

## A general survey of the feasibility of culturing the mysid *Gastrosaccus roscoffensis* (Peracarida, Mysida): Growth, survival, predatory skills, and lipid composition

### Viabilidad del cultivo del misidáceo *Gastrosaccus roscoffensis* (Peracarida, Mysida): Crecimiento, supervivencia, capacidad depredadora y composición lipídica

A Escáñez<sup>1,5</sup>, R Riera<sup>2</sup>, L Márquez<sup>3</sup>, A Skalli<sup>1,4</sup>, BC Felipe<sup>1</sup>, I García-Herrero<sup>1,5</sup>, D Reis<sup>1,5,6</sup>, C Rodríguez<sup>5</sup>, E Almansa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Canarias, Avenida 3 de Mayo 73, Apdo. 1373, 38005, Santa Cruz de Tenerife, Canary Islands, Spain.

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones Medioambientales del Atlántico (CIMA SL), Arzobispo Elías Yanes 44, 38206 La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, Canary Islands, Spain.

<sup>3</sup> Departamento de Biología Aplicada, Universidad de Almería, Ctra. Sacramento s/n, La Cañada de San Urbano, 04120, Almería, Spain.

<sup>4</sup> Unitat de Cultius Aquàtics, Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), Crta. Poble Nou km 5.5, Sant Carles de la Ràpita, 43540 Tarragona, Spain.

<sup>5</sup> Departamento de Biología Animal, Universidad de La Laguna, Avenida Astrofísico Francisco Sánchez, 38206 La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, Canary Islands, Spain.

<sup>6</sup> CCMar, Campus de Gambelas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, 8005-139, Faro, Portugal.

\* Corresponding author. E-mail: eduardo.almansa@oceanografia.es

**ABSTRACT.** The effects of culture conditions on growth, survival, predation, and nutritional composition of the mysid *Gastrosaccus roscoffensis* were studied. Light had a negative effect on the predation rates of *G. roscoffensis* and predator size was important to prey on *Artemia* nauplii and rotifers (*Brachionus plicatilis*). Growth rates were higher in the first three weeks and measured individuals increased almost 7 mm in length in six weeks. Mortality rate was not constant, but it peaked during the first 10 days and after the 40th day of culture. Lipid class composition of cultured *G. roscoffensis* juveniles showed differences compared to wild *G. roscoffensis* and other mysid species, with a high proportion of neutral lipids (72.04% total lipids) mainly triacylglycerol (41.74%). Fatty acid composition was characterized by high levels of 18:3n-3 (23.16% total lipids) and monoenes in cultured *G. roscoffensis*. The experiments demonstrated the feasibility of the culturing conditions assayed for *G. roscoffensis*, although further experiments should be carried out to test this mysid as a prey for new species of commercial interest, including fish and cephalopods.

**Key words:** *Gastrosaccus roscoffensis*, culture, predation, nutritional composition.

**RESUMEN.** En el presente estudio se analizaron los efectos de las condiciones de cultivo sobre el crecimiento, la supervivencia, la depredación y la composición nutricional del misidáceo *Gastrosaccus roscoffensis*. La luminosidad afectó de forma negativa a las tasas de depredación de *G. roscoffensis* y la talla del depredador fue importante cuando depredaba sobre nauplios de *Artemia* y rotíferos (*Brachionus plicatilis*). El crecimiento fue superior en las primeras tres semanas; los individuos aumentaron en 7 mm su longitud en seis semanas. La tasa de mortalidad no fue constante, con dos picos de mortalidad a los 10 días y a los 40 días de cultivo. La composición de clases lipídicas de los misidáceos juveniles cultivados difirió de los misidáceos salvajes y de otras especies de misidáceos, con una alta proporción de lípidos neutros (72.04% lípido total), en los cuales predominaron los triglicéridos (41.74%). La composición de ácidos grasos se caracterizó por altos niveles de 18:3n-3 (23.16% lípido total) y monoenos en individuos cultivados de *G. roscoffensis*. Los experimentos realizados demuestran la viabilidad de las condiciones ensayadas para el cultivo de *G. roscoffensis*, aunque en el futuro son necesarios más experimentos para probar la efectividad de este misidáceo como presa alternativa en la alimentación de nuevas especies de interés comercial, incluyendo peces y cefalópodos.

**Palabras clave:** *Gastrosaccus roscoffensis*, cultivo, depredación, composición nutricional.

## INTRODUCTION

The mysid genus *Gastrosaccus* consists of a group of typical neritic species of which one, *Gastrosaccus roscoffensis*, was found to be partially epibenthic (McQuart-Moulin and Ribera-Maycas 1995). This species burrows in the uppermost centimeter of the intertidal beach sand near the upper limit of the wave wash (Bacescu 1970). Preliminary observations on another *Gastrosaccus* species (*G. sanctus*) on the sandy shores of Israel, carried out by Fischelson and Loya (1968), showed that shrimps are sometimes washed out of the sand by the advancing waves and as the water retreats, they burrow themselves back into the sand.

There is general agreement that the majority of mysids are omnivores, eating detritus and small living organisms, and filter feeders (Johnston and Lasenby 1982). Mysids are said to completely macerate food (Mauchline 1980) but the gut contents of *Gastrosaccus psammodytes* fed *Anaulus birostratus* contained recognizable fragments of the diatom as distinct from amorphous detritus.

To our knowledge, there are no detailed ecological studies on the species *G. roscoffensis*, a common inhabitant of the sandy beaches of the Canarian archipelago (Wittman *et al.* 2010) and the European Atlantic coasts (Bacescu 1970). During the day, individuals of *Gastrosaccus* species remain buried in the upper layers of the sediment and during the night they swim in the water column and feed on phytoplankton, zooplankton, and detritus (Suau and Vives 1957).

The nutrition of marine organisms is one of the most important areas of research and development in mariculture, because it represents the most important part of the costs and because it is essential for the successful production of aquatic organisms. The main bottleneck of intensive aquaculture occurs during the larval stages, mainly in fishes, crustaceans, and molluscs. High larval mortality bears non-profitable cultures or small commercial benefits in the aquaculture industry (Le Francois *et al.* 2009). The macroinvertebrates most extensively used as live prey in cultures are rotifers (e.g., *Brachionus plicatilis*) and *Artemia* sp. (Stottrup and McEvoy 2003); however, these prey do not provide all the nutritional requirements of the larval stages and it is necessary to enrich rotifers and *Artemia*, especially with long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). Several techniques have been developed to solve this problem, enriching prey with lipids rich in LC-PUFA and proteins, using microalgae and oil emulsions. Other factors to take into account when considering alternative prey, like the mysid *G. roscoffensis*, are size, mobility, and palatability, among others.

Over the last years, researchers have been searching for alternative prey to substitute for the former traditional prey. Mysid shrimp have been previously considered as alternative prey to some commercially interesting species (mainly cephalopods) (Domingues *et al.* 2001a) and can be an important food source for several fish and crustacean species (Kuhn *et al.* 1991). A number of authors have used different

## INTRODUCCIÓN

El género de misidáceos *Gastrosaccus* constituye un grupo de especies típicamente neríticas, una de las cuales, *Gastrosaccus roscoffensis*, es parcialmente epibentónica (McQuart-Moulin y Ribera-Maycas 1995). Esta especie se entierra en los primeros centímetros del fondo, en las playas arenosas intermareales cerca del límite superior de la zona de rompiente de las olas (Bacescu 1970). Observaciones preliminares realizadas por Fischelson y Loya (1968) sobre especies del género *Gastrosaccus* (*G. sanctus*) en las playas arenosas de Israel mostraron que en ocasiones estos crustáceos abandonaban la arena y avanzaban con las olas volviéndose a enterrar en la arena cuando la ola se retraía.

En general, la mayoría de los misidáceos son considerados omnívoros que se alimentan de detritus y pequeños organismos por filtración (Johnston y Lasenby 1982). Los misidáceos trituran completamente los alimentos (Mauchline 1980), pero en contenidos estomacales de *Gastrosaccus psammodytes* alimentados con *Anaulus birostratus* se encontraron fragmentos reconocibles de esta diatomea junto con detritus amorfos.

Hasta ahora, no existen estudios detallados sobre la ecología de la especie *G. roscoffensis*, un habitante común de la zona intermareal de las playas arenosas del archipiélago Canario (Witman *et al.* 2010), así como de las costas atlánticas de Europa (Bacescu 1970). Durante el día, los individuos de *Gastrosaccus* permanecen enterrados en las capas superiores del sedimento y durante la noche nadan en la columna de agua para alimentarse de fitoplancton, zooplancton y detritus (Suau y Vives 1957).

La nutrición de los organismos marinos es una de las áreas de investigación más importantes en acuicultura, debido a que representa uno de los aspectos más significativos en los costes y es esencial para el éxito de la producción de organismos acuáticos. El principal cuello de botella de la acuicultura intensiva se presenta en las etapas larvianas, principalmente de peces, crustáceos y moluscos. La alta mortalidad larvaria hace que muchos cultivos no sean rentables o produzcan un bajo beneficio económico en la industria acuícola (Le Francois *et al.* 2009). Los macroinvertebrados más extensamente utilizados como presas vivas en acuicultura son los rotíferos (e.g., *Brachionus plicatilis*) y *Artemia* sp. (Stottrup y McEvoy 2003). Sin embargo, estas presas no proporcionan todos los requerimientos nutricionales de las etapas larvianas y se necesita enriquecer a los rotíferos y a la *Artemia*, especialmente con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA, por sus siglas en inglés). Numerosas técnicas han sido desarrolladas para resolver este problema; se ha enriquecido a las presas con lípidos ricos en estos ácidos grasos y proteínas, usando microalgas y emulsiones de aceite. Otros factores a tener en cuenta a la hora de utilizar presas alternativas, como el misidáceo *G. roscoffensis*, son su tamaño, movilidad y palatabilidad, entre otros.

mysid species with these objectives, such as *Mysidopsis almira* (Domingues *et al.* 1998, 1999, 2001b), *Mysis mixta* (Gorokhova and Hansson 2000), *Mysis relicta* (Viherluoto *et al.* 2000), and *Neomysis integer* (Gorokhova 2002).

The main aim of the present work was to study the feasibility of culturing the mysid *G. roscoffensis* in aquaculture facilities, by analyzing growth, survival, predation skills, and nutrient composition (focusing on lipid composition) to assess its suitability as an alternative prey for commercial species culture. The nutrient composition of wild individuals was also analyzed to establish differences with the cultured ones.

## MATERIAL AND METHODS

The individuals of *G. roscoffensis* used in the present study were collected from Las Gaviotas beach (NW Tenerife, Canary Islands; 28°30'47" N, 16°10'31" W) using bottom trawls. Wild individuals were transported to the laboratory, sampled (over ice) and stored in pre-labeled Eppendorf, then placed in dry ice and stored at -80 °C before being used for subsequent analysis. The culture of *G. roscoffensis* was performed in 100-L tanks connected to a flow-through system (renovation 200% per day) in darkness; mysid density was set at 5 ind L<sup>-1</sup> and feeding was supplied *ad libitum* with 100 *Artemia* per mysid per day, 200 rotifers per mysid per day and 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> of phytoplankton (*Chorella* sp.). Experiments were conducted in the culture facilities of the Spanish Oceanographic Institute (IEO Canarias).

### Growth and survival

Mysid experimental culture was conducted in 4-L tanks in darkness or under illumination (natural photoperiod, 100–200 lux), with continuous water aeration and renovation every 5 days. The initial density of juvenile mysids was 5 ind L<sup>-1</sup> and feeding was *ad libitum* by adding 100 *Artemia* nauplii per mysid per day, 200 rotifers per mysid per day, and 4 × 10<sup>5</sup> cells mL<sup>-1</sup> of phytoplankton (*Chorella* sp.). Experiments were conducted in duplicate.

During the experiment, differences were observed in sizes and a threshold was established between small (juvenile) and large (adult) individuals. This threshold was 9 mm. Thus, individuals measuring from 2 mm (day 0) to 9 mm were considered juveniles because anatomical differences were noticed relative to larger specimens (9 to 10.2 mm).

Survival rate was determined by counting adults, hatchlings, and young mysids, approximately every 9 days. All mysids were slowly removed from the tank into a jar and counted. The survival rate was expressed as percentage of the initial mysid number following the formula:

$$\% \text{ survival} = 100 \left( \frac{\text{individuals at day } n}{\text{initial number of juveniles}} \right) \quad (1)$$

En los últimos años los investigadores han buscado presas alternativas para sustituir a las utilizadas tradicionalmente en acuicultura. Los misidáceos han sido considerados previamente como presas alternativas para algunas especies de interés comercial (principalmente cefalópodos) (Domingues *et al.* 2001a) y pueden ser una importante fuente de alimento para muchas especies de peces y crustáceos. (Kuhn *et al.* 1991). Con este objetivo varios autores han utilizado diferentes especies de misidáceos, como *Mysidopsis almira* (Domingues *et al.* 1998, 1999, 2001b), *Mysis mixta* (Gorokhova y Hansson 2000), *Mysis relicta* (Viherluoto *et al.* 2000) y *Neomysis integer* (Gorokhova 2002).

El objetivo principal de este trabajo fue estudiar la viabilidad del cultivo del misidáceo *G. roscoffensis* en instalaciones acuícolas, mediante el análisis de su crecimiento, supervivencia, capacidad depredadora y composición nutricional (fundamentalmente, composición lipídica) para evaluar su idoneidad como presa alternativa en el cultivo de especies comerciales. Además, se analizaron ejemplares salvajes para comparar su composición con la de los ejemplares cultivados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *G. roscoffensis* empleados en el presente estudio fueron recogidos en la playa de Las Gaviotas (noroeste de Tenerife, islas Canarias; 28°30'47" N, 16°10'31" O) mediante redes de arrastre de fondo. Los individuos recolectados fueron transportados al laboratorio, donde se muestrearon en frío, separándolos en tubos Eppendorf, previamente etiquetados, para posteriormente colocarlos en hielo seco hasta su almacenamiento a -80 °C. De esta manera se conservaron para futuros análisis. El cultivo de *G. roscoffensis* se realizó en tanques de 100 L, en oscuridad, conectados a un sistema de flujo (con renovación 200% por día) y con una densidad de 5 ind L<sup>-1</sup>. La alimentación se llevó a cabo *ad libitum* con 100 artemias por misidáceo por día, 200 rotíferos por misidáceo por día y 10<sup>5</sup> células mL<sup>-1</sup> de fitoplancton (*Chorella* sp.). Los experimentos se efectuaron en las instalaciones del Instituto Español de Oceanografía (IEO de Canarias).

### Crecimiento y supervivencia

El cultivo experimental de misidáceos se llevó a cabo en tanques de 4 L en oscuridad o bajo iluminación (fotoperiodo natural, 100–200 lux), con aireación continua y renovación de agua cada 5 días. La densidad inicial de juveniles de misidáceos fue de 5 ind L<sup>-1</sup> y la alimentación se realizó *ad libitum* con 100 nauplios de *Artemia* por misidáceo por día, 200 rotíferos por misidáceo por día y 4 × 10<sup>5</sup> células mL<sup>-1</sup> de fitoplancton (*Chorella* sp.). Los experimentos se realizaron por duplicado.

Durante el experimento, se observaron diferencias con relación al tamaño de los individuos, por lo que se estableció

On days 29, 39, and 46, all individuals were cross-tabulated according to the variables “illumination” (two levels: light, darkness) and “survival” (two levels: dead, alive), and the  $2 \times 2$  contingency tables obtained were analyzed using the two-tailed Fisher exact test.

Growth rates were based on body length (from the rostrum to the end of the last abdominal somite) of mysid individuals measured under a magnifying glass (Nikon SMZ-10A) at  $5\times$  magnification. Length measurements were done on days 0, 6, 13, 20, 42, 49, and 57. Five mysids were measured each day. Length-age observations were described by the von Bertalanffy growth function, according to the equation

$$L_t = L \times [1 - e^{-k(t-t_0)}] \quad (2)$$

where  $L_t$  is body length (in mm) for a given age  $t$  (in days),  $L$  is the maximum body length (in mm),  $k$  is the growth rate, and  $t_0$  is a parameter related to length at age zero (in days) (von Bertalanffy 1938).

### Live prey culture

The *Artemia* sp. nauplii used as mysid prey were obtained by hatching brine shrimp cysts from INVE Aquaculture (Dendermonde, Belgium) after a process of decapsulation and incubation. Rotifers (*B. plicatilis*) were cultured in 1000-L tanks and fed baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) under continuous light, 21–22 °C water temperature, and salinity of 28. Phytoplankton (*Chlorella* sp.) was cultured in seawater fertilized with the culture medium F2 Proline (Aquatic Eco-Systems) in 40-L tanks under continuous light, 19 °C water temperature, and salinity of 25.

### Setup for predation assays and analysis

Two experiments were designed to investigate the predatory efficiency of *G. roscoffensis*: (1) a multifactorial experiment (four factors) with low replication ( $\times 3$ ) and (2) a bifactorial experiment with a higher number of replicates ( $\times 7$ ). In both experiments the dependent variable was the number of prey consumed. The general experimental setup involved testing single predators in Petri dishes containing 30 mL of seawater at 25 °C. The background was transparent.

The tested factors in the multifactorial experiment were lighting (120 lx vs 0 lx), prey species (*Artemia* sp. nauplii vs *Brachionus* sp.), predator size (juveniles vs adults), and the initial number of prey as a co-variable ranging from 9 to 21 per Petri dish; the assay time was 2 h. The factors in the bifactorial experiment were lighting (120 lx vs 0 lx) and predator size (juveniles vs adults); the initial number of prey was fixed at 10 *Artemia* nauplii per Petri dish and the assay time at 4 h.

un umbral para distinguir entre los ejemplares pequeños (juveniles) y grandes (adultos). El umbral fue de 9 mm. De este modo, los individuos de entre 2 mm (0 días) y 9 mm se consideraron juveniles, ya que eran notables las diferencias anatómicas con respecto a los especímenes más grandes (9–10.2 mm).

El porcentaje de supervivencia se determinó contabilizando los adultos, los juveniles y los ejemplares recién eclosionados cada nueve días. Todos los misidáceos fueron trasvasados cuidadosamente del tanque a una jarra y fueron contados. El porcentaje de supervivencia se expresó como el porcentaje de misidáceos iniciales, según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ supervivencia} = 100 \left( \frac{\text{individuos en el día } n}{\text{número inicial de juveniles}} \right) \quad (1)$$

En los días 29, 39 y 46, los individuos fueron tabulados de acuerdo con las variables “iluminación” (dos niveles: luz, oscuridad) y “supervivencia” (dos niveles: muertos, vivos). Las tablas de contingencia  $2 \times 2$  obtenidas se analizaron por la prueba exacta de Fisher (2 colas).

Los valores de crecimiento se basaron en la longitud del cuerpo (desde el rostro hasta el final del último segmento abdominal) de los ejemplares de misidáceos medidos bajo lupa (Nikon SMZ-10A), a cinco aumentos. Las medidas de longitud se tomaron los días 0, 6, 13, 20, 42, 49 y 57. Se midieron cinco misidáceos al día. Las observaciones longitud-edad se describieron mediante la función de crecimiento de von Bertalanffy, de acuerdo con la ecuación

$$L_t = L \times [1 - e^{-k(t-t_0)}] \quad (2)$$

donde  $L_t$  es la longitud del cuerpo (en mm) para una determinada edad  $t$  (en días),  $L$  es la longitud máxima del cuerpo (en mm),  $k$  es la constante de crecimiento y  $t_0$  es un parámetro relacionado con la longitud en la edad cero (en días) (von Bertalanffy 1938).

### Cultivo de presas vivas

Los nauplios de *Artemia* sp. empleados como presa viva se obtuvieron por eclosión de los quistes de la empresa INVE Aquaculture (Dendermonde, Bélgica), después de un proceso de decapsulación e incubación. Los rotíferos (*B. plicatilis*) se cultivaron en tanques de 1000 L y se alimentaron con levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), bajo condiciones de luz continua, agua con temperatura de 21–22 °C y salinidad de 28. El fitoplancton (*Chlorella* sp.) se cultivó en agua de mar fertilizada con el medio de cultivo F2 Proline (Aquatic Eco-Systems) en tanques de 40 L continuamente iluminados, con temperatura del agua a 19 °C y salinidad de 25.

Both assays were analyzed by means of generalized linear models (GLM) (Agresti 2007). On the first attempt, a GLM with a Poisson distribution and log link was chosen and the (log-likelihood)/(degrees of freedom) ratio was checked for potential over-dispersion effects; in such cases, data were reanalyzed using negative-binomial, log-linked GLMs with different scale parameters in the range 0.25–2.0. The model showing the higher log-likelihood statistic was chosen.

A warning about a singular Hessian was produced by the statistical algorithm while analyzing the data from the bifactorial experiment. Since the probable reason for this warning was the always-0 consumption rate shown by the mysid juveniles preying on *Artemia* nauplii under illumination (which implied a null variance), it was decided to minimally modify the data by changing one of these 0's into 1. When the data so modified were reanalyzed no warning messages were produced.

The independent variable “initial number of prey” in the multifactorial assay was not fixed, so it was included as an offset variable in order to standardize the predatory events with respect to the number of prey exposed to risk; in this case, it should be noticed that the dependent variable under analysis was the proportional consumption.

## Biochemical determinations and analyses

### *Sample collection and storage*

Samples of juvenile mysids, fed on the above-mentioned mixture of phytoplankton (*Chlorella* sp.), *Artemia* nauplii, and *Brachionus*, were collected by filtering the continuous water flow from the outlet in the 100-L broodstock rearing tanks through a 100- $\mu$ m filter. Wild individuals were collected directly from Las Gaviotas beach using bottom trawls. To remove the salty water from the samples, they were washed with fresh water and then dried with blotting paper. Samples were placed in dry ice and subsequently stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until biochemical analysis.

### *Biochemical analysis*

The moisture content was determined using a  $n = 3$  sample set at  $110^{\circ}\text{C}$  until constant weight was obtained, in agreement with the Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry (AOAC 2006), which is an adaptation of the Horwitz (1980) method.

Total lipids were extracted ( $n = 3$ ) following Christie (1982). The total lipid content was gravimetrically determined, using chloroform:methanol (2:1) as extracting solvents and butylhydroxytoluene as antioxidant.

Lipid classes were determined by high-performance thin layer chromatography and densitometry (Shimadzu CS-9001PC dual-wavelength flying spot scanner), following the Olsen and Henderson (1989) method.

## Diseño y análisis de los ensayos de depredación

Se diseñaron dos experimentos para investigar la eficiencia de *G. roscoffensis* como depredador: (1) un experimento multifactorial (4 factores) de baja replicación ( $\times 3$ ) y (2) un experimento bifactorial con mayor número de réplicas ( $\times 7$ ). En ambos experimentos, la variable dependiente fue el número de presas consumidas. El montaje experimental general implicó el ensayo de depredadores individuales en cajas de Petri que contenían 30 mL de agua de mar a  $25^{\circ}\text{C}$  y tenían el fondo transparente.

Los factores probados en el experimento multifactorial fueron la iluminación (120 lx vs 0 lx), la especie de presa (nauplios de *Artemia* sp. vs *Brachionus* sp.), el tamaño del depredador (juveniles vs adultos) y el número inicial de presas (de 9 a 21 por caja de Petri) como co-variable; el tiempo de ensayo fue de 2 h. Los factores probados en el experimento bifactorial fueron la iluminación (120 lx vs 0 lx) y el tamaño del depredador (juveniles vs adultos); el número inicial de presas se fijó en 10 nauplios de *Artemia* por caja de Petri y el tiempo de ensayo en 4 h.

Ambos experimentos fueron analizados mediante modelos lineales generalizados (GLM) (Agresti 2007). En una primera aproximación, se eligió un GLM con distribución de Poisson y función de enlace logarítmica y se revisó el cociente (verosimilitud)/(grados de libertad) para detectar la posibilidad de sobredispersión; en tal caso, los datos fueron reanalizados mediante un GLM con binomial negativa y función de enlace logarítmica con diferentes parámetros de escala dentro del intervalo 0.25–2.0. El modelo con mayor verosimilitud fue seleccionado.

El algoritmo estadístico utilizado mostró un mensaje de matriz hessiana singular durante el análisis de los datos del experimento bifactorial. Dado que la razón probable para este mensaje era la nula tasa de consumo de todos los misidáceos juveniles que depredaban nauplios de *Artemia* bajo iluminación (lo que implicaba una varianza nula), se decidió modificar mínimamente los datos mediante el reemplazo de uno de los ceros por un uno. Cuando los datos así modificados fueron reanalizados no se produjeron más mensajes de error.

La variable independiente “numero inicial de presas” en el ensayo multifactorial no estaba fijada, por lo tanto fue incluida como una variable de normalización para estandarizar el número de eventos de depredación con respecto al número de presas expuestas al riesgo de depredación; en este caso, hay que resaltar que la variable dependiente bajo análisis fue el consumo proporcional.

## Análisis bioquímicos

### *Recolección de muestras y conservación*

Las muestras de juveniles de misidáceos, alimentados con la mezcla anteriormente mencionada de fitoplancton (*Chlorella* sp.), nauplios de *Artemia*, y *Brachionus*, se obtuvieron mediante el filtrado del flujo de agua saliente de los



Fatty acids were obtained by transmethylation and purification of total lipids, according to Christie (1982). Once purified, the fatty acid methyl esters (FAME) were separated and quantified using a Thermo Scientific TRACE GC Ultra gas chromatograph equipped with a flame ionization detector at 240 °C and Supelcowax 10 fused silica capillary column (30 m long, 0.32 mm diameter, and 0.25  $\mu\text{m}$  thick). Helium was used as the carrier gas. The initial oven temperature was 50 °C, followed by an increase at several rates: 40 °C  $\text{min}^{-1}$  reaching 150 °C, 2 °C  $\text{min}^{-1}$  to 200 °C, 1 °C  $\text{min}^{-1}$  to 214 °C, and 40 °C  $\text{min}^{-1}$  to 230 °C. At the end the oven remained 5 min at 230 °C. The total time elapsed was 46.90 min. In order to confirm the identity of individual FAME, a Thermo Scientific quadrupole mass spectrometer with electron ionization (ion source at 250 °C) was used. The different rates to increase oven temperature were the same as the ones used for the gas chromatography. The gas carrier, helium, flowed constantly at 1.5 mL  $\text{min}^{-1}$ .

The determination of the total protein content was performed by the modified Kjeldahl method (AOAC 2006). The protein content was calculated from the total nitrogen content of samples.

#### Statistical analysis

Biochemical composition results are presented as the mean  $\pm$  standard deviation. The data were checked for normal distribution with the one-sample Kolmogorov-Smirnov test and for homogeneity of variances with the Levene test, and when necessary, arcsin transformation was performed. For all data expressed as percentage, arcsin transformation (Fowler *et al.* 2002) was applied directly. Student's *t*-test (Zar 1984) was performed to compare differences between wild and cultured mysids. In all statistical tests,  $P < 0.05$  was considered statistically significant. The statistical analysis was performed using SPSS version 13.0.

## RESULTS

### Predation assays

The general effect of light was negative; the mean proportional consumption was approximately reduced by one half under illumination when mysids (both sizes pooled) preyed on *Artemia* nauplii and by three quarters when they preyed on *Brachionus plicatilis* (table 1). On the contrary, the general effect of predator size was positive in experiments with light, more clearly when mysids preyed on *Artemia* nauplii (table 1). In any event, the interpretation of these two factors is obscured by the triple interaction term, which seemed to be due to a weakening of the light inhibition effect in adults preying on *Artemia*.

Light effects on *G. roscoffensis* predation rates were significant in both experiments (multifactorial experiment, Wald = 13.65,  $P = 0.000$ ; bifactorial experiment, Wald =

tanques de puesta de 100 L a través de un filtro de 100  $\mu\text{m}$ . Los ejemplares salvajes se recogieron en la playa de Las Gaviotas directamente con redes de arrastre de fondo. Las muestras se lavaron con agua corriente para retirar el agua salada y posteriormente se secaron con papel secante. A continuación, las muestras se colocaron en hielo seco y, por último, se conservaron a  $-80^\circ\text{C}$  hasta su utilización para los análisis bioquímicos.

#### Análisis bioquímicos

El número de réplicas empleado en los análisis bioquímicos fue de tres. El contenido de humedad se determinó manteniendo las muestras a 110° C hasta obtener un peso constante, de acuerdo con el Método Oficial de Análisis de la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC 2006), que es una adaptación del método de Horwitz (1980).

El lípido total se obtuvo siguiendo el protocolo descrito por Christie (1982). El contenido de lípido total se determinó gravimétricamente, usando cloroformo:metanol (2:1) como solvente para la extracción y butilhidroxitolueno como antioxidante.

Las clases lipídicas se separaron por cromatografía en capa fina de alta resolución y se determinaron por densitometría (dual-wavelength flying spot scanner CS-9001PC, Shimadzu), según el método de Olsen y Henderson (1989).

Los ácidos grasos se obtuvieron a partir del lípido total por transesterificación metílica y posterior purificación, conforme al método de Christie (1982). Una vez purificados, los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) se separaron y cuantificaron mediante el cromatógrafo de gases TRACE GC Ultra (Thermo Scientific), con un detector de ionización a la llama a 240° C y una columna de sílice Supelcowax 10 (30 m longitud, 0.32 mm diámetro y 0.25  $\mu\text{m}$  anchura). El gas portador fue helio. La temperatura inicial del horno fue de 50° C, seguida de un incremento de temperatura a diferentes tasas: de 40 °C  $\text{min}^{-1}$  hasta alcanzar 150 °C, 2 °C  $\text{min}^{-1}$  hasta 200 °C, 1 °C  $\text{min}^{-1}$  hasta 214 °C y, por último, de 40 °C  $\text{min}^{-1}$  hasta 230 °C. Finalmente, el horno permaneció a 230° C durante 5 min. El tiempo total transcurrido fue de 46.90 min. Para confirmar la identidad de los FAME individualmente, se empleó un espectómetro de masas cuadrupolo (Thermo Scientific) con ionización electrónica (fuente iónica a 250 °C). Los intervalos de incremento de temperatura del horno fueron los mismos que los usados en la cromatografía de gases. De nuevo, el gas portador fue helio, con un flujo constante de 1.5 mL  $\text{min}^{-1}$ .

La determinación del contenido de proteína total se llevó a cabo mediante una modificación del método de Kjeldahl (AOAC 2006). El contenido proteico se calculó a partir del contenido de nitrógeno total de las muestras.

#### Análisis estadístico

Los resultados de composición bioquímica se presentan como la media  $\pm$  desviación estándar. Se comprobó la

4.164,  $P = 0.041$ ), particularly in the multifactorial one. Mysid size was only found to be significant in the bifactorial experiment (Wald = 4.764,  $P = 0.029$ ), under higher replication conditions. Finally, a triple interaction term (prey  $\times$  size  $\times$  light) showed a significant effect in the multifactorial experiment (Wald = 6.215,  $P = 0.013$ ) (table 2).

### Survival and growth

Survival of *G. roscoffensis* individuals showed two abrupt decreases during the culture period. The first one occurred during days 9–10, with a mortality rate that ranged from 20% to 60%. The second mortality episode occurred during day 28 in experiments with no survivors on day 55, or during days 40–43 in experiments with viable populations after day 50. In relation to the effect of illumination on survival, a positive association between darkness and survival was apparent on days 29, 39, and 46 (table 3).

Mysid growth is shown in figure 1. The initial body length of mysid individuals was  $2.7 \pm 0.2$  mm. An important growth peak was observed during the first three weeks, with no increase in individual size during the fourth week. Mysid individuals reached  $9.6 \pm 0.7$  mm in length in the sixth week, increasing  $7 \pm 0.8$  mm throughout the entire experiments (65 days). Growth rates were similar to those observed in other mysid species (table 4). The parameters estimated after fitting length data to a von Bertalanffy growth function ( $R = 0.967$ ) were:  $L_{\infty} = 12.1$  mm,  $k = 0.03 \text{ day}^{-1}$ , and  $t_0 = -7.2$  days.

The life cycle of *G. roscoffensis* was completed in our experiments, and adult individuals were obtained from cultured juveniles. A number of observations on female fecundity were collected from a single tank: four stocked adults produced a total of 40 juveniles after 54–66 days and the highest number of juveniles obtained was recorded after day 61 of culture. Visual inspection of ovigerous females indicated 10–14 juveniles per female during the study period (A Escáñez and E Almansa pers. obs.), but a systematic study of fecundity parameters was not performed.

### Nutritional composition

Nutritional composition was analyzed in wild individuals and in juveniles born under captivity and fed the aforementioned mixture of *Artemia*, *Brachionus*, and phytoplankton. Moisture, total protein, total lipid (TL), and lipid classes of both *G. roscoffensis* groups (wild and cultured) are shown in table 5. Total protein (percent dry weight, including non-protein nitrogen) represented  $60.61 \pm 2.60$  and  $69.87 \pm 7.66$  in wild and cultured mysids, respectively. The TL percentage was lower in wild mysids ( $8.10 \pm 0.71$ ) relative to cultured mysids ( $17.47 \pm 1.72$ ). Lipid class composition (expressed as percentage of TL) of both groups presented different compositions in polar and neutral lipids. Within polar lipids, the most remarkable differences were observed in the

normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra, así como la homogeneidad de las varianzas con la prueba de Levene. Cuando fue necesario, se realizó la transformación de los datos a arcoseno. Para aquellos datos expresados como porcentaje, se aplicó directamente la transformación a arcoseno (Fowler *et al.* 2002). La comparación entre ejemplares de misidáceos salvajes y cultivados se llevó a cabo mediante la prueba *t* de Student (Zar 1984). En todas las pruebas estadísticas se consideró diferencia significativa para  $P < 0.05$ . Todos los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS (versión 13.0).

## RESULTADOS

### Ensayos de depredación

El efecto general de la luz fue negativo; el consumo proporcional medio se redujo aproximadamente a la mitad bajo iluminación cuando los misidáceos (los dos tamaños agrupados) depredaban nauplios de *Artemia* y hasta en tres cuartas partes cuando depredaban *Brachionus plicatilis* (tabla 1). Contrariamente, el efecto general del tamaño del predador fue positivo en los experimentos con luz, más claramente cuando los misidáceos depredaban nauplios de *Artemia* (tabla 1). En cualquier caso, la interpretación de estos dos factores se vio oscurecida por el término de interacción triple, que pareció deberse a un debilitamiento del efecto inhibitorio de la luz en adultos que depredan *Artemia*.

Los efectos de la luz en la tasa de depredación de *G. roscoffensis* fueron significativos en ambos experimentos (experimento multifactorial, Wald = 13.65,  $P = 0.000$ ; experimento bifactorial, Wald = 4.164,  $P = 0.041$ ), particularmente en el experimento multifactorial; el tamaño del misidáceo sólo fue significativo en el experimento bifactorial (Wald = 4.764,  $P = 0.029$ ), en condiciones de alta replicación. Finalmente, el término de triple interacción (presa  $\times$  tamaño  $\times$  luz) mostró significación estadística en el experimento multifactorial (Wald = 6.215,  $P = 0.013$ ) (tabla 2).

### Supervivencia y crecimiento

La supervivencia de los ejemplares de *G. roscoffensis* mostró dos importantes descensos durante el periodo de cultivo. El primero ocurrió durante los días 9–10, con una tasa de mortalidad de entre 20% y 60%. El segundo episodio de mortalidad tuvo lugar el día 28 en experimentos sin supervivientes en el día 55, o durante los días 40–43 en experiencias con población viable después del día 50. En relación al efecto de la iluminación en la supervivencia, pareció registrarse una posible asociación positiva entre oscuridad y supervivencia en los días 29, 39 y 46 (tabla 3).

El crecimiento de los misidáceos se muestra en la figura 1. La longitud inicial del cuerpo de los misidáceos fue de  $2.7 \pm 0.2$  mm. Se observó un pico importante de crecimiento durante las tres primeras semanas, mientras que

**Table 1.** Mean ( $\pm$  standard error) proportional consumption rates of juvenile and adult *Gastrosaccus roscoffensis* under different environmental conditions.

**Tabla 1.** Media ( $\pm$  error estándar) de la tasa de consumo proporcional de juveniles y adultos de *Gastrosaccus roscoffensis* bajo diferentes condiciones ambientales.

Experiment	Prey	Predator size	Light	Mean initial prey number	Proportional consumption rate (h <sup>-1</sup> )
Four-factor	<i>Artemia</i>	Juvenile	0	15.5	0.298 $\pm$ 0.016
			1	11.3	0.035 $\pm$ 0.018
		Adult	0	10.8	0.205 $\pm$ 0.089
			1	10.7	0.226 $\pm$ 0.089
	<i>Brachionus</i>	Juvenile	0	13.0	0.171 $\pm$ 0.038
			1	16.0	0.080 $\pm$ 0.027
Adult		0	15.5	0.179 $\pm$ 0.017	
		1	15.0	0.059 $\pm$ 0.033	
Two-factor	<i>Artemia</i>	Juvenile	0	10.0 (fixed number)	0.036 $\pm$ 0.020
			1		0
		Adult	0		0.061 $\pm$ 0.014
			1		0.039 $\pm$ 0.023

**Table 2.** Factors affecting the predation rate of *Gastrosaccus roscoffensis* under experimental conditions. Significant differences are in bold.

**Tabla 2.** Factores que afectan a la tasa de depredación de *Gastrosaccus roscoffensis* bajo condiciones experimentales. Las diferencias significativas se muestran en negrita.

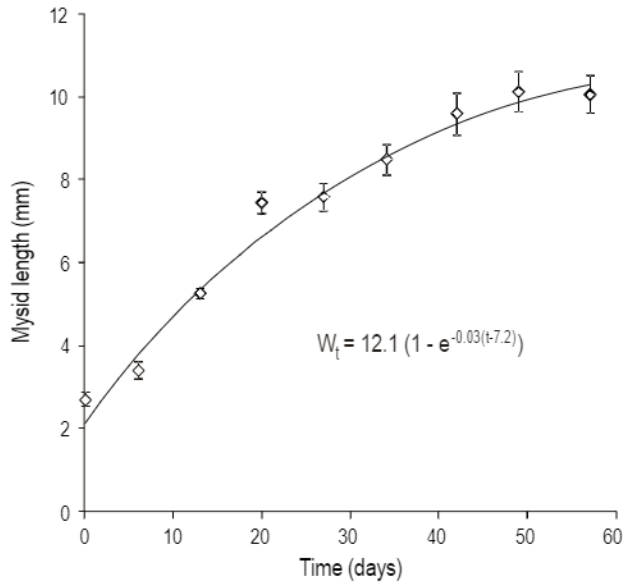
Experiment	Generalized linear model	Goodness of fit	Source	Wald	d.f.	P
Four-factor	Poisson distribution Log-link Offset = number initial prey	Log-likelihood = -45.4 Deviance = 20.3 d.f. = 16 Dev./d.f. = 1.18	Prey	0.350	1	0.554
			Light	13.65	1	<b>0.000</b>
			Mysid size	1.319	1	0.251
			Prey $\times$ light	0.779	1	0.377
			Prey $\times$ size	3.260	1	0.071
			Light $\times$ size	2.901	1	0.089
			Prey $\times$ light $\times$ size	6.215	1	<b>0.013</b>
Two-factor	Negative binomial distribution (scale parameter = 1)	Log-likelihood = -41.1 Deviance = 25.1 d.f. = 24 Dev./d.f. = 1.05	Mysid size	4.764	1	<b>0.029</b>
	Log-link		Light	4.164	1	<b>0.041</b>
	No offset variable		Size $\times$ light	1.937	1	0.164

**Table 3.** Survival of *Gastrosaccus roscoffensis* under two illumination conditions.

**Tabla 3.** Supervivencia de *Gastrosaccus roscoffensis* bajo dos condiciones de iluminación.

Time (days)	Survival		Standard error of the mean		P value (two-tail Fisher exact test)
	Light	Darkness	Light	Darkness	
0	100	100	0	0	–
29	22	62	18	2	< 0.001
39	22	62	18	2	< 0.001
46	8	38	4	26	< 0.001





**Figure 1.** Von Bertalanffy curve for *Gastrosaccus roscoffensis* total length. Bars indicate standard deviations.

**Figura 1.** Curva de von Bertalanffy para la longitud total de *Gastrosaccus roscoffensis*. Las barras indican la desviación estándar.

phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylethanolamine (PE), which showed a percentage of  $17.42 \pm 1.00$  and  $18.64 \pm 2.50$ , respectively, in wild mysids and of  $9.23 \pm 0.23$  and  $7.88 \pm 0.60$ , respectively, in cultured individuals. Within neutral lipids, cultured individuals revealed a higher content relative to wild individuals in free fatty acids ( $14.13 \pm 2.5$  vs  $1.80 \pm 0.2$ ) and triacylglycerols (TG) ( $42.76 \pm 2.90$  vs  $28.89 \pm 0.40$ ).

Table 6 also shows the fatty acid composition of TL (expressed as percentage of total fatty acids) from *G. roscoffensis*. Differences were detected between wild and cultured mysids for most of the fatty acids analyzed. Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) were the main groups of fatty acids in cultured mysids, with  $44.21 \pm 1.84$  and  $31.77 \pm 1.38$  of TL, respectively, whereas PUFA, with  $50.39 \pm 0.6$ , and saturated fatty acids (SFA), with  $32.45 \pm 0.49$ , predominated in wild mysids. The n-3 highly unsaturated fatty acids (n-3 HUFA) were clearly more abundant in wild mysids than in cultured ones ( $39.28 \pm 0.91$  vs  $11.21 \pm 0.88$ ), mainly due to 20:5n-3 (eicosapentaenoic acid, EPA;  $20.43 \pm 0.35$  vs  $5.51 \pm 0.90$ ) and 22:6n-3 (docosahexaenoic acid, DHA;  $17.30 \pm 1.12$  vs  $3.48 \pm 0.27$ ). The DHA:EPA ratio was below 1 in both cases and slightly higher in wild animals ( $0.85$  vs  $0.64$ ). Finally, the percentage of 20:4n-6 (arachidonic acid, ARA) represented only  $2.31 \pm 0.05$  and  $1.14 \pm 0.24$  percentage of TL in wild and cultured animals, respectively. The DHA:ARA and EPA:ARA ratios were approximately doubled in cultured mysids when compared to wild ones.

en la cuarta semana no hubo incremento de tamaño. Los ejemplares de misidáceos alcanzaron los  $9.6 \pm 0.7$  mm de longitud en la sexta semana, aumentando  $7 \pm 0.8$  mm a lo largo de todo el experimento (65 días). Las tasas de crecimiento fueron similares a las observadas en otras especies de misidáceos (tabla 4). Los parámetros estimados tras ajustar los datos de longitud a una función de crecimiento de von Bertalanffy ( $R = 0.967$ ) fueron los siguientes:  $L_{\infty} = 12.1$  mm,  $k = 0.03$  día<sup>-1</sup> y  $t_0 = -7.2$  día.

En el presente experimento, se completó el ciclo de vida de *G. roscoffensis* y se obtuvieron individuos adultos a partir de los juveniles cultivados. Se realizaron observaciones sobre la fecundidad de las hembras en un solo tanque: cuatro adultos produjeron un total de 40 juveniles después de 54–66 días, obteniéndose el mayor número de juveniles tras 61 días de cultivo. La inspección visual de hembras ovígeras de *G. roscoffensis* indicó la presencia de 10–14 juveniles por hembra durante el periodo de estudio (obs. pers. A Escáñez y E Almansa), pero no se llevó a cabo un estudio sistemático de los parámetros de fecundidad.

### Composición nutricional

Se analizó tanto la composición nutricional de los ejemplares salvajes como la de los juveniles nacidos en cautividad y alimentados con la mezcla de *Artemia*, *Brachionus* y fitoplancton. Los datos de humedad, proteína total, lípido total (LT) y clases lipídicas de ambos grupos de *G. roscoffensis* (cultivados y salvajes) se muestran en la tabla 5. La proteína total (porcentaje en peso seco, incluyendo nitrógeno no protéico) representó el  $60.61 \pm 2.60$  y  $69.87 \pm 7.66$  en misidáceos salvajes y cultivados, respectivamente. El porcentaje de LT fue menor en individuos salvajes ( $8.10 \pm 0.71$ ) que en los cultivados ( $17.47 \pm 1.72$ ). La composición de clases lipídicas (expresada como porcentaje de LT) de ambos grupos presentó diferencias con relación a los lípidos polares y neutros. Entre los lípidos polares, las diferencias más notables se observaron en la fosfatidilcolina (PC) y fosfatidiletanolamina (PE), que mostraron valores de  $17.42 \pm 1.00$  y  $18.64 \pm 2.50$ , respectivamente, en individuos salvajes y  $9.23 \pm 0.23$  y  $7.88 \pm 0.60$ , respectivamente, en individuos cultivados. Con relación a los lípidos neutros, los misidáceos cultivados revelaron un mayor contenido respecto a los animales salvajes en ácidos grasos libres ( $14.13 \pm 2.5$  vs  $1.80 \pm 0.2$ ) y triglicéridos (TG) ( $42.76 \pm 2.90$  vs  $28.89 \pm 0.40$ ).

La tabla 6 muestra la composición de ácidos grasos de LT (expresados como porcentaje del total de ácidos grasos) de *G. roscoffensis*. Se detectaron diferencias entre misidáceos salvajes y cultivados para la mayoría de ácidos grasos analizados. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y los ácidos grasos monoinsaturados (MUFA) fueron los grupos mayoritarios de ácidos grasos en los misidáceos cultivados, con  $44.21 \pm 1.84$  y  $31.77 \pm 1.38$  de LT, respectivamente; mientras que los PUFA, con  $50.39 \pm 0.6$ , y los ácidos grasos saturados (SFA), con  $32.45 \pm 0.49$ , predominan en los animales

**Table 4.** Survival data of some mysid species.**Tabla 4.** Datos de supervivencia de algunas especies de misidáceos.

Species	Diet	Survival	Days of experiment	Temp. (°C)	Growth	Days of growth	Reference*
<i>Leptomysis</i> sp.		74% juveniles	20	27	6.7 mm	34	1
<i>Leptomysis</i> sp.	<i>Artemia</i> + rotifers	76% juveniles	20	27	6.6 mm	34	1
<i>Leptomysis</i> sp.	<i>Artemia</i>	53% juveniles	20	27	5.2 mm	34	1
<i>Leptomysis</i> sp.	Rotifers	60% adults	20	27			1
<i>Leptomysis</i> sp.	<i>Artemia</i> + rotifers	58% adults	20	27			1
<i>Leptomysis</i> sp.	<i>Artemia</i>	23% adults	20	27			1
<i>Mysidopsis almyra</i>	Rotifers	19% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	Phytoplankton ( <i>Isochrysis galbana</i> )	10% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	Artificial diet	56% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	Phytoplankton + copepods	61% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	Enriched <i>Artemia</i> + artificial diet	41% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	<i>Artemia</i> nauplii	69% juveniles	15				2
<i>Mysidopsis almyra</i>	Enriched <i>Artemia</i> nauplii			26	6.1 mm	15	3
<i>Mysidopsis almyra</i>	Enriched <i>Artemia</i> nauplii			22	6.1 mm	23	1
<i>Mysidopsis almyra</i>	Enriched <i>Artemia</i> nauplii			18	40 mm	29	2
<i>Neomysis intermedia</i>	Enriched <i>Artemia</i> nauplii			3	0.03 mm d <sup>-1</sup>	?	4
<i>Neomysis intermedia</i>	<i>Artemia</i> nauplii + rotifers + <i>Daphnia</i>			20	0.32 mm d <sup>-1</sup>	?	4

\* 1 = Domingues *et al.* (2000), 2 = Domingues *et al.* (2001b), 3 = Domingues *et al.* (1999), and 4 = Toda *et al.* (1984).

## DISCUSSION

Culture management is the most important factor in achieving highly productive mysid cultures (Lussier *et al.* 1988). In the present study, a flow-through system was used, contrary to previous experiments with mysids (Domingues *et al.* 1998, 1999). This culture system intended to improve water quality, since it has been observed that high concentrations of ammonia, nitrate, and nitrite, together with low dissolved oxygen, increase mysid mortality (Brandt *et al.* 1993).

Light has been reported to inhibit feeding rates in pelagic, vertical-migratory mysids because of a need to avoid visual predators, but not in littoral mysids that can hide in macroalgal vegetation, the effect being stronger on juveniles (Viherluoto and Viitasalo 2001a). These previous results cannot be directly applied to the present data, since *G. roscoffensis* shows light inhibition despite being a littoral species; nevertheless, it is involved in some kind of daily migration between sandy bottoms and the water column, where it can be found at night, as observed for other *Gastrosaccus* species (Suau and Vives 1957). Therefore, it is still tenable to hypothesize a trade-off between the avoidance of visual predators and feeding necessity. In any case, the

salvajes. Los ácidos grasos altamente insaturados de la serie n-3 (n-3 HUFA) fueron claramente más abundantes en los ejemplares salvajes que en los cultivados ( $39.28 \pm 0.91$  vs  $11.21 \pm 0.88$ ), debido principalmente al 20:5n-3 (ácido eicosapentaenoico, EPA;  $20.43 \pm 0.35$  vs  $5.51 \pm 0.90$ ) y 22:6n-3 (ácido docosahexanoico, DHA;  $17.30 \pm 1.12$  vs  $3.48 \pm 0.27$ ). La relación DHA:EPA, aunque menor que 1 en ambos casos, fue ligeramente mayor en los individuos salvajes ( $0.85$  vs  $0.64$ ). Finalmente, el porcentaje de 20:4n-6 (ácido araquidónico, ARA) representó sólo  $2.31 \pm 0.05$  y  $1.14 \pm 0.24$  del porcentaje de LT en los animales salvajes y cultivados, respectivamente. Las relaciones DHA:ARA y EPA:ARA fueron aproximadamente el doble en ejemplares cultivados que en salvajes.

## DISCUSIÓN

La gestión del cultivo es el factor más importante para conseguir cultivos altamente productivos de misidáceos (Lussier *et al.* 1988). En el presente estudio se utilizó un sistema abierto de renovación, al contrario que en experimentos previos con misidáceos (Domingues *et al.* 1998, 1999). Este sistema de cultivo tenía como objetivo mejorar la calidad del

**Table 5.** Proximate composition: moisture (%), total protein (% dry weight), total lipids (% dry weight), and lipid classes (% total lipids) of wild and cultured *Gastrosaccus roscoffensis* juveniles. Results represent the mean  $\pm$  standard deviation of three replicates. Asterisks indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). <sup>a</sup> May also include phosphatidic acid and cardiolipin.

**Tabla 5.** Composición proximal: humedad (%), proteína total (% peso seco), lípido total (% peso seco) y clases lipídicas (% lípido total) de los juveniles de *Gastrosaccus roscoffensis* salvajes y cultivados. Los resultados representan la media  $\pm$  desviación estándar de tres réplicas. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). <sup>a</sup> Puede incluir ácido fosfatídico y cardiolipina.

Composition	Wild juveniles	Cultured juveniles
Moisture	82.81 $\pm$ 0.71	90.20 $\pm$ 0.92*
Total protein	60.61 $\pm$ 2.60	69.87 $\pm$ 7.66
Total lipid	8.10 $\pm$ 0.71	17.47 $\pm$ 1.72*
Lysophosphatidylcholine	0.17 $\pm$ 0.1	0.31 $\pm$ 0.1
Sphingomyelin	0.38 $\pm$ 0.1	0.24 $\pm$ 0.1
Phosphatidylcholine	17.42 $\pm$ 1.0	9.23 $\pm$ 0.3*
Phosphatidylserine	4.96 $\pm$ 0.9	2.84 $\pm$ 0.1*
Phosphatidylinositol	2.47 $\pm$ 0.8	1.53 $\pm$ 0.4
Phosphatidylglycerol <sup>a</sup>	3.89 $\pm$ 1.7	3.80 $\pm$ 0.1
Phosphatidylethanolamine	18.64 $\pm$ 2.5	7.88 $\pm$ 0.6*
Diacylglycerol	1.59 $\pm$ 0.1	2.48 $\pm$ 0.3*
Cholesterol	14.61 $\pm$ 0.5	11.96 $\pm$ 0.5*
Free fatty acids	1.80 $\pm$ 0.2	14.13 $\pm$ 2.5*
Triacylglycerol	28.89 $\pm$ 0.4	42.76 $\pm$ 2.9*
Sterol ester	5.17 $\pm$ 0.1	2.85 $\pm$ 1.0
Total polar lipid	47.93 $\pm$ 0.8	25.82 $\pm$ 1.0*
Total neutral lipid	52.07 $\pm$ 0.8	74.18 $\pm$ 1.0*

effect of light reported here is of major importance in designing feeding protocols for this species.

A second interesting fact is the homogeneity in feeding rates between juveniles and adults when they prey on rotifers, which suggests different capture mechanisms according to prey characteristics. In this respect, *Brachionus* rotifers, less powerful swimmers and more transparent than *Artemia* nauplii, may be more prone to be captured by a filter-feeding mechanism and *Artemia* by a raptorial one (Viherluoto and Viitasalo 2001b); both mechanisms are also present in other mysid species, such as *Neomysis integer* (Fockedey 2005) and *Praunus flexuosus* (Viitasalo and Rautio 1998).

Finally, the smaller predation rates on *Artemia* nauplii recorded in the bifactorial experiment can be partly explained by the known declining consumption rate over time, which implies smaller rates in longer assays (Gorokhova and Hansson 1997); nevertheless, an effect of variations in gut fullness should not be excluded.

**Table 6.** Fatty acid composition of total lipids of juvenile *Gastrosaccus roscoffensis* (% of total fatty acids). Results represent the mean  $\pm$  standard deviation of three replicates. Asterisks represent significant differences ( $P < 0.05$ ). <sup>a</sup> May also contain n-11 isomers. <sup>b</sup> Totals include other minor components.

**Tabla 6.** Composición de ácidos grasos del lípido total de los juveniles de *Gastrosaccus roscoffensis* (% del total de ácidos grasos). Los resultados representan la media  $\pm$  desviación estándar de tres réplicas. Los asteriscos indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). <sup>a</sup> Puede contener isómeros n-11. <sup>b</sup> Los totales incluyen otros componentes minoritarios.

Composition	Wild juveniles	Cultured juveniles
14:0	4.45 $\pm$ 0.24	0.75 $\pm$ 0.08*
16:0	22.48 $\pm$ 0.26	13.30 $\pm$ 0.74*
16:1 n-7	0.17 $\pm$ 0.02	3.18 $\pm$ 0.41*
18:0	3.23 $\pm$ 0.02	5.59 $\pm$ 0.34*
18:1 n-9	8.52 $\pm$ 0.14	19.66 $\pm$ 0.60*
18:1 n-7	2.18 $\pm$ 0.05	6.64 $\pm$ 0.22*
18:2 n-6	2.67 $\pm$ 0.08	5.11 $\pm$ 0.23*
18:3 n-6	0.29 $\pm$ 0.02	0.49 $\pm$ 0.03*
18:3 n-3	1.99 $\pm$ 0.03	22.34 $\pm$ 1.54*
18:4 n-3	1.89 $\pm$ 0.03	2.81 $\pm$ 0.33*
20:1 n-9 <sup>a</sup>	0.00 $\pm$ 0.00	0.10 $\pm$ 0.19
20:3 n-6	0.08 $\pm$ 0.05	0.17 $\pm$ 0.15
20:4 n-6	2.31 $\pm$ 0.05	1.14 $\pm$ 0.24*
20:3 n-3	0.20 $\pm$ 0.01	1.28 $\pm$ 0.07*
20:4 n-3	0.47 $\pm$ 0.00	0.95 $\pm$ 0.10*
20:5 n-3	20.43 $\pm$ 0.35	5.51 $\pm$ 0.90*
22:5 n-3	0.48 $\pm$ 0.01	0.00 $\pm$ 0.00
22:6 n-3	17.30 $\pm$ 1.12	3.48 $\pm$ 0.27*
UK	0.46 $\pm$ 0.08	2.09 $\pm$ 0.05*
Totals <sup>b</sup>		
SFA	32.45 $\pm$ 0.49	21.94 $\pm$ 1.21*
MUFA	16.69 $\pm$ 0.15	31.77 $\pm$ 1.38*
PUFA	50.39 $\pm$ 0.59	44.21 $\pm$ 1.84*
n-3 HUFA	39.28 $\pm$ 0.91	11.21 $\pm$ 0.88*
n-3	43.16 $\pm$ 0.85	36.36 $\pm$ 1.93*
n-6	5.58 $\pm$ 0.19	6.60 $\pm$ 0.41*
n-9	13.74 $\pm$ 0.11	20.15 $\pm$ 0.65*
n-3/n-6	7.75 $\pm$ 0.42	5.53 $\pm$ 0.50*
DHA/EPA	0.85 $\pm$ 0.07	0.64 $\pm$ 0.12*
EPA/ARA	8.83 $\pm$ 0.10	4.87 $\pm$ 0.33*
DHA/ARA	7.49 $\pm$ 0.66	3.16 $\pm$ 0.76*

agua, ya que se ha observado que las altas concentraciones de amonio, nitratos y nitritos, junto con niveles bajos de oxígeno disuelto, incrementan la mortalidad de los misidáceos (Brandt *et al.* 1993).

In the present study, an initial mysid density of 5 ind L<sup>-1</sup> was used, since mysids are more likely to cannibalize their young if food becomes limited (Reistema and Neff 1980, Lussier *et al.* 1988, Domingues *et al.* 1998). Underfeeding, causing subsequent cannibalism, and overfeeding, resulting in poor water quality, can occur more frequently. In addition, the population density can affect reproductive behavior; a population that is too dense has been shown to have a higher proportion of females with empty brood sacs (Lussier *et al.* 1988).

Survival experiments carried out in the present study lasted for 55 days, a longer period compared to experiments done with *Leptomysis* sp. (Domingues *et al.* 2000). Survival rates of juveniles were low (40–80%) in the first 10 days of culture, in consonance with former experiences (Domingues *et al.* 2000, 2001b); however, two mortality events were observed later (day 28 and days 40–43), not recorded by former authors for other mysid species. The observed association between darkness and survival is in agreement with the also positive effect of darkness on predation rate, suggesting a causal relationship between ingestion and survival rates.

In terms of growth rates, *G. roscoffensis* displayed similar values to those obtained for other species (*Leptomysis* sp., *Mysidopsis almira*, and *Neomysis intermedia*) (Domingues *et al.* 1999, 2000, 2001b). The studied species grew 6.8 mm in 42 days, a longer period compared with former studies (15–34 days) (Domingues *et al.* 1999, 2000, 2001b), probably due to the culture temperature (22–27 °C vs 20 °C in *G. roscoffensis* experiments). Finally, Toda *et al.* (1984) reported a high variation in growth rates of *N. intermedia* depending on diet, 0.03 mm day<sup>-1</sup> when fed enriched *Artemia* nauplii, rotifers, and *Daphnia*, and 0.32 mm day<sup>-1</sup> when fed rotifers and *Daphnia* (table 3).

In relation to the biochemical composition, the percentages (percent dry weight) of total protein for wild and cultured *G. roscoffensis* (60.61 ± 2.60 and 69.87 ± 7.66, respectively) are similar to values obtained for other mysid species (wild and/or cultured), such as *Metamysidopsis insularis* (Guevara *et al.* 2005), *Mesopodopsis orientalis* (Eusebio *et al.* 2010), *Paramysis nouveli*, and *Leptomysis lingvura* (Herrera *et al.* 2009). Likewise, the TL percentage of cultured *G. roscoffensis* is similar to the values of the species named before; however, that of wild *G. roscoffensis* (8.10 ± 0.71) is about one-half of the values reported in the articles mentioned above, only wild *M. orientalis* showing a similar TL (10.60 ± 0.10).

Lipid class composition showed significant differences when compared with data obtained for cultured specimens of *N. intermedia* (Ando and Nozaki 2007). In cultured *G. roscoffensis*, neutral lipids were the main fraction (74.18% TL) with a high percentage of TG (42.76%), but in *N. intermedia*, polar lipids (mainly PE, PC and phosphatidylinositol (PI)) are clearly predominant (63.8%) and TG only represented 6.8% of TL (Ando and Nozaki 2007). Another relevant data is the free fatty acid percentage found

Se ha documentado que la luz inhibe las tasas de alimentación en misidáceos pelágicos con migración vertical como consecuencia de la necesidad de evitar los predadores visuales, pero no en misidáceos litorales que pueden ocultarse en la vegetación de macroalgas, siendo el efecto mayor en animales juveniles (Viherluoto y Viitasalo 2001a). Estos resultados previos no pueden aplicarse directamente a los datos aquí presentados, ya que *G. roscoffensis* muestra inhibición por luz a pesar de ser una especie litoral; de todas formas, esta especie efectúa una migración diaria entre los fondos arenosos y la columna del agua, donde puede ser encontrada durante la noche, como ocurre en otras especies de *Gastrosaccus* (Suau y Vives 1957). Por lo tanto, todavía es viable hipotetizar una solución de compromiso entre la evitación de los predadores visuales y la necesidad de alimentación. Sea como fuere, el efecto de la luz aquí presentado es de gran importancia en el diseño de protocolos de alimentación para esta especie.

Un segundo hecho de interés es la homogeneidad en las tasas de alimentación entre juveniles y adultos cuando depredaron rotíferos, lo que sugiere diferentes mecanismos de captura de acuerdo con las características de la presa. A este respecto, los rotíferos del género *Brachionus*, nadadores menos poderosos y más transparentes que los nauplios de *Artemia*, podrían ser más propensos a ser capturados mediante mecanismos de filtración mientras que los nauplios de *Artemia* lo serían mediante un mecanismo de presa (Viherluoto y Viitasalo 2001b); ambos mecanismos están presentes en otras especies de misidáceos, tales como *Neomysis integer* (Focke 2005) y *Praunus flexuosus* (Viitasalo y Rautio 1998).

Finalmente, las tasas de depredación de nauplios de *Artemia* más pequeñas que se registraron en el experimento bifactorial pueden ser parcialmente explicadas por la conocida bajada de las tasas de consumo a lo largo del tiempo, lo que implica menores tasas para los ensayos más largos (Gorokhova y Hansson 1997), sin que se pueda excluir un efecto de las diferencias en el grado de repleción digestiva.

En el presente estudio, se utilizó una densidad inicial de misidáceos de 5 ind L<sup>-1</sup>, ya que los misidáceos depredan con mayor probabilidad sobre sus juveniles si la comida es limitante (Reistema y Neff 1980, Lussier *et al.* 1988, Domingues *et al.* 1998). La subalimentación, causante del canibalismo, y la sobrealimentación, causante de baja calidad del agua, pueden ocurrir con frecuencia. Además, la densidad de población puede afectar al comportamiento reproductivo; una población muy densa muestra una mayor proporción de hembras con sacos ovígeros vacíos (Lussier *et al.* 1988).

Los experimentos de supervivencia llevados a cabo en el presente estudio duraron 55 días, un periodo más largo comparado con los experimentos realizados con *Leptomysis* sp. (Domingues *et al.* 2000). Las tasas de supervivencia de los juveniles fueron bajas (40–80%) en los 10 primeros días de cultivo, en consonancia con experiencias anteriores (Domingues *et al.* 2000, 2001b). Sin embargo, dos eventos de

in cultured *G. roscoffensis* (14.13% TL). A high value of this lipid class is not usual in marine organisms, but this value is in agreement with the levels observed in *N. intermedia* (Ando and Nozaki 2007).

The fatty acid composition of the wild individuals collected in the present study resembles that of other mysid species such as *Amblyops kempy* (Woods and Valentino 2003) and *M. orientalis* (Eusebio *et al.* 2010) and of other marine zooplankton species (Brett *et al.* 2009), where the most important fatty acids are 16:0, 20:5n-3, and 22:6n-3. On the other hand, wild *M. insularis* individuals presented low levels of these last two fatty acids (Guevara *et al.* 2005). After the culturing period, *G. roscoffensis* presented several differences from the wild ones. The DHA and EPA levels dropped significantly and the fatty acid composition of cultured *G. roscoffensis* was characterized by a predominance of 18C-PUFA and monoenes, 18:3n-3 (linoleic acid) being the main fatty acid of TL composition (22.34% TL), followed by 18:1n-9 (oleic acid).

The lipid composition of cultured *G. roscoffensis* obtained in this study resembles that of commercial *Artemia* (Coutteau and Mourente 1997) used as prey, especially regarding the high contents of TG and 18:3n-3, and low levels of n-3 HUFA, although the DHA:EPA ratio decreases only by 25% (from 0.85 to 0.63) in spite of the nearly zero DHA:EPA ratio in newly hatched, not-enriched *Artemia* (Coutteau and Mourente 1997). A possible explanation for the resemblance with the *Artemia* fatty acid profile could be the high ingestion of this prey, as previously described by Domingues *et al.* (2001b). Differences in nutritional composition between mysid species could be due to variations between cultured and wild specimens or even feeding habitats between epibenthic and planktonic species (i.e., *Leptomysis* spp. and *Mysidium* spp.). Furthermore, freshwater species are characterized by high levels of 18:3n-3, and a *Gastrosaccus* species (*G. sanctus*) has been described in the Ebro River, which may explain the species fatty acid composition. On the whole, these nutritional data suggest that the lipid composition of cultivated *G. roscoffensis* could be poor in terms of lipid quality, but its good predation rate over *Artemia* indicates that the *Artemia* n-3 HUFA ordinary enrichment protocol might be used to transfer these nutrients to *G. roscoffensis* as an alternative and/or additional prey. Another alternative to improve the mysid fatty acid profile is to enrich these individuals with lipid emulsions, as previously studied by Ando and Nozaki (2007) for *N. intermedia*. After the culture period, the DHA levels ranged from 23.3 to 14.3 (percent total fatty acids).

In addition, other nutrients such as amino acids, carbohydrates, oligo elements, vitamins, or carotenoids should be taken into account. Further studies on the nutritional quality of *G. roscoffensis* under different rearing protocols, including different prey or inert food, are necessary to get a wider view.

In general, mysids have proved to be a good prey because they are easily accessible in the sea and can be caught with cheap devices. Moreover, some species have been massively

importante mortalidad fueron observados más tarde (día 28 y días 40–43), hecho no recogido por otros autores con otras especies de misidáceos. La asociación aparente entre oscuridad y supervivencia coincide con el también efecto positivo de la oscuridad en la tasa de predación, lo que sugiere una relación causal entre ingestión y tasa de supervivencia.

En términos de tasa de crecimiento, *G. roscoffensis* manifestó valores similares a los ya obtenidos para otras especies (*Leptomysis* sp., *Mysidopsis almira* y *Neomysis intermedia*) (Domingues *et al.* 1999, 2000, 2001b). La especie estudiada creció 6.8 mm en 42 días, un periodo más largo comparado con el de estudios previos (15–34 días) (Domingues *et al.* 1999, 2000, 2001b), probablemente debido a la temperatura del cultivo (22–27 °C vs 20 °C en experimentos con *G. roscoffensis*). Finalmente, Toda *et al.* (1984) registró una alta variación en las tasas de crecimiento de *N. intermedia* dependiendo de la dieta, 0.03 mm día<sup>-1</sup> cuando la alimentación constaba de nauplios de *Artemia* enriquecida, rotíferos y *Daphnia*, y 0.32 mm día<sup>-1</sup> cuando la alimentación se basaba en rotíferos y *Daphnia* (tabla 3).

En relación a la composición bioquímica, los porcentajes (porcentaje en peso seco) de proteína total de los ejemplares salvajes y cultivados de *G. roscoffensis* (60.61 ± 2.60 y 69.87 ± 7.66, respectivamente) fueron similares a los valores obtenidos en otras especies de misidáceos (salvajes y/o cultivados), tales como *Metamysidopsis insularis* (Guevara *et al.* 2005), *Mesopodopsis orientalis* (Eusebio *et al.* 2010), *Paramysis nouveli* y *Leptomysis lingvura* (Herrera *et al.* 2009). De la misma manera, el porcentaje de LT de los individuos de *G. roscoffensis* cultivados fue similar a los valores de las especies anteriormente mencionadas. En cambio, el LT de los ejemplares salvajes de *G. roscoffensis* (8.10 ± 0.71) fue aproximadamente la mitad de los valores presentados en los artículos ya mencionados; únicamente los ejemplares salvajes de *M. orientalis* muestran un valor semejante de LT (10.60 ± 0.10).

La composición de clases lipídicas reflejó diferencias significativas cuando se compararon los datos con los obtenidos para ejemplares cultivados de *N. intermedia* (Ando y Nozaki 2007). En los misidáceos cultivados de *G. roscoffensis*, los lípidos neutros representaron la fracción principal (74.18% de LT), con un alto porcentaje de TG (42.76%), pero en *N. intermedia* los lípidos polares (principalmente PE, PC y fosfatidilinositol (PI)) fueron claramente predominantes (63.8 %), representando los TG únicamente el 6.8% de LT (Ando y Nozaki 2007). Otro dato relevante es el porcentaje de ácidos grasos libres encontrado en ejemplares de *G. roscoffensis* cultivados (14.13% de LT). Este valor tan elevado de esta clase lipídica no es usual en los organismos marinos, pero el dato concuerda con los valores de ácidos grasos libres observados en *N. intermedia* (Ando y Nozaki 2007).

La composición de ácidos grasos de los ejemplares salvajes recolectados en el presente estudio reflejó la composición de ácidos grasos de otras especies de misidáceos previamente



produced and sold as prey. *Gastrosaccus roscoffensis* could be a good candidate as an additional prey for larval stages of commercially-interesting species. Although *G. roscoffensis* cannot completely replace *Artemia* nauplii in rearing protocols and, hence, cannot be strictly thought of as an alternative prey, we would like to draw attention to the fact that mysids can improve ingestion and survival rates of species needing large prey during first feeding, particularly cephalopods. Decapod zoeae have been used as an additional, but necessary, prey to improve *Octopus vulgaris* paralarval survival rates, and a number of authors have encouraged the investigation of mysid species as an additional prey in that respect (Iglesias *et al.* 2007). Similarly, *Sepia officinalis* juveniles cannot be suitably grown on a diet only comprising adult *Artemia* (Domingues *et al.* 2001a). Feeding and rearing conditions of both *O. vulgaris* and *S. officinalis* are currently under intense research in Portugal and Spain for production purposes. Size, mobility, palatability, growth rate, survival rate, and reproduction under captivity should be taken into account for further culture experiences with *G. roscoffensis*.

In order to consider the mysid *G. roscoffensis* as a live prey in aquaculture, we suggest the use of aerated tanks in darkness with densities of 5 ind L<sup>-1</sup> and *ad libitum* feeding with a mixture of phytoplankton (*Chlorella* sp.), *Brachionus*, and n-3 HUFA enriched *Artemia* nauplii.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by the research project PRESAPUL ("Use of alternative preys for the growth of octopus (*Octopus vulgaris*) paralarvae (2009–2011) reference", PI SolsubC200801000162"), funded by the Canarian Government (ACIISI), and by the research project NUTRIPULPO, funded by JACUMAR (Spanish Government). Authors are grateful to G Guerao (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentarias, Spain) and C San Vicente (Universidad Autónoma de Barcelona, Spain) for the taxonomic confirmation of *G. roscoffensis*, and to V Martín (Instituto Español de Oceanografía, Canarias) for constructive comments on an earlier version of the manuscript.

#### REFERENCES

- Agresti A. 2007. An Introduction to Categorical Data Analysis. 2nd ed. Wiley, Hoboken, New Jersey, 372 pp.
- Ando Y, Nozaki M. 2007. Lipid profile of mysid *Neomysis intermedia* and its changes by feeding DHA-rich marine lipids. *J. Oleo Sci.* 56: 471–478.
- AOAC. 2006. Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry. Official method 942.05. 2590 pp.
- Bacescu M. 1970. Contributions à l'étude morphoécologique des Gastrosaccinae (Crustacea, Mysidacea) du versant est de l'Atlantique et de la Méditerranée. Description de *G. mediterraneus* n.sp., *G. olivae* n.sp. et *G. roscoffensis* n.sp. *Rev. Roum. Biol. Zool.* 15: 217–234.
- Brandt OM, Fujimura RW, Finlayson B. 1993. Use of *Neomysis mercedis* (Crustacea: Mysidacea) for estuarine toxicity test. *Trans. Am. Fish Soc.* 122: 279–288.
- estudiadas, como *Amblyops kempy* (Woods y Valentino 2003) y *M. orientalis* (Eusebio *et al.* 2010), así como de otras especies marinas componentes del zooplancton (Brett *et al.* 2009), en las cuales los ácidos grasos más importantes fueron 16:0, 20:5n-3 y 22:6n-3. Por otro lado, la especie *M. insularis* salvaje presentó bajos niveles de estos dos últimos ácidos grasos (Guevara *et al.* 2005). Tras el periodo de cultivo, *G. roscoffensis* mostró diferencias con los ejemplares salvajes. Los niveles de DHA y EPA descendieron significativamente y la composición de ácidos grasos de *G. roscoffensis* cultivado pasó a ser caracterizada por una predominancia de 18C-PUFA y monoenos, siendo el 18:3n-3 (ácido linoleico) el ácido graso principal de LT (22.34% de LT), seguido por el 18:1n-9 (ácido oleico).
- Es llamativo el hecho de que la composición lipídica de los ejemplares cultivados de *G. roscoffensis* obtenida en este estudio refleja la composición lipídica de la *Artemia* comercial (Coutteau y Mourente 1997) empleada como presa, en especial los altos niveles de TG y 18:3n-3, así como los bajos niveles de n-3 HUFA. No obstante, la relación DHA:EPA se ve disminuida en sólo un 25% (de 0.85 a 0.63), a pesar de la relación DHA:EPA cercana a cero detectada en la *Artemia* recién eclosionada, sin enriquecer (Coutteau y Mourente 1997). Una posible explicación a esta semejanza con el perfil de ácidos grasos de *Artemia* podría ser la alta ingestión de esta presa por parte de los misidáceos, como fue ya descrito por Domingues *et al.* (2001b). Las diferencias en la composición nutricional entre especies de misidáceos pueden estar ocasionadas por las diferencias entre ejemplares salvajes y cultivados, e incluso por los diferentes hábitats de alimentación entre especies epibénticas y planctónicas (i.e., *Leptomysis* spp. y *Mysidium* spp.). De hecho, las especies de agua dulce se caracterizan por altos niveles de 18:3n-3, y una especie de *Gastrosaccus* (*G. sanctus*) se ha descrito asimismo en el río Ebro, lo cual podría explicar la composición de ácidos grasos descrita en estas especies. Tomados en su conjunto, estos datos nutricionales sugieren que la composición lipídica de *G. roscoffensis* cultivado podría ser pobre en términos de calidad lipídica. Sin embargo, las altas tasas de predación hacia la *Artemia* indican que los protocolos habituales de enriquecimiento de *Artemia* con n-3 HUFA podrían emplearse para transferir estos nutrientes a *G. roscoffensis* y convertirlo en un tipo de presa alternativa y/o complementaria. Otra posibilidad de mejorar el perfil de ácidos grasos del misidáceo es enriquecer a los ejemplares con emulsiones lipídicas, tal y como fue estudiado anteriormente por Ando y Nozaki (2007) para el misidáceo *N. intermedia*. Tras el periodo de cultivo, los niveles de DHA oscilaron entre 23.3 y 14.3 (porcentaje del total de ácidos grasos).
- Por otro lado, convendría tener en consideración otros nutrientes, como aminoácidos, carbohidratos, oligoelementos, vitaminas y carotenoides. Igualmente, para profundizar en todos los aspectos mencionados, son necesarias más investigaciones y estudios acerca de la calidad nutricional

- Brett MT, Müller-Navarra DC, Persson J. 2009. Crustacean zooplankton fatty acid composition. In: Arts MT, Brett MT, Kainz MJ. (eds.), *Lipids in Aquatic Ecosystems*. Springer, New York, 377 pp.
- Christie W. 1982. *Lipid Analysis. Isolation, Separation, Identification, and Structural Analysis of Lipids*. 2nd ed. Pergamon Press, New York, 207 pp.
- Coutteau P, Mourente G. 1997. Lipid classes and their contents of n3 highly unsaturated fatty acids (HUFA) in *Artemia franciscana* after hatching, HUFA-enrichment and subsequent starvation. *Mar. Biol.* 130: 81–91.
- Domingues P, Turk PE, Andrade JP, Lee PG. 1998. Pilot-scale production of mysid shrimp in a static water system. *Aquacult. Int.* 6: 387–402.
- Domingues PM, Turk PE, Andrade JP, Lee PG. 1999. Culture of the mysid, *Mysidopsis almyra* (Bowman) (Crustacea: Mysidacea), in a static water system: Effects of density and temperature on production, survival and growth. *Aquacult. Res.* 30: 135–143.
- Domingues PM, Fores F, Turk PE, Lee PG, Andrade JP. 2000. Mysid culture: Lowering costs with alternative diets. *Aquacult. Res.* 31: 719–728.
- Domingues PM, Sykes AV, Andrade JP. 2001a. 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. *Aquacult. Int.* 4: 319–331.
- Domingues PM, Turk PE, Andrade JP, Lee PG. 2001b. Effects of different food items on the culture of the mysid shrimp *Mysidopsis almyra* (Crustacea: Pericaridea) in a static water system. *Aquacult. Int.* 9: 393–400.
- Eusebio PS, Coloso RM, Gapasin RSJ. 2010. Nutritional evaluation of mysids *Mesopodopsis orientalis* (Crustacea: Mysida) as live food for grouper *Epinephelus fuscoguttatus* larvae. *Aquaculture* 306(1/4): 289–294.
- Fischelson L, Loya Y. 1968. Preliminary observations on a population of *Gastrosaccus sanctus* (Van Beneden) (Mysidacea, Gastrosaccinae) on a Mediterranean sand beach of Israel. *Crustaceana* 15: 149–152.
- Fockedey N. 2005. Diet and growth of *Neomysis integer* (Leach 1814) (Crustacea, Mysidacea). PhD thesis, University of Ghent.
- Fowler J, Cohen L, Jarvis P. 2002. *Practical Statistics for Field Biology*. 2nd ed. Wiley and Sons, West Sussex, UK, 259 pp.
- Gorokhova E. 2002. Moulting cycle and its chronology in *Mysis mixta* and *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea): Implications for growth assessment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 278: 179–194.
- Gorokhova E, Hansson S. 1997. Effects of experimental conditions on the feeding rates of *Mysis mixta* (Crustacea, Mysidacea). *Hydrobiologia* 355: 167–172.
- Gorokhova E, Hansson S. 2000. Elemental composition of *Mysis mixta* (Crustacea: Mysidacea) and energy costs of reproduction and embryogenesis under laboratory conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 246: 103–123.
- Guevara M, Lodeiros C, Donato MD, Graciani C, Freitas L. 2005. Nutritional quality of *Metamysidopsis insularis* Brattegard (Crustacea: Mysidacea). *Aquacult. Nutr.* 11: 315–319.
- Herrera A, Gómez M, Molina L, Otero F, Packard T. 2009. Advances in rearing techniques and analysis of nutritional quality of two mysid species present in Gran Canaria. *Eur. Aquacult. Soc. Spec. Publ.* 38: 171–174.
- Horwitz W. 1980. *Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1038 pp.
- Iglesias J, Sánchez JL, 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* de *G. roscoffensis* bajo diferentes protocolos de cultivo, incluyendo diversas presas o dieta inerte.
- En general, los misidáceos han demostrado ser una buena presa por su accesibilidad en el mar, pudiendo ser capturados con medios sencillos y económicos. De hecho, algunas especies han sido masivamente producidas y vendidas como presas. La especie del presente estudio, *G. roscoffensis*, podría ser una buena candidata como presa complementaria para estadios larvarios de especies con interés comercial. Aunque *G. roscoffensis* no puede sustituir todavía a los nauplios de *Artemia* en los protocolos de cultivo y, por tanto, no puede ser considerada estrictamente como presa alternativa, nos gustaría llamar la atención en el hecho de que los misidáceos pueden mejorar la ingestión y las tasas de supervivencia en aquellas especies que requieren de presas de mayor tamaño en los primeros estadios, tales como los cefalópodos. Las zoeas de ciertos decápodos han sido empleadas como presa complementaria, pero también necesaria, para mejorar la supervivencia de las paralarvas de *Octopus vulgaris*, y muchos autores han apoyado la investigación con misidáceos en dicho contexto (Iglesias *et al.* 2007). De manera similar, los juveniles de *Sepia officinalis* no crecen de forma adecuada con una dieta que incluya solo *Artemia* adulta (Domingues *et al.* 2001a). Las condiciones de alimentación y el cultivo de ambas especies, *O. vulgaris* y *S. officinalis*, están siendo ampliamente investigadas con fines productivos en la actualidad tanto en España como en Portugal. El tamaño, la palatabilidad, las tasas de crecimiento y supervivencia, y la reproducción en cautividad deberían ser tomadas en cuenta para futuras experiencias de cultivo con *G. roscoffensis*.
- Con el objetivo de considerar al misidáceo *G. roscoffensis* como una presa viva en acuicultura, sugerimos el uso de tanques aireados en oscuridad con densidades de 5 ind L<sup>-1</sup> y la alimentación *ad libitum* con una mezcla de fitoplancton (*Chlorella* sp.), *Brachionus*, y nauplios de *Artemia* enriquecida con n-3 HUFA.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido en parte desarrollado por el proyecto de investigación PRESAPUL (“Uso de presas alternativas para el crecimiento de paralarvas de pulpo común (*Octopus vulgaris*) (2009–2011) referencia, PI SolsubC200801000162”), financiado por el Gobierno de Canarias (ACIISI), así como el proyecto de investigación NUTRIPULPO, financiado por JACUMAR (Gobierno de España). Los autores agradecen a G Guerao (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentarias, España) y C San Vicente (Universidad Autónoma de Barcelona, España) la confirmación taxonómica de *G. roscoffensis*, y a V Martín (Instituto Español de Oceanografía, Canarias) por sus comentarios constructivos en la versión preliminar del manuscrito.

- paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture* 266: 1–15.
- Johnston NT, Lasenby DC. 1982. Diet and feeding of *Neomysis mercedis* Holmes (Crustacea, Mysidacea) from the Fraser River Estuary, British Columbia. *Can. J. Zool.* 60: 813–824.
- Kuhn AH, Bengtson DD, Simpson KL. 1991. Increased reproduction by mysids (*Mysidopsis bahia*) fed with enriched *Artemia* sp. nauplii. *Am. Fish. Soc. Symp.* 9: 192–199.
- Le Francois N, Jobling M, Carter C, Blier P. 2009. Finfish aquaculture: Species selection for diversification. CABI International, Oxfordshire, UK, 640 pp.
- Lussier SM, Kuhn A, Chammas MJ, Sewall J. 1988. Techniques for the laboratory culture of *Mysidopsis* species (Crustacea: Mysidacea). *Environ. Toxicol. Chem.* 7: 969–977.
- Mauchline J. 1980. The biology of mysids and euphausiids. *Adv. Mar. Biol.* 18: 1–681.
- McQuart-Moulin C, Ribera-Maycas E. 1995. Inshore and offshore diel migrations in European benthopelagic mysids, genera *Gastrosaccus*, *Anchialina* and *Haplostylus* (Crustacea, Mysidacea). *J. Plankton Res.* 17: 531–555.
- Olsen RE, Henderson RJ. 1989. The rapid analysis on neutral and polar marine lipids using double development HPTLC and scanning densitometry. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 189–197.
- Reistema L, Neff JM. 1980. A recirculating artificial seawater system for the laboratory culture of *Mysidopsis almyra* (Crustacea: Pericaridea). *Estuaries* 3: 321–323.
- Stottrup J, McEvoy LA. 2003. *Live Feeds in Marine Aquaculture*. Blackwell, Oxford, 318 pp.
- Suau P, Vives F. 1957. Sobre la presencia de *Gastrosaccus sanctus* (van Beneden) en la desembocadura del río Ebro. *Invest. Pesq.* 8: 121–126.
- Toda H, Takahashi M, Ichumura S. 1984. The effect of temperature on the post-embryonic growth of *Neomysis intermedia* Czerniawsky (Crustacea, Mysidacea) under laboratory conditions. *J. Plankton Res.* 6: 647–662.
- Viherluoto M, Viitasalo M. 2001a. Effect of light in the feeding rates of pelagic and littoral mysid shrimps: A trade-off between feeding success and predation avoidance. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 261: 237–241.
- Viherluoto M, Viitasalo M. 2001b. Temporal variability in functional responses and prey selectivity of the pelagic mysid, *Mysis mixta*, in natural prey assemblages. *Mar. Biol.* 138: 575–583.
- Viherluoto M, Kuosa H, Flinkman J, Viitasalo M. 2000. Food utilisation of pelagic mysids, *Mysis mixta* and *M. relicta*, during their growing season in the northern Baltic Sea. *Mar. Biol.* 136: 553–559.
- Viitasalo M, Rautio M. 1998. Zooplanktivory by *Praunus flexuosus* (Crustacea: Mysidacea): Functional responses and prey selection in relation to prey escape responses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 174: 77–87.
- Von Bertalanffy L. 1938. A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws). *Hum. Biol.* 10: 181–213.
- Wittmann K, Moro L, Riera R. 2010. Sobre la distribución de *Gastrosaccus roscoffensis* (Crustacea: Mysida) en el Atlántico nororiental y primer registro para las islas canarias. *Rev. Acad. Canar. Cienc.* XXII(4): 91–101.
- Woods CMC, Valentino F. 2003. Frozen mysids as an alternative to live *Artemia* in culturing seahorses *Hippocampus abdominalis*. *Aquacult. Res.* 34: 757–763.
- Zar JH. 1984. *Biostatistical Analysis*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 619 pp.

Received April 2011,  
received in revised form April 2012,  
accepted May 2012.