar) including glucose analysis. These analyses were measured from 50 - 60 mg of wet weigh of animals and glycogen was measured from 30 - 40 mg of wet weigh which were homogenized and determined just the same way as the octopus tissues.

The digestive gland and muscle were dissected, weighed, and preserved at - 80 °C until use. Live preys were collected, separated in pools of three samples for each species and also preserved at - 80 °C. Total protein was determined by the Bradford (1976) technique adapted to a microplate using commercial chromogen reagent (Sigma A-7906) and bovine serum albumin as standard solution. 20 - 30 mg of the digestive gland was homogenized in 200 µL of water, for 20 min at 4 °C and 12000 rpm (Micro Centrifuge Eppendorf 5415); 5 µL of supernatant was pipetted into a tube with 100 µL of water (Dilution factor: 21) and 10 µL of the dilution and 200 µL of Bradford reactive were read at 595 nm in an ELISA reader (Biorad 550).

Commercial kits were used for glucose (ELITech GPSL-5505), cholesterol (ELITech CHSL-5505), and acylglycerol (ELITech TGML-5415) determinations, adapted to a microplate using 10 µL of the dilution and 200 µL of enzyme chromogen reagent.

Glycogen in the arm muscle was extracted in trichloroacetic acid (TCA) and determined through the reaction with sulfuric acid and phenol (Dubois, Gilles, Hamilton, Rebers and Smith 1956). 20 - 30 mg of tissues were dissected and homogenized in 200 μL of TCA 5%, for 6 min at 7000 g (Micro Centrifuge Eppendorf 5415); 100 μL of supernatant was pipetted into a tube and mixed with 5 volumes of 95% ethanol. Tubes were placed in an oven at 37 °C for 3 h. After precipitation, the tubes were centrifuged at 4550 g for 15 min. The supernatant was discarded, leaving the glycogen as a pellet; glycogen was dissolved by adding 20 μL of boiling water, 1 mL of concentrated sulfuric acid and 200 μL phenol (5%). From this mixture, 200 μL were transferred to a microplate in triplicate and read at 490 nm in an ELISA reader (Biorad 550). Glycogen was obtained as glucose in the sample using a glucose standard from a commercial kit (GOD-PAD, Merck-740393). Glycogen was expressed as milligrams of glycogen per gram of tissue.

Gammarid samples for fatty acid determination were frozen (- 80 °C) and then freeze-dried prior to analysis for preservation. Lipids were extracted with chloroform: methanol (2: 1, v / v) according to Folch extraction procedure (Folch *et al.*, 1957). Lipid extracts were saponified with 20% KOH:Methanol (w:v) and free fatty acids were recovered in hexane from acidified saponifiable fraction (pH = 1-2). Fatty acids methyl esters (FAME) were obtained by esterification with 10% BF_3 in methanol (Fluka, 15716) for 60 min at 80 °C. FAME were analyzed by capilar gas chromatography in a Perkin Elmer Clarus 500 GC equipped with a Perkin Elmer Elite-WAX (30 m x 0.25 mm x 0.25 μm film thickness, crossbond - PEG) capillary column and a flame ionization detector (FID). Hydrogen was used as carrier gas with a flow rate of 40 mL min^{-1} . Injector and detector temperatures were programmed to 280 °C and 250 °C, respectively. Column temperature was programmed from 40 to 200 °C at 20 °C/min and from 200 to 250°C at 2.5 °C/min. Individual FAME were identified by comparing retention times with reference standards (Supelco 37 Comp. FAME Mix, 47885-U). Results were reported as area percentages.

4.16.5 **Statistical analyses**

All data are expressed as means \pm SE (standard error). A one-way ANOVA was used to verify that there were no significant differences ($p > 0.05$) between weights of the 180 hatchlings before the start of the experiment. After every weighting period, statistical analysis was performed to determine differences in weight between groups. ANOVA's (Zar, 1999) were performed among the 3 diets tested to compare differences in weight, specific growth rates and survival. Data were tested for normal distribution with the Shapiro-Wilk test

(Shapiro, 1965) and for homogeneity of variances with Levene's test (Levene, 1960). Comparisons between digestive gland and muscle content in hatchlings fed the different diets and at different time periods, as well as different life preys content were performed with one-way ANOVA, and homogeneous group were established according to the post hoc Tukey test. A *P*-value of less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

4.17 RESULTS

4.17.1 Growth and survival

Average *O. maya* hatchlings wet weight is shown in Figure 5. Significant differences ($F= 361.2$, $p < 0.01$) were found between octopuses fed Gm and paste ((1.00 ± 0.08) g), Gf and paste ((0.49 ± 0.04) g) and Ar and paste ((0.55 ± 0.06) g) at the end of the experiment. During the first 15 days, where live prey was provided, hatchlings fed live Gm ((0.45 ± 0.02) g) also grew larger ($F= 409.88$, $p < 0.01$) compared to those fed the two remaining diets ((0.26 ± 0.01) g and (0.25 ± 0.03) g, Ar and Gf, respectively).

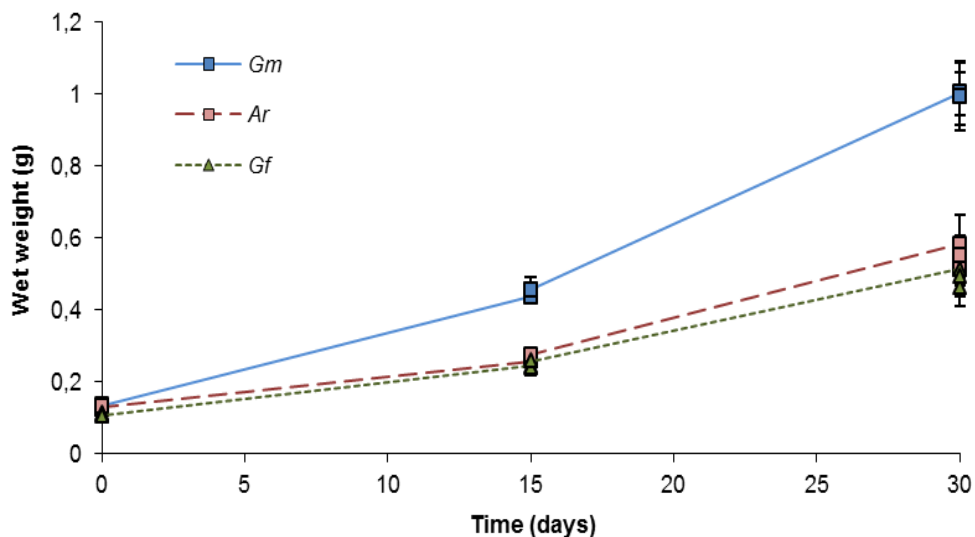


Figure 5. Growth (g) of *Octopus maya* hatchlings of each tank cultured for 30 days, fed with three live prey; Gm: marine gammarid; Gf: freshwater gammarid; Ar: *Artemia*, during the first 15 days and artificial diets based on paste during the last 15 days. Hatchlings were weighed every 15 days. Values are mean \pm SE ($n = 20$).

Growth rates during the experiment are shown in Figure 6. During the first 15 days, hatchlings fed Gm grew faster ($(8.42 \pm 0.16)\% \text{ day}^{-1}$) compared to hatchlings fed Ar and Gf ($(4.84 \pm 0.09)\% \text{ day}^{-1}$ and $(5.43 \pm 0.3)\% \text{ day}^{-1}$, respectively), ($F= 92.0$, $P < 0.01$). However, during the next 15 days, there were no significant differences in growth rates ($F= 3.01$; $P > 0.05$). Therefore, highest overall growth rates from days 0 to 30 were obtained for hatchlings fed Gm initially, ($(6.88 \pm 0.10)\% \text{ day}^{-1}$). The use Ar and Gf previously ($(4.83 \pm 0.14)\% \text{ day}^{-1}$ and $(5.0 \pm 0.15)\% \text{ day}^{-1}$, respectively) caused a lower growth rate ($F= 72.3$; $p < 0.05$).

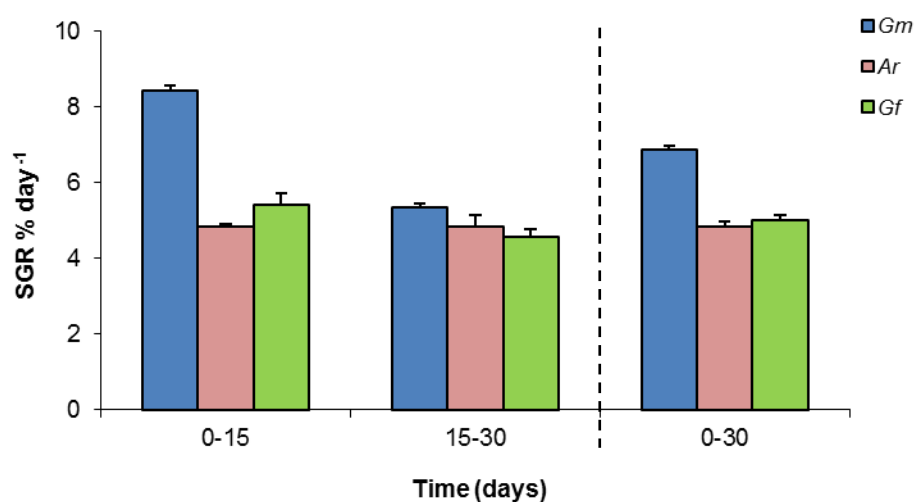


Figure 6. SGR $\% \text{ day}^{-1}$ of *Octopus maya* hatchlings of each tank cultured for 30 days, fed with three live prey; Gm: marine gammarid; Gf: freshwater gammarid; Ar: *Artemia*, during the first 15 days and artificial diets based on paste during the last 15 days. Hatchlings were weighed every 15 days. Values are mean \pm SE ($n = 20$).

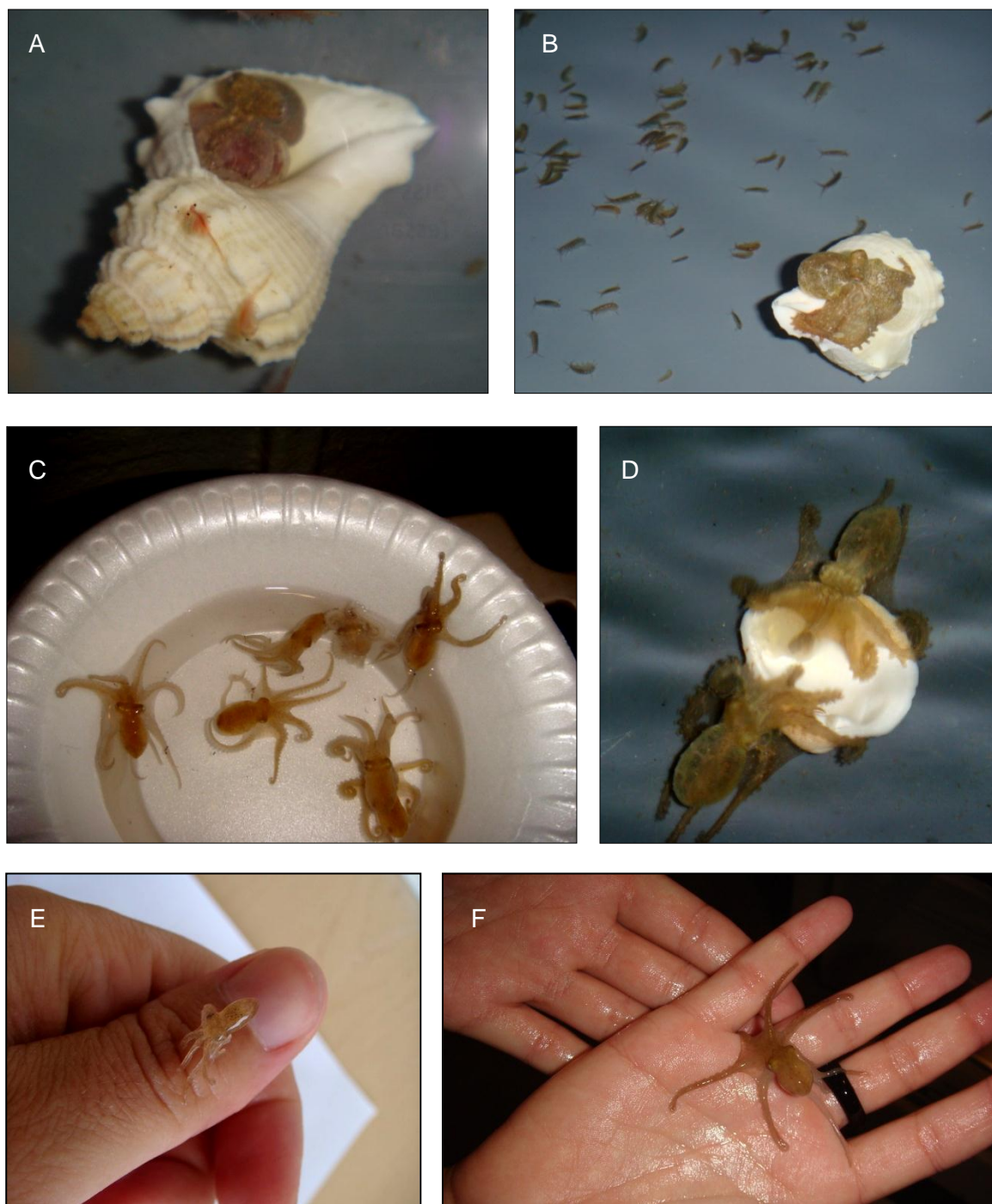


Figure 7. A, *O. maya* hatchling feeding on *Artemia*. Notice how a pull of artemia adults are under the octopus legs. B, *O. maya* feeding on gammarids. C, Grown octopuses after 15 days feeding on artificial paste. D, Two individuals fighting for a shell with food. E-F, Body size increased after the experiment.

Survival at the end of the experiment (Figure 8) was of $(92.16 \pm 3.92)\%$, $(74.51 \pm 13.73)\%$ and $(41.18 \pm 12.25)\%$ for hatchlings initially fed Gm, Ar and Gf respectively. The survival was higher ($F= 5.68$; $p < 0.05$) for octopuses initially fed with Gm and Gf. However, there were no significant differences during the first 15 days of growth when using these two live preys ($F= 2.43 \pm p > 0.05$). No cannibalism was observed in the tanks where marine gammarids were initially used. Contrary, cannibalism was frequently observed in the tanks where freshwater gammarids were utilized, particularly after day 15. In the tanks fed *Artemia*, cannibalism was present, increasing when artificial diets started to be supplied in those tanks, after day 15. Nevertheless, cannibalism was lower ($p < 0.05$) when feeding *Artemia*, compared to when feeding freshwater gammarids.

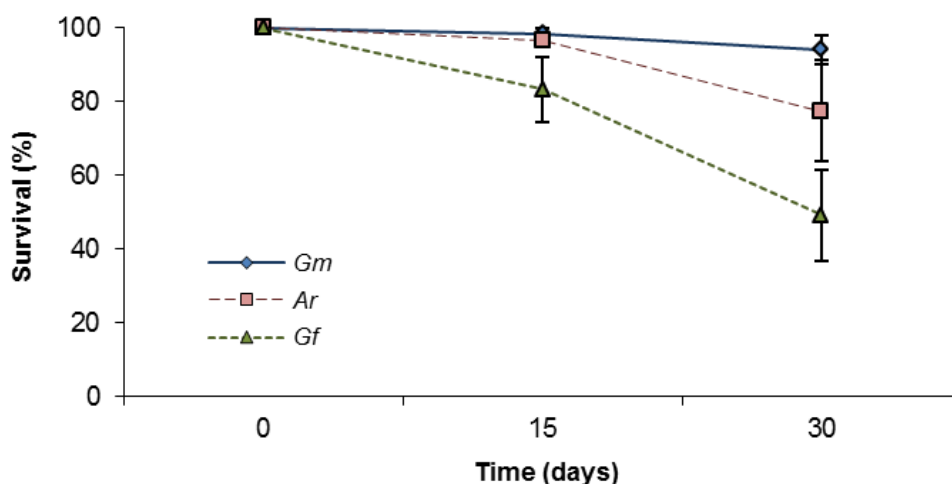


Figure 8. Survival (%) of *Octopus maya* hatchlings of each tank cultured for 30 days, fed with three live prey; Gm: marine gammarid; Gf: freshwater gammarid; Ar: *Artemia*, during the first 15 days and artificial diets based on paste during the last 15 days. Hatchlings were weighed every 15 days. Values are mean \pm SE (n = 20).

4.17.2 Nutritional analysis

4.17.2.1 Hatchling composition

Hatchlings fed live Gf compared to those fed Ar and Gm had significantly higher concentrations of protein, acylglycerides and cholesterol in the digestive gland and lower concentrations of glycogen in the muscle (Table 1). These differences were not reflected in composition of hatchlings fed the prepared diets during the last 15 days of the experiment. In this case, hatchlings fed previously with Gf only had higher concentrations of cholesterol ($F= 9.23$, $p < 0.05$), compared to those fed the other two diets

Table 1. Results (mg g^{-1} wet weight) of nutritional analysis in digestive gland (D.G.) and muscle of octopus hatchlings fed during days 1–15 with different diet; Gm, marine gammarid; Gf, freshwater gammarid; Ar, *Artemia*, and fed during days 16–30 with paste. Values are mean \pm SE ($n = 9$). Different superscript letters indicate statistical differences at $P < 0.05$ level

		Days 1-15 (Life preys)			Days 16-30 (Prepared diet: squid+shrimp)		
		(1) Gm	(2) Ar	(3) Gf	(1) paste	(2) paste	(3) paste
D.G.	Proteins	21.6 \pm 1.7 ^a	17.9 \pm 1.0 ^a	35.8 \pm 2.7 ^b	21.5 \pm 1.1 ^a	21.2 \pm 0.7 ^a	20.5 \pm 1.9 ^a
	Acylglycerides	0.8 \pm 0.1 ^a	1.3 \pm 0.1 ^b	2.0 \pm 0.1 ^c	0.7 \pm 0.0 ^a	1.0 \pm 0.2 ^{a/b}	1.3 \pm 0.3 ^b
	Cholesterol	1.4 \pm 0.3 ^a	1.7 \pm 0.2 ^a	3.1 \pm 0.2 ^b	0.4 \pm 0.1 ^a	0.5 \pm 0.2 ^a	0.8 \pm 0.3 ^b
Muscle	Glycogen	1.4 \pm 0.2 ^a	1.5 \pm 0.1 ^a	0.76 \pm 0.1 ^b	1.2 \pm 0.2 ^a	1.2 \pm 0.2 ^a	0.9 \pm 0.1 ^a

4.17.2.2 Live prey composition

According to the live prey composition *Artemia* had higher glycogen ($p < 0.05$) and glucose concentrations ($p < 0.05$) compared to the gammarids, while Gm had lower protein content ($p < 0.05$) compared to the other two preys (Table 2).

Table 2. Results of nutritional analysis (mg/g wet weight) of life preys; Gm: marine gammarid; Gf: freshwater gammarid; Ar: *Artemia*. Values are mean \pm SE, ($n = 3$). Different superscript letters indicate statistical differences at the $P < 0.05$ level.

	Life preys nutritional content (mg/g)		
	Gm	Ar	Gf
Proteins	5.6 \pm 1.8 ^a	12.2 \pm 1.0 ^b	13.0 \pm 0.6 ^b
Acylglycerides	1.2 \pm 0.1 ^a	1.3 \pm 0.2 ^a	1.5 \pm 0.0 ^a
Cholesterol	0.4 \pm 0.0 ^a	0.2 \pm 0.0 ^b	0.3 \pm 0.0 ^{a/b}
Glycogen	2.4 \pm 0.7 ^a	18.3 \pm 2.9 ^b	3.1 \pm 0.6 ^a
Glucose	0.8 \pm 0.0 ^a	3.9 \pm 0.4 ^b	1.1 \pm 0.1 ^a

Fatty acid composition (%) of gammarid species are shown in Table 3. The predominant fatty acid in both, Gf and Gm was palmitic acid C16:0 (30% and 35% respectively), and monounsaturated C18:1n9 (18% and 14%, respectively). Gf had 56% of unsaturated FA, 31% being polyunsaturated FA (PUFA) with the highest proportions in C18:2n6 and C18:3n3 (8% and 13%, respectively); meanwhile Gm had 43% of unsaturated

FA with 19% PUFA. Nevertheless, Gm had higher levels of EPA (7%) and DHA (3%), compared to those in Gf (3% and 0.5%, respectively).

Table 3. Fatty acids composition (% of total fatty acids) of live prey; Gm: marine gammarids, (n = 3) and Gf: freshwater gammarids, (n = 2), gave to *O. maya* juveniles. Values as mean \pm SE. PUFA: polyunsaturated fatty acids. AA: arachidonic acid, EPA: eicosapentanoic acid, DHA: docosahexaenoic acid.

Fatty acids	Gf	Gm
C12:0	0.21 \pm 0.02	0.44 \pm 0.18
C13:0	0.28 \pm 0.05	0.27 \pm 0.07
C14:0	1.55 \pm 0.00	5.95 \pm 0.74
C15:0	1.14 \pm 0.07	1.30 \pm 0.08
C16:0	30.52 \pm 0.43	35.47 \pm 0.80
C17:0	1.43 \pm 0.07	1.52 \pm 0.25
C18:0	8.32 \pm 0.00	10.02 \pm 1.30
C20:0	0.50 \pm 0.01	0.53 \pm 0.03
C15:1	0.20 \pm 0.15	0.06 \pm 0.02
C16:1	3.91 \pm 0.19	8.37 \pm 0.71
C17:1	0.52 \pm 0.09	0.51 \pm 0.03
C18:1n9	18.20 \pm 1.20	14.42 \pm 0.64
C18:2n6	8.42 \pm 0.06	2.38 \pm 0.10
C18:3n3	13.22 \pm 0.53	1.37 \pm 0.09
C20:1n9	1.78 \pm 0.19	2.07 \pm 0.06
C20:3n6	0.27 \pm 0.00	0.24 \pm 0.02
C20:4n6 (AA)	3.43 \pm 0.12	4.01 \pm 0.05
C20:5n3 (EPA)	2.68 \pm 0.11	6.93 \pm 0.09
C22:6n3 (DHA)	0.46 \pm 0.03	2.80 \pm 0.10
Saturates	44.29 \pm 0.39	55.78 \pm 1.36
Monoenes	24.91 \pm 1.15	25.60 \pm 1.38
Polyunsaturated	30.86 \pm 0.77	18.71 \pm 0.06
AA+EPA/PUFA	0.20 \pm 0.00	0.59 \pm 0.00
Σ n3	17.52 \pm 0.69	11.21 \pm 0.17
Σ n6	12.54 \pm 0.03	7.12 \pm 0.13
Σ n3/ Σ n6	1.40 \pm 0.05	1.58 \pm 0.05
DHA/EPA	0.17	0.40

4.18 DISCUSSION

The dependence on adequate natural prey (e.g. mysids), expensive to culture and/or with considerable inter annual abundance has been one of the bottlenecks for cephalopods large scale culture. Less expensive live prey could reduce production costs and enable large scale culture (O'Dor *et al.*, 1983; DeRusha *et al.* 1989; Lee *et al.*, 1991; DiMarco *et al.*, 1993; Domingues *et al.*, 2000; Domingues *et al.*, 2006; Baeza-Rojano *et al.*, 2010). Amphipods, and particularly gammarids, are among the most adaptable species worldwide (Woods, 2009). They are an important natural dietary component in a variety of coastal marine finfish (e.g. Caine, 1991; Dubiaski-Silva and Masunari, 2008; O'Gorman *et al.*, 2008) and can be cultured through several generations under controlled conditions (Parsons and Bawden, 1979; Parsons *et al.*, 1985; Takeuchi and Hirano, 1991; Prato *et al.*, 2006; Aravind *et al.*, 2007; Grabowski *et al.*, 2007). Because of this, gammarids could be an alternative prey to *Artemia* and mysids.

Results obtained from the present research indicate that marine gammarids (*H. media*) are a good alternative prey for *O. maya* hatchlings during this delicate phase of the life cycle. Growth rates obtained with live Gm ($8.4 \pm 0.3\%$ day⁻¹), were high, compared to when using Ar and Gf, and considered appropriate for the culture of early stages of this species (Van Heukelem 1976, 1983). Live gammarids have been previously used to culture cuttlefish hatchlings during the first 15 days of live with good results (5.7% day⁻¹), although growth was lower compared to mysids (6.7% day⁻¹) (Baeza-Rojano *et al.*, 2010).

The activity patterns of marine gammarids in the experimental trays, where they were seen continuously swimming from one place to another, and hiding in *Megalongena corona bispinosa* conch shells together with octopuses could also be one of the key factors to explain the excellent results obtained on growth and survival. Contrary, freshwater gammarids, although with similar swimming patters and activity as marine ones, died about 20 minutes after being introduced in the tanks. Nevertheless, hatchlings frequently attacked and ate them when dead on the bottom. Marine gammarids were more appropriate for *O. maya* hatchlings, since even if prey movement does not seem to be essential to trigger attacks by the hatchlings, it still stimulates them, possibly contributing to higher ingestion rates. On the other hand, results of the present study suggest that biochemical composition

of each prey is probably the key factor to explain the differences in growth and survival obtained here.

The higher concentration of proteins, acylglycerides and cholesterol in the digestive gland of hatchlings octopuses fed with freshwater gammarids and the lower level of glycogen in the muscle indicates that this diet did not cover properly the nutritional requirement of octopuses and consequently, promoted lower growth rates. The digestive gland is the primary organ in cephalopods that secretes digestive enzymes, performing absorptive and excretory functions (Boucher-Rodoni *et al.*, 1987). The presence of digestive enzymes in cephalopods depends on the life cycle stage or the kind of food assimilated among other factors. Their synthesis starts when the post-hatchlings begin to digest and absorb nutrients from the consumed food (Martinez *et al.*, 2011). It is known that cephalopods have an almost exclusive protein metabolism, with high requirements for proteins and amino acids (Lee, 1994; Lee *et al.*, 1998). Therefore it is possible that a different composition of amino acid in freshwater gammarids could block nutrients assimilation, reducing growth. Therefore, future studies are needed to determine if a different amino acid composition could affect the nutrient uptake from different freshwater species. *Artemia* was characterized by high levels of glucose in tissue, and it did not increase hatchlings growth.

Although there is a lack of studies dealing with the nutritional value of amphipods, previous studies indicate that they contain relatively high levels of beneficial polyunsaturated fatty acids, particularly DHA (22:6n-3) and EPA (20:5n-3) (Guerra-García *et al.*, 2004; Woods, 2009; Cook *et al.*, 2010) similar to mysids (Domingues *et al.*, 2003b). Freshwater gammarids from Central and Western Europe have significant amounts of n-3 Long Chain PUFA in the lipid fraction, so they might be considered as an innovative source of n-3 LC PUFA for the nutritional purpose (Kolanowski *et al.*, 2007). Freshwater gammarids have been also used as alternative protein sources in complete diets for farmed fish (Moren *et al.*, 2006) mainly in diets prepared for Atlantic salmon, Atlantic halibut, Atlantic cod and rainbow trout (Mathias *et al.*, 1982; Parsons *et al.*, 1985; Moren *et al.*, 2006; Suontama *et al.*, 2007). Results obtained in the present study show marked differences in lipid composition from the saltwater and freshwater gammarids used in the present study (Table 3), and this could explain why freshwater gammarids did not cover the nutritional requirement of *O. maya* hatchlings. *Hyalella azteca* contained high polyunsaturated fatty acids levels as Central-Europe freshwater gammarids (Kolanowski *et al.*, 2007). However, the levels of EPA and DHA were lower in *H. azteca* than in *H. media*, suggesting that such differences could be responsible of the different growth and survival observed here. Marine gammarids, in spite of having a higher percentage of saturated FA compared to freshwater gammarids, also had

the highest levels of EPA and DHA which are an important component in *Octopus* nutrition. According to cephalopods composition, the most abundant fatty acids in mantle and digestive gland is DHA (22:6 n-3), palmitic acid (16:0), and EPA (20:5 n-3) (Sinanoglou and Miniadis-Meimaroglou, 1998; García *et al.*, 2009; Ferreira *et al.*, 2010) and the present results support those reported by Prato, *et al.*, (2010) who found the best growth rates in *Octopus vulgaris* fed with live prey with high EPA and DHA content. Navarro and Villanueva (2003) also mentioned the importance of high DHA content in natural prey in squids and octopus hatchlings' early stages of growth. Therefore, the level of these fatty acids in their prey must be taken into consideration to provide an adequate nutritional content to cephalopods, although is important to point out that some authors have not obtained good results in Octopus growth with high polyunsaturated fatty acid levels in their diets (Seixaset *al.*, 2010; Fuentes *et al.*, 2011). Marine gammarids were the prey with closest fatty acids composition to cephalopods, and other marine species, with low values of the DHA/EPA relation, suggesting that a ratio lower than 0.5 could be also optimal for *O. maya* growth. Chemical composition of *Hyale media* obtained in the present study could be used as a reference to design a balanced diet for *O. maya* hatchlings. However, it is important to point out that differences observed in growth and survival could also been affected by other nutrients not analysed in the present study.

Artificial paste used between days 16 and 30 of the experiment promoted acceptable growth rate regardless of the live prey used during the initial 15 days. Previous results obtained using *Artemia* initial as live prey, followed by a prepared paste, for the early stages of *O. maya* (Moguel *et al.*, 2010), also showed lower growth than that obtained in the present study using marine gammarids. Therefore, the use of marine gammarids during only the first fifteen days enhanced the production and growth of juvenile octopuses, doubling the weight of octopuses compared to those that were fed with *Artemia* or freshwater gammarids.

This study reveals that marine gammarids are a suitable food source for *O. maya* hatchlings during the most delicate phase of their life, promoting growth rates higher than known results obtained using adult *Artemia*. Gammarids are characterised for its high density in their natural habitats (Guerra-García *et al.*, 2011), and future research should be focused in the gammarids large-scale culture as live prey in aquaculture of *O. maya* and possibly other cephalopod species.

4.19 REFERENCES

- Corona A, Soto L & Sánchez A (2000) Epibenthic amphipod abundance and predation efficiency of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in habitats with different physical complexity in a tropical estuarine system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 253: 33-48.
- Cui X, Grebmeier JM & Cooper LW (2012) Feeding ecology of dominant groundfish in the northern Bering Sea. *Polar Biology*, 35: 1407-1419.
- Aravind NP, Sheeba P, Nair KKC & Achuthankutty CT (2007) Life history and population dynamics of an estuarine amphipod, *Eriopisa chilensis* Chilton (Gammaridae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 74: 87-95.
- Baeza-Rojano E, García S, Garrido D, Guerra-García JM & Dominguez P (2010) Use of amphipods as alternative prey to culture cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. *Aquaculture*, 300: 243-246.
- Boletzky S. & Hanlon R.T. (1983) A review of the laboratory maintenance, rearing and culture of cephalopod mollusks. *Memoirs of the National Museum Victoria*, 44: 147-187.
- Boucher-Rodoni R, Boucaud-Camou E & Mangold K (1987) Feeding and digestion. In: *Cephalopod life cycles: Comparative reviews*, Vol II (ed. by P.R. Boyle), pp. 85-108. Academic Press, London.
- Bradford M (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Cabrera JL & Defeo O (2001) Daily bioeconomical analysis in a multispecific artisanal fishery in Yucatán, México. *Aquatic Living Resources*, 14: 19-28.
- Caine EA (1991) Caprellid amphipods: fast food for the reproductively active. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 148: 27-33.
- Carrasco JF, Rodríguez C & Rodríguez M (2005) Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo (*Octopus vulgaris*, Cuvier) utilizado como base de la alimentación zoeas vivas de crustáceos. IX Congreso Nacional de Acuicultura. Sevilla, Spain. October 2005, Libro de Actas pp. 219–222.
- Castro BG (1991) Can *Sepia officinalis* L. be reared on artificial food?. *Marine Behavior and Physiology*, 19: 35-38.

- Castro BG, DiMarco FO, DeRusha RH & Lee PG (1993) The effects of surimi and pelleted diets on the laboratory survival, growth and feeding rate of the cuttlefish *Sepia officinalis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 170: 241-252.
- Castro BG & Lee PG (1994) The effects of semi-purified diets on growth and condition of *Sepia officinalis* L. (Mollusca: Cephalopoda). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 199: 1007-1016.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA) (2010) Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. SAGARPA-CONAPESCA. http://www.conapesca.sagarpa.gob.mx/wb/cona/cona_anuario_estadistico_de_pesca.
- Cook EJ, Shucksmith R, Orr H, Ashton GV & Berge J (2010) Fatty acid composition as a dietary indicator of the invasive caprellid, *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda). *Marine Biology*, 157: 19-27.
- Cunha MR, Moreira MH & Sorbe JC (2000) Predicting amphipods brood size variation in brackish environments: an empirical model for *Corophium multisetosum* Stock, 1952 (Corophiidae) in Ria de Aveiro (NW Portugal). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 248: 207-223.
- DeRusha RH, Forsythe JW, Demarco FP & Hanlon RT (1989) Alternative diets for maintaining and rearing cephalopods in captivity. *Journal of Laboratory Animal Science*, 39: 306-312.
- DiMarco FP, Turk PE, Scimeca JM, Browning WJ & Lee PG (1993) Laboratory survival, growth and digestive gland histology of squids reared on living and non-living fish diets. *Journal of Laboratory Animal Science*, 43: 226-231.
- Domingues P, Turk P, Andrade JP & Lee PG (1998) Pilot scale production of mysid shrimp in a static water system. *Aquaculture International*, 6: 387-402.
- Domingues P, Turk P, Andrade JP & Lee PG (1999) Culture of the mysid, *Mysidopsis almyra* (Bowman), (crustacean: Mysidacea) in a static water system: Effects of density and temperature on production, survival and growth. *Aquaculture Research*, 30: 135-143.
- Domingues P, Fores R, Turk PE, Lee PG & Andrade JP (2000) Mysid Culture: Lowering costs with alternative diets. *Aquaculture Research*, 31: 719-728.
- Domingues P, Kingston T, Sykes A & Andrade J (2001a) Growth of young cuttlefish, *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758) at the upper end of the biological distribution temperature range. *Aquaculture Research*, 32: 923-930.
- Domingues P, Sykes A & Andrade J (2001b) The use of *Artemia* or mysids as food for hatchlings of the cuttlefish *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758; effects on growth and survival throughout the life cycle. *Aquaculture International*, 9: 319-331.

- Domingues P, Sykes A, Sommerfield A, Almansa E, Lorenzo A & Andrade J (2003a) Effects on feeding live or frozen prey on growth, survival and the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture International*, 11: 397-410.
- Domingues P, Poirier R, Dickel L, Almansa E, Sykes A, & Andrade P (2003b) Effects of culture density and live prey on growth and survival of juvenile cuttlefish, *Sepia officinalis*. *Aquaculture International*, 11: 225-242.
- Domingues PM, Dimarco FP, Andrade JP & Lee PG (2005) Effect of artificial diets on growth, survival and condition of adult cuttlefish, *Sepia officinalis* Linnaeus, 1758. *Aquaculture International*, 13: 423-440.
- Domingues PM, Bettencourt V & Guerra A (2006) Growth of *Sepia officinalis* in captivity and in nature. *Vie et Milieu*, 56: 109-120.
- Dubiaski-Silva J & Masunari S (2008) Natural diet of fish and crabs associated with the phytal community of *Sargassum cymosum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales) at Ponta das Garoupas, Bombinhas, Santa Catarina State, Brazil. *Journal of Natural History*, 42: 1907-1922.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA & Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Biochemistry*, 28: 350-356.
- Folch J, Lees M & Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Ferreira A, Marquez L, Almansa E, Andrade JP, Lorenzo A & Domingues P (2010) The use of alternative diets to culture juvenile cuttlefish *Sepia officinalis*: effect on growth and lipid composition. *Aquaculture Nutrition*, 16: 262-275.
- Fuentes L, Sánchez F, Lago M, Iglesias J, Pazos G & Linares F (2011) Growth and survival of *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797) paralarvae fed on three *Artemia*-based diets complemented with frozen fish flakes, crushed zooplankton and marine microalgae. *Scientia Marina*, 75: 771-777.
- García S, Domingues P, Navarro JC, Hachero-Cruzado I, Garrido D & Rosas C (2009) Growth, partial energy balance, mantle and digestive gland lipid composition of *Octopus vulgaris* (Cuvier, 1797) fed with to artificial diets. *Aquaculture Nutrition*, doi: 10.1111/j.1365-2095.2009.00746.x
- Grabowski M, Bacela K & Konopacka A (2007) How to be an invasive gammarid (Amphipoda: Gammaroidea)-comparison of life history traits. *Hydrobiology*, 590: 75-84.
- Guerra-García JM, Martínez-Pita I & Pita M (2004) Fatty acid composition of the caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from the Strait of Gibraltar. *Scientia Marina*, 68: 501-510.

- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP & García-Gómez JC (2011) Vertical distribution and seasonality of peracarid crustaceans associated with intertidal macroalgae. *Journal of Sea Research*, 65: 256-264.
- Hamazaki H, Fukunaga K, Yoshida Y, Maruyama K (1991) Effects of marine microalgae *Nannochloropsis* sp. on survival and growth on rearing pelagic paralarvae of *Octopus vulgaris*, and results of mass culture in the tank of 20 metric tons. *Saibai-giken*, 19: 75-84.
- Hanlon RT & Forsythe JW (1985) Advances in the laboratory culture of octopuses for biomedical research. *Laboratory Animal Science*, 35: 33-40.
- Iglesias J, Otero JJ, Moxica C, Fuentes L, Sánchez FJ (2002) Paralarvae culture of octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier) using *Artemia* and crab zoeae and first data on juvenile growth up to eight months of age. *Aquaculture Europe 2002*. European Aquaculture Society. Special Publication, vol. 32, pp. 268-269.
- Iglesias J, Otero JJ, Moxica C, Fuentes L, Sánchez FJ (2004) The completed life cycle of the octopus (*Octopus vulgaris*, Cuvier) under culture conditions: paralarval rearing using *Artemia* and zoeae, and first data on juvenile growth up to 8 months of age. *Aquaculture International*, 12: 481-487.
- Iglesias J, Sánchez FJ, Bersano JGF, Carrasco JF, Dhont J, Fuentes L, Linares L, Muñoz JL, Okumura S, Roo J, Van der Meeren T, Vidal EAG & Villanueva R (2007) Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture*, 266: 1-15.
- Imamura S (1990) Larval rearing of Octopus (*Octopus vulgaris* Cuvier). The progress of technological development and some problems remained. *Collecting and Breeding*, 52: 339-343.
- Kolanowski W, Stolyhwo A & Grabowski M (2007) Fatty acid composition of selected fresh water gammarids (Amphipoda, Crustacea): A potentially innovative source of omega-3 LC PUFA. *Journal of the American Chemical Society*, 84: 827-833.
- Koueta N & Boucaud-Camou E. (2003) Combined effects of photoperiod and feeding frequency on survival and growth of juvenile cuttlefish *Sepia officinalis* L. in experimental rearing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 296: 215-226.
- Lee PG (1994) Nutrition of cephalopods: fueling the system. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 25: 35-51.
- Lee PG, Forsythe JW, DiMarco FP, DeRusha RH & Hanlon RT (1991) Initial palatability and growth trials on pelleted diets for cephalopods. *Bulletin of Marine Science*, 49: 362-372.
- Lee P, Turk P, Forsythe J & DiMarco F (1998) Cephalopod culture: physiological, behavioural and environmental requirements. *Suisanzoshoku*, 46: 417-422.

- Levene H, (1960) Robust tests for equality of variances. In: *Contributions to Probability and Statistics: Essays in honor of Harold Hotelling* (ed. by O. Ingram, Ghurye S.G., Hoeffding, W., Madow, W.G. and Mann, H.B.), pp. 278-292. Stanford University Press, California.
- Martínez R, López-Ripoll E, Avila-Poveda O, Santos-Ricalde R, Mascaró M & Rosas C (2011) Cytological ontogeny of the digestive gland in post-hatching *Octopus maya*, and cytological background of digestion in juveniles. *Aquatic Biology*, 11: 249-261.
- Mathias A., Martin J., Yurkowski M., Lark J.G.I., Papst M. & Tabachek J.L. (1982) Harvest and nutritional quality of *Gammarus lacustris* for trout culture. *Transactions of the American Fisheries Society*, 111: 83-89.
- Moguel C, Mascaró M, Avila-Poveda OH, Caamal-Monsreal C, Sanchez A, Pascual C & Rosas C (2010) Morphological, physiological and behavioral changes during post-hatching development of *Octopus maya* (Mollusca: Cephalopoda) with special focus on the digestive system. *Aquatic Biology*, 9: 35-48.
- Moren M, Suontama J, Hemre GI, Karlsen Ø, Olsen RE, Mundheim H & Julshamn K (2006) Element concentrations in meals from krill and amphipods. Possible alternative protein sources in complete diets for farmed fish. *Aquaculture*, 261: 174-181.
- Moxica C, Linares F, Otero JJ, Iglesias J & Sánchez FJ (2002) Cultivo intensivo de paralarvas de pulpo, *Octopus vulgaris* Cuvier, 1797, en tanques de 9m³. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 18 (1-4), 31-36.
- Navarro JC & Villanueva R (2003) The fatty acid composition of *Octopus vulgaris* paralarvae reared with live and inert food: deviation from their natural fatty acid profile. *Aquaculture*, 219: 613-631.
- O'Dor RK, Mangold K, Boucher-Rodoni R, Wells MJ & Wells J (1983) Nutrient absorption, storage and remobilization in *Octopus vulgaris*. *Marine Behavior and Physiology*, 11: 239-258.
- O'Gorman EJ, Enright RA & Emmerson MC (2008) Predator diversity enlaces secondary production and decreases the likelihood of trophic cascades. *Oecologia*, 158: 569-578.
- Parsons TR & Bawden CA (1979) A controlled ecosystem for the study of the food requirements of Amphipod populations. *Estuarine Coastal and Marine Science*, 8: 547-553.
- Parsons TR, Sharp JC & Li WKW (1985) The cultivation of marine amphipods and their use as food for young salmonids. *Sonderdruck aus Zeitschrift angewandte Ichthyologie*, 1: 77-84
- Pinczon du Sel G, Blanc A & Daguzan J (2000) The diet of the cuttlefish *Sepia officinalis* (mollusca: cephalopoda) during its life cycle in the Northern Bay of Biscay (France). *Aquatic Science*, 61: 167-178.

- Prato E, Biantolino F & Scardicchio C (2006) Postembryonic growth, development and reproduction of *Gammarus aequicauda* (Martynov, 1931) (Gammaridae) in Laboratory Culture. *Zoological Studies*, 45: 503-509.
- Prato E, Portacci G & Biantolino F (2010) Effect of diet on growth performance, feed efficiency and nutritional composition of *Octopus vulgaris*. *Aquaculture*, 309: 203-211.
- Sainte-Marie B. (1991) A review of the reproductive bionomics of aquatic gammaridean amphipods: variation of life history traits with latitude, depth, salinity and super family. *Hydrobiology*, 189: 189-227.
- Seixas P, Rey-Méndez M, Valente L & Otero A (2010) High DHA content in *Artemia* is ineffective to improve *Octopus vulgaris* paralarvae rearing. *Aquaculture*, 300: 156-162.
- Shapiro SS (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52: 591-611.
- Sinanoglou VJ & Miniadis-Meimaroglou S (1998) Fatty acid of neutral and polar lipids of (edible) Mediterranean cephalopods. *Food Research International*, 31: 467-473.
- Suontama J, Karlsen O, Moren M, Hemre GI, Melle W, Langmyhr E, Mundheim H, Ringo E & Olsen RE (2007) Growth, feed conversion and chemical composition of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and Atlantic halibut (*Hippoglossus* L.) fed diets supplemented with krill or amphipods. *Aquaculture Nutrition*, 13: 241-255.
- Sykes AV, Domingues PM, Correia M & Andrade JP (2006) Cuttlefish Culture –State of the Art and Future Trends. *Vie Milieu*, 56: 129-137.
- Takeuchi I & Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110: 391-397.
- Toll RB & Strain CH (1988) Freshwater and terrestrial food organisms as an alternative diet for laboratory culture of cephalopods. *Malacologia*, 29: 195-200.
- Van Heukelem WF (1976) Growth, bioenergetics and life span of *Octopus cyanea* and *Octopus maya*. PhD Thesis. Univ. Hawaii, pp. 1-224.
- Van Heukelem WF (1977) Laboratory maintenance, breeding, rearing and biomedical research potential of the Yucatan octopus (*Octopus maya*). *Laboratory Animal Science*, 27: 852-859.
- Van Heukelem WF (1983) *Octopus maya*, In: *Cephalopod Life Cycles* (ed. by P.R. Boyle), pp. 311-323. Academic Press, London.

Woods C (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource?. *Aquaculture*, 289: 199-211.

Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*. 4th edn. In: Ryu, T. (Ed.), pp. 663. Prentice-Hall Inc., Upper Saddle River, N.J.

PART 4



**A PRELIMINARY STUDY OF THE *CAPRELLA SCAURA*
AMPHIPOD CULTURE FOR POTENTIAL USE IN
AQUACULTURE**

4.20 ABSTRACT

The caprellid amphipod *Caprella scaura* Templeton, 1836 was investigated as a mass culture organism, for potential use as natural prey in aquaculture. *C. scaura* showed good population growth during 3 months of culturing with nauplii of *Artemia* sp. and microalgae as food source. A final mean population size of 12510.67 individuals/ tank and maximum density of 10460 individuals m⁻² were obtained; a 50-fold increase of the initial population. Juveniles were the most abundant stage in the culture (86% of total), followed by mature females (5.4%) and immature males (3.1%). Three kinds of plastic mesh with different complexity levels were used as artificial substrates for amphipods to attach to and shelter. There were no significant differences in the total number of individuals present on each kind of mesh, although female and male adults were more abundant in folded meshes with larger pore diameter. This research demonstrated that the caprellid amphipod *C. scaura*, may be readily cultured at high densities with a variety of mesh morphologies allowing more efficient use of tank volume and improved handling.

4.21 INTRODUCTION

Amphipods are small, benthic crustaceans that usually live in groups, associated with a wide variety of substrates in the seas around the world (Woods, 2009). They can reach high densities under optimal environmental conditions of suitable space, habitat complexity and trophic resources. Amphipods constitute an important trophic link between primary producers and higher trophic levels, since marine finfish and other marine species use these small crustaceans as the main food source in its diets (e.g. Bilecenoglu, 2009; Cui *et al.*, 2012; Dubiaski-Silva and Masunari, 2008; Padovani *et al.*, 2012). The bodies of caprellid amphipods are longer and thinner than other amphipods. They exhibit a sedentary behavior pattern and cling to a substratum. Because caprellids attach to the outer branches of algae, bryozoans or other structures, they are more exposed to predators than are gammarids, which are amphipods that usually live within the matrix of their substrates (Vázquez-Luis *et al.*, 2010).

Larval or juvenile stages of many marine species reared under culture conditions are fed live feed from a relatively limited range such as, *Artemia*, copepods, mysids and rotifers. The use of caprellids as prey items could complement the traditional food items and expand the nutritional range available for larviculture (Woods, 2009). Although these organisms are frequently found in high numbers in their natural habitats, it is necessary to establish an adequate culture methodology to avoid environmental impacts on their populations and also to produce a constant supply of food, which is difficult to guarantee with wild populations.

It is known that amphipods, especially caprellids, have a short life cycle, reproducing continuously throughout the year in temperate waters, with several broods along the cycle and a large number of juveniles with direct development emerging from the brood pouch of the female after each reproductive event (Baeza-Rojano *et al.*, 2011; Cook *et al.*, 2007; Hosono, 2009; Takeuchi and Hirano, 1991, 1992). These characteristics make caprellids good candidates for culture under controlled conditions. Nakajima and Takeuchi (2008) described the rearing of *Caprella mutica* for over 5 years with production of multiple generations annually. However, there are no more literature descriptions of the rearing methods for the *Caprella* species in large volumes for aquaculture purposes. The only reported research with this group focused on completing the life-cycle, with caprellids being kept in small containers (Baeza-Rojano *et al.*, 2011).

C. scaura is a species native to the western Indian Ocean that has been established in several regions of the world (Krapp *et al.*, 2006) (Figure 1). It is readily found in harbour habitats and their populations have high densities and reproducing females throughout the year (Guerra-García *et al.*, 2011). Several marine fish species feed on *C. scaura* (Kwak *et al.*, 2005; O’Gorman *et al.*, 2008) and recent studies have examined the use in cephalopod culture with promising results for feeding cuttlefish hatchlings (Baeza-Rojano *et al.*, 2010). The main objectives of the present study is to explore the potential culture of *C. scaura* in large tanks at high density and to study the effects on population growth and structure using three types of meshes as substrate.



Figure 1: Male and female morphology of *Caprella scaura*.

4.22 MATERIAL AND METHODS

4.22.1 Culture system

Caprellid culture was conducted at the IFAPA center “Agua del Pino” experimental aquaculture station (Cartaya, Huelva, Spain), from April to June, 2011.

Three cylindrical tanks of 100 L each were used for each replicate. The tanks were supplied with running seawater, with a complete water replacement of the tank each hour. Salinity ranged between 37-39 g L⁻¹ and dissolved oxygen between 5-9 ppm. Water temperature fluctuated naturally (18-23 °C) and a natural photoperiod, 14 h light-10 h dark, was used.

During the experimental period, caprellids were fed daily with *Artemia* sp. nauplii (500 mL of sea water with a density of 1400 nauplii/mL) and a mixture of two microalgae: *Isochrysis galbana* and *Tetraselmis suecica* (2 L of sea water with a mean density of 11.9x10⁶ cells L⁻¹ and 2.9x10⁶ cells L⁻¹, respectively). *Artemia* nauplii were previously enriched with a synthetic market product (Selco[®] S. presso, INVE Technologies, NV, Belgium) and when the *Artemia* and microalgae were added to the tanks, the water inflow was reduced to increase their residence time (Nakajima and Takeuchi, 2008).

C. scaura were collected from the bryozoan *Bugula neritina* in Cádiz harbor, southern Spain (36°32'28.04''N-6°17'00.35''W) (Figure 2). The individuals were isolated from the bryozoans and were transported with aeration together with some bryozoan colonies to the experimental station.



Figure 2. Collecting samples of caprellid adults from Cádiz harbor. Individuals attached to bryozoans.

Caine (1978) observed that caprellid species living on algae and hydroids require highly ramified substrates with small diameters in most branches to allow caprellid pereopods to encircle them. Inside each tank, 3 different plastic meshes of 30 x 50 cm were used as artificial substratum for the caprellids. The first mesh (S1) was folded on itself making a ball, the second one (S2) was also folded but compacted and with a smaller pore diameter, and the third one (S3) was placed in an upright position without folding, making better use of the space in the tank (Figure 3).

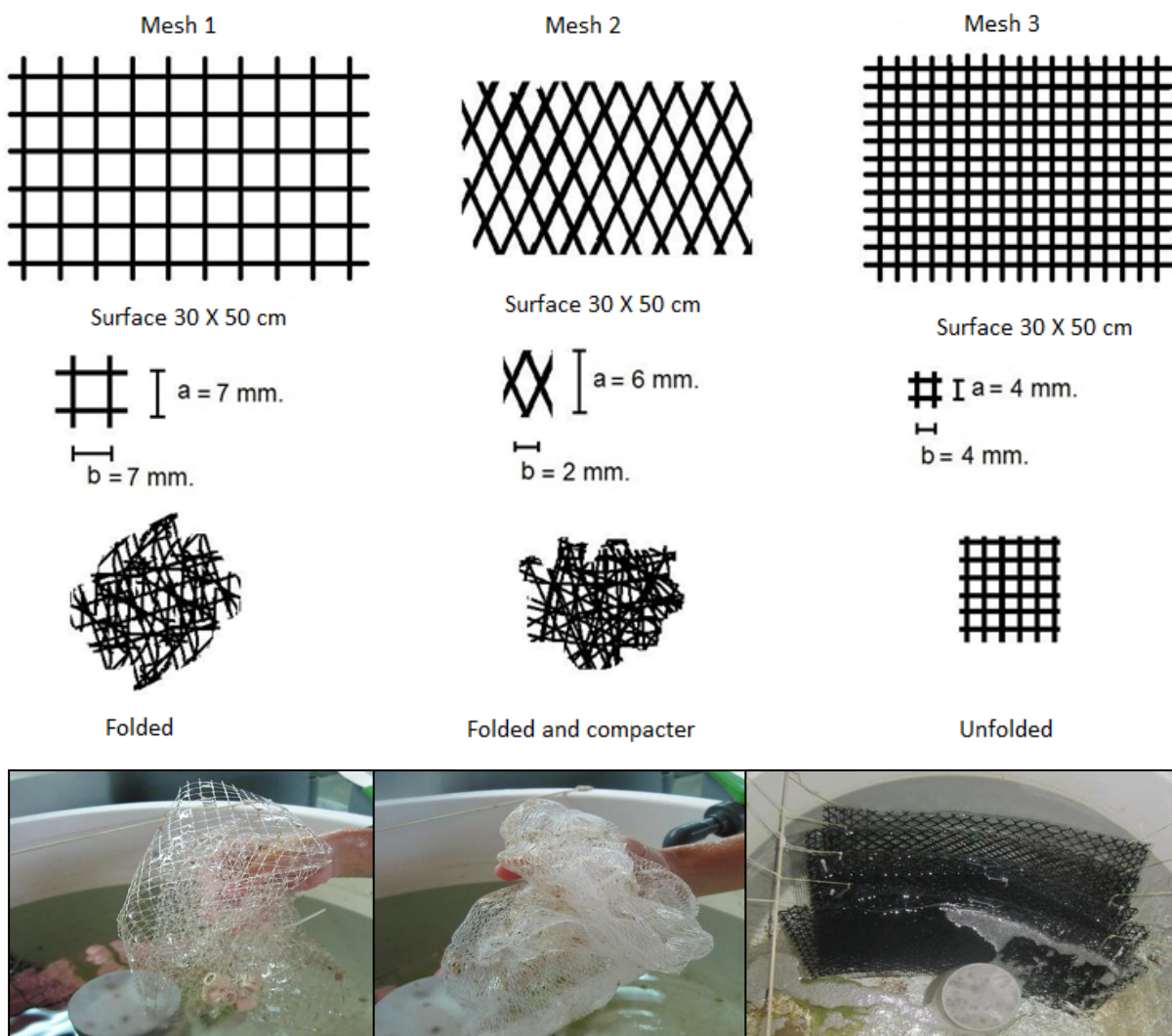


Figure 3. Illustration of the different plastic meshes employed. N= 6 per tank. Mesh 1: folded upon itself making a ball. Mesh 2: folded on itself in a circular shape but with a greater degree of compaction. Mesh 3: held vertically without any degree of compaction.

Six replicates of each mesh were placed in each tank. At the commencement of the study, 125 females and 125 males were added to each tank. Three months after the introduction of the caprellids to the tank, the plastic meshes containing caprellids were recovered individually and fixed in ethanol at 80%. All specimens were sorted carefully from the mesh and counted.

Sex was determined and maturity stages were classified based on the development of oostegites. Photomicrographs were taken of 30 females and 30 males from each mesh and tank with a stereo microscope (Motic K-400L) and measures of total body length were taken using imaging software (Scion Image Alpha 4.0.3.2, Scion Corporation). The number of eggs in ovigerous females with brood pouch completely closed was counted using a compound microscope (Leica CM E, Leica Microsystems).

4.22.2 **Statistical analyses**

All data were expressed as mean \pm SE (standard error). To test for significance of differences among meshes in the total number of individuals, the number of mature and immature males and females, juveniles, sex ratio and body length of males and females, a two-way ANOVA was used (Underwood, 1981), which incorporated the following factors: (i) "Substrate" (fixed) with three levels: Compact (S1), more compact (S2) and unfolded (S3); and (ii) "Tanks" (orthogonal and random) with three levels: tank 1, tank 2 and tank 3. For each substrate and tank, the experiment was replicated six times. Prior to carrying out the ANOVA, the data were tested for homogeneity of variance using Cochran's C test (Cochran, 1951). Data that did not meet the homogeneity of variance were transformed previously with $\sqrt{x+1}$ and, if treatment variances were still heterogeneous, data were transformed by $\ln(x+1)$ prior to analysis (Underwood, 1997). When the homogeneity of variance test failed even after transformation, untransformed data were analyzed, as ANOVA is a robust statistical test and is relatively unaffected by heterogeneity of variances, particularly in balanced experiments (Underwood, 1997). To reduce type I error, the level of probability used to detect significance was fixed to 0.01. When ANOVA indicated a significant difference for a given factor, the source of difference was identified using Student–Newman–Keul (SNK) tests (Underwood, 1981). The model for this analysis was: $X = \text{MEAN} + \text{Su} + \text{Ta} + \text{Su} \times \text{Ta} + \text{RES}$, where Su = Substrate, Ta = Tank and RES = residual.

To test whether the number of eggs in ovigerous females differed significantly between the morphological different meshes employed, one-way ANOVA was used, after verifying normality using the Kolmogorov-Smirnov test, and the homogeneity of variances

using Cochran's C test. Two-way ANOVA was impossible to perform considering that during the handling of the caprellid samples a lot of females presented her brood pouch opened, being difficult to find an enough number of reliable amount of eggs for each treatment in each tank. The possibility of a correlation between the female body length and the number of egg/embryos presented in the brood pouch was examined using Pearson's correlation coefficient.

4.23 RESULTS

After 90 days of culture, a mean number of $12,510.67 \pm 2,200.75$ individuals per tank were found, a 50-fold increase from the initial population size of 250 specimens (125 males and 125 females). The average density obtained per substratum of 50 cm x 30 cm was $3,625 \pm 115.88$ individuals m^{-2} with a maximum density of 10,460 individuals m^{-2} . The lowest number of caprellids was found in Tank 1 (Table 1, Fig. 4).

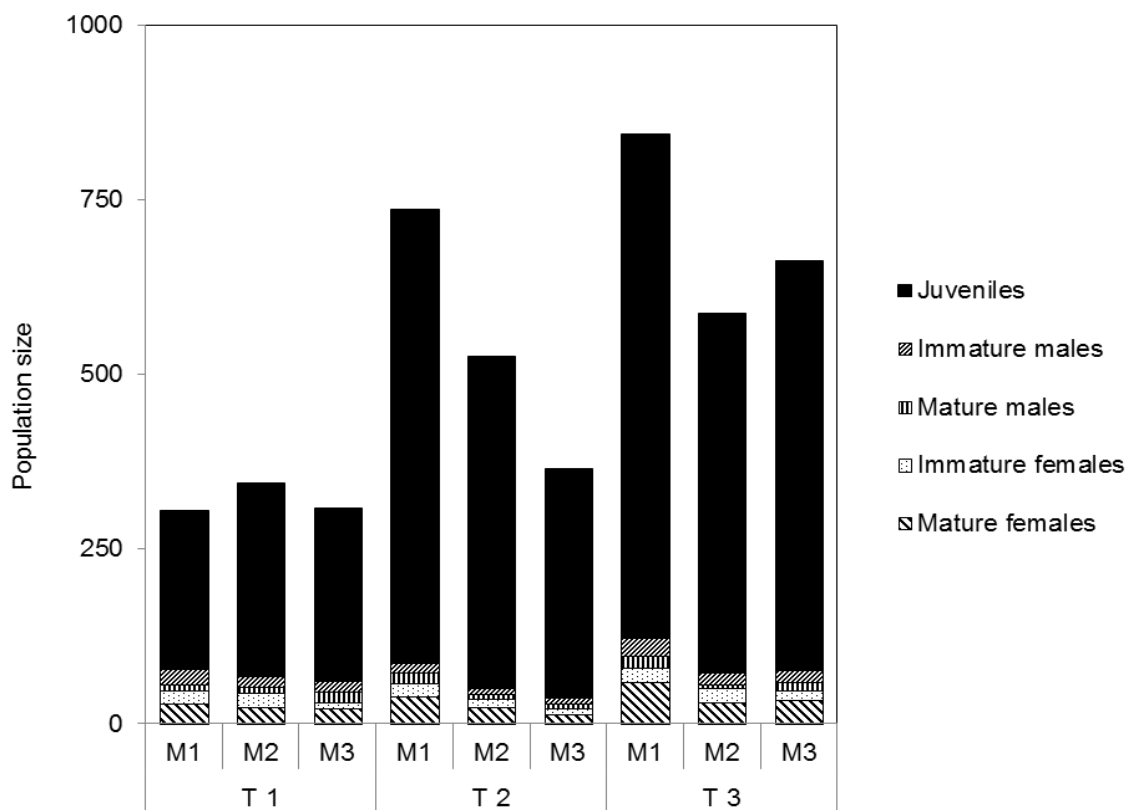


Figure 4. Mean number of caprellids in each tank and kind of mesh after 90 days. Specimens were counted and determined as: juveniles, immature and mature males, immature and mature females. T= tank, M= mesh.

Juveniles were the most abundant stage present in the tanks (86% of total), followed by mature females and immature males (5.4% and 3.1% respectively) (Fig. 4). There were no significant differences in the total number of individuals found on each kind of mesh (Table 1). However, adults, females and males were more abundant in the folded mesh number 1 (S1) with larger pore diameter. Juveniles were more distributed on all the meshes, and there were no differences in the number of juveniles present on the different substrates.

Table 1. Results of two-way ANOVA for total abundance, number of adults, juveniles, females, males and sex ratio. MS mean squares, P level of significance, df degrees of freedom, F versus indicates source of variation, ns not significant. * Significant ($p < 0.05$), ** Significant ($p < 0.01$).

Source of variation	df	Total abundance			df	Adults			df	Juveniles			F versus
		MS	F	P		MS	F	P		MS	F	P	
Sustrate= Su	2	83.893	1.26	0.3760	2	7417.1296	9.45	0.0305*	2	67.2887	0.99	0.4462	Su X Ta
Tank= Ta	2	200.9584	6.99	0.0023**	2	5064.0185	6.6	0.0031**	2	211.6949	7.08	0.0021**	Res
Su x Ta	4	66.5032	2.31	0.0721	4	785.0463	1.02	0.4055	4	67.6791	2.26	0.0771	Res
Residual	45	28.764			45	767			45	29.899			
Cochran's test		C= 0.2810 (ns)				C = 0.1727 (ns)				C = 0.2929 (ns)			
Transformation		Sqrt(x+1)				none				Sqrt(x+1)			
SNK		Ta: T1<T3				Su: S1>S2=S3; Ta: T3>T2=T1				Ta: T1<T3			
Source of variation	df	Females			df	Males			df	sex ratio			F versus
		MS	F	P		MS	F	P		MS	F	P	
Sustrate= Su	2	3475.0185	10.18	0.027*	2	1018.9074	8.43	0.0368*	2	0.2347	8.51	0.0362*	Su X Ta
Tank= Ta	2	2374.2963	7.85	0.0012**	2	633.9074	3.53	0.0375*	2	0.0231	0.67	0.5177	RES
Su x Ta	4	341.3519	1.13	0.3552	4	120.8519	0.67	0.6137	4	0.0276	0.8	0.5326	RES
Residual	45	302.5			45	179.3815			45	0.0345			
Cochran's test		C= 0.1826 (ns)				C= 0.2071 (ns)				C= 0.2530 (ns)			
Transformation		None				None				Ln(x+1)			
SNK		Su: S1>S2=S3; T3>T2=T1				Su: S1>S2=S3; Ta: T3>T2				Su: S3>S2=S1			

The average sex ratio (mature males/ mature females) found was 0.67 and a significantly ($P < 0.05$) higher value was obtained for S3 (0.88 ± 0.12) than for S1 (0.59 ± 0.06) and S2 (0.53 ± 0.06) (Table 1, Fig. 5).

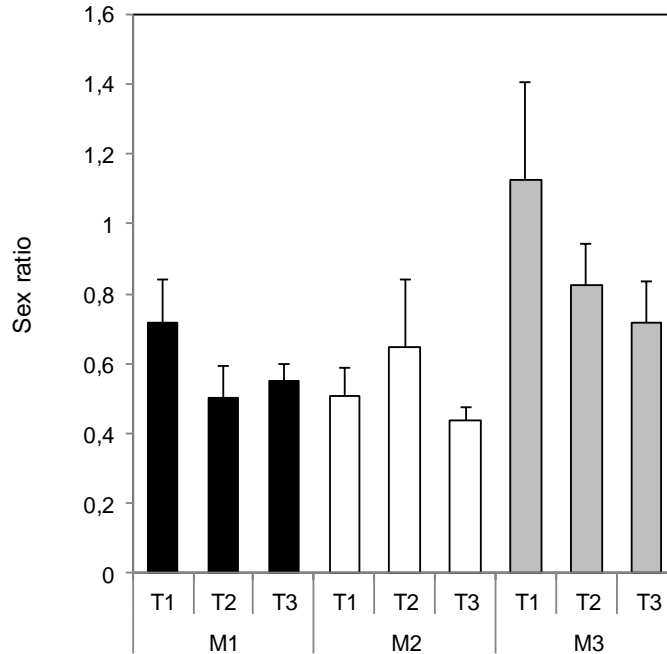


Figure 5. Sex ratio represented as number of males / number of females located on each tank and grouped by kind of mesh. N= 6, T= Tank, M= mesh.

Mature males reached a mean length of 14.01 ± 0.13 mm (range 8.63 - 18.85 mm), and mean length of females was 7.59 ± 0.05 mm (range 5.94 - 10.1 mm) between meshes (Table 2).

Table 2. Body length of mature males and females (n=30), located in each tank and present on the different kinds of mesh. M= mesh, T= tank.

		Male (mm)	Female (mm)
T1	M1	14.07 ± 0.45	7.28 ± 0.11
	M2	12.73 ± 0.48	7.56 ± 0.12
	M3	13.76 ± 0.39	7.42 ± 0.11
T2	M1	15.06 ± 0.31	7.41 ± 0.15
	M2	14.15 ± 0.46	7.51 ± 0.13
	M3	13.91 ± 0.30	7.58 ± 0.15
T3	M1	14.07 ± 0.38	7.52 ± 0.17
	M2	14.41 ± 0.33	8.09 ± 0.15
	M3	13.89 ± 0.40	7.96 ± 0.12

There were no significant differences ($P>0.05$) in the male and female body lengths found attached on the different meshes (Table 3). Significant differences in length were observed among tanks, with the animals in Tank 1 shorter for males and females, considered separately, than those in Tanks 2 and 3 (Table 3).

Table 3. Results of two-way ANOVA for female and male length. MS mean squares, P level of significance, df degrees of freedom, F versus indicates source of variation, ns not significant. * Significant ($p<0.05$), ** Significant ($p<0.01$).

Source of variation	df	Female length			df	Male length			F versus
		MS	F	P		MS	F	P	
Substrate = Su	2	577.29	4.92	0.0835	2	837.87	2.46	0.2011	SuxTa
Tank = Ta	2	362.49	4.77	0.0092**	2	3352.46	6.34	0.0021**	Res
Su x Ta	4	117.33	1.54	0.1897	4	340.62	0.64	0.6317	Res
Residual	261	75.61			261	529.08			
Cochran's test		C= 0.31 ($p<0.01$)				C = 0.249 ($p<0.01$)			
Transformation		-				-			
SNK		Ta: T1<T2=T3				Ta: T1<T2=T3			

Concerning fecundity, ovigerous females found on S1 had an average of 36.27 ± 4.33 eggs/embryos inside their brood pouch, females on S2 had 40.09 ± 2.91 eggs/embryos and on S3 there was an average of 32.45 ± 2.53 eggs/embryos per brood pouch. The highest number of eggs produced in a single brood was 82 and the lowest number was 12. There

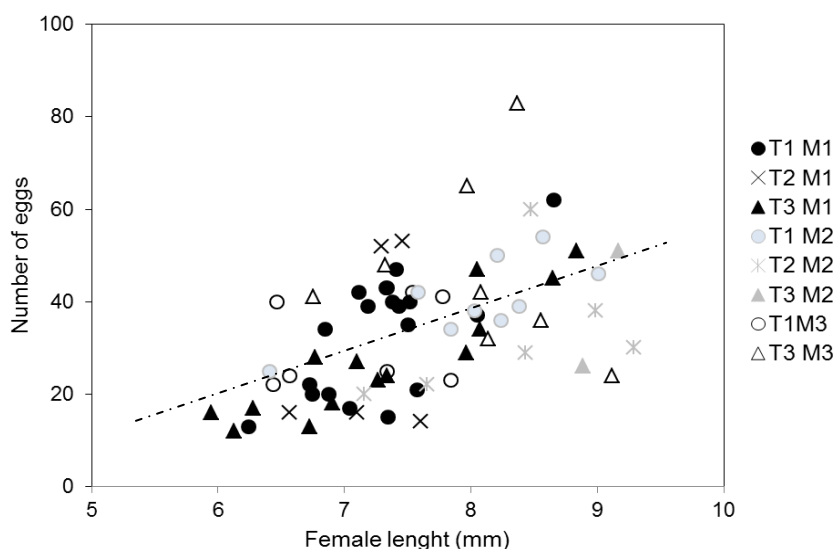


Figure 6. Correlation between female size and number of eggs for *Caprella scaura* cultivated on the different meshes in the three tanks. Black symbols for M1, grey for M2 and white for M3. Circles in T1, cross in Ts and triangles in T3. M= mesh, T= tank. Correlation was significant at $P< 0.01$; $r = 0.523$; $n = 70$.

were no significant differences into the substrates ($F = 1.30$; $P > 0.05$) and a positive correlation was found between the female body length and the number of egg/embryos present in the brood pouch ($r = 0.523$; $N = 69$; $P < 0.01$) (Figure 6). The linear regression model obtained was: $Y = 9,228 X - 35,815$. Where Y = number of eggs and X = female body length.

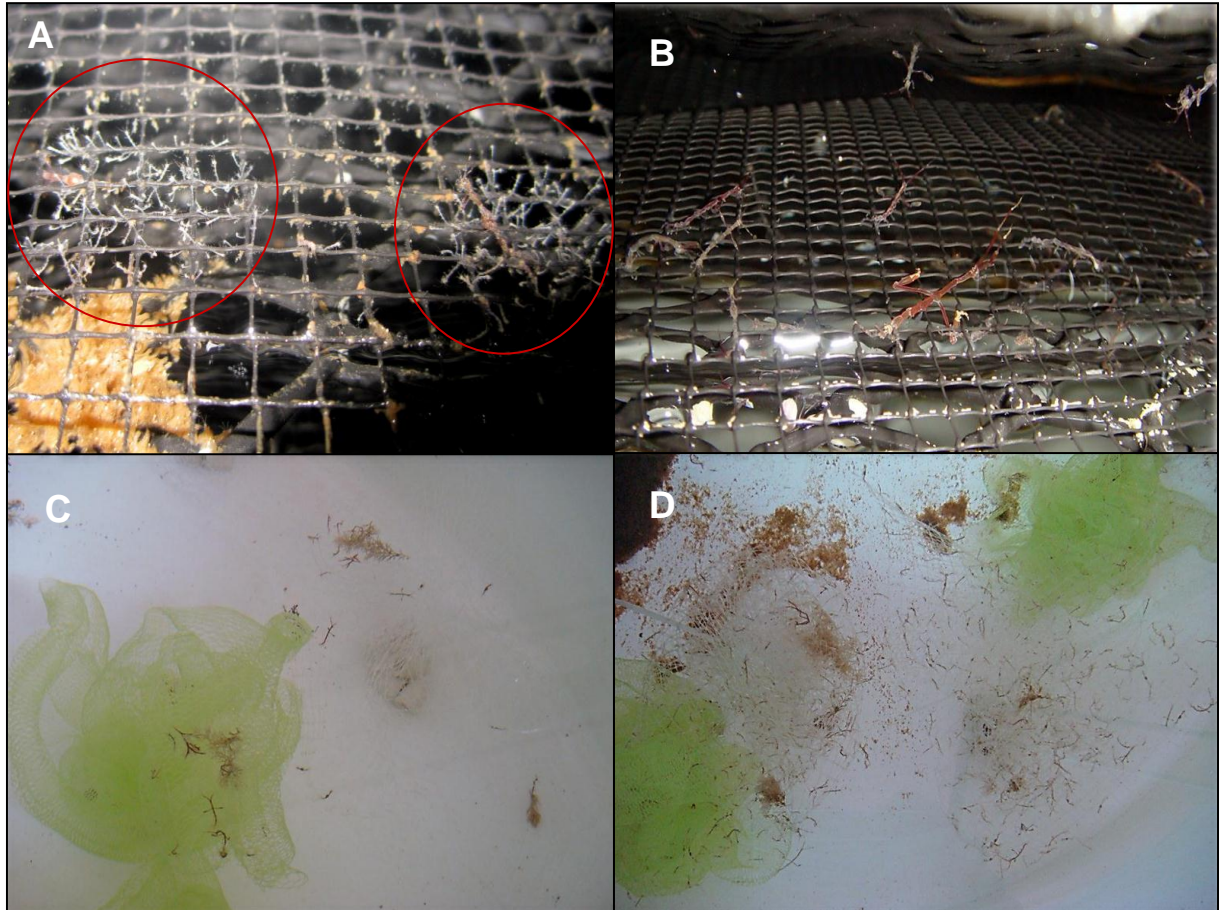


Figura 7. A) Maternal care provided by females on mesh 3. B) Fully-grown males on mesh 3. C) Mesh 2 and 3 at the beginning of the experiment. D) Mesh 2 and 3 covered in caprellids at the end of the experiment.

4.24 DISCUSSION

This is the first study to cultivate caprellid amphipods in culture tanks large enough to obtain densities sufficient for potential use as natural food for fish. *Caprella scaura* is dispersed throughout the world and it has a great colonizing ability with a wide geographical range inhabiting a wide variety of substrates (Martínez and Adarraga, 2008). Populations of this species are usually characterized by large numbers of individuals (Galil, 2008; Krapp *et al.*, 2006; Sconfiatti *et al.*, 2005). High densities have been measured on the north-eastern coast of Spain, with a maximum of 12,925 individuals m⁻² (Martínez and Adarraga, 2008). In aquaculture tanks on Canary Island, Guerra García *et al.* (2011) found densities of 3,080 individuals m⁻². In the present study, the number of individuals increased 50 fold in three months, obtaining an average density of 3,625 individuals m⁻² on the artificial substrates and a maximum density of 10,460 individuals m⁻², which is very similar to reported natural abundances. Furthermore, the culture was dominated by juveniles, indicating a stable and well-structured population.

Mature males and females grown in the tanks obtained higher average body length than individuals of natural populations from Cádiz harbour. Guerra-García *et al.* (2011) reported male average length of 5.2 ± 2.6 mm in Cadiz harbour versus 14.01 ± 0.13 mm in tanks, and female average length of 5.4 ± 0.8 mm versus 7.82 ± 0.08 mm obtained in tanks. Therefore, the culture succeeded in obtaining individuals larger than those presented in natural conditions in southern Spain, probably due to good culture conditions and to the absence of predators. *C. scaura* populations in Chipiona harbour and Canary Islands had also smaller body sizes, however, larger body sizes were reported in natural populations by McCain (1968) and Foster *et al.* (2004) in the western North Atlantic and South Carolina area, with maximum male length of 21 mm and 18 mm respectively, nearer to the maximum 18.8 mm length in the males. The number of eggs present in the brood pouch of the ovigerous females was higher in the wild females of Cádiz harbour (41.4 ± 12.8) versus 32.45 - 40.09 under culture conditions, nevertheless, the highest number of eggs was found in a cultivated female with 82. A significant correlation ($P < 0.01$) was found between female size and number of eggs, similar to the case in natural environments (Guerra-García *et al.*, 2011).

C. scaura females provide maternal care after the emergence of the juveniles from the brood pouch. Initially, juveniles cling to the mother's body, scraping epiphytes from the

body for food (Aoki, 1999; Lim and Alexander, 1986). After several days, the juveniles leave the mother's body and remain together near the adult female for protection from males and other females during several moults (Figure 7A and also see video attached in CD). During this period, the mother may be fecundated and a new brood will grow in the same area together with the older ones, increasing the number of individuals in the colony. In the current study, different reproductive behaviors between sexes were observed, where females tended to stay with the brood while males moved about, looking for receptive females to fecundate.

In natural habitats, structural qualities and architecture of the substrate on which amphipods live may be important in hiding from predators (Corona *et al.*, 2000; Jacobi and Langevin, 1996; Martin-Smith, 1993; Sotka *et al.*, 1999) and in preventing dislodgement by wave action at exposed sites (Fenwick, 1976; Sotka, 2007). Also these different microhabitats reduce the number of negative intraspecific interactions between individuals. In this way, the composition and density of caprellids are influenced by the structural elements of the algal substrate (Leite *et al.*, 2007; Leite and Turra, 2003). Macroalgae with simple thallii tend to shelter less-abundant invertebrates with a lower diversity than those with complex architecture (Gee and Warwick, 1994; Hooper *et al.*, 2006; Lacerda and Masunari, 2011).

During mating periods, *C. scaura*, in common with other amphipod species, are characterized by aggressive behaviours. Males frequently fight for mates, although males also fight with females and females with females, resulting in considerable mortality (Lim and Alexander, 1986) (See video attached in CD). *C. scaura* use their second gnathopods and their bodies in these intraspecific encounters and when sexually receptive females are present, fights became more aggressive, involving multiple behavioural sequences (Schulz and Alexander, 2001) and cannibalism has been observed, with adults preying on juveniles.

Therefore, in the present study, plastic meshes with different degrees of folding and surface area were supplied as artificial substratum for caprellids to cling to, to reduce encounter rates and decrease cannibalism. The results showed that the addition of different folded net to reduce contact and provide adequate shelters for juveniles had little effect in the final number and sizes of individuals presented, without finding significant differences between meshes (Table 1). However, males and females were more abundant in S1, where the folding could allow individuals to guard against attacks, resulting in increased survival, and the largest pore diameter could favor the movement of the individuals and the food particles across the mesh. The higher degree of folding in S2 may restrict the movement of the caprellids through close contact, and S3 could not offer enough protection to the adults. Nevertheless, there were no significant differences ($P>0.05$) in the final number of individuals

between meshes; juveniles were distributed homogeneously among the mesh forms. Cannibalism rate decreases when the food source is suitable and is not limiting. In this way, the importance of the habitat complexity does not play an important role to obtain high population densities, and simpler substrates could be used (Borisov *et al.*, 2007). Under the culture conditions of this study, both folded and unfolded meshes could be used for *C. scaura* culture with no significant effect on survival and body size. Using unfolded mesh allows more efficient use of tank volume; maximizing the volume of the tank and improving the handling of caprellids. Under these culture conditions, the meshes become covered in caprellids, and introducing the caprellids to the marine fish culture as food can be readily achieved by moving the mesh directly into the finfish cultivation tanks.

Significant differences were obtained between tanks, with Tank 1 having the lowest number of individuals with the smallest body sizes. This may have been caused by factors not considered initially and which may influence in the tanks including: different luminosity, nutrients, water physicochemical characteristics, etc., that could have reduced the production of this tank. The main objective of the present study was to obtain a preliminary approximation in the potential growth of this caprellid species and their preference to different mesh structures for their growth, in any form, replicates of substrates were added in the three tanks to monitor the influence of the tanks, and the interaction between these two factors (tank and mesh type).

Suitable production levels were obtained using *Artemia* nauplii as food for the caprellids, as reported by Nakajima and Takeuchi (2008) with *C. mutica* species in an exhibition tank. The price of *Artemia* cysts is very high and is increasing yearly, making this first large-scale caprellid culture study expensive and not economically sustainable. However, *C. scaura*, in common with other caprellids, is a detritivore (Guerra-García and Tierno de Figueroa, 2009) that could be fed with a wide range of food items, allowing the use of lower cost foods than the *Artemia* nauplii, reducing the cost of the culture production. In the present study, cultivation was carried out during spring making use of temperate natural running sea water. It is known that caprellids can tolerate a wide temperature range, although lower water temperatures delay the reproductive rate in the females by delaying the moulting rate (Hosono, 2009), and therefore the caprellid culture at lower water temperatures would reduce their potential growth rate. Constant temperate running sea water may also raise the price of culture. However, the great plasticity exhibited by these animals allows them to be included in programs of integrated multi-trophic aquaculture, feeding on byproducts of other cultivated species, with cheaper food source, and with a continuous and controlled temperature water flow, thereby reducing organic matter and producing new food

sources. Further studies are needed to improve the use of these amphipods in aquaculture, especially in integrated systems.

Finally, although *C. scaura* is readily cultured, with high fecundity and growth rates under controlled conditions, it is important that use and handling of this species outside its natural distribution range be done with care, as it has been considered an invasive species with a potential for fast dispersion, although the negative impacts in the ecosystems occupied have not been demonstrated yet.

4.25 REFERENCES

- Aoki M (1999) Morphological characteristics of young, maternal care behaviour and microhabitat use by caprellids amphipods. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79: 629-38.
- Baeza-Rojano E, García S, Garrido D, Guerra-García JM & Domingues P (2010) Use of amphipods as alternative prey to culture cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. *Aquaculture*, 300: 243-246.
- Baeza-Rojano E, Guerra-García JM, Cabezas MP & Pacios I (2011) Life history of *Caprella grandimana* (Crustacea: Amphipoda) reared under laboratory conditions. *Marine Biology Research*, 7: 85-92. doi:10.1080/17451001003713571.
- Bilecenoglu M (2009) Growth and feeding habits of the brown comber, *Serranus hepatus* (Linnaeus, 1758) in Izmir Bay, Aegean Sea. *Acta Adriatica*, 50: 105-110.
- Borisov RR, Epelbaum AB, Kryakhova NV, Tertitskaya AG & Kovatcheva NP (2007) Cannibalistic behavior in red king crabs reared under artificial conditions. *Russian Journal of Marine Biology*, 33: 227-231.
- Caine EA (1978) Habitat adaptations of North American caprellid Amphipoda (Crustacea). *Biological Bulletin*, 155: 288-296.
- Cochran WG (1951) Testing a linear relation among variances. *Biometrics*, 7: 17-32.
- Cook EJ, Willis KJ & Lozano-Fernandez M (2007) Survivorship, growth and reproduction of the non-native *Caprella mutica* Schurin, 1935 (Crustacea: Amphipoda). *Hydrobiologia*, 590: 55-64.
- Corona A, Soto L & Sánchez A (2000) Epibenthic amphipod abundance and predation efficiency of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum* (Burkenroad, 1939) in habitats with different physical complexity in a tropical estuarine system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 253: 33-48.
- Cui X, Grebmeier JM & Cooper LW (2012) Feeding ecology of dominant groundfish in the northern Bering Sea. *Polar Biology*, 35: 1407-1419.
- Dubiaski-Silva J & Masunari S (2008) Natural diet of fish and crabs associated with the phytal community of *Sargassum cymosum* C. Agardh, 1820 (Phaeophyta, Fucales) at Pontadas Garoupas, Bombinhas, Santa Catarina State, Brazil. *Journal of Natural History*, 42: 1907-1922.

- Fenwick GD (1976) The effect of wave exposure on the amphipod fauna of the alga *Caulerpa brownii*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 25: 1-18.
- Foster JM, Heard RW & Knott DM (2004) Northern range extensions from *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) on the Florida Gulf Coast and in South Carolina. *Gulf and Caribbean Research*, 16: 65-69.
- Galil B (2008) Project PORT Surveys of Alien organisms introduced by Science ships. CIESM. -The Mediterranean Commission. www.ciesm.org/marine/programs/portal.htm (accessed 11 February 2013).
- Gee JM & Warwick RM (1994) Metazoan community structure in relation to the fractal dimensions of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series*, 103: 141-150.
- Guerra-García, J.M., Tierno de Figueroa, J.M., 2009. What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? *Marine Biology*, 156: 1181-1890.
- Guerra-García JM, Ros M, Dugo-Cota A, Burgos V, Flores-León AM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP & Núñez J (2011) Geographical expansion of the invader *Caprella scaura* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) to the East Atlantic coast. *Marine Biology*, 158: 2617-2622. doi:10.1007/s00227-011-1754-z.
- Hooper GJ & Davenport J (2006) Epifaunal composition and fractal dimensions of intertidal marine macroalgae in relation to emersion. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86: 1297-1304. doi:10.1017/S0025315406014329.
- Hosono T (2009) Effect of temperature on the duration of reproductive cycles of female *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda) in the laboratory. *Marine Biodiversity Records*, 2: e140. doi:10.1017/S1755267209990583.
- Jacobi CM & Langevin R (1996) Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. *Journal of Marine Biology and Ecology*, 206: 39-54.
- Krapp T, Lang C, Libertini A & Melzer RR (2006) *Caprella scaura* Templeton 1836 sensu lato (Amphipoda: Caprellidae) in the Mediterranean. *Organisms Diversity & Evolution*, 6: 77-81.
- Kwak SN, Baeck GW & Klumpp DW (2005) Comparative feeding ecology of two sympatric greenling species, *Hexagrammos otakii* and *Hexagrammos agrammus* in eelgrass *Zostera marina* beds. *Environmental Biology of Fishes*, 74: 129-140.
- Lacerda MB & Masunari S (2011) Substrate selection of the caprellid *Caprella dilatata* (Crustacea, Amphipoda). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 46: 207-218.

- Leite FPP & Turra A (2003) Temporal variation in *Sargassum* biomass, *Hypnea epiphytism* and associated fauna. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46: 665-671.
- Leite FPP, Tanaka MO, Sudatti DB & Gebara RS (2007) Diel density variation of amphipods associated with *Sargassum* beds from two shores of Ubatuba, Southeastern, Brazil. *Iheringia, Sér. Zool.* 97: 400-405.
- Lim STA & Alexander CG (1986) Reproductive behaviour of the caprellid amphipod *Caprella scaura* typical Mayer, 1890. *Marine Behaviour Physiology*, 12: 217-230.
- Martín-Smith KM (1993) Abundance of mobile epifauna: the role of habitat complexity and predation by fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 174: 243-260.
- Martínez J & Adarraga I (2008) First record of invasive caprellid *Caprella scaura* Templeton, 1836 sensu lato (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) from the Iberian Peninsula. *Aquatic Invasions*, 3: 165-171.
- McCain JC (1968) The Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) of the western North Atlantic. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 278: 1-147.
- Nakajima K & Takeuchi I (2008) Rearing method for *Caprella mutica* (malacostraca: amphipoda) in an exhibition tank in the port of Nagoya public aquarium, with notes on reproductive biology. *J. Crust. Biol.* 28, 171-174.
- O'Gorman E, Enringht E & Emmerson MC (2008) Predator diversity enhances secondary production and decreases the likelihood of trophic cascades. *Oecologia*, 158: 557-567. doi:10.1007/s00442-008-1165-0.
- Padovani LN, Viñas MD, Sánchez F & Mianzan H (2012) Amphipod-supported food web: *Themisto gaudichaudii*, a key food resource for fishes in the southern Patagonian Shelf. *Journal of Sea Research*, 67: 85-90.
- Schulz MK & Alexander CG (2001) Aggressive behaviour of *Caprella scaura* typica mayer, 1890. (Crustacea: Amphipoda). *Marine Freshwater Behaviour and Physiology*, 34: 181-187.
- Sconfiatti R, Mangili F, Savini D & Occhipinti-Ambrogi A (2005) Diffusion of the alien species *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Amphipoda: Caprellidae) in the Northern Adriatic Sea. *Biología Marina Mediterránea*, 12: 335-337.
- Sotka EE, Hay ME & Thomas JD (1999) Host-plant specialization by a non-herbivorous amphipod: advantages for the amphipod and costs for the seaweed. *Oecologia*, 118: 471-482.

- Sotka EE (2007) Restricted host use by the herbivorous amphipod *Peramphithoe tea* is motivated by food quality and abiotic refuge. *Marine Biology*, 151: 1831-1838. doi:10.1007/s00227-007-0612-5.
- Takeuchi I & Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110: 391-97.
- Takeuchi I & Hirano R (1992) Growth and reproduction of the epifaunal amphipod *Caprella okadai* Arimoto (Crustacea: Amphipoda: Caprellidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 161: 201-12.
- Underwood AJ (1981) Techniques of analysis of variance in experimental biology and ecology. *Oceanography and Marine Biology : An Annual Review*, 19: 513–605.
- Underwood AJ (1997) *Experiments in Ecology: Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press. 504 pp
- Vázquez-Luis M, Sánchez-Jerez P & Bayle-Sempere JT (2010) Effects of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* on prey availability: an experimental approach to predation of amphipods by *Thalassoma pavo* (Labridae). *Hydrobiology*, 654: 147-154. doi:10.1007/s10750-010-0378-5.
- Woods C (2009) Caprellid amphipods: an overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture*, 289: 199-211.

CAPÍTULO 5

DISCUSIÓN GENERAL Y PERSPECTIVAS

El presente estudio corrobora cómo los anfípodos peracáridos son uno de los grupos más abundantes en los ecosistemas intermareales del Sur de la Península Ibérica, mostrando el papel tan importante que juegan en los ecosistemas. De las 45 especies de peracáridos identificados en el intermareal de la Isla de Tarifa, 32 de ellas pertenecieron al orden Amphipoda, siendo el 90% de todos los individuos identificados. Esto muestra el gran potencial que presentan estos organismos sobre los sustratos en los que se encuentran. En este caso, al tratarse de un sustrato rocoso intermareal, las algas fueron el principal medio de sujeción de los individuos, brindándoles protección frente a la abrasión por las olas, la desecación y los depredadores. Las algas, además, constituyen una fuente de alimento para la mayoría de las especies, ya sea por la alimentación directa de las células algales por las especies herbívoras, como por la alimentación del detritus u otros epífitos existentes sobre la superficie o intersticios de las algas.

Las mayores densidades algales estuvieron acompañadas también por las mayores densidades de fauna asociada, a excepción de determinadas épocas del año en los que los factores externos, como por ejemplo los climáticos, restringieron el crecimiento de la fauna a pesar de la disponibilidad del sustrato para poder crecer. Aún así, las densidades de fauna asociada en las algas fue muy alta durante los meses de primavera y comienzos del verano, llegándose a alcanzar unos 13000 individuos/m². Los géneros más representativos fueron *Hyale* y *Caprella* y el cinturón que mayor diversidad presentó fue el intermedio, dominado por *Corallina elongata* y *Jania rubens*. En otros estudios realizados en las zonas intermareales costeras, también se encontraron densidades muy altas de anfípodos, dominando en muchos casos el género *Hyale* (Guerra-García *et al.*, 2009a; Guerra-García *et al.*, 2012; Krapp-Schickel, 1993; Kurun *et al.*, 2006; Pereira *et al.*, 2006;) y el género *Caprella* (Guerra-García *et al.*, 2009a; Guerra-García *et al.*, 2012; Pacios *et al.*, 2011) lo que les hace estar entre los géneros más abundantes de los ecosistemas intermareales rocosos de nuestra latitud, presentándose en densidades superiores a los 5000 ind/m² en el caso de *Hyale* (Izquierdo y Guerra-García, 2010 y más de 30000 ind/m² en el caso de *Caprella* (Guerra-García *et al.*, 2012).

Este hecho hace indispensable el conocimiento de la diversidad, la ecología y los ciclos biológicos de los anfípodos de nuestra latitud con el fin de mejorar el manejo y la aplicabilidad de estas especies tanto para fines de conservación en aquellas especies más sensibles que precisen protección, como para posibles aplicaciones futuras de aquellas que tienen la capacidad de alcanzar altas densidades en sus ambientes naturales pudiéndolas usar para estudios ecotoxicológicos y en acuicultura. La obtención de altas densidades de anfípodos mediante su cultivo bajo condiciones artificiales permitiría usarlos como alimento

para la cría de muchas especies de interés comercial, tales como peces e invertebrados marinos. Por ello es indispensable, como primer paso, conocer cuáles son las especies de anfípodos susceptibles de poder ser cultivadas con facilidad.

El conocimiento del ciclo biológico completo bajo condiciones controladas de la mayoría de las especies de caprélidos que son capaces de alcanzar altas densidades en el sur de la Península Ibérica, favorece su utilización como alimento alternativo en la acuicultura. Tan sólo *Caprella penantis* no consiguió completar su ciclo biológico debido a su carácter más sensible ante los factores ambientales, tales como la concentración de oxígeno o la calidad del agua, ya que esta especie suele encontrarse en zonas limpias con un alto hidrodinamismo (Guerra-García y García-Gómez, 2001), siendo un buen bioindicador de las condiciones ambientales de la zona (Guerra-García *et al.*, 2009b). El resto de especies utilizadas: *Caprella grandimana*, *Caprella equilibra*, *Caprella dilatata* y *Phtisica marina* pueden encontrarse en ambientes con bajo hidrodinamismo y alta carga orgánica (Sánchez-Moyano y García-Gómez, 1998; Conradi *et al.*, 1997; Masunari y Takeuchi, 1996; Fiorencis, 1940) siendo más resistentes ante los factores desfavorables que aparecen durante las etapas de altas densidades en los cultivos.

En general los ciclos biológicos de los caprélidos fueron muy similares entre ellos, independientemente del género al que pertenecieron. La temperatura reguló su tiempo de maduración y generación obteniéndose resultados similares a los obtenidos en otras especies de diferente latitud mantenidas a la misma temperatura (Takeuchi e Hirano, 2001, 2002). *Caprella grandimana* que originalmente fue estudiada a la temperatura media del Estrecho de Gibraltar, inferior a los 20°C, mostró tiempos de desarrollo más lentos que el resto de especies. Para los caprélidos estudiados, es necesario de una media de 27 días para lograr su maduración a 20°C y tan solo de 3 días para el desarrollo embrionario, sumando un periodo generacional de 30 días. En el caso de los gammáridos, se ha comprobado que este periodo de generación es más largo aunque permanezcan a la misma temperatura (Nair y Anger, 1979a, b; Neuparth *et al.*, 2002; Pöckl *et al.*, 2003; Aravind *et al.*, 2007). Por ejemplo *Jassa falcata* necesitó 79 días para originar su primera descendencia; *Corophium insidiosum*, 36 días; *Gammarus locusta*, 42 días; *Eriopisa chilensis* a 26°C, 51 días; *Gammarus fossarum* y *G. roeseli*, 150 días. Según Takeuchi *et al.*, 2001, una de las causas de este retraso en el desarrollo de los gammáridos puede ser debido a la presencia de los apéndices abdominales usados para la locomoción y para la creación de la corriente respiratoria, ausentes en los caprélidos, por lo que en cuanto a la rapidez en el cierre del ciclo biológico, los caprélidos presentan una mayor ventaja frente a los gammáridos para su cultivo.

El uso de los caprélidos en la acuicultura todavía se encuentra en una fase muy inicial. Hasta la fecha no se conocía ningún trabajo que llevara a cabo el cultivo de estas especies para la obtención de alimento para la acuicultura, y además no se conocía el efecto que tendrían sobre los animales alimentados, sin embargo sí se tiene constancia de algunos trabajos en los que se observa cómo aquellas especies de peces que se alimentaban de caprélidos en su medio natural, alcanzaban una longitud corporal mayor, tenían su primera descendencia antes, y tenían una vida fértil más larga que aquellas que vivían en zonas cercanas sin caprélidos y por tanto que no se alimentaban de ellos (Holbrook y Schmitt, 1992).

En general, una especie susceptible de ser usada como alimento debe de cumplir una serie de características básicas:

- Ser una fuente de alimento natural para la especie que queremos cultivar.
- Poseer una morfología adecuada, tener una buena palatabilidad y un tamaño adecuado para el organismo a alimentar.
- Contener un valor nutricional alto, o en su defecto poder ser enriquecido.
- Ser capaz de alcanzar densidades poblacionales altas, con crecimiento rápido y madurez sexual temprana, y presentar periodos entre eventos reproductivos cortos para maximizar la recolección desde su ambiente natural, o desde la producción del cultivo.
- Ser fácilmente alimentada, con una fuente de alimento barata,
- Presentar la capacidad de resistir frente a fluctuaciones en el medio, para evitar los “Crashes” en los cultivos, y
- que pueda ser almacenada hasta el momento de su uso.

Los caprélidos cumplen con estas características básicas; Se caracterizan por constituir una fuente de alimento de las especies marinas en su ambiente natural. Poseen altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados, particularmente del ácido eicosapentanoico (EPA) y docosaexanoico (DHA), además de altos niveles de fosfolípidos y proteínas. Alcanzan altas densidades poblacionales y de biomasa. Su ciclo biológico se caracteriza por un crecimiento rápido, con una relativa rapidez para alcanzar la madurez sexual, periodos cortos entre reproducciones para la producción de nueva descendencia, y salida de nuevos individuos totalmente formados de la bolsa de incubación de la hembra. Pueden colonizar estructuras artificiales rápidamente, y en algunas ocasiones llegan a alcanzar densidades superiores a las encontradas en los sustratos naturales circundantes. Son capaces de utilizar una gran variedad de alimentos, considerándose organismos oportunistas. Muchas especies son capaces de tolerar un amplio rango de variables ambientales, y resisten las

condiciones desfavorables del cultivo. En el caso de no usarse como alimento vivo, los individuos liofilizados pueden almacenarse para su posterior uso cuando sea necesario, sin la pérdida de sus propiedades nutritivas.

Por lo tanto, los caprélidos cumplen todas las características que debe de presentar una buena fuente de alimento con calidad. En nuestro estudio, las especies de caprélidos usadas para el estudio del ciclo biológico, no destacaron por su alta fecundidad, sin embargo, como se ha comprobado, el uso de especies de caprélidos de mayor longitud corporal, favorecería la mayor fecundidad de sus hembras, además de que la gran variedad de tamaños presentes en el suborden Caprellidea, permitiría elegir entre aquellos que más se adecuaban a las preferencias del organismo que quisieramos alimentar. En el caso de su uso como alimento para la cría de juveniles de *Sepia officinalis*, los resultados revelaron que los gammáridos producían un mayor crecimiento que los caprélidos, sin embargo, la supervivencia de los juveniles seguía siendo adecuada alimentándolos con caprélidos, por lo que su uso no debería de ser descartado. Quizá la utilización de otras especies, más delgadas y pequeñas, tales como *Phtisica marina*, que se adecuaban mejor a las necesidades de los juveniles de sepia, favorecería el crecimiento de esta, al igual que lo hicieron los gammáridos.

Las especies de gammáridos usados para el cultivo de los juveniles de cefalópodos, fueron las especies más abundantes en las áreas cercanas donde se pudieron realizar los experimentos. Por ello para estos estudios, se utilizaron especies que no son típicas de las costas del Sur de la Península Ibérica, tales como *Hyalé media* e *Hyalélla azteca*. *Hyalélla azteca* ha sido utilizada en multitud de estudios como especie bioindicadora, por ello existe muchos trabajos sobre su dinámica poblacional en ambientes naturales (Cooper, 1965; Moore y Farrar, 1996; Wen, 1992) y se han realizado multitud de investigaciones relacionadas con el mantenimiento y la producción en acuarios para proporcionar los individuos necesarios para la realización de los experimentos ecotoxicológicos (Nelson y Brunson, 1995; Shuhaimi y Pascoe, 2001).

Para el cultivo de cefalópodos, ha sido la primera vez que se han utilizado anfípodos, obteniéndose unos resultados muy favorables y esperanzadores para el cultivo de los cefalópodos. Otras especies de difícil cultivo debido a la necesidad de alimentarlas con alimento vivo, no solo a nivel acuícola, sino también a nivel ornamental, podrían verse favorecidas por el uso de estos organismos, tales como peces ornamentales o los caballitos de mar. Con estos últimos se conoce que los caprélidos son un alimento muy beneficioso para su crecimiento (Giwojna, 2005), por lo que son necesarios más estudios para conocer

la potencialidad que estos organismos pueden alcanzar como alimento alternativo en la acuicultura.

Caprella scaura mostró ser una especie de fácil cultivo bajo condiciones controladas de crecimiento, obteniéndose altas densidades sobre diferentes substratos artificiales y con una alta fecundidad. Esta especie fue descubierta recientemente en los ecosistemas portuarios del Sur de la Península Ibérica, y se caracteriza por su gran tolerancia a las fluctuaciones naturales del medio, encontrándose durante todos los meses del año y en grandes densidades en los sistemas portuarios (Guerra-García *et al.*, 2011). *Caprella scaura* ha sido considerada una especie invasora por la mayoría de los estudios realizados; a pesar de ser nativa del Océano Índico Occidental su rápida expansión ha hecho que esté presente en casi todos los océanos del mundo (Martínez y Adarraga, 2008). Entre las vías de dispersión más probables se encuentra el tráfico de buques y el traslado de las jaulas de acuicultura, donde los caprélidos alcanzan unas densidades elevadas (Ashton, 2006). Sin embargo, sus efectos negativos sobre los ecosistemas ocupados todavía no han sido demostrados. Aún así, es muy importante añadir una nota de precaución para aquellos lugares en donde esta especie todavía no está presente.

Por ello sería interesante realizar el mismo estudio con otras especies tales como *C. equilibra* y *C. dilatata*. Estas especies también fueron mantenidas en acuarios de pequeña escala (10L) para ver como evolucionaba la población en un periodo de tiempo corto, obteniéndose tasas de crecimiento adecuadas, y un alto número de juveniles. En el caso de *C. dilatata*, la población se multiplicó por 20 en 45 días, y el 51% de los individuos fueron juveniles. Lo que indicaría que si el cultivo hubiera permanecido durante más tiempo, el crecimiento habría sido exponencial (Observaciones personales). Por todo ello, sería muy interesante realizar el cultivo de estas especies a media-gran escala para conocer su potencialidad. *Phtisica marina* sería otra especie de gran interés para ser cultivada en grandes densidades, ya que es una de las especies más abundantes en el interior del digestivo de muchas especies marinas tanto juveniles como adultas de pequeño tamaño (Ver figura 2, en Introducción y objetivos generales).

Los anfípodos además de servir como fuente de alimento, también podrían usarse en fenómenos de biorremediación. El hecho de que estos organismos tengan una dieta tan variada, llegando a ser en su mayoría oportunistas, permitiría utilizar los excedentes de comida de otros cultivos paralelos, e incluso sus deshechos, alimentando de forma económica al cultivo de anfípodos, y además eliminando el excedente de materia orgánica

que es liberada al ambiente por las piscifactorías y las jaulas de acuicultura. Los gammáridos son vendidos en páginas web como organismos detritívoros, para eliminar los excesos de comida de los acuarios, incluso existe una patente en la que los usa como biofiltros para los acuarios vendiendo colonias de gammáridos de la especie *Hyaella azteca*, (Handwerker *et al.*, 1995). Las colonias de *Hyaella* crecen en el interior de los filtros y se alimentan de los restos y desechos de comida que se van acumulando en el filtro. Esto hace que los poros de los filtros no se colmaten tan rápidamente y se reduzca el mantenimiento de limpieza que debe de hacerse para evitar que se produzca anaerobiosis por la colmatación del filtro. En cuanto a los caprélidos, Rensel y Forster (2007) descubrieron una transferencia directa del nitrógeno de las jaulas de peces de acuicultura a los caprélidos que vivían asociados a ellas, de esta forma las jaulas suministran el sustrato y el alimento, mientras que los caprélidos proporcionan una fuente de alimento y a su vez un mecanismo de biorremediación de los excesos de materia orgánica.

Por todo ello, sería muy interesante llevar a cabo el cultivo de los anfípodos (tanto gammáridos como caprélidos), ligándolos a fenómenos de biorremediación, permitiendo el crecimiento de estos organismos a partir de una fuente de alimento barata, a la vez que se consigue reducir el impacto de la actividad acuícola sobre el medio. Esto entraría a formar parte de la actual Acuicultura Multitrófica Integrada, donde el residuo generado de un cultivo sirve para la producción de otro (Ridler *et al.*, 2007). Los caprélidos además de encontrarse en grandes densidades sobre las estructuras artificiales como las jaulas de acuicultura, también suelen encontrarse asociados a las estructuras de los cultivos multitróficos integrados situados en mar abierto. El efecto que producen los caprélidos en estos sistemas parece ser positivo, ya que se alimentan de las esporas y de las estructuras de organismos epífitos que colonizan la superficie de los frondes de las algas y de los mejillones cultivados causando un efecto positivo en ellos. Por ejemplo, en un estudio realizado con *Caprella irregularis*, se inocularon varios individuos sobre una línea de cultivo del alga *Gracilaria asiatica* en una granja en mar abierto y se observó cómo los caprélidos previnieron el crecimiento de epífitos sobre el alga, sobre todo del alga epífita *Enteromorpha linza* (Brawley and Fei, 1987), y al mismo tiempo servían como alimento para los peces de la especie *Sebastes thompsoni*. Duffy (1990) también encontró que *C. penantis* reducía el crecimiento de epífitas sobre *Sargassum filipendula* favoreciendo el fitness del alga y Paetzold *et al.* (2008) defendió que los caprélidos podrían favorecer el crecimiento de los mejillones en la región de la Isla de Prince Edward en Canadá, porque actuaban como microdepredadores de las larvas de una especie de ascidia (*Styella clava*) no nativa de la zona, que estaba causando graves problemas en el cultivo del mejillón. Por todo ello, la presencia de caprélidos aporta ciertas ventajas a este tipo de cultivos favoreciendo su bienestar, siendo al

mismo tiempo utilizados como fuente de alimento para otros. Por ello, sería de gran interés realizar el cultivo de caprélidos también ex-situ, directamente en el mar abierto, donde podrían colocarse líneas de cuerdas o paneles, exclusivamente para el crecimiento de estos organismos, situadas cerca de algún cultivo que tuviera excedentes de materia orgánica para poderse alimentar, tales como las jaulas de peces. Estas estructuras una vez cubiertas por caprélidos podrían recolectarse directamente e introducirse en otros tanques para servir como alimento vivo natural para otros cultivos, y posteriormente podrían devolverse al medio junto con el resto de cuerdas o paneles para ser de nuevo colonizadas por los individuos. En el caso de que no se quisieran usar como alimento vivo, los individuos podrían separarse mediante la adición de soluciones irritantes inocuas como una solución muy diluida de ácido acético, para favorecer su separación de las estructuras, y una vez separados podrían emplearse para la elaboración de suplementos alimenticios o deshidratarse para poder almacenarlos hasta su uso.

En el caso de los gammáridos, a diferencia de los caprélidos, estos no se agarran tan firmemente con sus pereiópodos al sustrato, ya que la presencia de pleópodos les favorece la natación entre unos sustratos y otros con gran rapidez, por lo que su cultivo en mar abierto sería muy complicado. En este caso el cultivo debería llevarse a cabo en tierra con grandes tanques de cultivo. Además, muchas de las especies de gammáridos presentan una alimentación muy variada y oportunista, lo que permitiría su uso como organismo biorremediador al igual que con los caprélidos. Su cultivo en sistemas de recirculación cerrado permitiría que se alimentaran de los restos orgánicos de otros cultivos, reduciendo su propio coste asociado a la alimentación además de que mejoraría la calidad del agua en el sistema de cultivo actuando como un segundo sistema de filtrado.

Todas estas ideas, muestran el gran potencial que los anfípodos pueden llegar a tener en la acuicultura tanto a nivel de cultivo in situ como ex-situ. Por lo que ahora que sabemos que los anfípodos de nuestros ecosistemas pueden llegar a alcanzar altas densidades, y además pueden ser mantenidos bajo condiciones controladas hasta completar su ciclo biológico sin dificultad, el siguiente paso debería estar enfocado en la optimización del cultivo de estas especies de anfípodos, tanto de gammáridos, como de caprélidos, lo que proporcionaría una herramienta más para complementar las técnicas de la acuicultura actual tanto a nivel de la alimentación como en la de la biorremediación.

4.26 BIBLIOGRAFÍA

- Aravind NP, Sheeba P, Nair KKC & Achuthankutty CT (2007) Life history and population dynamics of an estuarine amphipod, *Eriopisa chilkinsis* Chilton (Gammaridae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 74: 87-95.
- Ashton GV (2006) Distribution and dispersal of the non-native caprellid amphipod, *Caprella mutica*, Schurin 1935. PhD thesis, University of Aberdeen, Scotland.
- Conradi M, López-González PJ, García-Gómez JC (1997) The amphipod community as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula) based on a spatio-temporal distribution. *PSZN Marine Ecology*, 18: 97-111.
- Cooper WE (1965) Dynamics and production of a natural population of a fresh-water amphipod, *Hyalella azteca*. *Ecological Monographs*, 35: 377-394.
- Fiorencis A (1940) I Caprellidi del mare Adriatico presso Rovigno. *Thalassia*, 4: 1-34.
- Guerra-García JM & García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *PSZN: Marine Ecology*, 22: 357-367.
- Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Espinosa F & García-Gómez JC (2009a). Is the north side of the Strait of Gibraltar more diverse than the south side? A case study using the intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89: 387.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Díaz-Pavón JJ, Pacios I & García-Gómez JC (2009b) The amphipods *Caprella penantis* and *Hyale schmidtii* as biomonitors of trace metal contamination in intertidal ecosystems of Algeciras Bay, Southern Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 58: 783-6.
- Guerra-García JM, Ros M, Dugo-Cota A, Burgos V, Flores-León AM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP & Núñez J (2011) Geographical expansion of the invader *Caprella scaura* (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) to the East Atlantic Coast. *Marine Biology*: 2617-2622. doi:10.1007/s00227-011-1754-z.
- Guerra-García JM, Ros M, Izquierdo D & Soler-Hurtado MM (2012) The invasive *Asparagopsis armata* versus the native *Corallina elongata*: Differences in associated peracarid assemblages. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*: 416-417.

- Izquierdo D & Guerra-García J (2010) Distribution patterns of the peracarid crustaceans associated with the alga *Corallina elongata* along the intertidal rocky shores of the Iberian Peninsula. *Helgoland Marine Research*, 65: 233-243.
- Krapp-Schickel G (1993) Do algal-dwelling amphipods react to the 'critical zones' of a coastal slope?. *Journal of Natural History*, 27: 883-900.
- Kurun A, Ayfer B & Balkıs H (2006) The dominant amphipod species found on the coast of the Marmara Island (Marmara Sea). Poster presentado en XV International Colloquium on amphipoda.
- Martínez J & Adarraga I (2008) First record of invasive caprellid *Caprella scaura* Templeton, 1836 sensu lato (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) from the Iberian Peninsula. *Aquatic Invasions*, 3: 165–171. doi:10.3391/ai.2008.3.2.6.
- Masunari S & Takeuchi I (2006) Redescription of *Caprella dilatata* Krøyer, 1843 (Caprellidae: Amphipoda: Crustacea) from Brazil, with note on its biogeographical distribution in South America. *Zootaxa*, 1298: 49-60.
- Moore DW & Farrar JD (1996) Effect of growth on reproduction in the freshwater amphipod, *Hyaella azteca* (Saussure). *Hydrobiologia*, 328: 127-134.
- Nair KKC & Anger K (1979a) Experimental studies on the life cycle of *Jassa falcata* (Crustacea , Amphipoda). *Helgoländer wiss. Meeresunters*, 32: 444–452.
- Nair KKC & Anger K. (1979b) Life cycle of *Corophium insidiosum* (Crustacea, Amphipoda) in laboratory culture. *Helgoland Marine Research*, 32: 279–294.
- Nelson M & Brunson E (1995) Postembryonic growth and development of *Hyaella azteca* in laboratory cultures and contaminated sediments. *Chemosphere*, 31: 3129–3140.
- Neuparth T, Costa FO & Costa MH (2002) Effects of temperature and salinity on life history of the marine amphipod *Gammarus locusta*. Implications for ecotoxicological testing. *Ecotoxicology* (London, England), 11(1): 61–73. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11895015>.
- Pacios I, Guerra-García JM, Baeza-Rojano E & Cabezas MP (2011) The non-native seaweed *Asparagopsis armata* supports a diverse crustacean assemblage. *Marine Environmental Research*. 71(4): 275–82. doi:10.1016/j.marenvres.2011.02.002.
- Pereira SG, Lima FP, Queiroz NC, Ribeiro PA & Santos AM (2006) Biogeographic patterns of intertidal macroinvertebrates and their association with macroalgae distribution along the Portuguese coast. *Hydrobiologia*. 555, 185-192.

- Pöckl M, Webb B & Sutcliffe D (2003) History and reproductive capacity of *Gammarus fossarum* and *G. roeselii* (Crustacea: Amphipoda) under naturally fluctuating water temperatures: a simulation study. *Freshwater Biology*, (48): 53–66.
- Rensel JE & Forster JRM (2007) Beneficial environmental effects of marine finfish mariculture. Report Prepared for NOAA National Marine Fisheries Service.
- Ridler N, Wowchuk M, Robinson B, Barrington K, Chopin T, Robinson S, Page F, Reid G, Szemerda M, Sewuster J & Boyne-Travis S (2007) Integrated Multitrophic Aquaculture (IMTA): a potential strategic choice for farmers. *Aquaculture Economics & Management*, 11,1: 99-110.
- Sánchez-Moyano JE & García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially crustacean, as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *Journal of Coastal Research*, 14: 1119-1133.
- Shuhaimi MO & Pascoe D (2001) Growth, development and reproduction of *Hyalella azteca* (Saussure, 1858) in laboratory culture. *Crustaceana*, 74: 171-181.
- Takeuchi I & Hirano R (1991) Growth and reproduction of *Caprella danilevskii* (Crustacea: Amphipoda) reared in the laboratory. *Marine Biology*, 110(3): 391-397.
- Takeuchi I & Hirano R (1992) Growth and reproduction of the epifaunal amphipod *Caprella okadai* Arimoto (Crustacea: Amphipoda: caprellidea). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 161: 201–212.
- Wen YH (1992) Life history and production of *Hyalella azteca* (Crustacea; Amphipoda) in a hypereutrophic prairie pond in southern Alberta. *Canadian Journal of Zoology*, 70: 1417-1424.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONS

1. A total of 25749 individuals belonging to 46 peracarids species, were identified associated to the intertidal macroalgae of Tarifa Island. The most abundant order with a total number of 32 species and 89% of the total individuals were the amphipods. The genera *Hyale* and *Caprella* were the best represented.
2. *Hyale stebbingi*, *H. schmidtii*, *H. perieri*, *Stenothoe monoculoides*, *Caprella penantis*, *C. grandimana*, *Dynamene edwardsii* e *Ischyromene lacazei*, were the most abundant peracarids species along the 5 intertidal levels and they were presented throughout the two years of study. The highest peracarid densities were measured in April-August coinciding with the highest development of seaweeds, *Caprella penantis* reached densities higher than 10000 individual/m² in the first level and *Hyale stebbingi* more than 8000 individuals/m² in the intermediate levels during the summer months.
3. *Caprella grandimana* turned out to be more resistant than *Caprella penantis* during their culture under laboratory conditions. Unfavourable factors such as water quality and low oxygen concentration in small containers, could have affected the high mortality rate in the juveniles of *C. penantis*.
4. Life cycle of *C. grandimana* was completed, being the first time that a Mediterranean species has been successfully reared under laboratory conditions. It was characterized by a high survival of the juveniles under laboratory conditions, long-lived females, and growth rates higher in males than in females. Females reached the mature stage at Instar V and VI with a mean of 38.4 days at 17°C, the generation period was 49 days, and the incubation time of 10 days. The reproduction was continuous until they died with a mean of eggs produced by each female in each reproduction event of 7.6 and a number of offspring emerged of 5. There was a significant correlation between the average length of the female in each instar and the number of eggs and offspring produced per brood.

5. Three of the most abundant species of the Strait of Gibraltar; *Caprella equilibra*, *Caprella dilatata* and *Phtisica marina*, were studied under laboratory conditions, completing their life cycles totally. *Caprella equilibra* and *C. dilatata* belonging to the Caprellidea family showed similar biological characteristics than *P. marina*, of the Phtisicidae family. The generation period at 20°C was 29-34 days, reaching the sexual maturity in females at 20-34 days and with an incubation time of 3-6 days. The average number of hatched emerged from the brood pouch after each reproductive period ranged between 9 and 13. Females had a maximum number of 4 reproductive events, with a total number of 46-53 offspring throughout their complete cycle. Moulting rates were continuous during the whole life cycles with the highest number of moults in females, however, males had a growth rate and a number of flagellar articles in antenna 1 higher than females. There was not a marked maternal care in females. Juveniles after the emergence from the brood pouch stayed near the female for protection, but no juveniles were seen clinging to the mother more than some hours. *Phtisica marina* used their pereipods 3 to 5 during the pre-copulatory behavior, allowing males to carry the females until the fecundation.
6. Protein and ash were the most abundant components in the 4 gammarid and 4 caprellid amphipods from the Strait of Gibraltar with more than 30% of dry weight, while lipids and carbohydrates showed less than 10% dry weight. Not significant differences were found in the general chemical composition between amphipods species.
7. Caprellids were characterised by a higher percentage of polyunsaturated fatty acids than gammarids. The fatty acids 22:6(n-3) and 20:5(n-3) were more abundant in caprellids, while 18:1(n-9) was more abundant in gammarids. Freshwater gammarids had the highest proportion of n-6 fatty acids and the highest relation monounsaturated/polyunsaturated, showing their low contribution in polyunsaturated. According to lipid classes, caprellids were characterized by higher phospholipid levels and lower triacylglycerol levels, as well as a higher content of polar lipids than the gammarids. In accordance with these lipid results, caprellids are more suitable than gammarids for their use as food for elaborated diets, or as live food for juveniles or larval of economic interest in aquaculture.

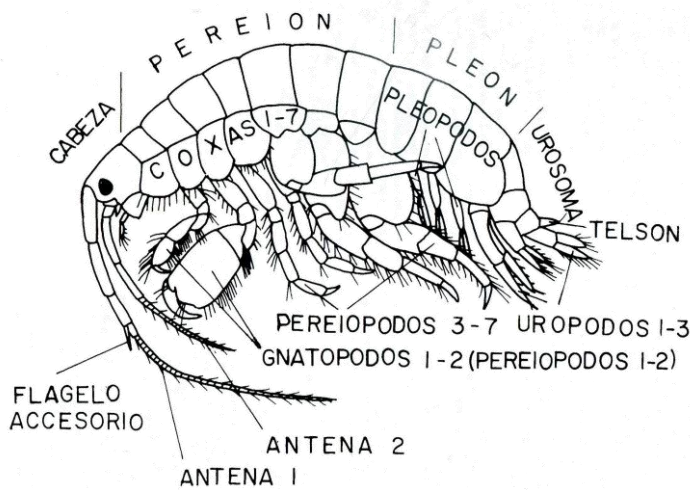
8. Gammarid amphipods can be used as an alternative live prey to mysids in the cuttlefish hatchlings culture. Cuttlefish hatchlings fed with mysids and gammarids grew faster compared to caprellids. However, survival with caprellids was also acceptable. Differences obtained between gammarids and caprellids could be also related to the different activity patterns. Gammarids which continuously swam from one place to another were probably more conspicuous for hatchlings, attracting their attention more than caprellids.
9. *Octopus maya* hatchlings fed with marine gammarids grew larger and had higher survival rate compared with hatchlings fed *Artemia sp.* or freshwater gammarids, thus, marine gammarids are considered an appropriated diet for the culture of early stages of this species. The content of acylglycerides, cholesterol and proteins in *O. maya* fed marine gammarids suggested a better nutrient assimilation by the hatchlings. The higher polyunsaturated fatty acids levels (EPA and DHA) in marine gammarids, possibly contributed to the higher growth rates observed in octopuses. The use of marine gammarids during only the first fifteen days before the use of an artificial diet, enhanced the production and growth of juvenile octopuses, doubling the weight of octopuses compared to those that were fed with *Artemia* or freshwater gammarids.
10. The caprellid amphipod *Caprella scaura* can be readily cultured at high densities with a variety of mesh morphologies allowing more efficient use of tank volume and improved handling. During 3 months of culturing, a maximum density of 10460 individuals m⁻² were obtained; a 50-fold increase of the initial population, being very similar to reported wild populations densities found in the field. The culture was characterized by a stable and well-structured population with a high number of juveniles, followed by mature females and immature males.

ANEXO 1. FICHAS ILUSTRADAS

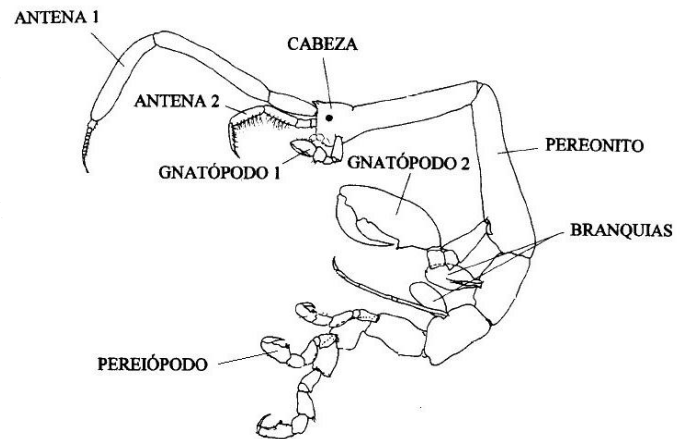
A continuación se detallan las especies de anfípodos y otros crustáceos peracáridos encontrados en todas las muestras analizadas en el capítulo 2 del presente trabajo. Se han añadido, de forma resumida, determinados aspectos de su ecología y distribución geográfica, tanto a nivel mundial, como en la Isla de Tarifa.

1. ESTRUCTURA GENERAL DEL CUERPO EN ANFÍPODOS

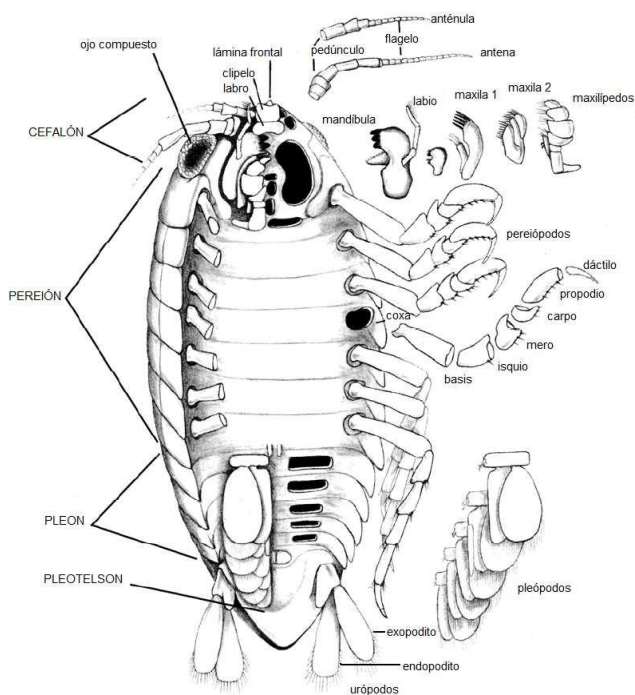
GAMMÁRIDOS:



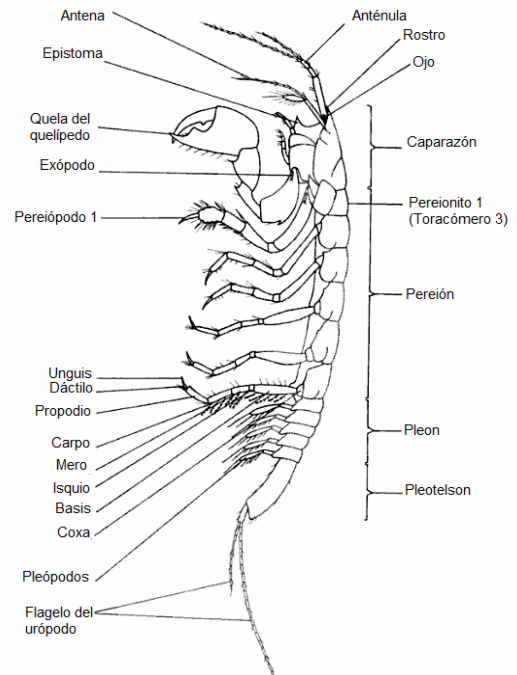
CAPRÉLIDOS:



2. ESTRUCTURA GENERAL EN ISÓPODOS:

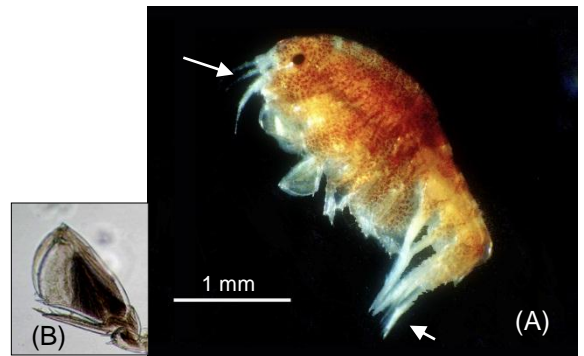
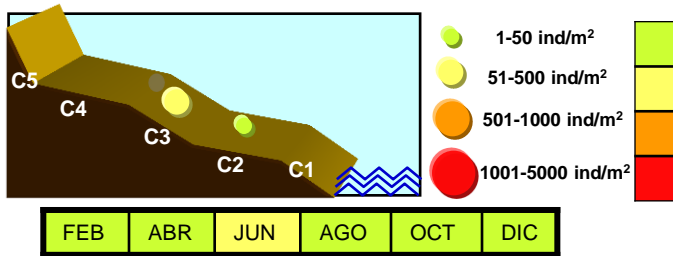


3. ESTRUCTURA GENERAL EN TANAIÓDEOS:



Abreviaturas utilizadas en la descripción morfológica de las fichas: ♂ : Macho, ♀ : Hembra, A1: Primer par de antenas, A2: Segundo par de antenas, Gn1: Primer par de gnatópodos, Gn2: Segundo par de gnatópodos, P: Pereípodos, U1: Primer par de urópodos, U2: Segundo par de urópodos, U3: Tercer par de urópodos.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Amphilochidae
 Género: *Amphilochus* Bate, 1862
 Especie: *Amphilochus neapolitanus* Della Valle, 1893

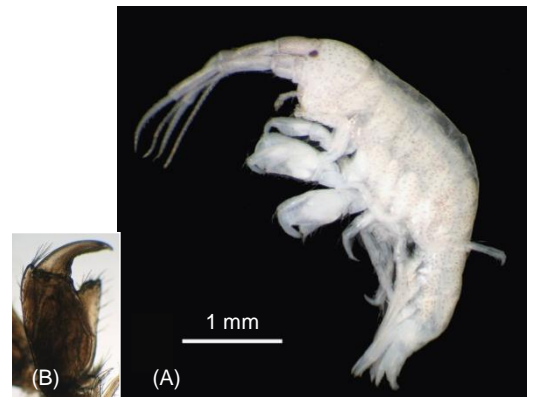
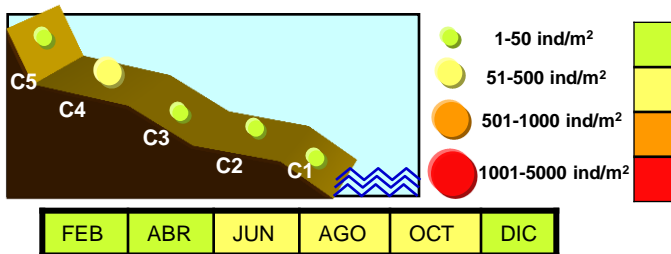


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo y en el océano Indo-Pacífico.
- **Ecología:** Infralitoral a 20 m, raramente a 40 m. En *Cystoseira*, *Sargassum*, rizomas de *Posidonia*, esponjas, raramente en arenas finas. También se ha encontrado en hidroides.
- **Características distintivas:** Cuerpo pequeño, frecuentemente de color pardo, aunque a veces puede presentar dos colores: pardo la parte delantera y blanca la trasera (A). Antenas cortas. Ojos redondeados. Coxa 1 más pequeña y rectangular. Palma del *Gn1* curvado. Esquina anterodistal del *Própodo* del *Gn2* redondeado, carpo proyectándose completamente a lo largo del margen posterior del *Própodo*, lleno de sedas pequeñas (B). Telson triangular con el extremo redondeado.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Ampithoidae
 Género: *Ampithoe* Leach, 1814
 Especie: *Ampithoe ferox* Chevreux, 1902

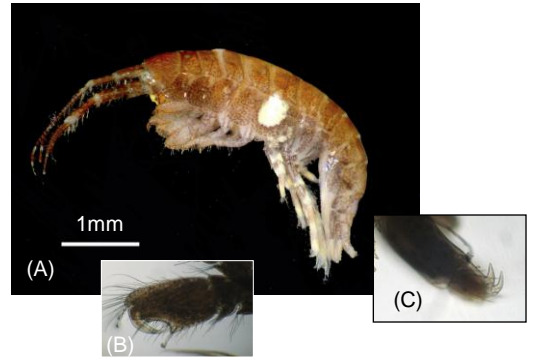
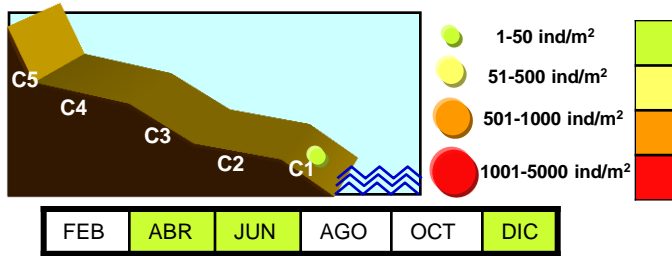


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal noreste Atlántico, presente en el Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Infralitoral. En algas.
- **Características distintivas:** Rostro ausente y A1 sin flagelo accesorio (característica de todo el Género). Ojos pequeños, ovales. A1 más larga que la mitad de la longitud del cuerpo, sólo un poco más pequeña que la A2 (A). *Gn1* presentando un gran lóbulo anterodistal. Base del *Gn2* con un gran lóbulo (B), carpo triangular; *Própodo* subrectangular; palmo claramente definido con 2 cortas excavaciones circulares, con un diente en su extremo distal.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Ampithoidae
 Género: *Ampithoe* Leach, 1814
 Especie: *Ampithoe ramondi* Audouin, 1826

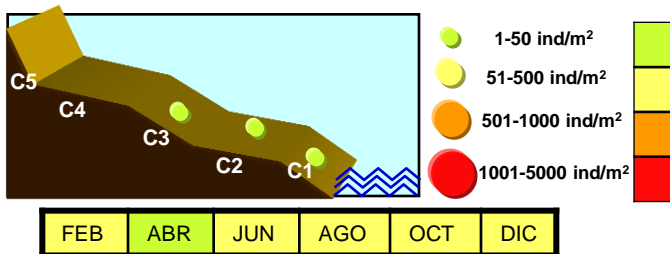


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho (C): Rama del urópodo 3.

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Especie cosmopolita, aunque su amplia distribución puede ser el resultado de una taxonomía insuficientemente elaborada.
- **Ecología:** Infralitoral. Vive en tubos gelatinosos y transparentes en algas y fanerógamas.
- **Características distintivas:** Ojos redondeados de tamaño mediano. Gn2 muy robusto, base con un gran lóbulo anterodistal; própodo mas largo que el carpo, caracterizado por un palmo profundamente excavado (sobre todo en los machos), definido por una protuberancia parecida a un diente; própodo densamente setoso (B). Rama externa del urópodo 3 con 2 ganchos revertidos muy marcados (c). Telson con una pequeña protuberancia en cada margen, provisto de 2 sedas grandes y entre 4-6 pequeñas.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Calliopiidae
 Género: *Apherusa* Walker, 1891
 Especie: *Apherusa mediterranea* Chevreux, 1911



(A): Vista lateral de la hembra

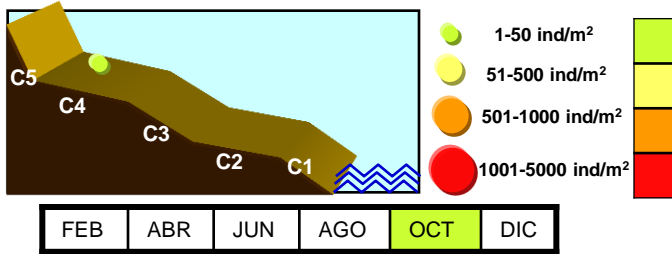
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Zona tropical o templado-cálida del noreste Atlántico, presente en el Mar Mediterráneo
- **Ecología:** Litoral, 0-5 m. Sobre algas y en fondos someros hasta 5 metros de profundidad.
- **Características distintivas:** Ojos grandes, reniformes. A2 más o menos igual a la A1 o un poco más larga. Gnatópodos 1 y 2 similares, palmo definido; carpo aproximadamente tan grande como el própodo. Extremo del telson en forma de lengüeta redondeada distalmente. Fácil de diferenciar de otras especies de gammáridos por la postura de su cuerpo, siempre con el telson dirigido hacia dentro.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Dexaminidae
 Género: *Atylus* Leach, 1815
 Especie: *Atylus massiliensis* Bellan-Santini, 1975



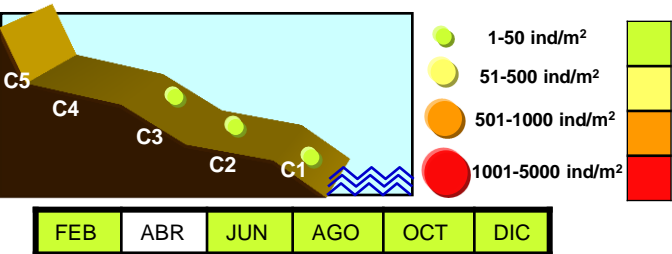
(A): Vista lateral del macho



Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Endémico del Mediterráneo.
- **Ecología:** Muy abundante en sustratos arenosos.
- **Características distintivas:** Rostro redondeado, ojos de tamaño moderado, cuerpo comprimido lateralmente (A), pereión sin diente dorsal. Segmentos del 1 al 3 del pleón con una pequeña espina terminada en una pequeña muesca. Coxa 1-4 rectangular. A1 más larga que la A2, pedúnculo con artejo 1 más corto igual al artejo 2.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Gammaridae
 Género: *Elasmopus* A. Costa, 1853
 Especie: *Elasmopus pocillimanus* (Bate, 1862)



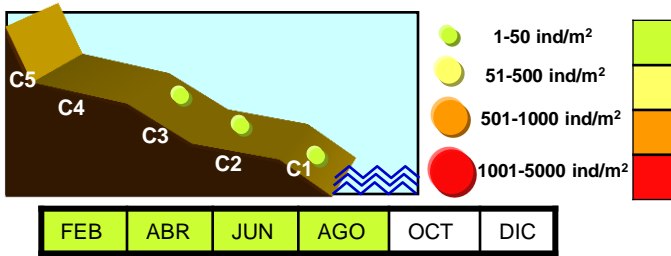
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



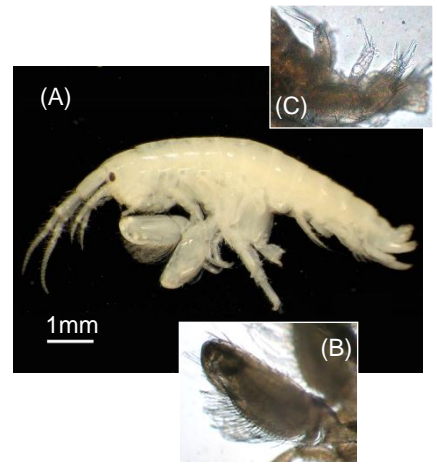
(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho
 (C): U3 y telson del macho.

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo y en el Océano Indo-Pacífico
- **Ecología:** Infralitoral, entre 5-50 m. En algas y sustrato "coralígeno", a veces junto con *E. rapax* y *E. brasiliensis*.
- **Características distintivas:** Cuerpo liso. Ojos ovoides (A). A1 más larga que A2. Gn1 mucho más pequeño que el Gn2. Carpo del Gn2 corto; própodo grande, más largo que ancho, con pocas sedas; palmo en la superficie interna del própodo con una gran excavación en forma de copa; dactilo fuerte, con extremo agudo dirigido hacia dentro de la cavidad (B). U3 corto y robusto, pedúnculo ligeramente más corto que el rami; ramis similares en longitud provisto de espinas. Lóbulos telsónicos redondeados distalmente, con un diente en el margen más externo, y con 2-4 espinas de distinta longitud (C).

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Gammaridea
 Género: *Elasmopus* A. Costa, 1853
 Especie: *Elasmopus vachoni* Mateus and Mateus, 1966



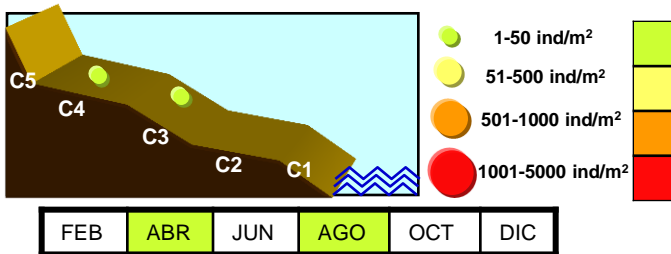
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



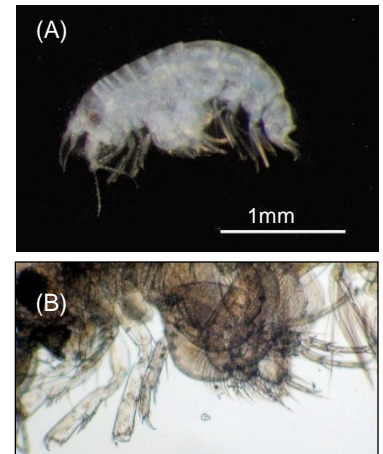
(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho (C): U3 y telson del macho.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo
- **Ecología:** En algas. Muy abundante en *Cystoseira*.
- **Características distintivas:** Cuerpo liso. Ojos ovoides. A1 más pequeña que A2 (A). Gn1 mucho más pequeño que el Gn2. Gn2 densamente setoso (B). Carpo del Gn2 corto; própodo grande, alargado; palmo oblicuo y densamente setoso, con tubérculos proximales; dactilo falciforme, largo. U3 corto, pedúnculo más largo que el rami, ambos ramis uniarticulados, espinosos, rama interna ligeramente más corta que la externa. Telson corto, más ancho que largo, cada lóbulo con 3 espinas distales fuertes (C).

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Dexaminidae
 Género: *Dexamine* Leach, 1814
 Especie: *Guernea coalita* (Norman, 1868)



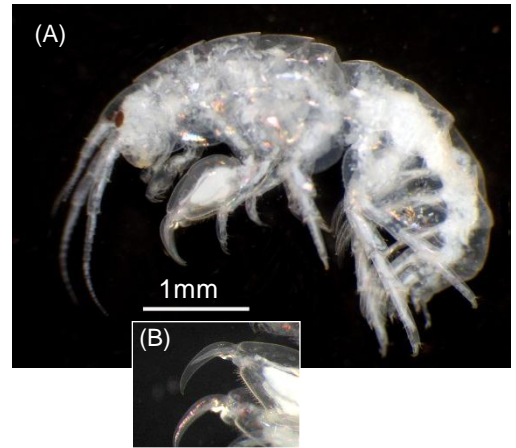
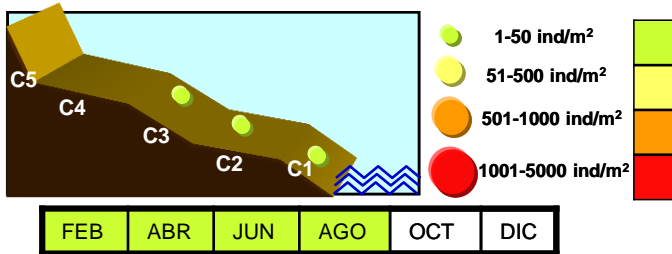
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista lateral del macho (B): Coxa 5 y Gn2 del macho.

- **Distribución:** Océano Ártico, aguas cálidas del Océano Atlántico, y Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Especie encontrada entre algas y sustratos móviles cuando son ricos en arena.
- **Características distintivas:** Lóbulo lateral de la cabeza con forma obtusa, ojos redondeados (A). Pereión redondeado, pleón comprimido, urosoma con una depresión longitudinal dorsal. Coxa 5 muy grande con un gran lóbulo posterior (B); Ep 3 redondeado. A1 corta, sin flagelo accesorio. A2 más larga que la A1. Base del Gn2 menos curvada y estrecha que el Gn1, carpo más largo que el própodo. Base del P7 muy larga, mero y carpo con numerosas setas en ambos lados del margen. Telson ovalado, más corto que largo, acabado con un par de sedas.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale camptonyx* (Heller, 1866)

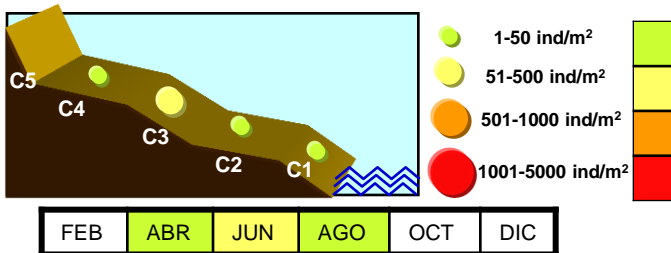


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo y en el océano Indo-Pacífico.
- **Ecología:** Muy común en biotopos algales. Infralitoral, raramente encontrado a 50 m.
- **Características distintivas:** Ojos de mediano tamaño, redondeados. A1 mayor que $\frac{1}{2}$ de la A2; A2 mayor que $\frac{1}{2}$ de la longitud del cuerpo (A). Carpo y mero del Gn2 muy pequeño; própodo grande; palmo espinoso, algo oblicuo, definido por un diente romo y con una cavidad de recepción para el dactilo (B). P5-P7 con base crenulada en su margen posterior. U1-3 corto. Telson mayor que el pedúnculo del U3, ápice romo, estrecho.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale cf. Youngi* Serejo, 2001

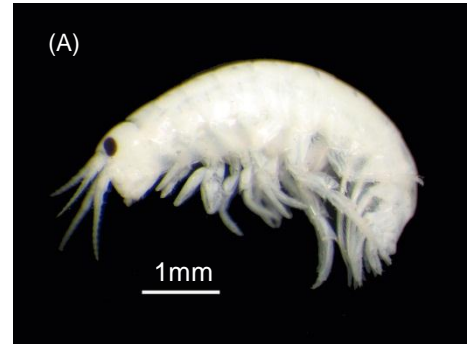
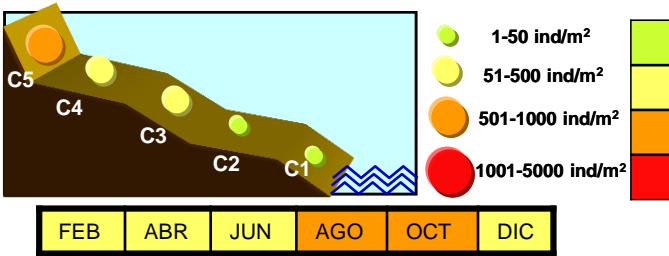


(A): Vista lateral de un juvenil

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Suroeste Atlántico.
- **Ecología:** Especie encontrada en algas del submareal somero.
- **Características distintivas:** Ojos grandes, ovales. Antena 2 alcanzando $\frac{1}{4}$ de la longitud corporal (A). La palma del Gn 2 de machos adultos es recta, paralela al margen anterior con pocas espinas y sedas y moderadamente rugosa. Margen posterior del propodio apenas visible. Dactilo del pereiópodo 3-7 con una seta subterminal muy fuerte y estriada. Pedúnculo del U1 con dos espinas distolaterales bien desarrolladas. U3 con una espina marginal y seis distales.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale perieri* (Lucas, 1849)

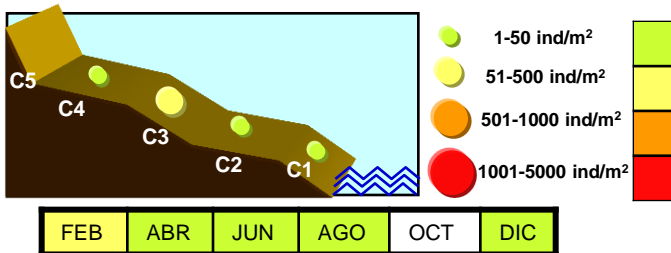


(A): Vista lateral del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal en el noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo.
- **Ecología:** Mediolitoral y parte superior del infralitoral, en biotopo algal.
- **Características distintivas:** 7-15 mm. Ojos reniformes. A1 delgada, tan larga como el pedúnculo de la A2. A2 muy robusta, casi completamente lisa (A). Própodo del Gn1 rectangular, palmo oblicuo: própodo del Gn2 oval, palmo no convexo, oblicuo, bien definido por fuertes espinas, a menudo llevando algunas sedas. Telson liso, mayor que el pedúnculo del U3.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale pontica* Rathke, 1837



(A): Vista lateral del macho (B): P7 con espina

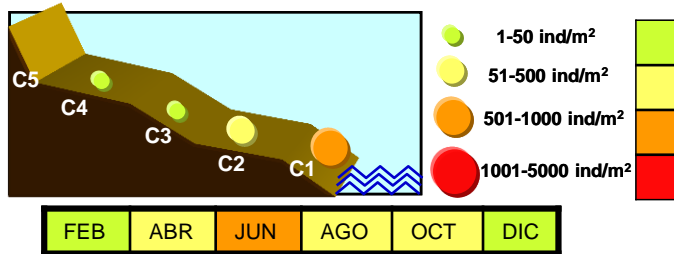
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal en el noreste Atlántico, presente en el Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Encontrado en biotopo algal infralitoral, no muy común.
- **Características distintivas:** Cuerpo pequeño. Ojos ovales. A1 y A2 con fuertes pedúnculos, artejos muy marcados (A). P3-7 fuerte, espinoso, con 1 gran espina cilíndrica en el margen interno del própodo (B); margen posterior liso. Telson mayor que el pedúnculo del U3.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale schmidtii* (Heller, 1866)



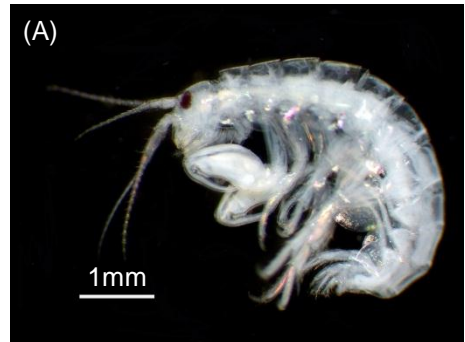
(A): Vista lateral del macho



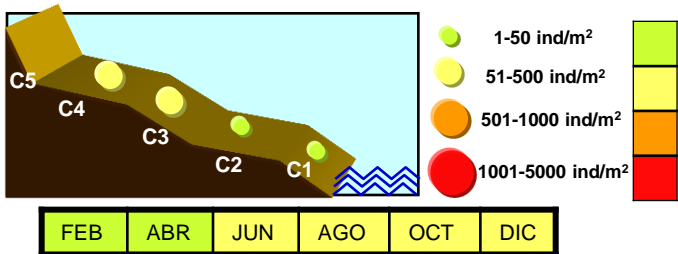
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Zona templado-boreal del noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo
- **Ecología:** En el biotopo algal infralitoral. Es la especie de *Hyale* más común, pudiéndose encontrar más de 25.000 especímenes/m².
- **Características distintivas:** A1 alcanzando aproximadamente la mitad de la A2. A2 = 2/3 de la longitud del cuerpo (A). Própodo del Gn1 rectangular en juveniles, pasando a ensancharse triangularmente conforme incrementa la edad. Própodo del Gn2 oval, palmo apenas definido por 2 pequeñas espinas. P3-7 cortos, espinoso. Telson menor que el pedúnculo del U3.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale spinidactyla* Chevreux, 1926



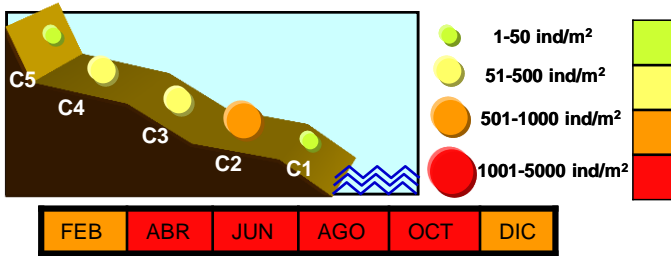
(A): Vista lateral del macho



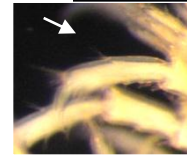
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico
- **Ecología:** En biotopo vegetal: algas y fanerógamas.
- **Características distintivas:** Ojos grandes, ovales. Palma del Gn2 con una pequeña concavidad y un proceso distal cubierto de pequeñas espinas y sedas. Margen posterior del propodio de los P6-7 con un grupo de sedas. Dáctilo de los P3-7 liso en el margen interno, seda subterminal fuerte y estriada pareciendo un dáctilo bifido. Pedúnculo del U1 con dos espinas distolaterales bien desarrolladas. Pedúnculo del U2 con una fila de 7 a 8 espinas en el margen lateral. Rama del U3 con 7 a 8 espinas distales y sin espinas marginales.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Talitridae
 Género: *Hyale* Rathke, 1837
 Especie: *Hyale stebbingi* Chevreux, 1888



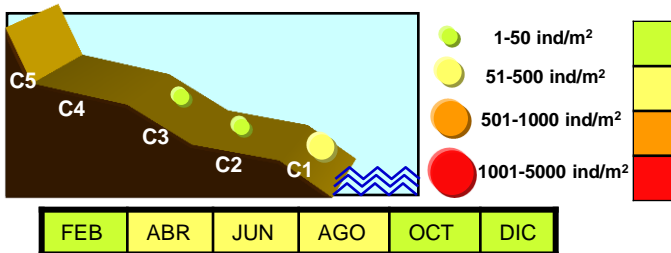
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista lateral del macho (B): Penacho de sedas en el própodo

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo
- **Ecología:** En biotopo vegetal: algas y fanerógamas.
- **Características distintivas:** Ojos pequeños, redondos. A1 fina. A2 con sedas (A). Própodo del Gn1 oval, palmo mal definido. Própodo del Gn2 oval, palmo con espinas y sedas, definido por un ángulo recto. P5-7 cortas y robustas, con algunas espinas, y un penacho de sedas en la parte posterior del própodo (B); dactilo fuerte.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Ischyroceridae
 Género: *Jassa* Leach, 1814
 Especie: *Jassa cadetta* Krapp, Rampin y Libertini, 2008



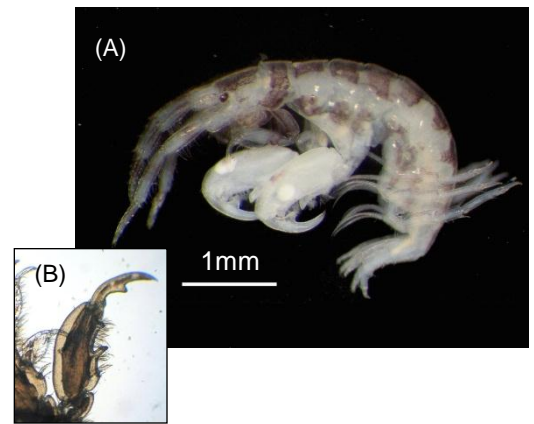
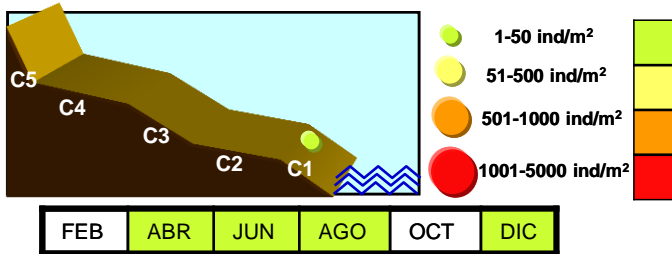
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 de la hembra

- **Distribución:** Mediterráneo.
- **Ecología:** Infralitoral, en algas
- **Características distintivas:** A2 del macho mayor a la mitad del cuerpo. Flagelo con 4 artejos con largas setas plumosas. Margen de la palma del Gn 1 en machos casi tan largo como el propodio. Coxa 2 redondeada en machos y hembras con margen posterior ligeramente más largo que el anterior. El pulgar del Gn 2 de los machos adultos agudo y pronunciado (A). Base escasamente rodeada de sedas. Sedas del telson tan largas como el telson.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Ischyroceridae
 Género: *Jassa* Leach, 1814
 Especie: *Jassa dentex* Chevreux y Fage, 1925

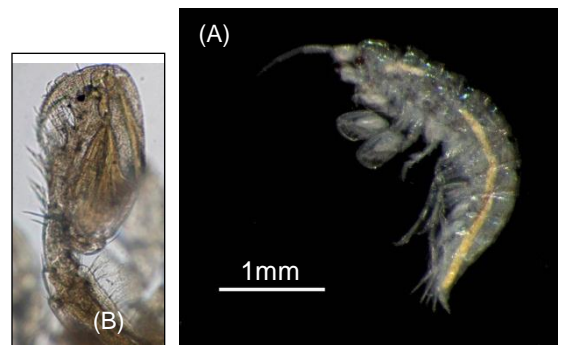
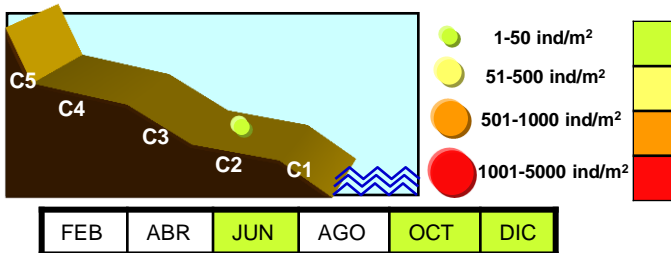


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Endémica del Mediterráneo
- **Ecología:** Poco conocida. Encontrada en algas.
- **Características distintivas:** Dáctilo del Gn2 del macho con un fuerte diente en la mitad del margen interno (B).

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Ischyroceridae
 Género: *Jassa* Leach, 1814
 Especie: *Jassa ocia* (Bate, 1887)



(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

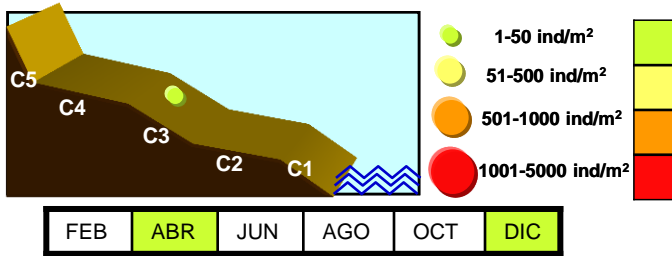
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Zona templado-boreal del noreste Atlántico, presente en el Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Infralitoral, en algas.
- **Características distintivas:** Ojos redondos, parcialmente situados en el lóbulo cefálico (A). Base del Gn2 robusto, margen anterior con largas sedas pectinadas y profundamente excavado en la cara externa; carpo muy reducido, con forma de copa; própodo grande, palmo con 2-3 pequeñas excavaciones próximas y 2 excavaciones posterodistales de mayor tamaño; margen posterior del mero, carpo y própodo con gran cantidad de sedas pectinadas; dactilo robusto (B). Telson con una proyección central alargada y puntiaguda y con unos ganchos laterales.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Lysianassidae
 Género: *Lysianasa* Milne Edwards, 1830
 Especie: *Lysianassa costae* (Milne-Edwards, 1830)



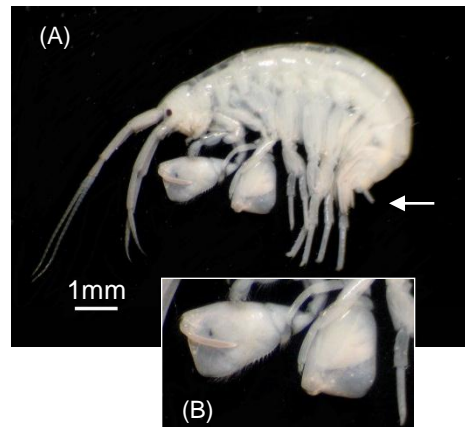
(A): Vista lateral del macho



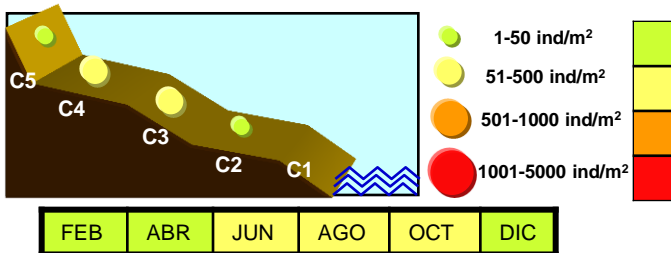
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Zona subtropical o templado-cálida del noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo.
- **Ecología:** En algas de aguas someras, en praderas de *Posidonia* y fondos de *Corallina* a 90 m.
- **Características distintivas:** Antenas cortas (A). Gn1 robusto; mero y carpo del Gn2 fuerte; própodo suboval, con fuertes espinas en forma de peine en su parte anterodistal. La anchura del telson disminuye gradualmente hacia la parte distal, truncado, margen distal recto.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Gammaridae
 Género: *Melita* Leach, 1814
 Especie: *Melita palmata* (Montagu, 1804)



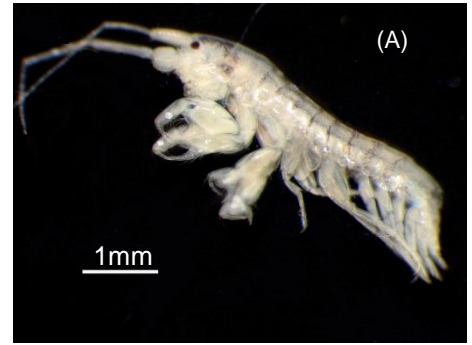
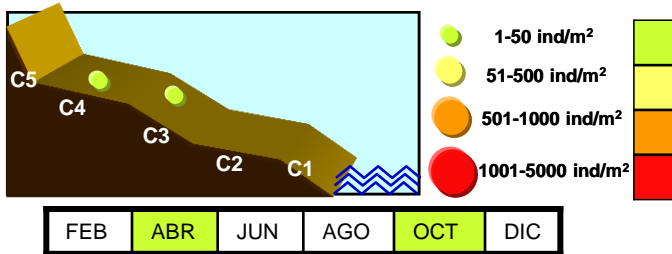
(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,



Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal en el noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo.
- **Ecología:** Intermareal o infralitoral, bajo piedras o en algas, normalmente en localidades con alguna influencia de agua dulce (desembocaduras de ríos, lagos, etc.).
- **Características distintivas:** Ojos pequeños, ovoides. A1 al menos tan larga como el cuerpo (A). Primeros gnatópodos relativamente pequeños. Gn2 muy grande; carpo corto; própodo grande, de estructura trapezoidal característica, pobremente setoso; dactilo estrecho; palmo cruzando la cara interna del própodo, ligeramente más corto que la amplitud de éste (B). U1-2 bien desarrollado, rama externa ligeramente más grande; pedúnculo del U1 sin larga espina distal. U3 sobrepasando el extremo del U1, rama interna como una escala, rama externa marginalmente espinosa. El U3 suele aparecer siempre partido. Lóbulos telsónicos aserrados, con 5-7 espinas distales y dorsales.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Aoridae
 Género: *Microdeutopus* A.Costa, 1853
 Especie: *Microdeutopus chelififer* (Bate, 1862)

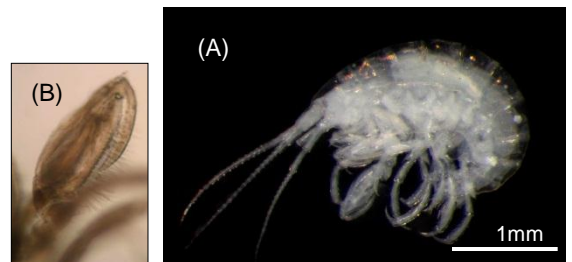
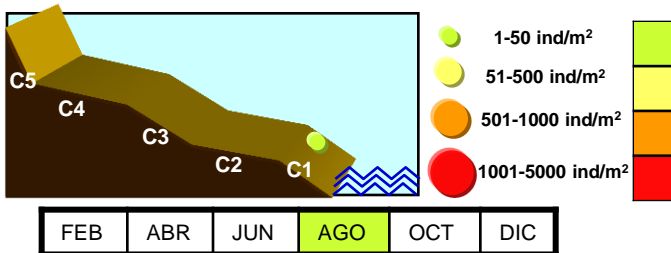


(A): Vista lateral del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo y Mar Negro.
- **Ecología:** Infralitoral. Característico de zonas protegidas poco profundas y con alta acumulación de detritus. Raro en profundidades superiores a 2 m.
- **Características distintivas:** Cuerpo alargado. A1 con más de 15 artejos flagelares, muy fina y larga, de igual longitud o ligeramente mayor que la A2. Artejos pedunculares de la A2 muy gruesos (A). Esquina anterodistal de la coxa 1 saliente y picuda. Base del Gn1 muy grueso, carpo alargado, más largo que ancho, con una proyección curvada en el margen posterior que puede acabar en un diente pequeño más largo, propodio más corto que el carpo, dactilo robusto. La base del propodio del Gn2 también se expande para formar otra proyección curvada. Pedúnculos del U3 de igual longitud.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Stenothoidae
 Género: *Stenothoe* Dana, 1852
 Especie: *Stenothoe dollfusi* Chevreux, 1887

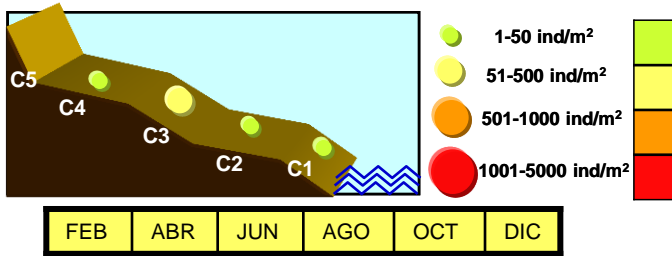


(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho,

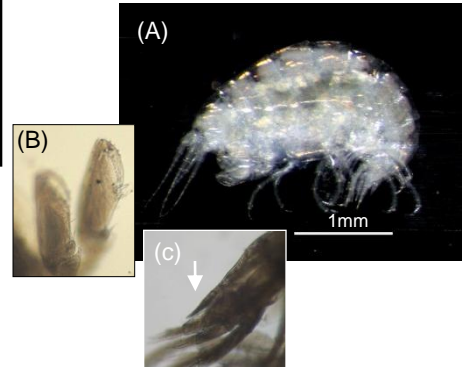
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Océano Atlántico, Mar Mediterraneo.
- **Ecología:** Infralitoral, ocupa el lugar de *Stenothoe gallensis* entre los 3-4 m de profundidad.
- **Características distintivas:** Muy pequeño (3-4 mm). Cuerpo robusto, ojos pequeños, apenas visibles. A1 mayor que ½ longitud del cuerpo (A). Propodio del Gn2 mayor al basis, dactilo igual de largo que el propodio con muchas setas en el margen interno (B). Telson con 2-3 pares de espinas.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Stenothoidae
 Género: *Stenothoe* Dana, 1852
 Especie: *Stenothoe monoculoides* (Montagu, 1813)



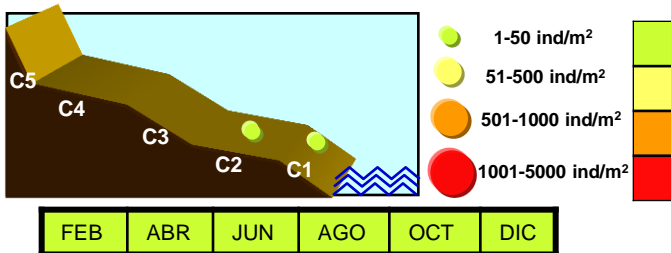
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



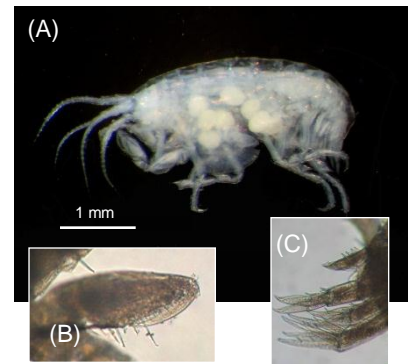
(A): Vista lateral del macho (B): Gn2 del macho
 (C): Telson del macho

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo y en el océano Indo-Pacífico.
- **Ecología:** Litoral; 0-80 m de profundidad. En algas.
- **Características distintivas:** Muy pequeño (1.5-2 mm). Cuerpo robusto, ojos pequeños, apenas visibles. A1 menor que $\frac{1}{2}$ longitud del cuerpo (A). Gn2 parecido al Gn1, pero 2 veces más grande; palmo definido por un grupo de fuertes espinas (B). U3 débil, pobremente espinado. Telson oval, sin espinas (C).

Orden: Amphipoda
 Suborden: Gammaridea
 Familia: Stenothoidae
 Género: *Stenothoe* Dana, 1852
 Especie: *Stenothoe tergestina* Nebeski, 1881



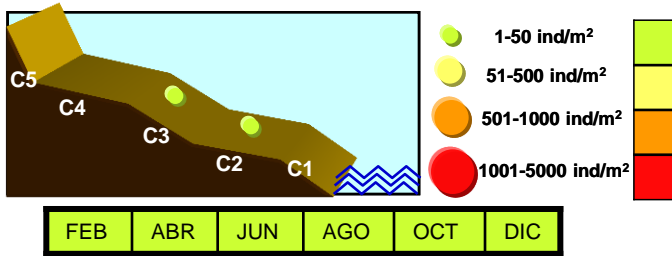
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista lateral de la hembra (B): Gn2 del macho (C): Urópodo 2 y 3 más telson.

- **Distribución:** Zona templado-boreal del Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo.
- **Ecología:** Litoral superior; 0-10 m de profundidad, aunque raramente se encuentra a más de 4 m. Sobre algas sometidas a gran hidrodinamismo.
- **Características distintivas:** Muy pequeño (3 mm). Ojos redondos, apenas visibles. A1 más o menos igual a $\frac{1}{2}$ de la longitud del cuerpo (A). Gn1 robusto. Própodo del Gn2 oval y grande, claramente mayor que la base; palmo poco definido, regularmente curvado; dactilo largo (B). Pereiópodos fuertes, espinosos (a diferencia de *S. monoculoides*). Telson oval, puntiagudo distalmente, con 3-4 pares de espinas laterales (C).

Orden: Amphipoda
 Suborden: Caprellidea
 Familia: Caprellidae
 Género: *Caprella* Lamarck, 1801
 Especie: *Caprella acanthifera* Leach, 1814



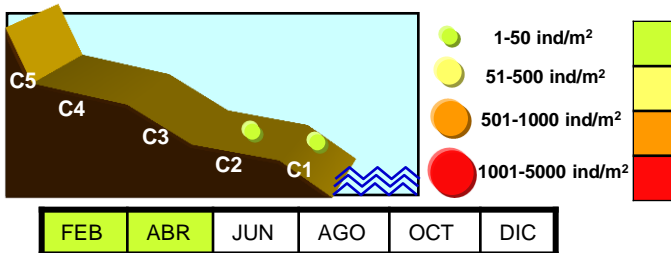
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Amplia distribución latitudinal en el noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo.
- **Ecología:** Mediolitoral hasta sublitoral. Frecuente en comunidades de algas fotófilas, asociada a colonias de demosponjas, hidroides, antozoos, briozoos, ascidias, anémonas y sedimentos biodetríticos de arenas finas y gruesas. Tiene preferencia por zonas con poco hidrodinamismo y ricas en detritos.
- **Características distintivas:** Cabeza convexa, carente de rostro. Cuerpo con numerosas proyecciones dorsales redondeadas (A). A1 más larga que 2/3 de la longitud del cuerpo. Macho: 6-9 mm. Própodo del Gn2 aproximadamente 2 veces más largo que ancho, palmo muy cóncavo. Hembra: 3,3-6 mm. Palmo del Gn2 ligeramente convexo, con un par de espinas proximales y 1 subproximal.



(A): Vista lateral del macho y la hembra

Orden: Amphipoda
 Suborden: Caprellidea
 Familia: Caprellidae
 Género: *Caprella* Lamarck, 1801
 Especie: *Caprella equilibra* Say, 1818



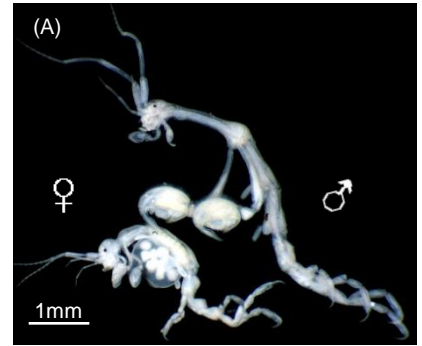
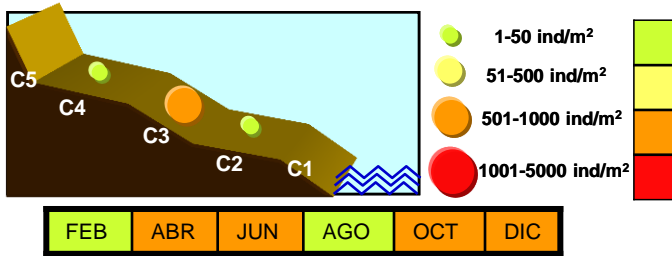
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Cosmopolita.
- **Ecología:** Especie encontrada sobre algas rojas y verdes, posidonia, hidrozoos, esponjas y ascidias. Especie depredadora, de aguas sucias y de poco hidrodinamismo
- **Características distintivas:** Cabeza alargada aplanada anteriormente, con un rostro rectangular. Margen ventral de la A2 con largas sedas. Mxp exterior plano con 3-5 espinas. Carpo del P5-7 sin una fila de pequeños dientes. Una espina ventral entre los Gn2. Pereonito 5 con un par de tubérculos laterales. Base del Gn2 robusto, corto y con carina.



(A): Vista lateral del macho y de la hembra

Orden: Amphipoda
 Suborden: Caprellidea
 Familia: Caprellidae
 Género: *Caprella* Lamarck, 1801
 Especie: *Caprella grandimana* Mayer, 1882

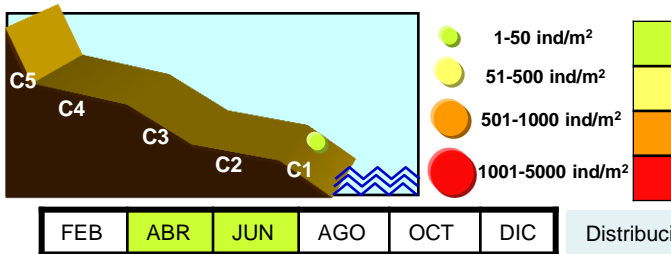


(A): Vista lateral del macho y la hembra

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo, en zonas subtropicales o templado-cálidas.
- **Ecología:** Apenas conocida. Sobre algas, entre 0-10 m de profundidad.
- **Características distintivas:** 5.6-7.9 mm. Muy parecida a *C. hirsuta* excepto en el Gn2 del macho y pereiópodos. Cabeza sin rostro. Cuerpo sin proyecciones dorsales. Macho: Própodo del Gn2 elíptico, con algunas sedas cortas en su margen dorsal; palmo convexo con 1 proyección espinosa que delimita una concavidad formada por un saco membranoso; dactilo corto y robusto. Própodo del P5-7 con 1 par de espinas ("grasping spines") y algunas espinas accesorias distales. Hembra: indistinguible de la hembra de *C. hirsuta*.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Caprellidea
 Familia: Caprellidae
 Género: *Caprella* Lamarck, 1801
 Especie: *Caprella liparotensis* Haller, 1879

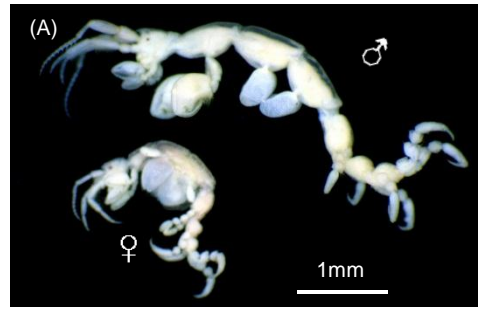


(A): Vista lateral del macho y la hembra

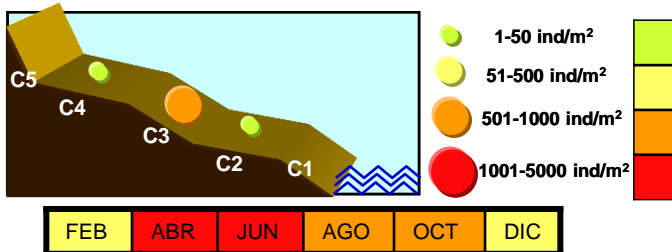
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo, en zonas subtropicales o templado-cálidas.
- **Ecología:** Frecuentemente asociada con hidroides, también se ha encontrado en algas. Preferencia por aguas limpias con elevado hidrodinamismo.
- **Características distintivas:** Cabeza con rostro. Artejos 2 y 3 del pedúnculo de la A1 sedosos. Macho: 7.5-12mm. Cuerpo robusto, con 1 par de espinas laterales en la parte anterior de los pereonitos 2-4; con 2 pares de tubérculos dorsales en el pereonito 5 y 1 par en el 6. Gn2 insertado en el extremo distal del pereonito 2; própodo 2 veces más largo que ancho; palmo del carpo con una proyección a modo de "poison tooth", con una pequeña cavidad provista de una proyección proximal en forma de dedo, seguido por una cavidad muy profunda y proyección triangular; dactilo distalmente curvado. P5-7 con 1 par de "grasping spines" en su parte proximal y 5-6 pares de sedas. Hembra: 4.5-7 mm.

Orden: Amphipoda
 Suborden: Caprellidea
 Familia: Caprellidae
 Género: *Caprella* Lamarck, 1801
 Especie: *Caprella penantis* Leach, 1814



(A): Vista lateral del macho y la hembra



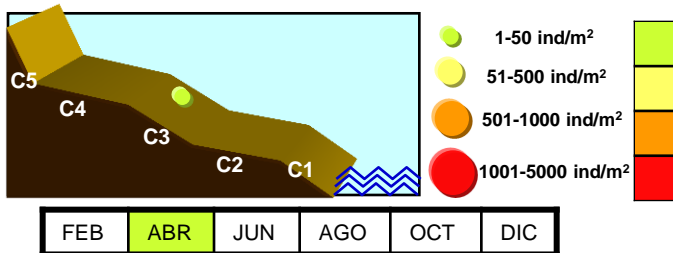
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Especie cosmopolita.
- **Ecología:** Frecuente en algas fotófilas, praderas de *Posidonia oceanica*, habitando también en colonias de hidroides, esponjas, alcionarios, zoantarios y briozoos. También se ha encontrado asociadas a equinodermos y a decápodos. Tiene preferencia por zonas muy expuestas.
- **Características distintivas:** 7-8.5 mm. Pedúnculo de la A1 liso. Cabeza con rostro corto y triangular. Cuerpo robusto. Gn2 insertado a la mitad del pereonito 2; própodo 1.5 veces más largo que ancho, caracterizado por una cavidad profunda, definida distalmente por una proyección redondeada; dactilo corto y ancho con el margen interno dentado. Carpo de los P5-7 con una fila de dientes en su margen interno; palmo cóncavo con 2 "grasping spines" proximales. Hembra: Gn2 insertado en la parte anterior del pereonito 2, palmo ligeramente cóncavo, con un par de "grasping spines" proximales (A).

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Cirolanidae
 Género: *Cirolana* Leach, 1810
 Especie: *Cirolana* sp.



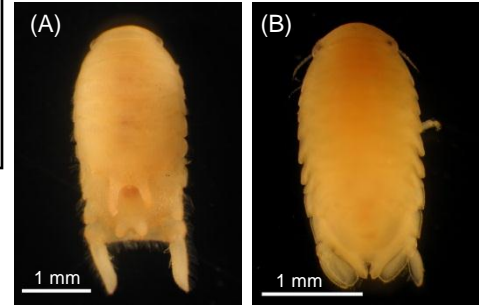
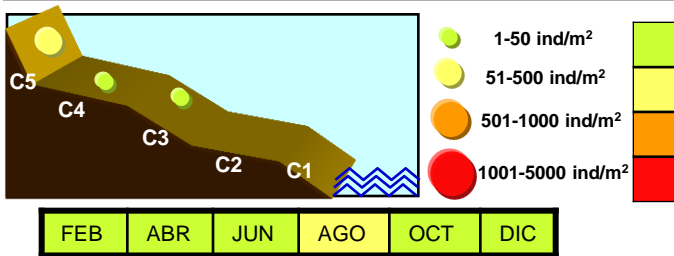
(A): Vista lateral del macho (B): Urópodos y telson



Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noroeste Atlántico y Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** No posee un hábitat estrictamente litoral, pero puede encontrarse en el límite mareal alto.
- **Características distintivas:** Cuerpo rechoncho, deprimido, nunca 7 veces más largo que ancho (A). Ojos redondeados. Pedúnculo antenal compuesto por 7 artejos. Urópodos laterales planos que junto al telson forman un abanico caudal (B). Pleón con 5 segmentos libres y telson siempre fusionado al sexto. Rama de los urópodos laminares.

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Sphaeromatidae
 Género: *Dynamene* Leach, 1814
 Especie: *Dynamene bidentata* (Adams, 1800)

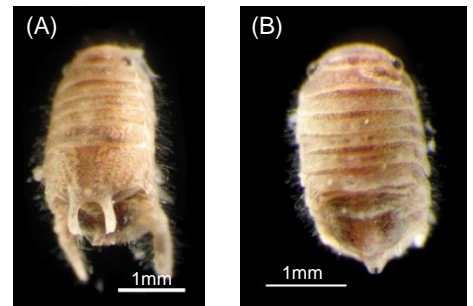
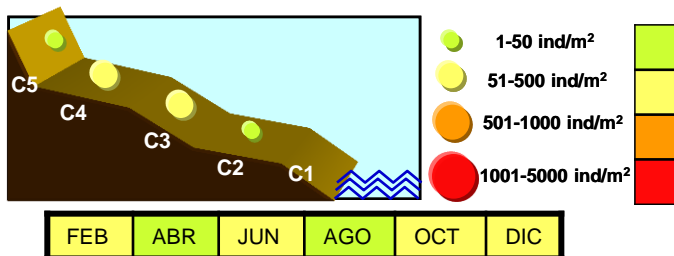


(A): Vista dorsal del macho (B): Vista dorsal de la hembra

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo. Amplia distribución latitudinal.
- **Ecología:** En algas intermareales. Los adultos suelen estar en grietas de rocas o en conchas de *Balanus vacías*.
- **Características distintivas:** Color amarillento. Pleon con un canal en la línea ventral media. Gran dimorfismo sexual. Macho: Cuerpo hirsuto alrededor de los márgenes pleurales y urópodos. Pereión con una pequeña proyección bidentada que no alcanza el tubérculo pleotelsónico. Pleotelson rugoso, con un tubérculo posterior prominente, con dos estructuras rugosas redondeadas unidas en la base. Hembra: cuerpo hirsuto alrededor de los márgenes del urópodo. Pleotelson liso, redondeado y sin quilla mediana. Canal pleotelsónico abierto dorsal, ventral y posteriormente.

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Sphaeromatidae
 Género: *Dynamene* Leach, 1814
 Especie: *Dynamene edwardsii* (Lucas, 1849)

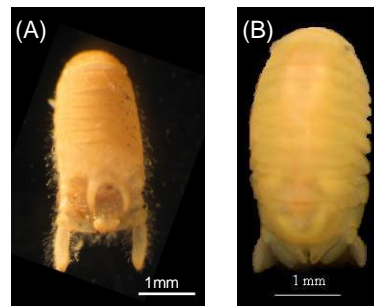
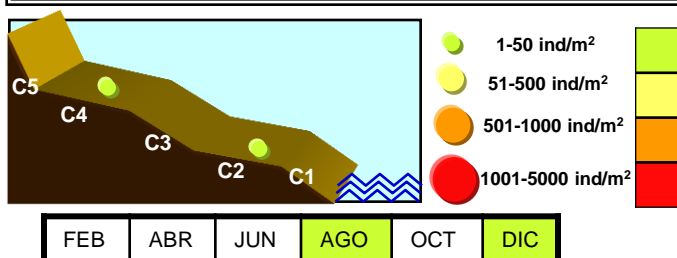


(A): Vista dorsal del macho (B): Vista dorsal de la hembra

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo. En zonas subtropical o templado-cálidas.
- **Ecología:** En aguas intermareales y poco profundas. Encontrada mayormente en algas fotófilas (*Enteromorpha*, *Corallina*, *Jania*, *Ulothrix*, *Cystoseira*, *Asparagopsis* y *Peysonnelia*), entre 0-8 m. Los adultos suelen encontrarse en grietas de las conchas de percebes.
- **Características distintivas:** Cuerpo hirsuto. Pleon con un canal en la línea ventral media. Gran dimorfismo sexual. Macho: Las ramas de la proyección bidentada dirigidas hacia abajo y alcanzan al tubérculo pleotelsónico. Pleotelson con un tubérculo posterior prominente, comprendiendo una proyección con forma de cuña más ancha en su parte posterior (A). Hembra: Pleotelson con quilla mediana; canal pleotelsónico tubular muy característico (B).

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Sphaeromatidae
 Género: *Dynamene* Leach, 1814
 Especie: *Dynamene magnitorata* Holdich, 1968

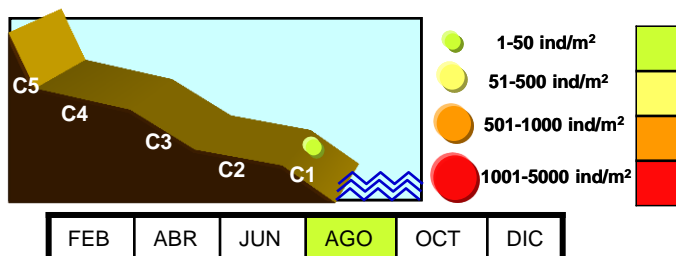


(A): Vista dorsal del macho (B): Vista dorsal de la hembra

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico-Mediterránea
- **Ecología:** El hábitat preferido son ascidias (*Dendrodoa*, *Didemnum*) o esponjas (*Halichondria*, *Hymeniacion*). También algas del intermareal somero.
- **Características distintivas:** 6 mm en machos y 5 mm en hembras. Gran dimorfismo sexual. Macho con el pereopod más largo que ancho (A). Márgenes pleurales hirsutos. Las ramas del proceso de bidentado no alcanzan el nivel de los tubérculos del pleotelson, sus ápices son extremadamente rugosos y más estrechos que la base. Tubérculo posterior del pleotelson abruptamente bilobulado. Hembra con quilla en el pleotelson (B). Color amarillento o verdoso.

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Sphaeromatidae
 Género: *Dynamene* Leach, 1814
 Especie: *Dynamene torelliae* Holdich, 1968

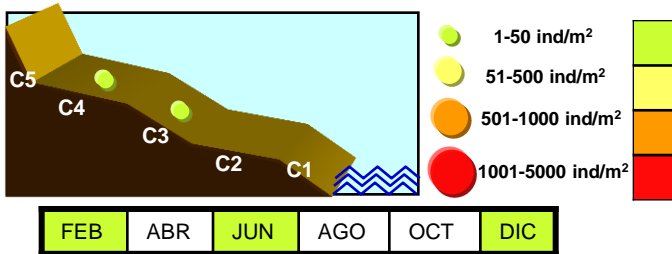


(A): Vista dorsal de un macho juvenil

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Mediterránea
- **Ecología:** Entre algas de aguas poco profundas y en grietas.
- **Características distintivas:** Macho con el pereopod siempre más largo que ancho. Ápices del proceso bidentado extremadamente rugosos y más estrechos que la base. Tubérculo posterior del pleotelson sésil, con dos proyecciones puntiagudas laterales separadas por una abertura en forma de U.

Orden: Isopoda
 Suborden: Gnathiidea
 Familia: Gnathiidae
 Género: *Gnathia* Leach
 Especie: *Gnathia* sp.

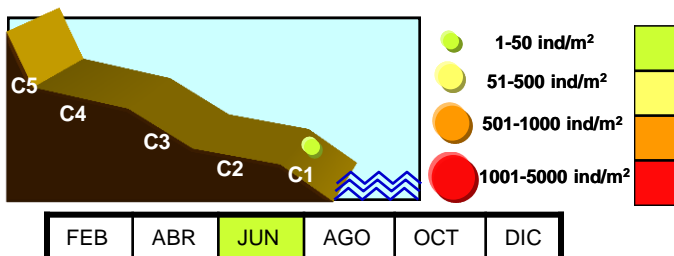


(A): Vista dorsal del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico Mediterránea
- **Ecología:** Especie encontrada en grietas del intermareal o escondida entre los huecos de balanos muertos.
- **Características distintivas:** Hembras, machos y juveniles de diferente forma. Cada uno sólo con 5 pares de pereiópodos. Cefalón fusionado con dos somitos del pereón. Miembro del segundo par de somitos modificado como filópodos (gnatópodos), los cuales cubren las piezas bucales ventralmente. Machos con unas mandíbulas muy bien desarrolladas tipo forceps, proyectadas delante del cefalón. Las hembras y juveniles con los somitos 3-5 del pereión inflados, sobre todo las hembras por incubar los huevos internamente.

Orden: Isopoda
 Suborden: Valvifera
 Familia: Idoteidae
 Género: *Synisoma collinge*, 1917
 Especie: *Synisoma capito* (Risso, 1826)

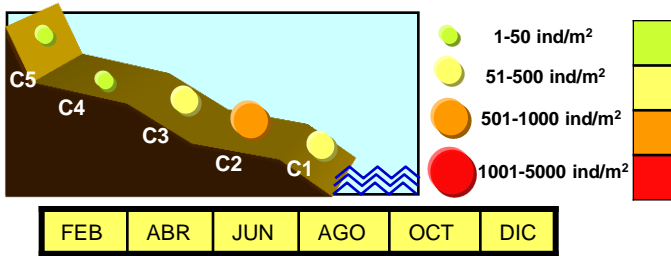


(A): Vista dorso lateral del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico - Mediterráneo
- **Ecología:** Asociado a algas del intermareal, tales como *Cystoseira*, *Jania*, *Taonia*, *Halopitys*, *Cladostephus*, *Sphaerococcus* y *Asparagopsis*.
- **Características distintivas:** Pleotelson formado por la coalescencia de todos los segmentos con el pleon. Cuerpo con relieves acentuados. Cefalón provisto de un fuerte tubérculo medio. Antenas con flagelo multiarticulado. Placas coxales poco desarrolladas en los segmentos anteriores y de contorno redondeado. Pleotelson sin ningún resto de articulación; en su último tercio se estrecha formando un ápice triangular (A).

Orden: Isopoda
 Suborden: Flabellifera
 Familia: Sphaeromatidae
 Género: *Ischyromene* Racovitza, 1903
 Especie: *Ischyromene lacazei* Racovitza, 1908

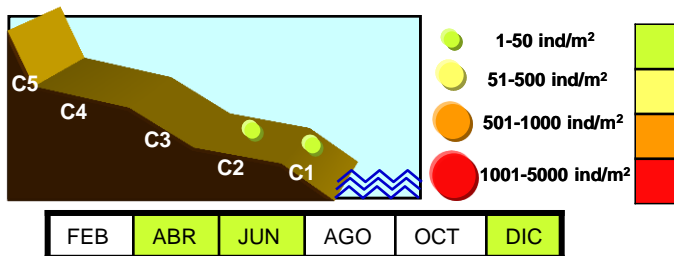


(A): Vista dorsal del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico, presente en el Mediterráneo. En zonas subtropicales o templado-cálidas.
- **Ecología:** 1-2 m de profundidad. En algas tales como: *Enteromorpha*, *Ulva*, *Codium*, *Gelidium*, *Corallina* y *Asparagopsis*.
- **Características distintivas:** De color rojizo con cromatóforos negros. Superficie dorsal del pleón fuertemente tuberculada (A). El pleotelson es de forma casi triangular, con la región mediana abovedada a ambos lados de la línea media.

Orden: Isopoda
 Suborden: Asellota
 Familia: Jaeropsidae
 Género: *Jaeropsis* Koehler, 1885
 Especie: *Jaeropsis brevicornis* Koehler, 1885

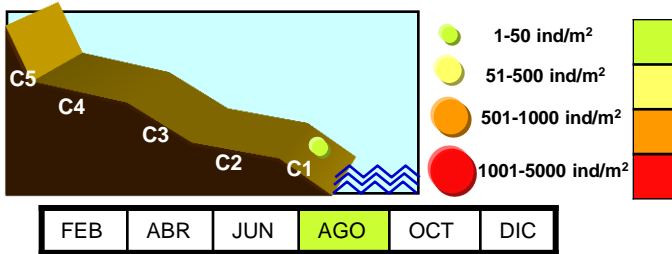


(A): Vista dorsal del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo. En zonas subtropicales o templado-cálidas.
- **Ecología:** Encontrados en la zona intermareal, entre 0-2 m., en ascidias, algas coralígenas, *Gelidium*, briozoos, esponjas, etc.
- **Características distintivas:** Anténulas y antenas robustas y cortas. Segmentos del pereión muy marcados. Pleotelson triangular con márgenes aserrados. Urópodos muy pequeños, apenas visibles.

Orden: Isopoda
 Suborden: Asellota
 Familia: Janiridae
 Género: *Janira* Leach, 1814
 Especie: *Janira maculosa* Leach, 1814

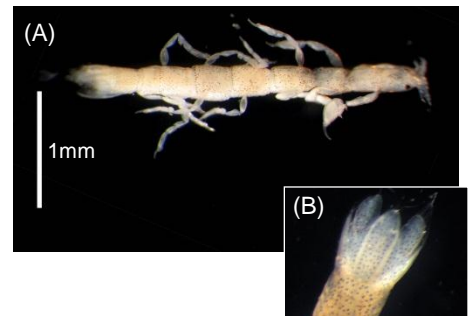
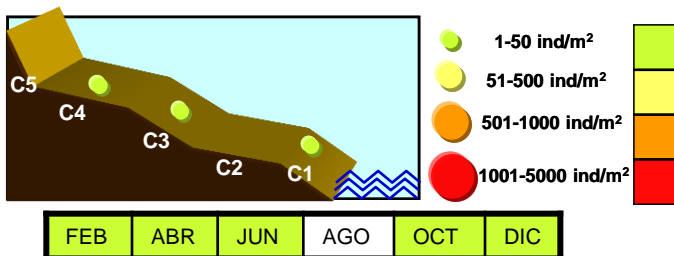


(A): Vista dorsal del macho

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico nororiental, desde el mar Báltico y Noruega hasta Gibraltar. Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Especie encontrada sobre esponjas, ascidias, celentéreos, algas como Laminaria, etc.
- **Características distintivas:** Cuerpo aplanado. Primer par de antenas muy desarrolladas, con un flagelo multiarticulado; segundo par de antenas muy largas, más que el cuerpo. Ojos en posición dorsal. Los segmentos anteriores del pereión con los lados excavados, que, junto con las placas coxales bilobuladas, dotan a los segmentos II y III del pereión de bordes laterales sinuosos. Urópodos pedunculados muy largos, más o menos igual a la longitud del pleotelson. Color amarillento, con manchas de color rojo o marrón, a menudo con una banda de pigmentación a través del cefalón, anterior a los ojos.

Orden: Isopoda
 Suborden: Anthuridea
 Familia: Paranthuridae
 Género: *Paranthura* Bate y Westwood, 1868
 Especie: *Paranthura nigropunctata* (Lucas, 1849)

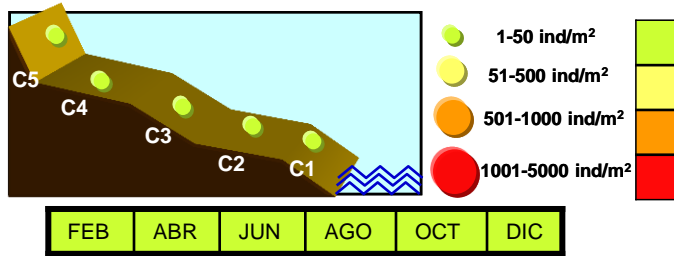


(A): Vista dorsal del macho (B): Pleotelson

Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.

- **Distribución:** Atlántico nororiental y Mar Mediterráneo.
- **Ecología:** Viven en el intermareal en asociación con algas.
- **Características distintivas:** Primer par de pereiópodos más robusto que el resto. Maxilípedos modificados, filiformes. Pleotelson con ápice redondeado (B). Superficie cubierta de puntos negros (A). Esta especie es más grande y más fuerte que *Paranthura Costana* (Bate y Westwood, 1868)

Orden: Tanaidacea
 Suborden: Tanaidomorpha
 Familia: Tanaidae
 Género: *Tanais* Latreille, 1831
 Especie: *Tanais dulongii* (Audouin, 1826)



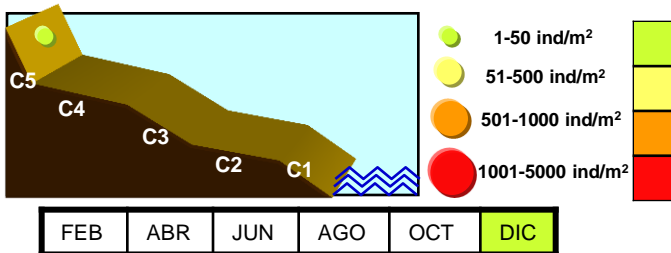
Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista dorsal del macho (B): semicírculo de sedas

- **Distribución:** Noreste Atlántico presente en el Mediterráneo y en el océano Indo-Pacífico.
- **Ecología:** Presente, sobre todo, en comunidades infralitorales, sobre fondo rocoso, asociado a algas fotófilas, esciáfilas, y a *Posidonia oceanica*. No aparece en las praderas mixtas de *Cymodocea-Caulerpa* sobre fango. Encontrados entre 0-18 m de profundidad.
- **Características distintivas:** Pleón con 5 segmentos, 3 pares de pleópodos (A). Los dos primeros pleonitos portan, dorsalmente, un semicírculo de sedas plumosas característico (B).

Orden: Tanaidacea
 Suborden: Tanaidomorpha
 Familia: Tanaidae
 Género: *Tanais* Latreille, 1831
 Especie: *Zeuxo normani* (H. Richardson, 1905)



Distribución y abundancia en los cinturones (C1-C5) de la Isla de Tarifa.



(A): Vista dorsal del macho (B): pleón

- **Distribución:** Pacífico y Atlántico-mediterránea.
- **Ecología:** Se encuentra en los sustratos más gruesos de aguas poco profundas, asociados a ostras y a algas como *Zoostera*.
- **Características distintivas:** Hasta 4,5 mm en las hembras ovígeras. Cefalotorax cónico, salpicado de manchas grisáceas al capricho de los cromatóforos (A). Pereionitos con márgenes redondeados, siendo los dos primeros segmentos del pereión mucho más cortos que los segmentos siguientes, a diferencia de lo que ocurre en *Tanais dulongii*, especie con la que suele confundirse, no obstante, la diferencia más notable entre ambas especies reside en el pleón, donde los tres primeros segmentos poseen sus márgenes laterales orientados posteriormente y ornamentados con una hilera de pelos barbulados (B). Los quelípodos están más desarrollados en el macho.



La memoria presentada amplía el conocimiento existente de los anfípodos más típicos de las costas del sur de la Península Ibérica, y abre un nuevo campo aplicado al aprovechamiento de las características naturales que poseen estos organismos para su uso como alimento vivo en la acuicultura.

Nuestros ecosistemas marinos, tanto naturales como artificiales, se caracterizan por albergar una gran diversidad de especies de crustáceos anfípodos, algunos de los cuales alcanzan densidades muy elevadas cuando las condiciones ambientales les son favorables. Muchas de estas especies pueden mantenerse bajo condiciones controladas de laboratorio, con ciclos de vida iteróparos y rápidos, por lo que su cultivo en grandes densidades tiene aplicación como alimento para la cría de especies marinas de interés acuícola.

En esta memoria se tratan diferentes aspectos relacionados con esta temática, desde la identificación y el conocimiento ecológico de los anfípodos, hasta el estudio de su aplicabilidad en la acuicultura mediante análisis nutricionales, experimentos de alimentación con cefalópodos y cultivos de producción a media escala.

