

Evaluación de Diferentes Factores Productivos en el Crecimiento Poblacional de Copépodos Ciclopoides en el Laboratorio de Reproducción de Especies Hidrobiológicas y de Cultivo en la Universidad de Nariño

Evaluation of Different Productive Factors in Copepodos's Population growth Ciclopoides in the Laboratory of Reproduction of Species Hidrobiological and of Culture in Nariño's University

Gómez Cerón. A.¹, Estudiantes Ingeniería en Producción Acuícola²

Resumen

Se realizó un cultivo experimental de copépodo *Cyclopoide* sp, alimentado con *Spirulina* en polvo (0,005 gr.), *Chlorella* sp. (0,2 ml) y la combinación de los dos alimentos (0,0025 gr. + 0,1 ml respectivamente) para determinar su efecto sobre el desempeño de la población. Fueron realizados cultivos experimentales del copépodo *Cyclopoide* sp., en la Universidad de Nariño, bajo condiciones controladas de temperatura (22°C), intensidad lumínica (natural, 1 000 lux y 3000 lux) y aireación. Diariamente se registró mortalidad, número de hembras ovadas y número de huevos. La información obtenida fue procesada mediante un análisis estadístico empleando el programa Statgraphic plus utilizando un diseño factorial 3² el cual tiene dos factores, cada uno con tres niveles obteniendo un total de 9 combinaciones. Se obtuvieron diferencias significativas para el efecto de la dieta y la intensidad de luz sobre el crecimiento población y coloración de los copépodos; los individuos alimentados con *Spirulina* en polvo más *Chlorella* sp., alcanzaron una densidad de 304 individuos, presentando la mayor tasa de crecimiento. Se llegó a concluir que la intensidad de luz de 3000 lux y la dieta con *Spirulina* en polvo mas la microalga *Chlorella* sp., son los factores a los cuales se adaptan favorablemente estos individuos.

Palabras clave: Copépodo, lux, alimentación, coloración.

Abstract

We performed an experimental culture of copepod *Cyclopoide* sp fed with *Spirulina* powder (0.005 gr.) *Chlorella* sp. (0.2 ml) and the combination of the two foods (0.0025 gr. + 0.1 ml respectively) to determine its effect on the performance of the population. Was performed experimental culture *Cyclopoide* sp. copepod, at the University of Nariño, under controlled conditions of temperature (22 °C), light intensity (natural, 1000 lux and 3000 lux) and aeration. Mortality was recorded daily, number of mature females and number of eggs. Information obtained was processed by statistical analysis using the program Statgraphics plus using a 3² factorial design which has two factors, each

¹ Biólogo Marino, Esp. Profesor Asistente Universidad de Nariño. Departamento de Recursos Hidrobiológicos, Universidad de Nariño. Ciudad Universitaria-Torobajo, arielgomez609@hotmail.com

² Estudiantes Asignatura Núcleo Problémico III –Laricultura y Productividad Primaria, VI Semestre 2011 Ingeniería en Producción Acuícola, Universidad de Nariño.

one with three levels earning a total of 9 different combinations. Significant differences for the effect of diet and light intensity on population growth and coloration of the copepods, the individuals fed with *Spirulina* powder more *Chlorella sp.*, reached a density of 304 individuals, showing the highest growth rate. It was concluded that the light intensity of 3000 lux and diet of *Spirulina* powder more microalgae *Chlorella sp.*, are the factors to which these individuals adapt favorably.

Key words: Copepod, lux, food, coloring.

Introducción

A pesar de los esfuerzos para sustituir totalmente el alimento vivo por dietas artificiales, continúa la dependencia de la producción y empleo de zooplancton para la larvicultura de especies neotropicales. En general, el alimento artificial no supe las necesidades nutricionales o no presenta las características adecuadas para las larvas, constituyendo el zooplancton la mejor opción en la larvicultura (1, 2). Su uso en la larvicultura presenta como principales ventajas: menor grado de polución, mejor distribución, mantienen sus características por muchas horas (3, 4), lo que no ocurre con alimentos artificiales.

Además, el zooplancton presenta corto ciclo de vida, alta tasa de fertilidad y capacidad de vivir en altas densidades, características que facilitan su cultivo; su lento movimiento y coloración facilitan la captura por parte de las postlarvas, así mismo, presentan la posibilidad de ser biocápsulas al ser enriquecidos.

Entre los grupos de zooplancton más utilizados están *Artemia*, rotíferos, cladóceros y copépodos. El valor nutricional de los rotíferos está sujeto al alimento ofrecido; son considerados excelente alimento para larvas de peces marinos y algunos de agua dulce, gracias a su pequeño tamaño, constante movimiento en el agua, corto ciclo de vida para su cultivo (5). Son considerados de alto valor nutritivo por su digestibilidad y capacidad de transferencia de nutrientes cuando son enriquecidos. Para las especies de peces tropicales de agua dulce, en la década de los 80 consideraban que en compañía de algunos protozoarios de gran tamaño, los rotíferos eran la mejor opción en la primera alimentación, gracias a su reducido tamaño, lenta natación que permite fácil captura. Esta concepción cambió a inicios de los años 90 cuando se realizaron estudios para determinar las preferencias alimentares de las larvas de especies con importancia piscícola determinando que la selección y el consumo están orientados hacia los cladóceros y los copépodos.

El plancton es una importante comunidad del dominio pelágico. La captación de la energía solar por parte de sus organismos vegetales (fitoplancton) para producir carbohidratos, lípidos, proteínas y compuestos vitamínicos es transferida hacia el zooplancton a través de la alimentación. Esta comunidad está compuesta por formas de presencia temporaria (meroplancton), tales como estadios larvales de muchos grupos, y otros de presencia permanente (holoplancton). Estos últimos se hallan representados en gran medida por los copépodos (6). Son pequeños crustáceos que oscilan entre 0.2 y 10 mm de largo; en el Atlántico Sur se estima que pueden ser halladas unas 500 especies adaptadas a diferentes masas de agua y profundidades (7). Su diversidad y

distribución en nuestro mar es presentada aquí en términos generales y a través de mapas por especies y riqueza específica.

Con la excepción de algunos grupos, los organismos zooplanctónicos no se ajustan a una estricta dieta herbívora o carnívora, ni se eximen de convertirse en presas mutuas, sea bajo extremas condiciones alimenticias o no. De tal modo, a partir del primer nivel de consumo, las relaciones tróficas se hacen gradualmente complejas y más sujetas a circunstancias, determinando que los límites de clasificación entre un régimen y el otro no siempre se ajusten a la realidad. De ello se desprende que la mayoría de los copépodos dan señales de ser omnívoros, y que el principal alimento ingerido es el que se halla en abundancia (oportunismo trófico). Más precisa es la división entre micrófagos y macrófagos. Esta clasificación no se refiere tanto al tamaño de las partículas consumidas, como al modo de procurarlas. Los micrófagos efectúan una retención indiscriminada de las partículas que se hallan en suspensión en el medio acuático, mientras que los macrófagos realizan una apropiación puntual de cada una de ellas, en la medida en que sean más factibles su retención y su ingesta. Aunque los tamaños de estas partículas pueden influir en la tasa de consumo de un organismo, no se descarta que se produzca.

Los copépodos son la principal fuente de alimento para larvas de peces marinos en el medio natural (8, 9, 10); en acuicultura han mostrado ser el alimento preferido y más adecuado para la mayoría de larvas de peces marinos cultivados (11), representando una superioridad nutricional a los tradicionales alimentos vivos tales como el rotífero *Brachionus plicatilis* y nauplios de *Artemia*.

Las investigaciones realizadas sobre copépodos han hecho énfasis en determinar aspectos nutricionales, reproductivos o fisiológicos, desarrollando las primeras técnicas de cultivo a escala de laboratorio para llegar a producir un número de organismos que suplan necesidades de una producción numerosa de larvas de algunas especies de peces (12). Actualmente los avances de copépodos se han enfatizado en Haparticoides y Calanoides y en menor grado algunos Ciclopoides.

Los copépodos en comparación a la artemia y rotíferos, tienen superioridad nutricional, en términos altos de niveles de proteína, perfil de aminoácidos, ácidos grasos esenciales, fuente exógena de enzimas digestivas carotenoides y otros componentes esenciales, además de generar mejor respuesta predatora por parte de las larvas hacia estos organismos (13).

Los cultivos de copépodos de aguas frías continentales y en especial los de nuestra región han sido poco evaluados desde un punto de vista productivo, a pesar de que pueden ser un gran potencial para algunas larvas de peces de nuestra zona. De ahí la importancia de realizar esta investigación preliminar, a fin de establecer algunas variables de importancia productiva para su cultivo.

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Reproducción de organismos Hidrobiológicos de Cultivo del Programa de Ingeniería en Producción Acuícola de la Universidad de Nariño, Pasto, Nariño, Colombia, Sur América.

La colecta del material biológico copépodos se realizó mediante arrastres pelágicos con una red de fitoplancton de 50 micras de ojo malla en el Lago Guamuez ubicado a 25 kilómetros al oriente de la capital del Departamento de Nariño, Municipio de Pasto, la cual presenta un promedio mensual de brillo solar de 75,6 horas, temperatura de 11,7 °C. Se procedió a la clasificación de la especie capturada, la distribución de los copépodos en las unidades experimentales representados en frascos de vidrio de 500 ml llenados hasta 400 ml con agua filtrada del lago con un tamiz de 15 micras. Los ejemplares fueron seleccionados en estadio juvenil y sembrados a razón de 1 individuo/10 ml para un total de 40 por frasco. Se trabajaron 3 tratamientos, los cuales contenían 30 replicas cada uno figura 1, bajo condiciones controladas de temperatura y aireación). Para efectos de la coloración, se trabajaron tres niveles que corresponden a Rojo intenso (Nivel 1), Rojo medio (Nivel 2) y Rojo Claro (Nivel 3).



Figura 1. Adecuación de las unidades experimentales en los diferentes tratamientos de cultivo del copépodo *Cyclopoide sp.*

La dieta suministrada en los 15 días que duro el experimento (tiempo que se considera adecuado para obtener datos significativos) consistió en *Spirulina*, la microalga *Chlorella sp.* y la combinación de las dos (Tabla 1).

Tabla 1. Combinación de los tres tratamientos y su respectiva distribución de las tres dietas suministradas.

TRATAMIENTOS	ALIMENTO			INTENSIDAD LUMINICA
	1. <i>Spirulina</i>	2. <i>Chlorella sp.</i>	3. Mezcla (<i>Spirulina</i> + <i>Chlorella sp.</i>)	
T1	0,005 gr	0,2 ml	0,0025 gr + 0,1 ml	Luz Natural
T2	0,005 gr	0,2 ml	0,0025 gr + 0,1 ml	Luz Artificial (1000 lux)
T3	0,005 gr	0,2 ml	0,0025 gr + 0,1 ml	Luz Artificial (3000 lux)

Se realizó un recambio a las unidades experimentales del 30% del volumen total del agua, dos veces durante el experimento para mantener la calidad de la misma, y una temperatura promedio de 18°C. El fondo fue sifoneado una vez por semana para eliminar los restos de alimento no consumido. Los recipientes contaron con una aireación suave y constante.

Durante el periodo de evaluación se realizó un seguimiento diario que fue consignado en bitácoras previamente elaboradas, evaluando variables como la sobrevivencia así:

$$S = \text{Numero de individuos vivos} - \text{Numero de individuos muertos}$$

La coloración se tuvo en cuenta durante todo el periodo de evaluación empleando un microscopio, así como la observación del saco ovigero y el número de huevos por hembra.

La información obtenida fue procesada mediante un análisis estadístico empleando el programa Statgraphic plus. Se utilizó un diseño factorial 3^2 el cual tiene dos factores, cada uno con tres niveles obteniendo un total de 9 tratamientos (14).

El modelo estadístico para el diseño 3^2 se pudo escribir considerando el efecto individual de cada factor y de la interacción entre ambos, como se presenta a continuación:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ijk}$$

Con $i, j = 0, 1, 2$ y $k = 1, \dots, r$, y donde; y_{ijk} es la variable respuesta, μ es la media poblacional, α_i es el efecto del factor Intensidad de luz, β_j es el efecto del factor alimento y $(\alpha\beta)_{ij}$ representa el efecto de la interacción entre los dos factores.

Las variables dependientes evaluadas fueron crecimiento poblacional y coloración; siendo las constantes durante el experimento temperatura, volumen de cultivo y oxígeno. Diariamente se realizó un seguimiento a los organismos mediante muestras extraídas al azar (tres muestras por tratamiento), para estimar la aparición de huevos y color de los copépodos, empleando un microscopio, vidrio de reloj y un gotero. Los individuos que aparecían muertos cada día fueron retirados y registrados en las bitácoras respectivas. Igualmente se realizó al final de la investigación un conteo del número total de copépodos existente en los tratamientos con el propósito de determinar la población final.

Resultados y Discusión

La identificación del copépodo estudiado demostró que este pertenece al género Cyclopoide, el cual se caracterizó por poseer un color rojo intenso (Fig. 2).



Figura 2. Copépedo *Cyclopoide*.

La actividad reproductiva del copépedo estudiado generó las mayores poblaciones con la combinación de la dieta *Spirulina* más *Chlorella sp.*, y la intensidad de 3000 lux (Fig. 3). Este adecuado desempeño reproductivo permitió inferir que el tipo, calidad del alimento y esta intensidad de lux son los adecuados para el desarrollo de esta especie; mientras que los resultados más bajos fueron con la combinación de las dos dietas y luz natural. Lo anteriormente expuesto pudo ocurrir debido a que en tratamiento 1 se presentó un fotoperiodo que pudo haber incidido en la disminución de la alimentación de los copépodos, a diferencia de los otros tratamientos los cuales presentaban luz constante las 24 horas del día. Otro factor que pudo haber incidido para que el tratamiento con luz natural fuera el de menor crecimiento poblacional es la propagación masiva de algas que desmejoran la calidad del agua, además de la aparición de otro tipo de algas que pudieron haber afectado el normal desarrollo de los copépodos.

Los copépodos ciclopoideos pueden ser poiquiloterms y su desarrollo depende estrictamente de la temperatura, cuando están en presencia de cantidades de alimento igual o en exceso en su requerimiento afectan el ciclo de vida de los copépodos (15, 16, 17).

En el presente trabajo la concentración de alimento produjo diferencias sobre el número de nauplios obtenidos lo que pudo ocasionarse por la riqueza del alimento. La luz con una intensidad de 3000 lux permitió un número máximo de 57 individuos en las tres combinaciones, mientras el menor valor se obtuvo con luz natural con un total de 7 individuos alimentados con la combinación de las dos dietas. A diferencia de otros estudios realizados donde se han obtenido el máximo promedio del número de nauplios en la oscuridad, pero suministrando un tipo de alga diferente (Tchuii) (18).

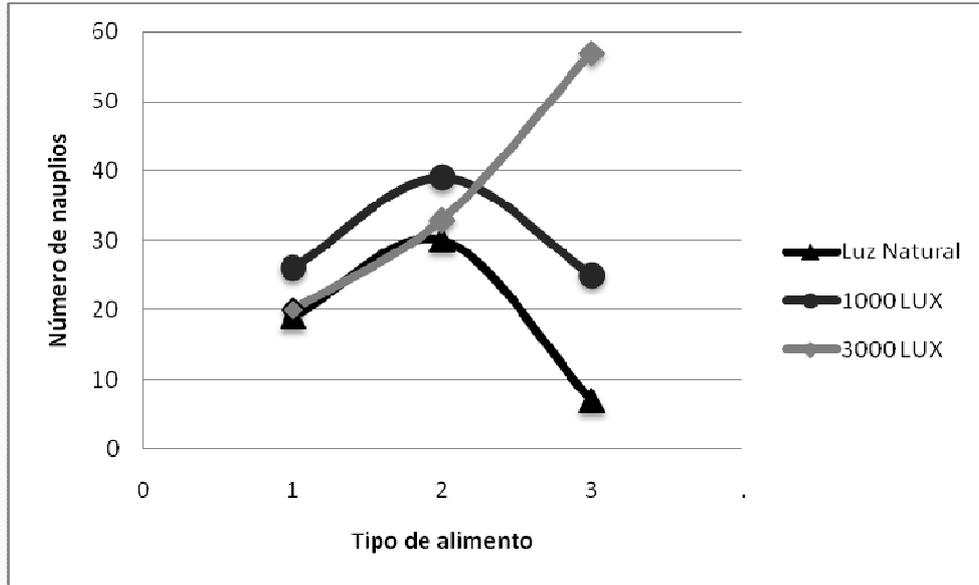


Figura 3. Crecimiento poblacional (Número de nauplios) del copepodo *Ciclopoide sp.* en los diferentes tratamientos (Intensidad de luz).

En cuanto a la comparación de los tratamientos respecto a la influencia del alimento y la intensidad luminica se logro determinar que la combinación de la dieta de *Spirulina* y la intensidad de 3000 lux es la que permite que no exista variación en la coloración (nivel 1) de los Ciclopoides (Fig. 4). Lo anterior se puede explicar porque los copepodos poseen pigmentos que requieren de una alta luz para poder mantener su coloración, además la *Spirulina* es un alimento rico en antioxidantes como clorofila, ficocianina, carotenoides y xantofilas, con una riqueza grande en proteínas, minerales y vitaminas, siendo una fuente que permite que el color de los copepodos se mantenga (19).

Considerando el alto contenido de carotenoides que *Spirulina* tiene, también a sido utilizada para intensificar el color rojo de la Carpa de ornato, principalmente por la acción de la zeaxantina la cual permite intensificar el color hasta ocho veces cuando se incorpora en el alimento a esta cianoficea (20).

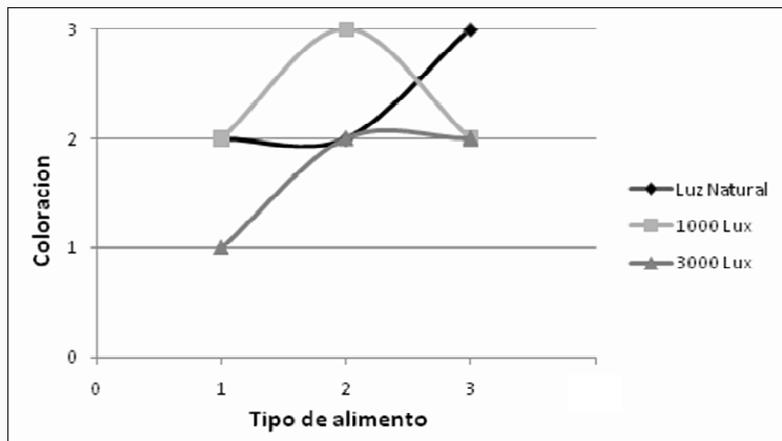


Figura 4. Efecto del alimento en la coloración del copepodo *Ciclopoide sp.*

Respecto a la sobrevivencia de copepodos en los diferentes tratamientos se pudo determinar que fue mayor en el tratamiento 3, con 304 individuos, y que corresponde a aquellos organismos que estaban sometidos a una intensidad de 3000 lux, y las de menor correspondio al tratamiento 1 con 89 individuos (Fig 5), correspondiente luz natural. Los copepodos ciclopoides tienen mayores tasas de crecimiento con algas móviles que con no móviles (21). En la captura de un gran número de organismos de pequeño tamaño y rápido movimiento es posible un gasto mayor de energía, lo que podría indicar en este estudio presenta un menor gasto energético para los copepodos cuando se alimentaron con las tres dietas, lo que podría favorecer el crecimiento poblacional de ellos pues gastan menor energía y la almacenan para otras funciones reproductivas y producción de huevos (22).

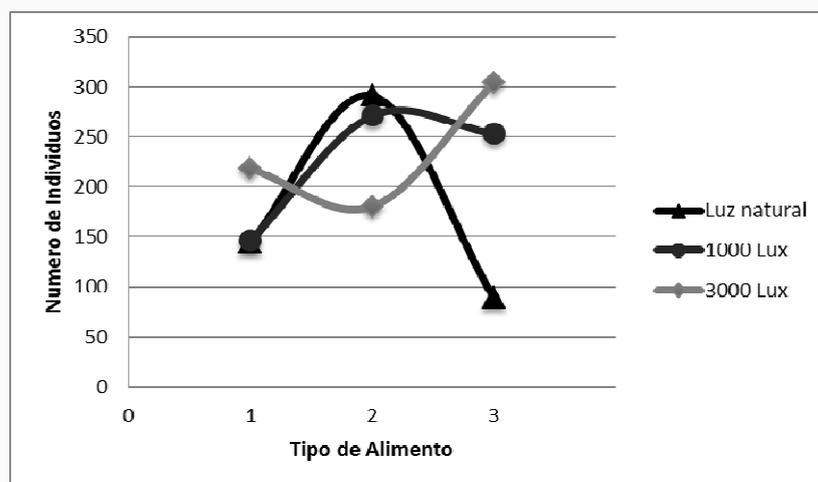


Figura 5. Valores promedio de sobrevivencia en los individuos alimentados con tres diferentes dietas (*Spirulina* en polvo, *Chlorella sp.* y *Spirulina + Chlorella sp.*) y sometidos a tres condiciones de luz (Natural, 1000 Lux y 3000 Lux).

El mayor número promedio de hembras ovadas se observó con luz natural alimentando con *Chlorella sp.* (Fig. 6), esto pudo ocasionarse por la abundancia de alimento encontrado por estos organismos, puesto que en ellos existió un florecimiento de algas generadas por el efecto de la luz solar, siendo posible que los materiales energéticos suministrados por la microalga *Chlorella sp.*, sean suficientes y mejores que el de los otros alimentos, llegando a que un promedio de 58 hembras ovadas produjeran bolsas ovigeras, lo que explicaría el mayor número de hembras adultas no ovadas, y machos adultos los cuales no requieren de un gasto extra de energía debido a que no realizan la formación de oviductos en el caso de los machos o la producción de huevos en el caso de las hembras (23).

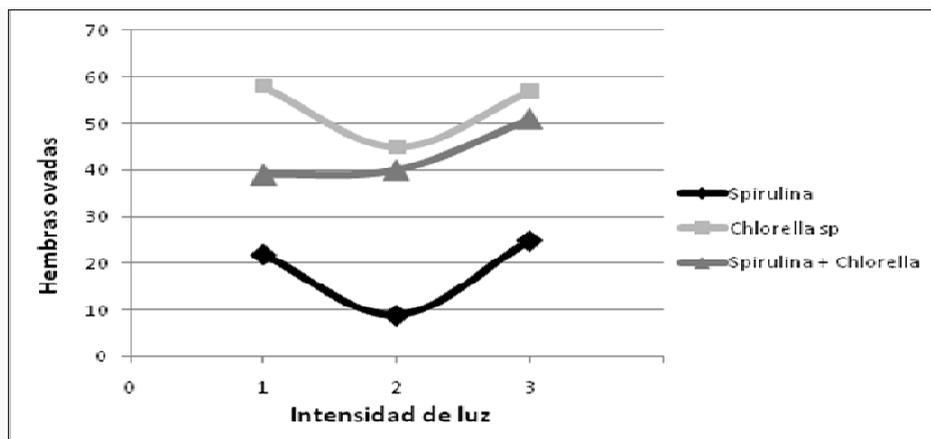


Figura 6. Numero total de hembras ovadas encontradas al finalizar el experimento.

Conclusiones y Recomendaciones

- Los resultados obtenidos en este experimento indicaron que el copépodo *Ciclopoide sp.*, logro adaptarse a las condiciones que ofrecían los diferentes tratamientos, manifestando una preferencia alimenticia por la combinación de las microalgas *Chlorella sp.* y *Spirulina* a una intensidad de 3000 lux, mientras que al exponer a los individuos a luz natural, y alimentarlos con la combinación de las microalgas *Chlorella sp.* y *Spirulina* se produjeron mayores valores de mortalidad.
- El factor que produjo diferencias significativas sobre el número total de individuos, fue la intensidad de luz manejada en los diferentes tratamientos, mientras que el tipo de alimento suministrado no influyo de manera relevante sobre las variables evaluadas
- El mayor porcentaje de hembras ovadas se presentó con luz natural, alimentando a los individuos con la microalga *Chlorella sp.* con un valor máximo de 58 hembras.
- Dado que se obtuvieron los mejores resultados con respecto al crecimiento poblacional de los copépodos implementando el tratamiento con 3000 lux y una dieta combinada de dos tipos de algas (*Chlorella sp.* y *Spirulina*), se recomienda hacer posteriores ensayos con la misma intensidad de luz pero variando las concentraciones de estas algas para la conformación de dietas en la alimentación de los individuos, debido a que son una fuente de nutrición muy importante para otros organismos vivos ayudando en el crecimiento y el buen desarrollo en la etapa larval de varias especies de cultivo, buscando perfeccionar los resultados logrados en esta investigación.
- Implementar en la investigación estudios relacionados con la alimentación y la adaptación de copépodos en condiciones controladas, para mejorar la calidad nutricional e incrementar el porcentaje de sobrevivencia.
- Evaluar nuevas técnicas y tecnologías que sean aplicables al mejoramiento de la calidad y cantidad de copépodos en un medio de cultivo artificial que brinden una mayor rentabilidad.

Referencias bibliográficas

1. Portella MC, Tasser MB, Jomori RK, Carneiro DJ. Substituição do Alimento Vivo na Larvicultura. In: Memórias de Simposio Brasileiro de Aqüicultura, 2002, Goiânia –Go. Anais; Goiânia
2. Blair T, Castell J, Neil S, D'abramo L, Cahu C, Harmon P, et al. Evaluation of microdiets versus live feeds on growth survival and fatty acid composition of larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) Aquaculture 2003; 225: 51-461.
3. Zimmermann S, Jost HC. Recentes Avanços na Nutrição de Peixes: a Nutrição por Fases em Piscicultura Intensiva. In: Memórias de Simpósio sobre manejo e Nutrição de Peixes; 1998, Piracicaba. Anais; Piracicaba- SP, 1998. p. 123-62.
4. Lavens P, Sorgeloos P. Introduction. In: Manual on the production and use of live food for aquaculture. Fisheries Technical. Ghent, Belgium: FAO 1996.
5. Hagiwara A, Gallardo WG, Assavaaree M, Kotani T, Araujo AB. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. Aquaculture 2001; 200: 111-127.
6. Ramirez, F y Mianzan, H. Copepodos. Instituto Nacional de Investigacion y Desarrollo Pesquero. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Mar del Plata. Argentina
7. Bradford-Grieve, J.M., E. L. Marhaseva, C. E. Rocha & B. Abiany. 1999. Copepoda. In: Boltovskoy, D. (ed.). South Atlantic Zooplankton V. 2. Backhuys Publishers, Leiden. The Netherlands, pp. 869-1098.
8. May, 1970; Physioecology of tropical marine copepods. II sex ratios. Crustaceana 44 (2) 113-132.
9. Zismann T; Norsker N.; I.; y Cleary J. 1975. Patterns of life history among Cyclopoid copepods of central Europe. Freshwater Biology 31(1): 77-86.
10. McMichael and Petén 1989. Physioecology of zooplankton I. Effects of phytoplankton concentration, temperature, and body size on the growth rate of *Calanus pacificus* and *Pseudocalanus sp.* Mar. Biol., 56(2):111-134
11. Payne M, Ripplingale R, y Cleary J. cultured copepods as food for west Australian fish *Glaucosoma hebraicum* and pink snapper *Pagrus auratus* larvae. In: Aquaculture. Australian. Vol. 194, No. 23 (September, 2000); p. 137-150.
12. Stottrup J. y Norsker N. production and use of copepods in marine fish larviculture. Oxford: Elsevier, 1997. P. 155-231
13. Kraul S, et al. (1992). Evaluation of live feeds for larval and postlarval mahimahi *Coryphaena hipparus*. J World Aquaculture. 23:299-307
14. Melo Martínez Oscar, López Pérez Luis. Diseño de experimentos (Métodos y aplicaciones) 1 edición. Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá. 2007. Pro-Offset Editorial S.A. Bogotá DC. Colombia. p. 444-450
15. McLaren I. 1983. Some relationships between temperature and egg size, body size, development rate and fecundity, of the copepod *Pseudocalanus*. Limnology and Oceanography 10: 528-538.
16. Ban S. 1994. Effect of temperature and food concentration on post-embryonic development, egg production and adult body size of calanoid copepod *Eurytemora affinis*. Journal of Plankton Research 16 (6): 721-735.

17. Santer B & F Bosch. 1994. Herbivorous nutrition of *cyclops vicinus*: the effect of pure algal diet on feeding, development, reproduction and life cycle. *Journal of Plankton Research* 16 (2): 171–195.
18. Zagorodnyaya Y & A Kovalev. 1988. Diurnal rhythm in reproduction and ontogenetic changes in marine copepods. *Hydrobiological Journal* 24 (2):15-18
19. Gallardo, T. *Las Algas en Botánica y col.* Ed. McGraw-Hill-Interamericana de España, 1997. p. 195-196. 12
20. Cuzon, G., R. Dos-Santos, M. Hew. y G. Pou-llaouec. Use of *Spirulina* in Shrimp (*Penaeus japonicus*) Diet. *J. World Maricul. Soc.* p. 282-291. 1981. 13
21. De Mott W & M Watson. 1991. Remote detection of algae by copepods: responses to algal size, odors and motility. *Journal of Plankton Research* 13: 1203-1222.
22. Abdullahi B. 1992. Effects of diet on growth and development of three species of cyclopoid copepods. *Hydrobiology* 232: 233-241
Lavens P & Sorgeloos P. Introduction. In: (eds). *Manual on the production and use of life food for aquaculture.* FAO Fisheries technical paper No. 361. Rome: FAO, 1996; Cap. 1, p.1-6.
23. Jamieson C. 1980. Observations on the effect of diet and temperature on rate of development of *Mesocyclops leuckarti* (Claus) (Copepoda, Cyclopoida). *Crustaceana* 38 (2): 145-154.