



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES IZTACALA**

ENRIQUECIMIENTO DE ROTÍFEROS EN
ACUICULTURA: EFECTO DE COMPLEJO VITAMÍNICO
EN *Brachionus calyciflorus*.

TESIS

Que para obtener el título de:

BIÓLOGO

P R E S E N T A

REYNOSO TREJO BONEQUI RONALDO CARLOS

DIRECTORA DE TESIS

Dra. NANDINI SARMA



Los Reyes Iztacala, Estado de México (2021).



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

A mi familia:

A mi papá que me ayudó a madurar y ver lo compleja que es la vida.

A mi mamá que siempre me apoyó y nunca me juzgó.

A Fernanda que me enseñó que una broma puede arreglar todo.

A mis demás hermanas, Sybil, Padme, Natalipa y Zoe. A Anakin que me da mucha felicidad verlo crecer y a Boris que siempre estuvo cuando lo necesité.

y a mis mascotas, René, Horchata, Perejil, Tapa y Manzana.

A mis amigos:

A Sara por crecer conmigo como científicos.

A Kenia que me enseñó lo buenas que pueden ser las personas.

A Jafet y todas las pláticas sin sentido que pudimos tener.

A Aurora y su convicción, Saori y su constancia, y Corina con sus consejos.

Agradecimientos

A la Universidad que me permitió ser parte esta comunidad que aprecio desde mis estudios de bachillerato, pero aún más importante, a mi Facultad, que me dio grandes experiencias y amigos, así como la oportunidad de formarme como biólogo.

A la Dra. Nandini Sarma que fue la persona que impulsó mi curiosidad hacia esta rama de la ciencia y me guio para desarrollarme como científico.

Al Dr. César Zamora Barrios por nunca dejar de apoyar esta investigación, así como de compartir sus ideas y pasión por la ciencia.

A mis sinodales la Dra. Nandini Sarma, el Dr. SSS. Sarma, el Dr. Pedro Ramírez García, el Dr. César Zamora Barrios y al Dr. Diego de Jesús Chaparro Herrera por su tiempo y oportunos comentarios que enriquecieron este trabajo.

A mis compañeros del Laboratorio de Zoología Acuática, Carlos, César, Meetzli, Mayra, Rosa, Michel, Toño, Tony III, Nayeli, Andrea y Lety, que estoy seguro aportaron muchísimo valor a mi trabajo.

A Sara, por ser parte fundamental de este proyecto y apoyarme como compañeros y amigos.

A CONACyT por el apoyo de Ayudante de Investigador SIN III (20520) y al PAPIIT-UNAM IG 200820

Índice.

Dedicatoria	I
Agradecimientos.....	III
Resumen	1
Introducción.....	2
Pesca	2
Acuicultura.	3
Acuicultura en México.	4
La acuicultura en el presente de México.....	4
Organismos con importancia en acuicultura en México.	5
Cultivo de peces, crustáceos y moluscos.	7
Problemas de la acuicultura.	9
Alimento vivo en acuicultura.	10
Rotíferos como alimento vivo.....	11
Microalgas como fuente de nutrientes del zooplancton.	12
Bioencapsulación y enriquecimiento.....	13
Antecedentes.	15
Hipótesis.....	17
Objetivos.	18
Materiales y métodos.	19
Cultivo de algas.....	19
Cultivo de Rotíferos.....	19
Análisis Estadístico.	20
Resultados.	20
Crecimiento poblacional de microalgas.....	21
Crecimiento poblacional de <i>Brachionus calyciflorus</i>	23
Discusión.....	27
Perspectivas e implicaciones.	31
Conclusiones.....	32
Literatura citada.....	33

Índice de figuras.

Figura 1. Crecimiento poblacional de <i>C. reinhardtii</i> y <i>C. reinhardtii</i> con vitamina B y <i>C. reinhardtii</i> sin vitamina B. Todos los puntos en la tabla representan el promedio \pm EE (error estándar) de cuatro réplicas.	21
Figura 2. Tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}) de <i>C. reinhardtii</i> sin vitamina B y con vitamina B, y <i>C. vulgaris</i> sin vitamina B y con vitamina B. Los valores mostrados son una media \pm EE de cuatro réplicas.....	22
Figura 3. Crecimiento poblacional de <i>B. calyciflorus</i> alimentado con <i>C. reinhardtii</i> y <i>C. vulgaris</i> con vitamina B y sin vitamina B. Todos los puntos en la tabla representan el promedio \pm EE de cuatro réplicas.....	23
Figura 4. Tasas de crecimiento poblacional de <i>B. calyciflorus</i> alimentado con <i>C. reinhardtii</i> sin vitamina B y con vitamina B y <i>C. vulgaris</i> sin vitamina B y con vitamina B. Los valores mostrados son una media \pm EE de cuatro réplicas.....	24
Fig. 5. Densidades de crecimiento máximo de <i>B. calyciflorus</i> alimentado con <i>C. reinhardtii</i> sin vitamina B y con vitamina B y <i>C. vulgaris</i> sin vitamina B y con vitamina B. Los valores representan la media \pm EE de cuatro réplicas.	25
Fig. 6. Días de densidades de crecimiento máximo de <i>B. calyciflorus</i> alimentado con <i>C. reinhardtii</i> sin vitamina B y con vitamina B y <i>C. vulgaris</i> sin vitamina B y con vitamina B. Los valores representan la media \pm EE de cuatro réplicas.....	26

Índice de tablas.

Tabla 1. Listado de las principales especies cultivadas en México.....	5
Tabla 2. Composición bioquímica de los principales alimentos vivos	11
Tabla 3. Contenido de nutrientes de rotíferos alimentados con <i>Chlorella</i>	12
Tabla 4. Contenido de nutrientes en <i>Chlorella vulgaris</i>	13

Resumen

El alimento vivo cumple un papel fundamental durante el cultivo larvario de peces, crustáceos y moluscos. Sin embargo, se ha demostrado que la calidad nutricional del alimento vivo puede ser mejorado enriqueciendo con vitaminas, ácidos grasos y minerales. De tal forma que se recomienda el enriquecimiento exógeno de estos organismos para que cumplan su función como alimento vivo. Se evaluó el efecto del enriquecimiento con vitamina B en *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* y el impacto de este enriquecimiento como alimento vivo sobre el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*. El tratamiento vitamínico en algas resultó tener efectos negativos, presentando una disminución en la tasa de crecimiento poblacional. Más adelante, se obtuvo que la presencia de vitamina afecta positivamente el crecimiento poblacional y la densidad máxima de *B. calyciflorus* en contraste con los tratamientos control. Las tasas de crecimiento poblacional variaron entre 0.28 d^{-1} y 0.37 d^{-1} con dietas enriquecidas con vitamina B y 0.24 d^{-1} en los controles (sin Vit. B). Se concluye que el enriquecimiento de vitamina B, mejorará los cultivos de alimento vivo, y se recomienda el uso de nuevas especies de microalgas como de rotíferos para su uso en acuicultura.

Introducción.

La pesca y el cultivo de los organismos acuáticos tienen un valor más allá del económico, por ejemplo, cumplen un rol cultural y de identidad en comunidades autóctonas en todo el mundo (Lynch *et al.*, 2016). Por otro lado, el pescado, es una fuente importante de nutrientes esenciales en el desarrollo humano como ácidos grasos, proteínas, vitaminas, macro y microminerales (Taşbozan y Gökçe, 2017), nutrientes relacionados a la disminución de riesgo por obesidad, enfermedad cardiovascular y mejoramiento del desarrollo fetal, entre otros (Bonanomi *et al.*, 2019). Los organismos acuáticos con importancia comercial como los peces, moluscos y crustáceos se obtienen de dos únicas fuentes, la pesca y acuicultura.

Pesca

La pesca se basa en la captura y la remoción de los organismos acuáticos de su ambiente natural, su productividad depende directamente del tamaño, el tiempo de regeneración de la población, la variabilidad ambiental y de las prácticas sostenibles de la pesquería (Pauly *et al.*, 2005). Desde 1996 la captura de organismos marinos y dulceacuícolas no tenía un crecimiento tan importante como en la actualidad, debido a que se venían produciendo en promedio de 8.3 a 80 millones de toneladas al año, respectivamente (FAO, 2020) y se considera que tal estancamiento sucedió debido a que se había alcanzado la capacidad de carga en los sistemas marinos (Pérez-Castañeda *et al.*, 2014). Mientras tanto, en 2018 se reportó un pico máximo en la pesca marina con 96.4 millones de toneladas y un incremento del 5.4% del promedio de los últimos tres años. Mientras que la pesca en zonas continentales también creció de manera sustancial, teniendo una producción de 12 millones de toneladas, en el mismo año (FAO, 2020). Como lo explica la FAO (2020), el 14% de los *stocks* de peces están siendo sub-explotados o moderadamente explotados, el 57% está siendo completamente explotado, el 14 % sobreexplotado, y 8% de los *stocks* están agotados o en recuperación. Si bien el porcentaje de sistemas marinos agotados es aún bajo, con el paso del tiempo este porcentaje irá aumentando, ya que los *stocks* marinos que son explotados de manera biológicamente sustentables han ido disminuyendo, desde el 90% en 1974, hasta el 66% en 2017. En

consecuencia, los *stocks* que son explotados de manera biológicamente insostenible han ido en aumento; en los 70's y 80's, este tipo de explotación estaba representada solo en el 10% del total de sistemas, mientras que en 2017 aumentó hasta el 34% (FAO, 2020). Estos números permiten conocer cuál es el estado actual de esta industria y la importancia que mantiene la pesca y la acuicultura en el mundo.

Acuicultura.

Acuicultura se define como el cultivo de organismos acuáticos en un ambiente controlado, y se basa en la crianza, mantenimiento, alimentación y protección de predadores (FAO, 2011). La acuicultura, en específico, se ha ido desarrollando para diezmar los efectos de la pesca y potencializar la producción de peces, moluscos y crustáceos. Se considera que hoy en día la acuicultura es una de las industrias con mayor expansión económica a nivel mundial, teniendo un crecimiento continuo desde hace 40 años (Pérez-Castañeda *et al.*, 2014). Esta expansión se debe a la importancia que están teniendo la acuicultura, la agricultura y la ganadería, y que seguirán siendo de vital importancia conforme aumente la población mundial y la demanda de alimento incrementa (Cuellar-Lugo *et al.*, 2018). Esto ha propiciado que exista un crecimiento en las áreas de producción y en la explotación de nuevas especies, y en el uso específico del plancton para replicar los procesos de nutrición natural en cultivos cerrados (Pérez-Castañeda *et al.*, 2014).

La acuicultura en 2018 aportó 114.5 millones de toneladas de productos acuícolas para consumo con un valor estimado de doscientos sesenta y tres mil millones de dólares, produciendo principalmente pescado, crustáceos, algas, y ostras ornamentales (FAO, 2020). Desde 2001, hasta 2018, el crecimiento de producción acuícola ha crecido en promedio >5% en todo el mundo (FAO, 2020). Respecto a la acuicultura continental, es necesario remarcar que esta industria es superior a la marina, debido a que del total de los productos acuícolas producidos en 2018 esta produjo el 63% de todos los pescados y mariscos a nivel mundial (Funge-Smith, 2018).

Acuicultura en México.

En México, la pesca y la acuicultura eran actividades muy importantes en la época prehispánica, porque formaban parte de actividades religiosas, rindiendo tributo al Dios azteca *Opochtli*, que era el creador de las redes y de la pesca (Cifuentes-Lemus y Cupul-Magaña, 2001). Aunque, fue durante el Virreinato cuando se tuvieron los primeros registros de estanques de cultivo de peces nativos, fue hasta el Siglo XVII que se decide utilizar la acuicultura como método de obtención de alimento para cumplir con las necesidades de la creciente nación. En 1872, se promulgó la Ley de Pesquerías para fomentar la actividad pesquera y regular sus funciones (Cifuentes-Lemus y Cupul-Magaña, 2001). A partir de esta nueva ley se empezó a dar seguimiento a las actividades pesqueras y de cultivo en México. Se fundaron instituciones, como el Instituto de Biología General y Médica, la Estación de Biología Marina del Golfo, la Facultad de Ciencias de la UNAM, y la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, entre muchas otras, que cumplían con la función de investigar los recursos del país (Cifuentes-Lemus y Cupul-Magaña, 2001; Cuellar-Lugo *et al.*, 2018). Por otra parte, el Estado formaba secretarías o subsecretarías que cumplían la función de moderar y administrar los recursos obtenidos por la pesca y el cultivo de peces como la Dirección de Pesquerías, el Departamento Forestal de Caza y Pesca, el Departamento de Marina Nacional, la Dirección General de Pesca e Industrias Conexas, entre otras (Cuellar-Lugo *et al.*, 2018). Hoy en día las Instituciones encargadas de cumplir estas funciones son la CONAPESCA, CONAGUA, SAGARPA y SEMARNAT, que se encargan de regular desde diferentes enfoques la pesca y acuicultura.

La acuicultura en el presente de México.

A pesar del potencial que ha tenido México como productor de alimento acuícola, el crecimiento de 1990 hasta 2010 no fue acorde a lo sucedido en todo el mundo, ya que mientras el porcentaje de crecimiento promedio mundial en acuicultura era del 8%, en México apenas se alcanzó el 2% (FAO, 2016). Sin embargo, la FAO (2020) reportó que México pertenece al grupo de países que mayor incremento ha tenido en su producción acuícola, aportando el 2% del total mundial en 2018, y se prevé que para el 2030 el país tenga un crecimiento porcentual en acuicultura del 48%.

México ha tenido un avance gradual en la producción peces, moluscos y crustáceos, por ejemplo, en 1999 produjo un total de 166,336 toneladas y para 2009 aumento a 285,019 toneladas, y en 2018 la cifra incremento hasta 395,537 toneladas (CONAPESCA, 2018). De esta forma la acuicultura aporta el 40% del valor económico de toda la industria pesquera en el país (CONAPESCA, 2011; CONAPESCA, 2018).

Organismos con importancia en acuicultura en México.

En México se cultivan principalmente 45 especies de organismos acuáticos, entre peces, moluscos, y crustáceos (Tabla 1). En términos económicos, las especies que más generan un derrame monetario son cinco, el camarón, mojarra-tilapia, ostión, carpa y trucha (CONAPESCA, 2018). Para dar mayor contexto de la importancia de la acuicultura en México. A continuación, se muestra un listado de las principales especies cultivadas en el país.

Tabla 1. Listado de las principales especies cultivadas en México. (Carta Nacional Acuícola, 2012).

<i>Nombre común</i>	<i>Nombre científico</i>	<i>Función.</i>
Abulón colorada	<i>Haliotis rufescens</i>	Alimento
Atún rojo del Atlántico	<i>Thunnus thynnus</i>	Alimento
Bagre de canal	<i>Ictalurus punctatus</i>	Alimento
Camarón patiblando	<i>Penaeus vannamei</i>	Alimento
Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>	Alimento
Carpa china	<i>Ctenopharyngodon idellus</i>	Alimento
Carpa plateada	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Alimento
Carpa cabezona	<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	Alimento
Carpa negra	<i>Mylopharyngodon piceus</i>	Alimento
Catán	<i>Atractosteus spatula</i>	Alimento
Cobia	<i>Rachycentron canadum</i>	Alimento
Corvinón ocelado	<i>Sciaenops ocellatus</i>	Alimento

Medregal rabo amarillo	<i>Seriola lalandi</i>	Alimento
Lenguado de California	<i>Paralichthys californicus</i>	Alimento
Langosta de agua dulce	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Alimento
Langostino de río	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Alimento
Ostión japonés	<i>Crassostrea gigas</i>	Alimento
Ostra de Cortez	<i>Crassostrea corteziensis</i>	Alimento
Gaspar	<i>Atractosteus tropicus</i>	Alimento
Pescado blanco	<i>Chirostoma estor</i>	Alimento
Tilapia azul	<i>Oreochromis aureus</i>	Alimento
Tilapia del Nilo	<i>Oreochromis niloticus</i>	Alimento
Tilapia del Mozambique	<i>Oreochromis mossambicus</i>	Alimento
Mojarra herbívora	<i>Tilapia rendalli</i>	Alimento
Tilapia adolfi	<i>Oreochromis urolepis</i>	Alimento
Trucha arco iris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Alimento
Pez dorado	<i>Carassius auratus</i>	Ornato
Guppy	<i>Poecilia reticulata</i>	Ornato
Topote de Velo negro	<i>Poecilia latipinna</i>	Ornato
Topote Vela grande	<i>Poecilia velifera</i>	Ornato
Pez ángel	<i>Pterophyllum scalare</i>	Ornato
Guarami azul	<i>Trichogaster trichopterus</i>	Ornato
Platy arcoiris	<i>Xiphophorus maculatus</i>	Ornato
Pez cebra	<i>Brachydanio rerio</i>	Ornato
Cola de espada	<i>Xiphophorus helleri</i>	Ornato
Tetra negro	<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	Ornato
Cíclido de johanni	<i>Melanochromis johanni</i>	Ornato
Tetra buenosaires	<i>Hemigrammus caudovittatus</i>	Ornato

Protomelas	<i>Haplochromis fenestratus</i>	Ornato
Tigre óscar	<i>Astronotus ocellatus</i>	Ornato
Barbo cereza	<i>Capoeta titteya</i>	Ornato
Guarami enano	<i>Colisa lalia</i>	Ornato
Cíclido limón	<i>Neolamprologus leleupi</i>	Ornato
Pleco sudamericano	<i>Hypostomus plecostomus</i>	Ornato
Pez beta	<i>Betta splendens</i>	Ornato

Cultivo de peces, crustáceos y moluscos.

La CONAPESCA (2018) menciona que las principales especies cultivadas en México son atún, bagre, camarón, carpa, charal, langostino, lobina, mojarra, ostión y trucha. Por tal razón se explicarán las características de estos organismos a continuación:

- Atún (*Thunnus thynnus*). Organismos pelágicos de ambiente marino, que se encuentran a profundidades hasta 1000 m. Por otra parte, muestra migraciones estacionales a lo largo del año que dependen de la edad, tamaño y de sus necesidades alimenticias y reproductivas (Belmonte y De La Gándara, 2008). Su distribución es muy amplia por todo el océano atlántico oeste, desde Canadá al Golfo de México y el Caribe hasta Brasil (Fromentin y Powers, 2005). La alimentación es basada de boquerones (*Engraulis encrasicolus*), arenques (*Clupeidae*), caballas (*Scombridae*), jureles (*Carangidae*) y calamares (*Sepiolidae*, *Teuthoidea*, *Octopodidae*), entre otros (Sinopoli et al., 2004).
- Bagre (*Ictalurus punctatus*). Presentes en presas, lagos y ríos con aguas claras y sombreadas y que tengan fondos de arena o grava. Ubicados desde la Vertiente del Atlántico, sur de Canadá, Estados Unidos y Norte de México. Son organismos omnívoros, con dieta basada en crustáceos, peces pequeños, insectos y algas. En el cultivo, es alimentado con dietas ricas en proteína desde el 30% hasta 50%, dependiendo de su estadio de vida (CNA, 2013).

- Camarón patiblanco (*Penaeus vannamei*). Nativo del Océano Pacífico, registrado desde Sonora, México, hasta Tembures, Perú. Se encuentra en aguas con temperaturas superiores de 20°C. La reproducción sucede en mar abierto, mientras que las post larvas migran hacia costas para pasar los estadios larvales y juveniles, las etapas adolescente y pre-adulta migran a estuarios, lagunas costeras o manglares. Los nauplios se alimentan de las reservas embrionarias, mientras que las siguientes etapas al ser planctónicas consumen principalmente fitoplancton y zooplancton (FAO, 2009).
- Carpa (*Ctenopharyngodon*, *Hypophthalmichthys*, *Mylopharyngodon*). Pez originario de Asia e introducido en México, considerada por la CONABIO como especie establecida en el país. Son organismos que viven en ambientes lacustres y embalses. Son omnívoros y se alimentan de la materia orgánica presente en el fondo del sistema en que se encuentran. Su cultivo es desarrollado principalmente en lugares templados y fríos y con altitudes superiores a los 1200 msnm (CNA, 2012).
- Charal (*Chirostoma*). Organismos endémicos de México, presentes principalmente en los lagos del Altiplano Mexicano (Figueroa-Lucero *et al.*, 2004). Se encuentran entre las profundidades de 0.8 – 2.5 m, asociados a aguas templadas (19-24 °C), turbidez de 125 a 368 NTU, y un pH alcalino de 7.7 - 8.5 (INAPESCA, 2003). En cultivo mantienen una dieta basada en alimento vivo, constituida por: rotíferos, cladóceros, copépodos, hemípteros, dípteros, tricópteros y coleópteros (Navarrete-Salgado, 2017).
- Langostino (*Macrobrachium rosenbergii*). Especie presente en ambientes tropicales, en sistemas acuáticos que presentan aguas salobres y dulce. Las larvas se alimentan de zooplancton, las post-larvas y adultos son omnívoros por lo que se alimentan de algas, plantas acuáticas, moluscos, insectos acuáticos, gusanos y otros crustáceos. Durante el cultivo, las dietas comerciales regularmente contienen 2% de lípidos y de 30-35% de proteínas (FAO, 2009).
- Lobina (*Micropterus salmoides*). Naturalmente se encuentra distribuida desde la parte oriental de Canadá, hasta el Río Bravo en el Norte de México. Habita

lagos, estanques, pantanos, lagunas, arroyos y ríos. Con hábitos depredadores, se alimentan de peces, anfibios, polluelos de aves y mamíferos pequeños. La reproducción sucede durante la primavera cuando la temperatura aumenta (CONANP, 2013).

- **Mojarra-Tilapia (*Oreochromis*).** Pez originario de África oriental que ha sido ampliamente introducido en diferentes países incluido México para fines de alimentación, pesca recreativa, control de hierbas acuáticas y experimentación. Su alimentación durante las etapas larvales es principalmente de zooplancton, en especial copépodos, y ciertas especies también se alimentan de fitoplancton. Cuando son adultos su alimentación es más variada (fitoplancton, zooplancton, vegetación acuática, perifiton, detrito de origen vegetal, etc.) (Abdel-Fattah, 2006).
- **Ostión (*Crassostrea*).** Molusco bivalvo con asociación a raíces de mangles, con reproducción externa y larva planctónica, las etapas juvenil y adulta son bentónicas. Su cultivo se desarrolla en zonas tropicales a alturas de 1-40 m, a 26 ± 2 °C. Presente en todo el Golfo de Baja California, hasta Nayarit. Se calcula que el porcentaje de supervivencia de organismos durante el cultivo semi-intensivo e intensivo es del 75-80% del cultivo total (CNA, 2012).
- **Trucha (*Oncorhynchus mykiss*).** Naturalmente se encuentra desde Alaska, hasta Baja California; sin embargo, su cultivo se ha introducido en distintos estados de México. Durante su crecimiento varía en el porcentaje de proteínas que necesita en la dieta, desde 52% en etapas juveniles hasta 45% en las etapas finales de engorda (CNA, 2012).

La acuicultura representa un logro importante para mantener la seguridad alimentaria en el país, tomando en cuenta que se ha abastecido la demanda alimentaria de productos acuáticos, se calcula que la tasa promedio de consumo de estos productos es de 12.8 kg *per cápita* anuales (SAGARPA, 2012).

Problemas de la acuicultura.

La acuicultura, así como cualquier otro medio de producción tiene repercusiones negativas sobre el sistema en que se desarrolla, por ejemplo: 1) Existe una

demanda cada vez mayor de pescado que no tendrá un consumo humano, sino que será procesado en forma de harina y aceites. 2) Eutrofización de los sistemas acuáticos que sirven como vertederos. 3) Competencia por recursos como el espacio y agua. 4) Conflicto latente en la introducción de especies exóticas (FAO, 2007).

Cabe destacar que la implementación de granjas acuícolas es crucial para disminuir los estragos ecológicos que conlleva la pesca marina y continental, debido a que las pesquerías son la mayor fuente de impacto ecológico sobre los sistemas marinos (Boehlert, 1996; Cerdaneres-Ladrón de Guevara *et al.*, 2014).

Alimento vivo en acuicultura.

El fitoplancton y el zooplancton son de los mejores alimentos iniciales para muchas especies de peces, crustáceos y moluscos, porque contienen una gran cantidad de macro y micronutrientes esenciales, por lo cual se les considera cápsulas vivas de nutrición (Hoff and Snell, 2007; Radakrishna *et al.*, 2019). En concreto, los organismos zooplanctónicos son el alimento esencial para varias especies marinas o continentales, en vista de que son el primer o único alimento durante todo su ciclo de vida. Durante las etapas larvales o juveniles en peces el zooplancton representa un extraordinario alimento debido a su tamaño, siendo fácil de consumir, mientras que los nutrientes que aportan pueden mejorar la supervivencia y el crecimiento de las larvas (Lubzens *et al.*, 1989) (Tabla 2). En adición, el zooplancton con valores nutritivos óptimos puede mejorar el crecimiento y estabilidad poblacional, así como la supervivencia. Se considera que son sumamente importantes aquellas especies usadas como alimento vivo que tengan la habilidad de mantener altas tasas de crecimiento, tolerancia al estrés y que mejoren sus cualidades nutritivas después del enriquecimiento, porque cuando estas especies no están en sus estados óptimos pueden causar desequilibrio que retrase la reproducción, la supervivencia y la tasa de crecimiento de las larvas (Maruyama *et al.*, 1989).

Tabla 2. Composición bioquímica de los principales alimentos vivos (Radakrishnan *et al.*, 2019)

Contenido (%)	Copépodos	<i>Artemia</i>	Rotíferos	Branchiópodos	<i>Moina</i>	<i>Daphnia</i>
Proteínas	63.2	53.8	51.3	49.93	66.33	39.68
Lípidos	8.8	18.1	12	15.03	10.82	24.99
Carbohidratos	20.4	20	13.1	8.86	19.83	-
Ceniza	7.6	8.1	6.7	11.6	3.02	28.15

Rotíferos como alimento vivo

Dentro de la gama de alimento vivo, los rotíferos del género *Brachionus*, son considerados como uno de los mejores alimentos vivos para peces de importancia comercial (Radakrishnan *et al.*, 2019). De los que destacan las especies eurihalinas, como *B. plicatilis* y *B. rotundiformis* hasta las especies de agua dulce, como *B. calyciflorus* y *B. rubens* (Schluter y Groeneweg, 1981). Esto se puede deber a las características morfológicas como el tamaño (entre 70 y 350 μm) que permite que las larvas puedan comerlos fácilmente (Conceição *et al.*, 2010; Mejias *et al.*, 2018) y por sus características nutrimentales (Tabla 3) (Lubzens *et al.* 1989; Snell, *et al.*, 2019). Por otra parte, los rotíferos son capaces de mantenerse en la columna de agua y poseen una alta tasa de reproducción (frecuentemente $> 1.5 \text{ d}^{-1}$) (Kostopoulou y Vadstein, 2007) que posibilita el cultivo de 50 – 100 ind. ml^{-1} , en lotes de 10 L en cultivos super-intensivos (Sarma, 1991; Conceição *et al.*, 2010), hasta los 160,000 ind. ml^{-1} en sistemas de ultra-alta intensidad (Yoshimura *et al.*, 2003), por lo que son adecuados para su reproducción en masa (Lubzens *et al.*, 1989). En adición se ha observado que las larvas de peces prefieren a los rotíferos por encima de la dieta a base de algas y sus derivados extruidos (Radakrishnan *et al.*, 2019). Se estima que cada larva de peces puede alimentarse de hasta 50,000 rotíferos por semana, sin embargo, la calidad nutricional de estos organismos puede ser deficiente (Hirayama y Funamoto, 1983; Lubzens *et al.*, 1989; Hamre *et al.*, 2008; Hamre, 2016).

Tabla 3. Contenido de nutrientes de rotíferos alimentados con *Chlorella* (Hamre, 2016).

Macronutrientes	Proteínas (%DM)	Lípidos (%DM)	ARA (%TFA)	EPA (%TFA)	DHA (%TFA)
	41.3 – 45.1%	7.1 – 13.2%	0.1%	4%	9.2-9.4%
Vitamina (mg kg ⁻¹ DM)	Vit. C	Vit. A	Vit. D3	A-Tocoferol	Vit. K
	109 - 846	1.46 – 6.15	<0.8	55 - 226	0.17 - 0.87
Macrominerales (g kg ⁻¹ DM)	Ca	Na	K	Mg	P
	1.3 – 2.3	29 - 55	11.3 - 28	3.5 – 6.3	8.3 – 19.9
Microminerales (mg kg ⁻¹ DM)	I	Mn	Cu	Zn	Se
	0.36 – 0.72	11 - 20	3.6 - 97	33 - 91	0.08 – 0.75

%DM: Porcentaje de materia seca, TFA: Total de ácidos grasos, ARA: ácido araquidónico, EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico.

El valor nutrimental de *Brachionus* se basa en los requerimientos de peces y sus necesidades proteicas, lipídicas y de ácidos grasos. De igual forma, también es necesaria la presencia de vitaminas como la vitamina A, B, C, D, K y Tocoferol. Mientras tanto la presencia de macro y microminerales en la dieta, son de vital importancia (Hamre, 2016). Cabe mencionar que existe un gran esfuerzo en conocer y desarrollar las cualidades de otras especies de rotíferos, como el género *Brachionus*: *B. calyciflorus*, *B. rotundiformis* o *B. rubens*.

Microalgas como fuente de nutrientes del zooplancton.

Diferentes especies de microalgas se utilizan para el mantenimiento de rotíferos y existen diferentes factores que limitan su calidad como alimento: 1) Deben tener un tamaño apropiado para la ingesta (de 3 a 15 µm). 2) Tener altas tasas de crecimiento. 3) Soportar fluctuaciones de luz, temperatura o nutrientes durante el proceso de cultivo. 4) Deben tener una buena composición nutritiva (Tabla 4) y 5). No producir toxinas que puedan afectar a los organismos (Day *et al.*, 1999; Brown, 2002). El mejor ejemplo como alimento vivo para rotíferos es *Chlorella sp*, aunque, el uso de esta alga no siempre aporta lo requerido por rotíferos (Hirayama y Funamoto, 1983; Hamre *et al.*, 2008; Hamre *et al.*, 2016). Se ha demostrado que *Chlorella vulgaris* no cumple con los requerimientos hasta que se les adiciona vitamina B12 (Maruyama *et al.* 1989). Lo anterior se explica, porque dependiendo de la especie de microalga es el tipo y la cantidad de vitaminas presentes en las

células. Por ejemplo, contienen piridoxina, tiamina o cobalamina (Brown, 1999), y aunque esta última es una de las vitaminas con mayor concentración en las células de *Chlorella*, es insuficiente para cubrir todas las necesidades vitamínicas de los rotíferos, por lo que su adición al medio de cultivo del alga producirá el almacenamiento de la vitamina que posteriormente será utilizado por el zooplancton (Hannon *et al.* 2010). En contraste, no todas las algas pueden sintetizar cobalamina de manera natural como es el caso de *Pavlova lutheri* y *Chlamydomonas reinhardtii* (Grossman, 2016) que utilizan una variante llamada pseudocobalamina, que con la ayuda de 5,6-dimethylbenzimidazol (DMB), cambia la estructura de la pseudocobalamina en cobalamina, propiciando su metabolismo y almacenamiento en el alga (Tandon *et al.*, 2017). Frecuentemente, en las producciones en masa de microalgas se utilizan fertilizantes comerciales, aunque pueden presentar bajas concentraciones de ácidos grasos como EPA (ácido eicosapentaenoico) y DHA (ácido docosahexaenoico) (Morales-Ventura *et al.*, 2012) de tal forma que el desarrollo o investigación sobre un nuevo alimento es deseable.

Tabla 4. Contenido de nutrientes en *Chlorella vulgaris* (Maruyama *et al.*, 1997).

Macronutrientes (%DM)	Proteínas	Lípidos	Ceniza	Carbohidratos	Fibra
	55	10.2	5.8	23.2	5.8
Vitaminas ($\mu\text{g g}^{-1}$ DM)	Vit. B1	Vit. B2	Vit. B12	Vit. C	Vit. E
	24	60	0.001	1000	200
Macrominerales (mg g^{-1} DM)	Ca	Fe	K	Mg	
	1.6	2	11	3.6.	
Ácidos Grasos (% TFA)	Á. palmítico	Á. linoleico	A. oleico	EPA	DHA
	13.9	25.3	2.2	0	0

%DM: Porcentaje de materia seca, TFA: Total de ácidos grasos, EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenoico.

Bioencapsulación y enriquecimiento.

A través de experimentos demográficos en corto plazo los rotíferos tienen la capacidad de reflejar el valor nutricional de lo que comen (Radakrishnan *et al.* 2019). De tal forma que se han desarrollado métodos directos (como adicionar el nutriente al medio de cultivo) o indirectos (como adicionar el nutrimento a la microalga) para

el enriquecimiento de este organismo y mejorar el nivel de calidad nutrimental. Diferentes métodos se han diseñado, aunque los más comunes y efectivos son los que van relacionados con su alimento, como el enriquecimiento de microalgas, levadura, emulsiones de aceite o alimentos comerciales (Hamre *et al.*, 2008).

A finales de la década de los 80's, ya se tenía registro el contenido vitamínico de ciertas microalgas, y de las necesidades vitamínicas de rotíferos, teniendo especial énfasis la adición de vitamina B12 al cultivo para suplir lo que el régimen de alimento a base de levadura no cumplía en los rotíferos (Maruyama *et al.*, 1989). De igual forma, esta adición vitamínica demostraba efectos positivos en la estabilidad de la población y en los tiempos de reproducción de *B. plicatilis* cuando la vitamina B12 se le agregaba a *Chlorella* (Maruyama y Hirayama, 1993).

Antecedentes.

Edelmanm y compañeros (2019), determinaron el contenido vitamínico (riboflavina, niacina, ácido fólico y cobalamina) presente en *Chlorella* sp., *Arthrospira* sp. y *Nannochloropsis gaditana*. Y observaron que el contenido de riboflavina variaba entre 21-41 $\mu\text{g g}^{-1}$, de niacina entre 0.13 – 0.28 mg. g^{-1} . El contenido de ácido fólico fue de 3.5 a 19.7 $\mu\text{g. g}^{-1}$, siendo *Chlorella* sp la especie que mayor contenido. Por otro lado, se encontró que había una predominancia del compuesto pseudocobalamina en *Arthrospira* sp. con 1.7 $\mu\text{g. g}^{-1}$, mientras que la forma pura de cobalamina se encontró a mayor concentración con 2.1 $\mu\text{g. g}^{-1}$ en las especies *Chlorella* sp. y *N. gaditana*. Discutieron sobre el papel de las microalgas como método natural para la obtención de vitaminas B. En especial, la función de *Chlorella* sp. y *N. gaditana* como fuentes de cobalamina.

Ansari *et al.* (2021) realizaron una revisión sobre el uso de microalgas en acuicultura tomando en cuenta su valor nutricional y transferencia de nutrientes en la cadena trófica. Explicando que las especies de algas pueden variar en la cantidad de nutrientes presentes en las células. Por ejemplo, *Spirulina*, *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Dunaliella* sp. y *Nannochloropsis* sp., son las especies que son utilizadas ampliamente en esta industria y explican la importancia de este grupo de organismos en la alimentación de las etapas más tempranas de crecimiento en peces y crustáceos.

Flores-Burgos y compañeros (2003) midieron el crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*, *B. patulus*, *Ceriodaphnia dubia*, y *Moina macrocopa*, con diferentes concentraciones de las algas *C. vulgaris* y *Scenedesmus acutus* (100% *C. vulgaris*, 75% *C. vulgaris* + 25% *S. acutus*, 50% *C. vulgaris* + 50% *S. acutus*, 25% *C. vulgaris* + 75% *S. acutus*, y 100% *S. acutus*). Determinaron que en rotíferos la dieta con *C. vulgaris* era consistentemente mejor que *S. acutus* y en el caso de cladóceros, crecieron relativamente igual con ambas algas; sin embargo, tardaron más tiempo en alcanzar sus picos máximos poblacionales. Obtuvieron tasas de crecimiento poblacional consistentemente mejores, en todos los tratamientos con *B. calyciflorus* y *M. macrocopa* (0.4 d^{-1}).

Vázquez-Hernández (2008) determinó el crecimiento poblacional y composición bioquímica de *B. calyciflorus* con una dieta de *C. vulgaris* con concentraciones bajas de Nitrógeno (N) y Fósforo (F) (1.25 y 0.652 mg. L⁻¹), observó que la dieta con *C. vulgaris*+N, permite un aumento en la población de *B. calyciflorus*. Los tratamientos con baja concentración de N resultaron en un alto contenido lipídico lo que pudo disminuir la tasa de crecimiento poblacional, obteniendo valores mínimos de 0.34 d⁻¹. Además, discutió la importancia en la investigación sobre el alimento vivo en la acuicultura.

Fischer y colaboradores (2012) determinaron el efecto de la depredación de rotíferos sobre diferentes cepas de *Chlamydomonas reinhardtii* con diferentes concentraciones de herbicidas, para ver cuál era el impacto sobre la población de los rotíferos. Encontraron que había relaciones antagonistas y sinérgicas entre las cepas de *Chlamydomonas* y el tipo de herbicida, explicando que se debe a los diferentes tipos de estrés que pueden sufrir las cepas, tanto ambientales como de depredación, pues encontraron adaptabilidad a los herbicidas en las cepas de alga, así como de los rotíferos.

Hipótesis.

Si el complejo de vitamina B cumple su función como cofactor enzimático en los procesos metabólicos de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii*, entonces, al absorber la vitamina B del medio, habrá un aumento en la población, lo que se verá reflejado un aumento en la tasa de crecimiento poblacional

A su vez, si el valor nutricional de *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* enriquecidas con vitamina B aumenta entonces, al usarlas como dieta de *Brachionus calyciflorus* mejorarán los valores de tasa de crecimiento poblacional, densidad máxima y se reducirá el tiempo en alcanzar la densidad máxima de la población.

Objetivos.

Objetivo general.

Evaluar el efecto del enriquecimiento con vitamina B en *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* y el efecto de este enriquecimiento como alimento vivo sobre *Brachionus calyciflorus*.

Objetivos particulares:

1. Describir el crecimiento poblacional y tasa de crecimiento poblacional de *C. reinhardtii* y *C. vulgaris* enriquecidas con vitamina B.
2. Determinar el crecimiento poblacional y tasa de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* con dieta de *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* enriquecidas con vitamina B.
3. Calcular los valores de densidad máxima y día de densidad máxima de *B. calyciflorus* con dieta de *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* enriquecidas con vitamina B.

Materiales y métodos.

Cultivo de algas.

Las algas, *Chlorella vulgaris* (*Chlorella vulgaris* cepa CL-V-3 CICESE, Ensenada Baja California, México) y *Chlamydomonas reinhardtii* (*Chlamydomonas reinhardtii* Colección de la Universidad de Texas en El Paso (UTEP)), fueron cultivadas por separado en cuatro matraces de vidrio de 250 ml, con 100 ml de Medio Bold Basal (MBB) (Borowitzka y Borowitzka, 1988). Ambas cepas tuvieron una repetición control y una repetición experimental con 10 µg de vitamina B que contenía 0.1 µg de hidroxocobalamina, 1 µg de clorhidrato de tiamina, 0.5 µg de clorhidrato de piridoxina (2 especies de alga x 2 tratamiento x 3 réplicas). Los tratamientos con *C. vulgaris*, tuvieron una concentración inicial de 0.2×10^6 cel. ml⁻¹ y 0.2×10^6 cel. ml⁻¹ en el caso de *C. reinhardtii*. Durante 10 días se cultivaron a $21 \pm 3^\circ\text{C}$, iluminación continua y cada tercer día a *C. vulgaris* se le adicionó 0.5 g.L^{-1} de NaHCO₃ como fuente de Carbono. Posteriormente se realizaron conteos diarios utilizando la cámara de Neubauer (hematocitómetro). Se cosecharon los cultivos durante su fase exponencial, se refrigeraron por 2 días a 4°C para la sedimentación de las células y se retiró el exceso de MBB hasta tener 20 ml de concentrado de algas. Por último, los cultivos de alga se mantuvieron a 4°C hasta su utilización en los bioensayos.

Cultivo de Rotíferos.

En este estudio se utilizó una cepa clon de *Brachionus calyciflorus* (Pallas, 1778) aislada del Estado de Hidalgo, México. La cepa fue acondicionada, a la temperatura de 26°C , ausencia de luz y cada tercer día se le cambiaba el medio EPA y se le adicionaba *C. vulgaris*. Se colocaron en vasos de plástico con 20 ml de medio EPA (Weber, 1993) 4 réplicas por tratamiento, con una población mixta de 10 hembras: 5 neonatas y 5 hembras con un huevo. Se cultivaron en incubadora a 26°C y sin intensidad lumínica. El medio EPA era cambiado diariamente y como fuente de alimento, se les agregaba 0.5×10^6 cel. ml⁻¹ a las réplicas con *C. vulgaris* y para las réplicas de *C. reinhardtii*, 0.25×10^6 cel. ml⁻¹. Para la determinación del crecimiento poblacional y la relación hembra-huevo, se hicieron conteos diarios hasta que la población empezó a disminuir (15 días) y se registraron los datos de organismos

totales, huevos totales, y hembras con huevo. Cuando la población superó los 100 individuos se realizaron alícuotas de 1 ml.

Análisis Estadístico.

Una vez obtenidos estos datos, se calculó la tasa de crecimiento poblacional (r) durante los días de crecimiento exponencial de *C. vulgaris* y *C. reinhardtii*, así como la de *B. calyciflorus* alimentado con los tratamientos con y sin vitamina B. Se utilizó la ecuación de crecimiento exponencial: $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$. Donde, N_t = número de individuos después del tiempo, N_0 = densidad inicial de individuos y t = tiempo en días (Krebs, 1985). Para determinar si la tasa de crecimiento poblacional, densidad máxima y el día de densidad máxima tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía con la prueba *Post hoc* (Tukey).

Resultados.

Crecimiento poblacional de microalgas.

La densidad máxima alcanzada de *Chlamydomonas* sin vitamina fue de 5×10^6 cel.ml⁻¹ en el día 10. Por otra parte, el tratamiento con vitamina alcanzó 3×10^6 cel.ml⁻¹, en el sexto día de cultivo (Fig. 1A). Con *Chlorella* se observa la misma tendencia con la presencia y ausencia de vitamina, puesto que el crecimiento fue mayor en ausencia de vitamina con 13.8×10^6 cel.ml⁻¹, mientras que el crecimiento disminuyó con la presencia de vitamina en el medio, alcanzando concentraciones de 6.4×10^6 cel.ml⁻¹ (Fig. 1B).

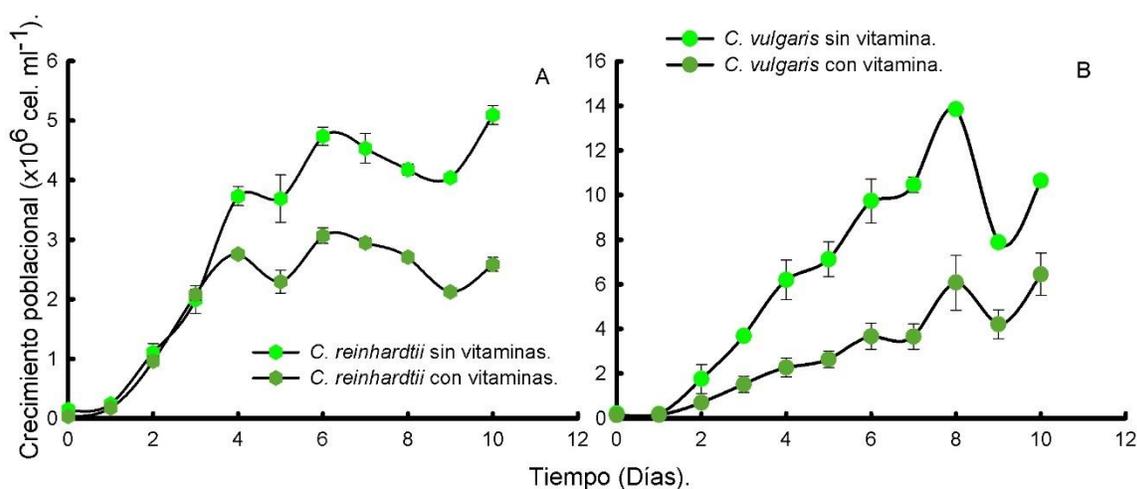


Figura 1. Crecimiento poblacional de *Chlamydomonas* (A) y *Chlorella* (B). Con vitamina B (círculos oscuros) y sin vitamina B (círculos claros). Todos los puntos en la tabla representan el promedio \pm error estándar (EE) de cuatro réplicas.

Los resultados de la tasa de crecimiento (r) de *Chlamydomonas* durante la fase exponencial variaron entre 0.59 d^{-1} en el caso del tratamiento sin vitamina y 0.41 d^{-1} en el tratamiento con vitamina (Fig. 2A), siendo el tratamiento libre de vitamina el que presentó una r significativamente mayor ($P < 0.05$, prueba de Tukey). En el caso de *Chlorella*, la tasa de crecimiento fue de 0.54 d^{-1} en ausencia de vitamina y 0.24 d^{-1} en presencia de vitamina (Fig. 2B). El tratamiento sin vitamina resultó tener una r significativamente mayor ($P < 0.05$).

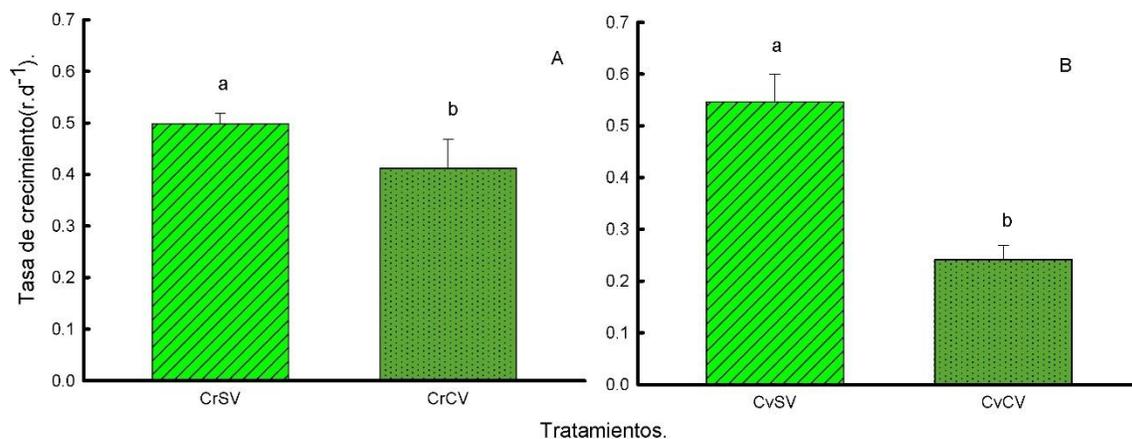


Figura 2. Tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}) de *Chlamydomonas* (A) y sin vitamina B (CrSV) y con vitamina B (CrCV), y *Chlorella* (B) sin vitamina B (CvSV) y con vitamina B (CvCV). Los valores mostrados son una media \pm EE basado en cuatro réplicas. Los resultados demuestran diferencias significativamente diferentes ($P < 0.05$, prueba de Tukey).

Crecimiento poblacional de *Brachionus calyciflorus*.

Las curvas de crecimiento poblacional del tratamiento de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas*, se observó que sin vitamina alcanzó una densidad máxima de 24.97 ind.ml⁻¹ y en el tratamiento con vitamina hubo un incremento con 32.9 ind.ml⁻¹ (Fig. 3A). Después, se obtuvo que *B. calyciflorus* alimentado con *Chlorella* sin vitamina presentó un pico máximo de 14.5 ind.ml⁻¹ en su densidad poblacional, en el tratamiento de dicha microalga con vitamina, alcanzó una densidad máxima de 30.75 ind.ml⁻¹, representando un aumento de prácticamente el doble de individuos entre los tratamientos (Fig. 3B).

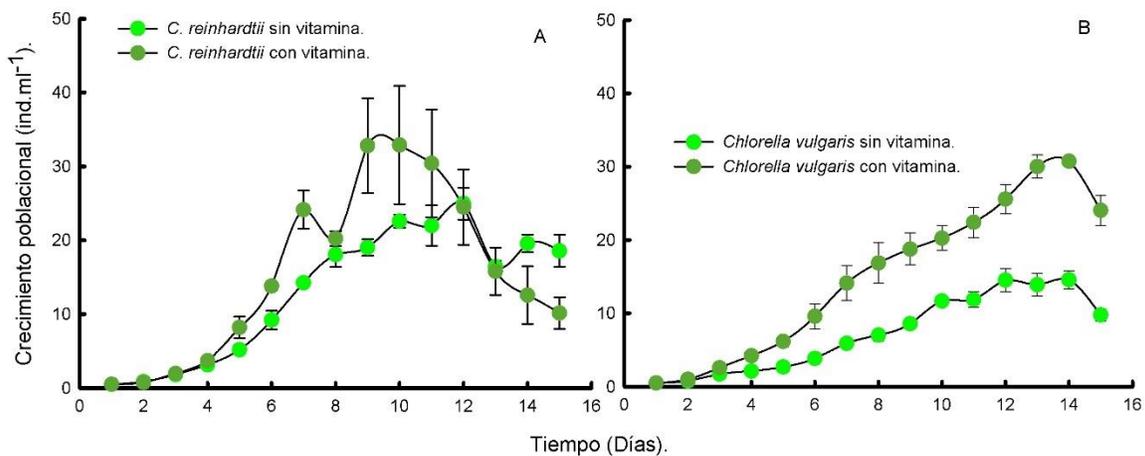


Figura 3. Crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas* (A) y *Chlorella* (B) con vitamina B (círculos verde claros) y sin vitamina B (círculos verde oscuros). Todos los puntos en la tabla representan el promedio \pm EE de cuatro réplicas.

Los valores de r de *B. calyciflorus* se vieron influenciados positivamente ante la presencia de la vitamina en el medio. La tasa de crecimiento poblacional en el tratamiento de *B. calyciflorus* con dieta a base de *Chlamydomonas* sin vitamina fue de 0.24 d^{-1} , y en el tratamiento con vitamina de 0.37 d^{-1} , existiendo diferencias significativas entre ambos tratamientos ($p < 0.05$) (Fig.4A). Mientras tanto, se calculó la tasa de crecimiento poblacional en la dieta con *Chlorella* y en el tratamiento sin vitamina se obtuvo una r promedio de 0.24 d^{-1} , y en el caso del tratamiento con vitamina obtuvo una r de 0.28 d^{-1} . Presentando diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) (Fig. 4B).

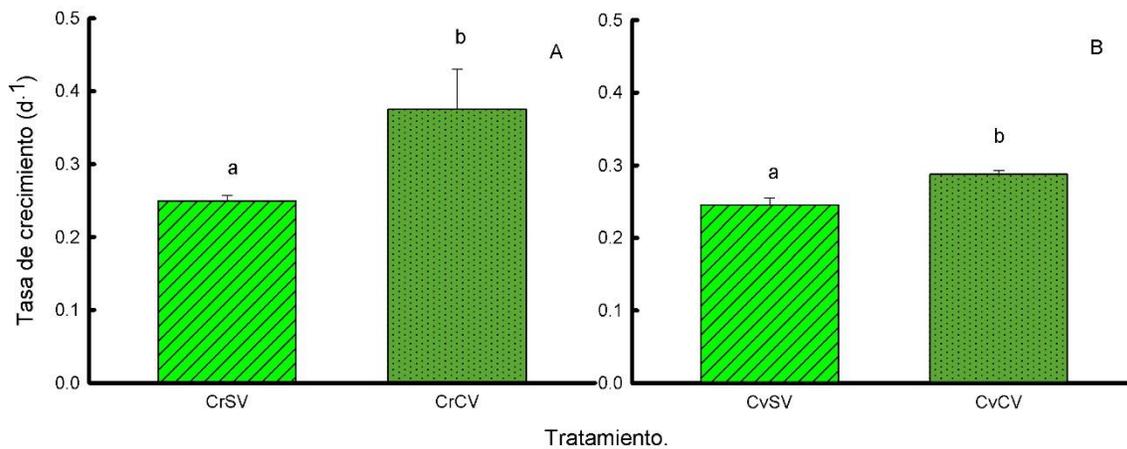


Figura 4. Tasas de crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas* (A) sin vitamina B (CrSV) y con vitamina B (CrCV) y *Chlorella* (B) sin vitamina B (CvSV) y con vitamina B (CvCV). Los valores mostrados son una media \pm EE basado en cuatro réplicas. Los resultados demuestran diferencias significativamente diferentes ($P < 0.05$, prueba de Tukey).

Se presentan las densidades máximas de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas* en donde se obtuvo que los tratamientos sin vitamina alcanzan un pico máximo menor de 26.6 ind. ml⁻¹. Por otro lado, el tratamiento con vitamina alcanzó un pico máximo de 37.6 ind.ml⁻¹. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$) (Fig. 5A). En los resultados de densidad máxima de *B. calyciflorus* alimentado con *C. vulgaris*, se observó que el enriquecimiento vitamínico mejoró significativamente al grupo experimental con vitamina ($P < 0.05$, prueba de Tukey). El rotífero alimentado con la dieta sin vitamina tuvo una densidad de 15.3 ind.ml⁻¹, en contraste hubo un aumento significativo en el tratamiento con vitamina con 31.6 ind.ml⁻¹ (Fig. 5B).

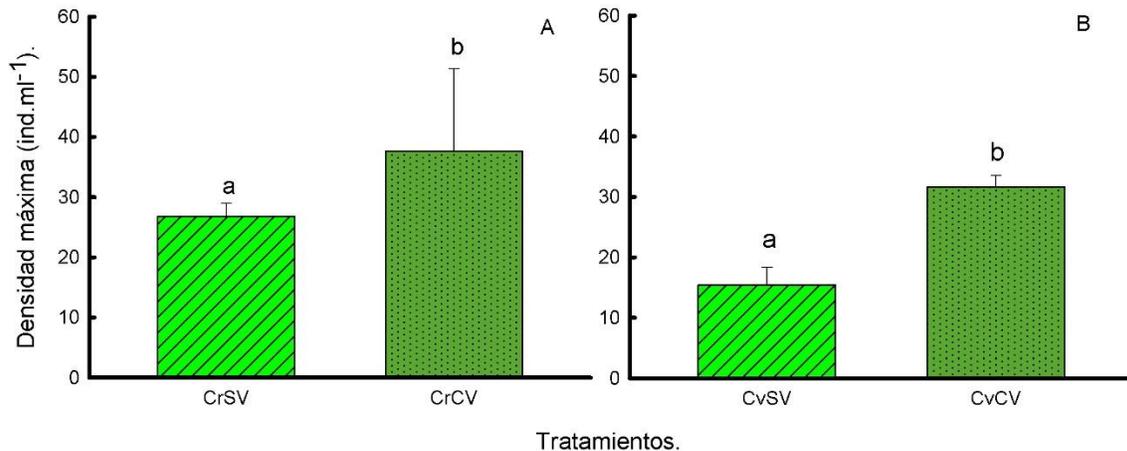


Figura. 5. Densidades de crecimiento máximo (ind.ml⁻¹) de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas* sin vitamina B (CrSV) y con vitamina B (CrCV) y *Chlorella* sin vitamina B (CvSV) y con vitamina B (CvCV). Los valores representan la media \pm EE de cuatro réplicas. Los resultados demuestran diferencias significativamente diferentes ($P < 0.05$, prueba de Tukey).

Por otro lado, en el día de densidad máxima del rotífero alimentado a base de *Chlamydomonas* presentó que el enriquecimiento disminuye significativamente el tiempo en que se alcanza la densidad máxima, en comparación con el tratamiento control. ($p < 0.05$) (Fig.6A). En la dieta con *Chlamydomonas* sin vitamina se alcanza el día de densidad máxima hasta el día 12, en cambio en los tratamientos sin vitamina el tiempo se reduce en 4 días. Por último, los resultados de día de densidad máxima para el tratamiento de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlorella*, presentaron que ambos tratamientos alcanzan la densidad máxima en el día 12 de cultivo. No presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 6B).

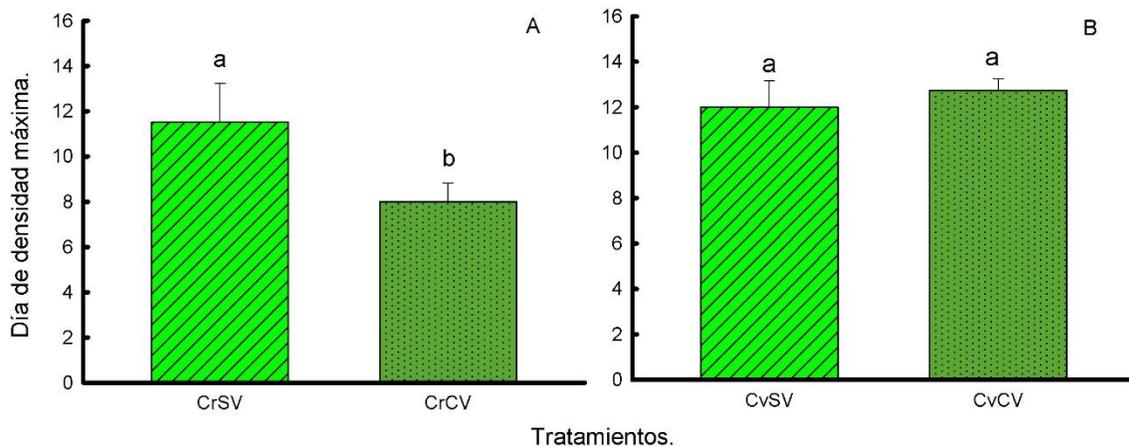


Figura. 6. Días de densidades de crecimiento máximo de *B. calyciflorus* alimentado con *Chlamydomonas* sin vitamina B (CrSV) y con vitamina B (CrCV) y *Chlorella* sin vitamina B (CvSV) y con vitamina B (CvCV). Los valores representan la media \pm EE de cuatro réplicas. Los resultados demuestran diferencias significativamente diferentes ($P < 0.05$, prueba de Tukey).

Discusión.

El uso de microalgas en la acuicultura tiene un papel bastante relevante debido a que representan el principal alimento de rotíferos por sus altos niveles nutritivos (Radakrishnan *et al.*, 2019). Por otra parte, el enriquecimiento de algas ha tomado importancia desde que se conoce que los nutrientes de los rotíferos no satisfacen las necesidades de las larvas de peces (Hamre *et al.* 2008). En este estudio, los resultados permitieron conocer qué sucede con las algas cuando se le adiciona Vitamina B al medio, algo que solo había sido reportado por Maruyama *et al.* (1989) donde explica que *Chlorella* puede almacenar de 0.2 – 1100 $\mu\text{g}\cdot 100\text{ g}^{-1}$ de peso seco, además, menciona que necesita esta adición, para cumplir sus funciones como alimento de zooplancton. Hay que tomar en cuenta que la mayoría de los organismos que componen el fitoplancton se les considera auxótrofos, por la necesidad constante de obtener vitamina B del medio, debido a que son incapaces de sintetizar por sí mismos (Provasoli y Carlucci, 1974). Un ejemplo claro, es lo que sucede con *C. reinhardtii*, en donde su incapacidad para sintetizar vitamina B12 causa que forme pseudocobalamina o pseudo vitamina B12 (Tandon *et al.*, 2017). Es probable, que este proceso de formación de pseudocobalamina sea el responsable de que haya una menor tasa de crecimiento en los tratamientos adicionados con vitamina B.

El factor de crecimiento poblacional permite conocer el estado de la cepa y qué posibilidades tiene de mantener su población en crecimiento. Por ejemplo, se demostró que la vitamina B no beneficia el crecimiento poblacional de las algas, ni en *C. vulgaris*, ni en *C. reinhardtii* y es posible que esto se deba a la bioacumulación de la vitamina (Que ronda los 19 al 81% de la vitamina disponible en el medio (Maruyama *et al.* 1989). Esta acumulación, tiene una relación directa con la síntesis de carotenoides con funciones antioxidantes en microalgas. Maruyama *et al.* (1989) menciona que las cepas de *Chlorella* que tuvieron un menor consumo de vitamina pueden producir una mayor cantidad de carotenoides secundarios, y viceversa, aquellas cepas que consumieron más vitamina generan una menor cantidad de carotenoides.

En los tratamientos sin vitamina el crecimiento fue significativamente mejor, en contraste con los tratamientos con vitamina. *A priori*, se podría recomendar no utilizar el complejo vitamínico, sin embargo, tomando en cuenta que su función en la industria es que sean alimento del zooplancton, el beneficio de su uso podría ser mayor, porque los efectos positivos se encontraron en el siguiente eslabón de la cadena trófica: los rotíferos; y éstos a su vez, a los consumidores primarios: larvas de peces, crustáceos y moluscos.

Para determinar que los rotíferos cumplirán su función en la acuicultura, es necesario realizar estudios demográficos que permitirán entender las estrategias de ciclo de vida del zooplancton (Nandini y Sarma, 2000). Además, de conocer los parámetros ambientales clave para el cultivo óptimo de estos organismos (Stearns, 1976). Las tasas de crecimiento poblacional, densidad máxima y el tiempo que tarda en alcanzarla, pueden ayudar a seleccionar las especies de zooplancton que tengan un potencial uso acuícola para su cultivo a gran escala (Peña-Aguado, *et al.*, 2005).

Los resultados en las dietas con microalgas enriquecidas presentan resultados positivos superiores en *B. calyciflorus*. Se obtuvo que durante la dieta de *C. reinhardtii* enriquecida la densidad máxima fue de 38 ind.ml⁻¹, que es superior a lo obtenido por Nandini *et al.* (2019), que alcanzó densidades máximas de 10.5-12.5 ind.ml⁻¹, en cultivos de laboratorio. Sin embargo, existen trabajos realizados en cultivos de alta intensidad que reportan densidades máximas de 200 ind.ml⁻¹ (Xiao-Ping *et al.*, 2019; Garahei *et al.*, 2020), reiterando el potencial uso de *Brachionus* para cultivos de alimento de agua dulce a gran escala. En este trabajo se observó que el enriquecimiento en *C. vulgaris* tiene efectos positivos sobre las variables de densidad máxima en *B. calyciflorus*, mejorando al doble la densidad en comparación con el grupo control.

La variable de día de densidad máxima posibilita entender los tiempos que puede tardar el cultivo de rotíferos en alcanzar las densidades necesarias para utilizarse como alimento. Si los tiempos de cultivos disminuyen a través del enriquecimiento, representaría una reducción en costos del cultivo (Peña-Aguado *et al.*, 2005). Se observó que en el tratamiento con *C. reinhardtii* enriquecida había una disminución

significativa en el tiempo en que se alcanzaba la densidad máxima (72 horas menos), en comparación con el grupo control. Por otro lado, en los tratamientos de *C. vulgaris* enriquecida, los rotíferos alcanzaron al mismo tiempo la densidad máxima (Día 12), lo que significa que aun así el enriquecimiento vitamínico mejoraría los cultivos de alimento vivo, ya que, durante el mismo tiempo de cultivo, las poblaciones de *B. calyciflorus* enriquecido pueden ser superiores (31.6 ind.ml⁻¹) a sus contrapartes del grupo control (15.3 ind.ml⁻¹).

Se ha demostrado que los rotíferos necesitan ser enriquecidos para cumplir los requerimientos de las larvas de peces. En este trabajo se observó una clara tendencia en ambos modelos de estudio, *C. vulgaris* y *C. reinhardtii*, en donde el efecto positivo se encontró cuando la dieta del rotífero estaba enriquecida con complejo de vitamina B. Con la primera microalga la población aumentó más del doble en el tratamiento con vitamina (112%), y con *C. reinhardtii* la presencia de la vitamina generó un aumento 30% mayor con respecto al tratamiento control. De tal forma que se recomienda el uso del complejo vitamínico de uso comercial, para su implementación como enriquecedor de alimento vivo en acuicultura. Otros trabajos han tenido resultados similares al aplicar vitaminas en rotíferos, por ejemplo, el enriquecimiento de vitamina B12 en *B. plicatilis* mostró efectos positivos en la estabilidad de la población y en los tiempos de reproducción (Maruyama *et al.*, 1989). De igual forma, la combinación de vitamina A y C en la fórmula de dietas especializadas para rotíferos (*OriOne*) mejora su crecimiento poblacional (Dhert *et al.*, 2014). Por otro lado, un efecto negativo ante la ausencia de vitamina A, propicia una reducción del área pigmentada de la mancha ocular (*eyespot*) en dicho rotífero (Jin-Kim *et al.*, 2014). En el caso del rotífero bdelloideo *Philodina* spp., se ha observado que la adición de vitamina E en el cultivo aumenta la esperanza de vida 10% (Ernst *et al.*, 2013).

Si bien se sabe sobre los beneficios del enriquecimiento de varias vitaminas, últimamente se han hecho distintas investigaciones de enriquecimiento con probióticos para mejorar la calidad del alimento vivo, obteniendo resultados favorables y positivos para su uso en cultivos en acuicultura. Sorpresivamente, las

principales explicaciones para estos resultados se deben al efecto de la vitamina B12 que producen las bacterias en el medio de cultivo. Por ejemplo, Loka *et al.* (2019) encontraron que en *B. plicatilis*, alimentado a base de lactobacilos mejoró significativamente la densidad poblacional de sus cultivos. Por otro lado, Contreras-Tapia *et al.* (2020) observaron el crecimiento poblacional de *B. calyciflorus* alimentado con *C. vulgaris* y una combinación de distintos lactobacilos, y encontraron que, en efecto, estas bacterias tienen un efecto positivo sobre el crecimiento poblacional de este animal. En ambos casos, la explicación más fehaciente recae en la actividad bacteriana en la producción de vitamina B12 que fue absorbida por los rotíferos. Además, se ha estudiado el funcionamiento de minerales en el enriquecimiento, como el yodo que funciona durante la metamorfosis de peces (Leatherland, 1994). Aunque, se demostró que había una pobre absorción de yoduro de sodio (NaI) en rotíferos (Hamre *et al.*, 2008) y que al utilizarse yoduro de timol se retiene mejor dentro del rotífero y se puede transportar al siguiente nivel de la cadena trófica (Srivastava *et al.*, 2012). En síntesis, el enriquecimiento en general dependerá del enriquecimiento del alimento (Maruyama *et al.*, 1989; Park, *et al.*, 2006; Waqalevu *et al.*, 2019; Contreras, *et al.*, 2020), o bien del enriquecimiento del medio en el que se desarrolla la población de rotíferos (Srivastava, *et al.*, 2011; Negm, *et al.*, 2013). Ambos métodos han probado ser útiles.

Es necesario observar la importancia del enriquecimiento en acuicultura, puesto que sin este método no se cumplirían los estándares de calidad que deben tener los peces a la hora de comercializarse. También, cabe recalcar que en este tipo de investigaciones el principal modelo de estudio es el rotífero *B. plicatilis*, lo que significa que aún hay un gran margen de estudio debido a que, si bien es la especie más ampliamente utilizada como alimento vivo, no es la única. En adición, existe una nula investigación sobre los efectos que tienen los complejos vitamínicos de humanos en acuicultura y que ignora los resultados positivos que estos medicamentos pudieran conllevar en la economía de la producción.

En todas las investigaciones revisadas en este trabajo, se utilizaron dietas especializadas para peces y rotíferos; sin embargo, no se encontraron trabajos que utilizarán enriquecedores vitamínicos económicos, de fácil acceso, o de consumo humano. Lo anterior podría generar pérdidas económicas a los acuicultores debido a que no se conocen los beneficios de vitaminas a menor costo. Por ejemplo, en este trabajo se demostró que al utilizar un suplemento alimenticio de vitamina B (Bedoyecta®Tri) en un cultivo de rotíferos de 20 L, se utilizarían 10µl por cada litro de cultivo con un valor de \$7.12 pesos por cultivo, en contraste al utilizar vitamina B de alta pureza, como la hidroxocobalamina (Vitamina B12a), por cada cultivo de rotíferos de 20 L, se necesitaría una inversión de \$113.5 pesos, representando casi 16 veces más el valor del suplemento alimenticio de vitamina B utilizado en este trabajo. Este valor podría disminuir si se utiliza riboflavina (vitamina B2), que representa un gasto de \$7.48 pesos, lo que significa que el valor es casi equiparable entre el suplemento vitamínico y la vitamina de alta pureza, pero se ha observado que el mejoramiento de rotíferos se da a través de vitamina B12.

Perspectivas e implicaciones.

Mientras tanto, como futuras investigaciones, proponemos: 1) Determinar el perfil nutrimental de *B. calyciflorus* enriquecido con vitamina B y precisar los valores de los ácidos grasos, las vitaminas, los macrominerales y microminerales presentes. 2) Conocer cómo afecta los rotíferos enriquecidos a otras especies de peces en su crecimiento somático y 3) ¿Qué efecto tienen las algas enriquecidas sobre otras especies de *Brachionus*? De tal manera que se expanda el panorama a nuevas especies de alimento vivo y sus potenciales usos en acuicultura.

Conclusiones.

La presencia de vitamina B en el medio de cultivo de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* disminuyó sus respectivas densidades poblacionales y tasas de crecimiento poblacional en comparación con los tratamientos a los que no se les adicionó vitamina B, los cuales obtuvieron valores más altos.

En contraste, el crecimiento poblacional y la densidad máxima de *Brachionus calyciflorus* sometido a dietas adicionadas de vitamina B, mejoró significativamente, siendo la dieta de *C. vulgaris* adicionada con vitamina es la que obtiene los valores significativamente más altos de densidad máxima y tasa de crecimiento poblacional, incrementado un 106% y 11.6%, respectivamente.

Literatura citada.

Abdell-Fattah, M. El-Sayed. (2006). Tilapia culture. CABI Publishing.

Ansari, F. A., Guldhe, A., Gupta, S. K., Rawat, I. y Bux, F. (2021). Improving the feasibility of aquaculture feed by using microalgae. *Environmental Science and Pollution Research* 28(32): 43234-43257.

Belmonte, A. y De la Gándara, F. (2008). El cultivo del atún rojo (*Thunnus thynnus*). Fundación observatorio español de acuicultura. Consejo superior de investigaciones científicas. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino.

Boehlert, G.W. (1996). Biodiversity and the sustainability of marine fisheries. *Oceanography* 9(1): 28-35.

Bonanomi, S., Colombelli, A., Bucciarelli, B., De Angelis, R. y Sala, A. (2019). Serving Local Fish in School Meals: The Nutritional Importance of Consuming Oily Fish. *Sustainability* 11(14): 3990.

Borowitzka, M.A. y Borowitzka, L.J. (1998). Micro-Algal biotechnology. *Cambridge University Press*, London.

Brown, M. R. (2002). Nutritional value of microalgae for aquaculture. En: Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Gaxiola-Cortéz, M. G., Simoes, N. (Eds.) Avances en nutrición acuícola. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola.

Carta Nacional Acuícola (CNA). 2012. Diario Oficial de la Federación

Carta Nacional Acuícola (CNA). 2013. Diario Oficial de la Federación

Cerdenares, G., Ramírez-Antonio, E., Ramos-Carrillo, S., González-Medina, G., Anislado-Tolentino, V., López-Herrera, D. y Karam-Martínez, S. (2014). Impacto de la actividad pesquera sobre la diversidad biológica: Revisión para el Pacífico sur de México. *Revista Iberoamericana de Ciencias* 1: 95-116.

- Cifuentes-Lemus, J.L. y Cupul.Magaña, F.G. (2001). Un vistazo a la historia de la pesca en México: Administración legislación y esfuerzos para su investigación. *Ciencia ergo sum.* 9 (1):112-118.
- CONANP. (2013). Dirección de especies prioritarias para la conservación. México. CONABIO. Disponible en: https://www.biodiversidad.gob.mx/media/1/especies/files/PropuestaEspPrioritarias_ago2012_VerAct_Sept2013
- CONAPESCA. (2011). Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2011. México. SAGARPA. Disponible en: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuacultura-y-pesca>
- CONAPESCA. (2018). Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2018. México. SAGARPA. Disponible en: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadistico-de-acuacultura-y-pesca>
- Conceição, L.E.C., Yúfera, M., Makridis, P., Morais, S. y Dinis, M.T. (2010). Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research* 41:613-640.
- Contreras-Tapia, R.A., Castellanos-Páez, M.E., S. Nandini, Benítez-Díaz-Mirón, M.I. y Garza-Mouriño, G. (2020). Enhancing rotifer *Brachionus calyciflorus* population growth with commercial probiotics. *Aquaculture Research*.51(5):2102-2111.
- Cuellar-Lugo, M.B. (2018). Evolución normativa e institucional de la acuacultura en México. *Agricultura, sociedad y desarrollo.* 15: 541-564.
- Day, J.B., Benson, E.E. y Fleck, R.A. (1999). *In Vitro* Culture and Conservation of Microalgae: Applications for Aquaculture, Biotechnology and Environmental Research. *In Vitro Cellular & Developmental Biology* 35:127-13.
- Dhert, P., King, N. y O'Brien, E. (2014). Stand-alone live food diets, an alternative to culture and enrichment diets for rotifers. *Aquaculture* 431: 59-64.

- Edelmann, M., Aalto, S., Chamlagain, B., Kariluoto, S. y Piironen, V. (2019). Riboflavin, niacin, folate and vitamin B12 in commercial microalgae powders. *Journal of Food Composition and Analysis* 82:103226.
- Ernst, M.I.A., Palluf, K., Bendall, J.K., Paulsen, L., Nikolai, S., Huebbe, P., Roeder, T., Rimbach, G. (2013). Vitamin E supplementation and lifespan in model organisms. *Ageing Research Reviews* 12(1): 365-375.
- FAO. (2007). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2006. Roma.
- FAO. (2011) Aquaculture development. 6. Use of wild fishery resources for capture-based aquaculture. FAO technical guidelines for responsible fisheries. No. 5, Suppl. 6. FAO, Rome.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2016. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma.
- FAO. (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome.
- FAO. (2009). *Penaeus vannamei*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Briggs, M. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New.
- Figueroa-Lucero, G., Meza-González, O., Hernández-Rubio, M.C., Bariga-Sosa, I.A., Rodríguez-Canto, A. y Arredondo-Figueroa, J.L. (2004). Growth, survival and mandible development in the larvae of the shortfin silverside *Chirostoma humboldtianum* (Valenciennes) (Atheriniformes: Atherinopsidae) under laboratory conditions. *Aquaculture* 242: 689-696.
- Fischer, B. B., Roeffler, S. y Eggen, R. I. L. (2012). Multiple stressor effects of predation by rotifers and herbicide pollution on different *Chlamydomonas* strains and potential impacts on population dynamics. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31(12): 2832-3840.
- Flores-Burgos, J., Sarma, S.S.S. y Nandini, S. (2003). Population Growth of Zooplankton (Rotifers and Cladocerans) Fed *Chlorella vulgaris* and

Scenedesmus acutus in Different Proportions. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* 31(3): 240-248.

Fromentin, J.M. y Powers, J.E. (2005). Atlantic bluefin tuna: population dynamics, ecology, fisheries and management. *Fish and fisheries* 6: 281-306.

Funge-Smith, S.J. (2018). Review of the state of world fishery resources: inland fisheries FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. C942 Rev.3, Rome. 397.

Gaspasin, R.S.J., Bombeo, R., Lavens, P., Sorgeloos, P y Nelis, H.J. (2011). Enrichment of live food with essential fatty acids and vitamin C: effects on milkfish (*Chanos chanos*) larval performance. *Aquaculture* 162: 269-286.

Grossman, A. (2016). Nutrient acquisition: The generation of bioactive vitamin B12 by microalgae. *Current Biology* 26:319.

Hamre, K. (2016). Nutrient profiles of rotifers (*Brachionus sp*) and rotifers diets from four different marine fish hatcheries. *Aquaculture* 540: 136-142.

Hamre, K., Srivastava, A., Rønnestad, I., Mangor-Jensen, A. y Stoss, J. (2008). Several micronutrients in the rotifer *Brachionus sp.* may not fulfil the nutritional requirements of marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition* 14: 51-60.

Hirayama, K. y Funamoto, H. (1983). Supplementary effect of several nutrients on nutritive deficiency of baker's yeast for population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*. 49 (4): 505-510.

INAPESCA. (2003). Historia y avances del cultivo de pescado blanco. México. SAGARPA. Disponible en: <https://www.gob.mx/inapesca/documentos/historia-y-avances-para-el-cultivo-de-pescado-blanco>

Jin-Kim, H., Sawada, C., Rhee, J., Lee, J., Suga, K. y Hagiwara, A. (2014). Nutritional effects on the visual system of the rotifer *Brachionus plicatilis*,

sensu stricto (Rotifera: Monogononta). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 460: 177-183.

Kostopoulou, V. y Vadstein, O. (2007). Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, *B. 'Nevada'* and *B. 'Cayman'* under different food concentrations. *Aquaculture* 273: 449–458.

Leatherland, J.F. (1994) Reflections on the thyroidology of fishes: from molecules to humankind. *Guelph ichthyology reviews* 2:1–67.

Loka, J., Sonali, S. M., Saha, P., Devaraj, K., y Philipose, K. K. (2016). Use of commercial probiotics for the improvement of water quality and rotifer density in outdoor mass culture tanks. *Indian Journal of Fisheries* 63(4): 145–149.

Lubzens, E., Tandler, A. y Minkoff, G. (1989). Rotifers as food in aquaculture. *Hydrobiologia*.186-187(1): 387-400.

Lynch, A.J., Cooke, S.J., Deines, M.A., Bower, S.D., Bunnell, D.B., Cowx, I.G., Nguyen, V.M., Nohner, J., Phouthavong, K., Riley, B., Rogers, M.W., Taylor, W.W., Woelmer, W., Youn, S. y Douglas Jr. B.T. (2016). The social, economic, and environmental importance of inland fish and fisheries. *Environmental Reviews* 24(2): 115-121.

Maruyama, I. y Hirayama, K. (1993). The culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* with *Chlorella vulgaris* containing vitamin B12 in its cells. *Journal of the World Aquaculture Society* 24: 194-198.

Maruyama, I., Ando, Y., Maeda, T., Hirayama, K. (1989). Uptake of vitamin by various strains of unicellular algae *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55(10): 1785-1790.

Maruyama I., Nakao T., Shigeno I., Ando Y. y Hirayama K. (1997) Application of unicellular algae *Chlorella vulgaris* for the mass-culture of marine rotifer *Brachionus*. En: Hagiwara A., Snell T.W., Lubzens E., Tamaru C.S. (eds) *Live Food in Aquaculture. Developments in Hydrobiology* 124.

- Mazurais, D., Darias, M.J., Gouillou-Coustans, M.F., Le Gall, M.M., Huelvan, C., Desbruyeres, E., Quazuguel, P., Cahu, C. y Zambonino-Infante, J.L. (2007). Dietary vitamin mix levels influence the ossification process in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *The American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 294: 520-527.
- Mejias, C., Riquelme, C., Sayes, C., Plaza, J. y Silva-Aciaras, F. (2018). Production of the rotifer *Brachionus plicatilis* (Müller 1786) in closed outdoor systems fed with the microalgae *Nannochloropsis gaditana* and supplemented with probiotic bacteria *Pseudoalteromonas* sp. (SLP1). *Aquaculture International* 26:869-884.
- Morales-Ventura, J., S. Nandini., S.S.S. Sarma, y Castellanos-Páez, M.A. (2012). Demography of zooplankton (*Anuraeopsis fissa*, *Brachionus rubens* and *Moina macrocopa*) fed *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* cultured on different media. *Revista de Biología Tropical* 60 (3): 955-965.
- Nandini, S y S.S.S. Sarma. 2000. Lifetable demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia* 435(1): 117-126.
- Navarrete-Salgado, N.A. (2017). *Chirostoma* (menidia): ecology and use as a culture species in rustic ponds. *BIOCYT* 10(39): 736-748.
- Negm, R., Cobcroft, J., Brown, M., Nowak, B.F., Battaglione, S. (2013). The effects of dietary vitamin A in rotifers on the performance and skeletal abnormality of striped trumpeter *Latris lineata* larvae and post larvae. *Aquaculture* 404(40): 105–115.
- Pauly, D., Watson, R., y Alder, J. (2005). Global trends in world fisheries: impacts on marine ecosystems and food security. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 360(1453): 5–12.
- Peña-Aguado, F., S. Nandini y S.S.S. Sarma. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica* 35: 298-303.

- Pérez-Castañeda, R., Sánchez-Martínez, J.G., Aguirre-Guzmán, G., Rábago-Castro, J.L. y Vázquez-Sauceda, M.L. (2014). Interaction of fisheries and aquaculture in the production of marine resources: advances and perspectives in Mexico. En: Environmental management and governance: advances in coastal and marine resources; C.W. Finkl y C. Makowski, eds., *Coastal Research Library 8*.
- Provasoli, L., y A.F. Carlucci (1974). Vitamins and growth regulators, in *Algal Physiology and Biochemistry*. W. D. P. Stewart y Blackwell, M., eds., *Mass.*, 741-787.
- Radhakrishnan, D.K., D, Akbar Ali, I, Schmidt, BV, John, EM, Sivan Pillai, SK, Sankar, TV. (2019). Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: An overview. *Aquaculture Research* 51: 1– 17.
- Ruiz, M.A., Hernández-Cruz C.M., Caballero M.J., Fernández-Palacios H. Saleh R., Izquierdo M.S. y Betancor M.B. Appearance of systemic granulomatosis is modulated by the dietary supplementation of vitamin E and C in meagre (*Argyrosomus regius*) larvae fed inert microdiets. *Aquaculture* 506: 139-147.
- SAGARPA 2012. 6° Informe de Labores. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 1 de agosto de 2012.
- Samat, N.A., Yusoff, F.M., Rasdi, N.W. y Karim, M. (2020). Enhancement of live food nutritional status with essential nutrients for improving aquatic animal health: a review. *Animals* 10: 2457.
- Sarma, S.S.S. (1991). Rotifers and Aquaculture. *Environment and Ecology*. 9(2):414-428.
- Schluter, M. y Groeneweg, J. (1981). Mass production of freshwater rotifers on liquid wastes. The influence of some environmental factors on population growth of *Brachionus rubens* (Ehrenberg, 1838). *Aquaculture* 25: 17-24.
- Sinopoli, M., Pipitone, C., Campagnuolo, S., Campo, D., Castriota, L., Mostarda, E. y Andaloro, F. (2004). Diet of young of the year bluefin tuna, *Thunnus thynnus*

- (Linnaeus, 1758), in the southern Tyrrhenian (Mediterranean) sea. *Journal of Applied Ichthyology* 20: 310–313.
- Snell, T.W., Jhonston, R.K. y Matthews, A.B. (2019). Utilizing *Brachionus* biodiversity in marine finfish larviculture. *Hydrobiologia* 844:149-162.
- Souto, M., Saavedra, M., Pousao-Ferreira, P. y Herrero, C. (2008) Riboflavin enrichment throughout the food chain from the marine microalga *Tetraselmis suecica* to the rotifer *Brachionus plicatilis* and to the White Sea bream (*Diplodus sargus*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) larvae. *Aquaculture* 283: 128-133.
- Srivastava, A., Hamre, K., Stoss, J. y Nordgreen, A. (2012). A study on enrichment of the rotifer *Brachionus Cayman* with iodine from different sources. *Aquaculture* 334(337): 82-89.
- Stearns, S.C. 1976. Life history tactics: a review of ideas. *The Quarterly Review of Biology* 51: 3-47.
- Tandon, P., Jin, Q., y Huang, L. (2017). A promising approach to enhance microalgae productivity by exogenous supply of vitamins. *Microbial Cell Factories* 16: 219.
- Taşbozan, O. y Gökçe, M.A. (2017). Fatty Acids in Fish. En *Fatty Acids*; Angel, C., eds; In Tech: London, UK. 143–159.
- Vázquez-Hernández, Z. I. (2008). Efectos en el crecimiento poblacional y en la comparación bioquímica de *Brachionus calyciflorus* alimentado con *Chlorella vulgaris* cultivada en concentraciones bajas de nitrógeno y fósforo. Tesis de Licenciatura. FES-Iztacala. UNAM. México.
- Waqalevu, V., Honda, A., Dossou, S., Khoa, T.N.D., Matsui, H., Mzengereza, K., Liu, H., Ishikawa, M., Shiozaki, K. y Kotani, T. (2019). Effect of oil enrichment on *Brachionus plicatilis* rotifer and first feeding red sea bream (*Pagrus major*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 510: 73–83.

Weber, C.J. (1993). Methods for measuring the acute toxicity of effluents receiving waters to freshwater and marine organisms. 4th edn. United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio (EPA/600/4-90/027).

Yoshimura, K., Tanaka, K. y Yoshimatsu, T. (2003). A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *Brachionus rotundiformis* - a preliminary report. *Aquaculture* 227:165–172.