

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala



Las aplicaciones de dietas enriquecidas con complejo de vitamina B
en el crecimiento poblacional del cladóceros *Moina macrocopa* y su
uso en la acuicultura de agua dulce

T E S I S

Que para obtener el título de

BIÓLOGA

P R E S E N T A :

Sara María Castillo Molares

Directora de tesis:

Dra. Nandini Sarma

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México.

Enero, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 mis padres:

A mi mamá por ser mi principal apoyo y fuente de inspiración, fue quién me ha enseñado el amor, la fortaleza y la perseverancia que me forjó como persona y como bióloga. Sus abrazos, sus cariños y sus regaños siempre fueron oportunos y siempre estaré agradecida por eso.

A mi papá por confiar en mí, en mis decisiones y apoyarme en este camino. Me enseñó el valor de la paciencia y el compromiso hacia mis objetivos. Su cariño y su interés me permitieron crecer y madurar como persona.

A mi familia:

A mi tía Rosita, Neniki, Liber y Alex; a mi abuela Elsa, mi tía Marina, mi tío Lázaro, Filo, mi tía Zena, Mateo, Cami, Fer, Frida, Tade y Pato, por siempre estar conmigo y enseñarme el amor de familia.

A Romi y Lu, que siempre pueden transmitirme mucha alegría y verlas crecer me hace muy feliz.

A mis amigos:

A Ron por ser el mejor amigo y compañero de laboratorio. Por siempre estar dispuesto a ayudarme y apoyarme en todo momento.

A Cori por ser la mejor amiga que pude tener. Entre risas, bromas y chismes, siempre estuvo para mí en las buenas y dándome consejos en las malas.

A Aurora, Jafet, Kenia y Saori, que me permitieron ser parte de mil y una aventuras e historias que me hicieron crecer y amar mi carrera.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por la oportunidad que me otorgaron de formarme dentro de esta institución.

A la Dra. Nandini Sarma, por darme la oportunidad y el apoyo para desenvolverme en esta rama de la biología y confiar en mí. Le agradezco todos sus consejos y palabras de aliento, que me han permitido mejorar como bióloga y persona.

Al Dr. S.S.S. Sarma, al Dr. Cristian Alberto Espinosa Rodríguez, a la Dra. Patricia Bonilla Lemus y a la Dra. Michael Anai Figueroa Sánchez, por todo su interés y sus valiosas aportaciones en la realización de mi trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, por transmitir el conocimiento y apoyo para mi desarrollo dentro del laboratorio y en mi trabajo: Cesar, Mich, Rosa, Meetz, May, Lety, Toño, Carlos, Naye, Tony III y Andrea. Gracias.

A Ron, por ser parte esencial para el desarrollo de este proyecto y el mejor compañero de experimento.

A CONACyT por brindarme la beca de Ayudante de Investigador SIN III (20520) y al PAPIIT-UNAM IG 200820 por apoyo financiero.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
<i>La acuicultura en México</i>	3
<i>Especies dulceacuícolas cultivadas en México</i>	5
<i>Alimento vivo</i>	6
<i>Zooplancton como alimento vivo</i>	7
<i>Enriquecimiento del alimento vivo</i>	10
ANTECEDENTES	12
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	15
<i>Objetivo general</i>	15
<i>Objetivos específicos</i>	15
MATERIALES Y MÉTODOS	16
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS	28

RESUMEN

Uno de los principales problemas en la producción de peces y crustáceos en la acuicultura es la alta mortalidad de larvas, debido a las deficiencias en el contenido nutricional del alimento, así como en las densidades necesarias para cumplir la demanda de alimento. De tal forma que se ha estudiado la administración de suplementos vitamínicos a través de la bioencapsulación de estos compuestos. En el presente trabajo, se estudió el crecimiento poblacional de las algas *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* cultivadas en medios con y sin vitamina B y su uso como dietas enriquecidas con complejo de vitamina B en el crecimiento poblacional del cladóceros *Moina macrocopa*. En general, se pudo observar que el crecimiento de las algas que no fueron adicionadas con vitamina fue mayor ($0.5-0.54\text{ d}^{-1}$), también se alcanzó una densidad máxima del doble de concentración en comparación con las algas adicionadas con vitamina ($13.8 \times 10^6\text{ cel.ml}^{-1}$). Las curvas de crecimiento poblacional de *M. macrocopa* revelaron que las dietas con vitamina presentaban una densidad máxima superior con respecto a las dietas control ($4.4-5.4\text{ ind.ml}^{-1}$). Se encontró que el enriquecimiento con vitamina B afecta negativamente al crecimiento de las microalgas, pero complementa la dieta de *M. macrocopa*, siendo una opción para reducir los costos en la producción a gran escala de zooplancton dentro de la acuicultura, dando énfasis en la implementación de nuevas especies de zooplancton como alimento vivo.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es el conjunto de técnicas y conocimientos para la cría de organismos acuáticos, incluidos peces, moluscos, crustáceos y plantas acuáticas, con el objetivo de mejorar su producción. Con el rápido aumento de la población mundial, la seguridad de fuentes de alimento es una prioridad para un desarrollo sostenible (FAO, 2020). En los últimos años, la pesca de captura ha ido disminuyendo debido a la sobreexplotación de las poblaciones silvestres, dando como resultado que la acuicultura sea una de las formas de suministrar productos acuáticos para el consumo humano (FAO, 2018).

Desde hace cuarenta años, el sector acuícola ha sido la industria con la mayor tasa de crecimiento a nivel mundial (Chauhan & Singh, 2019). Se estima que la producción de pescado total (dulceacuícola y marino) alcanzó alrededor de 179 millones de toneladas durante 2018, en donde la acuicultura representó el 46% de la producción total (FAO, 2020). Pasando de ser una fuente de alimento relativamente insignificante, antes de 1980, a ser la producción más grande de alimentos para el consumo humano en la actualidad (FAO, 2018). Representando el 17% de la proteína animal consumida a nivel mundial (FAO, 2020).

La producción de pescado está dividida en cuatro grupos, pesca marina, pesca continental, maricultura y acuicultura continental, siendo China el mayor productor, con el 35% de la producción mundial de pescado durante 2018. Sin contar a China, una parte significativa de la producción se origina del continente asiático (34%), seguido de América (14%), Europa (10%), África (7%) y Oceanía (1%) (FAO, 2020). En las últimas décadas, la producción total de pescado se ha duplicado en continentes como África y Asia, mientras que en Europa y América ha ido disminuyendo, esto debido a los altos valores de las propiedades costeras y la priorización de la pesca comercial y el turismo, lo que ha provocado que el conocimiento y el capital migren a otras regiones con instituciones y estructuras diseñadas para fomentar el desarrollo de la acuicultura (Chu *et al.*, 2010; Engle & Stone, 2013).

En 2018, la acuicultura alcanzó su máximo histórico de 114.5 millones de toneladas de biomasa, en donde los peces, moluscos y crustáceos representaron más del 70% del total de la producción. Los peces continentales representan el mayor porcentaje de producción (41%) en comparación con otros organismos cultivados a nivel mundial (FAO, 2020) (Figura 1).

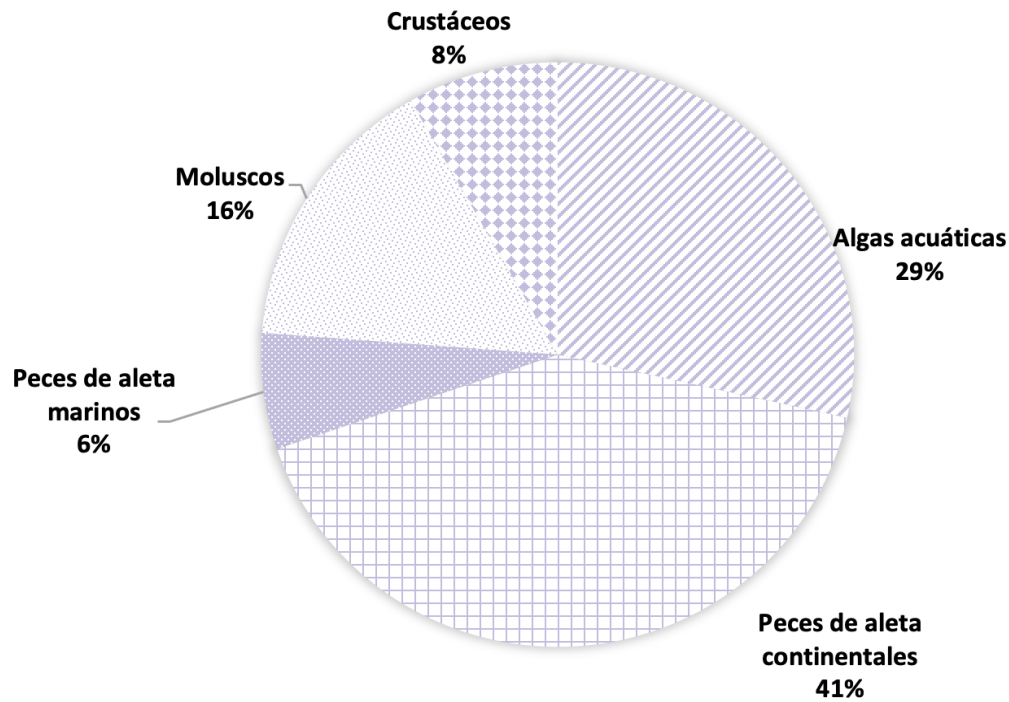


Figura 1. Porcentajes de producción mundial de los organismos cultivados en la acuicultura (FAO, 2020).

La acuicultura continental es la encargada de producir la mayoría de los peces y crustáceos de agua dulce, alcanzando el 62.5% del total mundial (FAO, 2020). La acuicultura de agua dulce se basa en especies que se alimentan de microalgas y zooplancton (rotíferos, cladóceros y copépodos), lo que ha ayudado a proporcionar alimentos de alta calidad a un menor costo. Por lo que se han llegado a desarrollar nuevas investigaciones sobre la nutrición de animales acuáticos, para mejorar la calidad del pescado (Han *et al.*, 2016). Sin embargo, la producción de especies dulceacuícolas todavía no puede satisfacer la creciente demanda de sus productos, por tanto, la acuicultura intensiva se ha convertido en un medio inevitable para el desarrollo de esta industria en agua dulce (Shi *et al.*, 2018).

La acuicultura en México

La acuicultura en México tiene sus inicios en la época prehispánica, por su desarrollo con fines religiosos (Juárez-Palacios, 1987), ya que las culturas mesoamericanas practicaban esta actividad para rendir culto al dios de la pesca, “Opchtli”, inventor de las redes e instrumentos de pesca (Cifuentes-Lemus & Cupul-Magaña, 2002).

Durante la época colonial mexicana, la pesca, enfocada principalmente en la extracción de perla, ballena y ostión, fue desplazando a la acuicultura (Urbina, 1978; Lechuga & González, 1985; Aguilera & Noriega, 1988), trayendo como consecuencia el estancamiento de esta actividad, provocando un rezago en el aprovechamiento, pérdida

de tradiciones y contribuyendo a la escasez de alimentos (Aguilera & Noriega, 1988; Gutiérrez-Yurrita, 1999). Esto continuó hasta los inicios del México independiente, ya que el sector acuícola seguía sin figurar como una actividad productiva y la atención continuaba centrada en la pesca (Cuéllar-Lugo *et al.*, 2018).

Años después, se inició una nueva etapa en la acuicultura en México, mediante la promulgación de leyes y reglamentos destinados al sector productivo y se inició la piscicultura organizada (Sevilla, 1981; Cházari, 1884). Con todo esto, México inició sus primeros intentos de desarrollar, regular y fomentar la piscicultura, para que sea concebida como una actividad económica complementaria, siendo una fuente generosa de empleo e ingresos económicos para el país, y de apoyo social para las comunidades rurales (Juárez-Palacios, 1987).

Durante los años siguientes, el sector acuícola sufrió una fuerte inestabilidad, por los constantes cambios políticos, en donde las estrategias tomadas fueron escasamente enfocadas al desarrollo de este sector (Cifuentes-Lemus & Cupul-Magaña, 2002). No fue hasta la Segunda Guerra Mundial, que el gobierno mexicano impulsó activamente el desarrollo industrial (Cordera, 2015). Este proceso de industrialización impactó en el sector acuícola mediante la construcción de centros dedicados a la producción y siembra de pescado, con el fin de aumentar la disponibilidad de alimentos (Mártir-Mendoza, 2006).

Por lo anterior, la acuicultura fue uno de los tantos sectores productivos que dependían de las empresas privadas para su desarrollo (Chabat, 1990). Con la firma del Tratado de Libre Comercio de América del Norte, en 1994, se continuaron la reestructuración de los reglamentos y leyes de las actividades agropecuarias (Cuéllar-Lugo *et al.*, 2018), dando como resultado un incremento de la producción total acuícola y pesquera (CONAPESCA, 2011).

Todos estos cambios en la política acuícola trajeron efectos negativos en materia ambiental, generando un aporte de nutrientes y contaminantes a los cuerpos de agua (Calderón *et al.*, 2009). A su vez, se priorizó el desarrollo de sistemas intensivos (Espinosa-Plascencia & Bermúdez-Almada, 2011), con el fin de maximizar el rendimiento y producción de los organismos cultivados, sin considerar una posible bioacumulación de contaminantes en los sistemas acuáticos, causando daño a largo plazo (Rodríguez-Valencia *et al.*, 2010). Por lo que en el 2000 se plantearon nuevos retos para el desarrollo del sector pesquero y acuícola, entre los cuales destaca la definición de políticas públicas para aprovechar los recursos de manera sustentable e involucrar a los sectores participantes en la investigación (DOF, 2001).

En la actualidad, las actividades acuícolas en México se consideran una importante fuente de alimento y empleo, ya que la producción acuícola media anual es de 337,018 toneladas métricas y continúa creciendo, alcanzado un crecimiento anual del 15%, en el cual participan alrededor de 56 mil acuicultores que operan las más de 9 mil granjas registradas, representando el 22% de la actividad pesquera del país (SAGARPA, 2017), llevada a cabo en 23 de los 32 estados del país, siendo los principales productores: Morelos, Nayarit, Jalisco, Veracruz y Yucatán (INAES, 2018). En términos de su contribución a la producción acuícola mundial, México ocupa el tercer lugar en producción de tilapia (CONAPESCA, 2011) y el sexto en camarón marino (FAO, 2012), aunque estos volúmenes de producción son sustanciales, considerando el tamaño, el área ocupada por los cuerpos de agua y la cantidad de especies acuáticas que habitan en el país, México es considerado un país de “bajo rendimiento” en la producción acuícola (Villaseñor & Amezcua, 2014).

Especies dulceacuícolas cultivadas en México

En México, la acuicultura dulceacuícola se realiza principalmente sobre especies que se han ido introduciendo para su producción. En los últimos años, este ha sido el principal motor económico del sureste mexicano, lo que abre el campo a la investigación de nuevas especies potenciales para su uso en la acuicultura (Saenz de Rodriganez *et al.*, 2018). Las especies nativas tienen un alto potencial, sin embargo, es necesario generar la información necesaria sobre aspectos biológicos y nutricionales para llevar a una especie nativa a la producción en cautiverio (FAO, 2011). Por todo esto, México se destaca por el desarrollo de la acuicultura de especies exóticas más que de especies nativas (FAO, 2011). La Carta Nacional Acuícola establece que, de las 32 especies cultivadas en agua dulce, 11 son nativas y 21 son especies introducidas, las cuales están distribuidas en tres categorías, según su grado de dominio biotecnológico (DOF, 2013) (Tabla 1). Las especies que pertenecen a la acuicultura comercial tienen un nivel de dominio biotecnológico completo y en su mayoría son especies introducidas, las cuales ya tienen un mercado bien establecido para su comercio. Para las especies que se encuentran en la acuicultura de fomento su nivel de dominio biotecnológico es incompleto o parcial en algunas etapas de su producción y las especies con un potencial de uso acuícola, son especies nativas que están en una fase experimental para su producción a escala comercial.

Tabla 1. Lista de especies de peces de agua dulce que se cultivan en México (DOF, 2013).

Nombre común	Nombre científico	Origen
Acuicultura comercial		
Pez gato americano	<i>Ictalurus punctatus</i>	Exótica
Langosta de agua dulce	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Exótica
Trucha arcoíris	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Exótica
Carpa común	<i>Cyprinus carpio</i>	Exótica
Langostino Malayo	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Exótica
Carpa dorada	<i>Carassius auratus</i>	Exótica
Guppy	<i>Poecilia reticulata</i>	Nativa
Molly de velo	<i>Poecilia latipinna</i>	Nativa
Gurami azul	<i>Trichogaster trichopterus</i>	Exótica
Danio cebra	<i>Danio rerio</i>	Nativa
Monja	<i>Gymnocorymbus ternetzi</i>	Exótica
Tetra argentina	<i>Hemigrammus caudovittatus</i>	Exótica
Oscar	<i>Astronotus ocellatus</i>	Exótica
Colisa	<i>Trichogaster lalius</i>	Exótica
Plecos	<i>Hypostomus plecostomus</i>	Exótica
Carpa koi	<i>Cyprinus carpio koi</i>	Exótica
Topote mexicano	<i>Poecilia sphenops</i>	Nativa
Pez angel	<i>Pterophyllum scalare</i>	Exótica
Platy	<i>Xiphophorus maculatus</i>	Nativa
Cola de espada	<i>Xiphophorus hellerii</i>	Exótica
Cíclido Johani	<i>Melanochromis johanni</i>	Exótica
Cíclido fenestratus	<i>Protomelas fenestratus</i>	Exótica
Barbo cereza	<i>Puntius titteya</i>	Exótica
Cíclido limón	<i>Neolamprologus leleupi</i>	Exótica
Betta	<i>Betta splendens</i>	Exótica
Tilapia	<i>Oreochromis niloticus</i>	Exótica
Acuicultura de fomento		
Catán	<i>Atractosteus spatula</i>	Nativa
Pescado blanco	<i>Menidia estor</i>	Nativa
Pejelagarto	<i>Atractosteus tropicus</i>	Nativa
Especies con potencial acuícola		
Acocil veracruzano	<i>Procambarus acanthophorus</i>	Nativa
Mojarra castarrica	<i>Cichlasoma urophthalma</i>	Nativa
Tenguayaca	<i>Petenia splendida</i>	Nativa

Alimento vivo

Con el crecimiento de la acuicultura, la demanda en la cantidad y calidad de larvas ha ido en aumento. Sin embargo, el estadio larvario se considera el más delicado con una alta mortalidad, esto provoca que el principal objetivo de la acuicultura sea tener una alta supervivencia durante este estadio (Conceição *et al.*, 2010). La larvicultura de los

peces de agua dulce se lleva a cabo principalmente en sistemas semi intensivos (Chabalin *et al.*, 1989; Jomori *et al.*, 2003; Mai & Zaniboni-Filho, 2005). Sistema donde, las larvas de boca abierta se siembran en estanques ricos en organismos planctónicos, para comenzar la alimentación exógena. Los organismos se mantienen en estos estanques hasta que se completa su desarrollo larvario y se forman pequeños juveniles. Sin embargo, las tasas de supervivencia de la larvicultura semi intensiva son bajas (Senhorini *et al.*, 1991; Jomori *et al.*, 2003; Mai & Zaniboni-Filho, 2005), ya que se ven afectados por la disponibilidad del alimento y la presencia de depredadores, lo cual representa una pérdida económica significativa, esto da como resultado, que la producción de pescado sea impredecible y dependiente de las condiciones ambientales (Jomori *et al.*, 2003; Lacerda *et al.*, 2010; Kojima, 2012) siendo este uno de los puntos críticos en el ciclo de producción de peces.

Zooplankton como alimento vivo

La mayoría de las larvas de las especies de peces se alimentan del plancton, principalmente zooplankton, aun cuando en su estado adulto son herbívoras, carnívoras u omnívoras (Zimmermann & Jost, 1998; Portella *et al.*, 2002). Las larvas de las especies comerciales de peces poseen escasas reservas vitelinas, siendo denominadas como altriciales, ya que su tracto digestivo no está completamente formado al momento de la alimentación exógena, lo que les impide aprovechar los nutrientes de las presas de forma satisfactoria (Kolkovski, 2001). El proceso de digestión de la presa se divide en tres pasos, el primero es la autólisis post mortem, la cual se lleva a cabo por las enzimas contenidas en la presa, sugiriendo una mayor degradación; el segundo paso es la proteólisis bacteriana por los microbios contenidos en el intestino y el tercer paso es la proteólisis por las enzimas digestivas producidas por el depredador (Kuz'mina & Golovanova, 2004). En síntesis, se puede afirmar que el alimento vivo mantiene un papel importante sobre los alimentos artificiales, ya que estos alteran la calidad del medio y no representan un atractivo visual para los depredadores, lo que dificulta su detección (Kahan *et al.*, 1980; Conceição *et al.*, 2010).

En la actualidad, el número de especies usadas como alimento vivo es limitado, de los cuales los rotíferos y *Artemia* (Branchiopoda) son los más utilizados. Los nauplios de *Artemia* son usados desde los años 30 y representan el 40% de los alimentos vivos (Sorgeloos *et al.*, 2017), aunque no sean el alimento natural de las larvas, pero su alta composición bioquímica en proteínas (54%), lípidos (18.1%) y carbohidratos (20%) (Radhakrishnan *et al.*, 2020). Además, la facilidad de cultivo les permite ser usados dentro de la acuicultura (Leger & Sorgeloos, 1992). Sin embargo, los quistes de *Artemia* tienen

una producción limitada y presentan una constante demanda (Sorgeloos & Persoone, 1975; Lavens & Sorgeloos, 1996). Los rotíferos también tienen un uso amplio como alimento vivo, ya que son adecuados para larvas recién eclosionadas que prefieren alimentos pequeños, pero a veces su producción es inestable (Lavens & Sorgeloos, 1996), por lo que es necesario desarrollar investigaciones de posibles especies de zooplancton fáciles de cultivar y que no alteren la calidad final de las postlarvas (D'Abramo & Sheen, 1993; Brett & Müller-Navarra, 1997).

Para determinar que el zooplancton es lo suficientemente adecuados para su uso como alimento vivo en la acuicultura, es necesario realizar estudios demográficos que permitirán entender las estrategias de su ciclo de vida del zooplancton (Nandini & Sarma, 2000), ejemplificando los parámetros ambientales clave para el cultivo idóneo de estos organismos (Stearns, 1976). Los parámetros demográficos, como 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.*, 2009).

Entre los grupos de zooplancton más utilizados como alimento vivo están los cladóceros (Tabla 2), ya que se ha podido observar que las larvas de peces cultivados tienen una alta preferencia por estos organismos, además de presentar enzimas importantes que funcionan como exo-enzimas en el intestino de las larvas de peces (Zimmermann & Jost, 1998; Sipaúba-Tavares & Rocha, 2003) y un alto contenido de ácidos grasos (Ferrão-Filho *et al.*, 2003). También destacan por su ciclo de vida corto, reproducción partenogenética, altas tasas de filtración y su alta capacidad de producción en periodos cortos de tiempo, cuando se cultivan en condiciones de temperatura, nivel de oxígeno y otras como calidad del agua óptimas (Sarma & Nandini, 2006).

Los cladóceros, *Moina* spp. y *Daphnia* spp. son una alternativa para el uso de *Artemia*, por su alto contenido de proteínas, alta tolerancia ambiental y su capacidad de alimentarse del fitoplancton y desechos orgánicos (Samir & Banik, 2015).

Tabla 2. Especies de cladóceros usadas como alimento vivo en la acuicultura de peces

Especie de cladóceros	Especie alimentada	Autor
<i>Alona glabra</i>	<i>Ameca splendens</i>	Peña-Aguado <i>et al.</i> , 2009
<i>Ceriodaphnia cornuta</i>	<i>Channa striatus</i>	Mehrajuddin <i>et al.</i> , 2011
<i>Ceriodaphnia dubia</i>	<i>Poecilia reticulata</i>	Peláez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2020
	<i>Ameca splendens</i>	Peña-Aguado <i>et al.</i> , 2009
<i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	<i>Cichlasoma urophthalmus</i>	Farhadian <i>et al.</i> , 2012
<i>Ceriodaphnia reticulata</i>	<i>Clarias gariepinus</i>	Okunsebor & Sotolu, 2011
	<i>Poecilia sphenops</i>	Sumithra <i>et al.</i> , 2014
<i>Daphnia spp.</i>	<i>Carassius auratus</i>	Kaiser <i>et al.</i> , 2003
	<i>Clarias gariepinus</i>	Olurin & Oluwo, 2010
	<i>Polyodon spathula</i>	Cuevas-Uribe & Mims, 2014
	<i>Sander lucioperca</i>	Ljubobratovic <i>et al.</i> , 2016
<i>Daphnia carinata</i>	<i>Channa striatus</i>	Mehrajuddin <i>et al.</i> , 2011
<i>Daphnia cucullata</i>	<i>Lota lota</i>	Furgala-Selezniow <i>et al.</i> , 2014
<i>Daphnia longispina</i>	<i>Marsupenaeus japonicus</i>	Mona <i>et al.</i> , 2017
<i>Daphnia magna</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	Bogut <i>et al.</i> , 2010
	<i>Persian sturgeon</i>	Abedian-Kenari <i>et al.</i> , 2007
	<i>Rutilus frisii kutum</i>	Fallahi <i>et al.</i> , 2011; Fereidouni <i>et al.</i> , 2013
<i>Daphnia pulex</i>	<i>Allotoca dugesi</i>	Domínguez-Domínguez <i>et al.</i> , 2002
	<i>Ameca splendens</i>	Peña-Aguado <i>et al.</i> , 2009
	<i>Atractosteus tropicus</i>	Escalera-Vázquez <i>et al.</i> , 2018
<i>Diaphanosoma celebensis</i>	<i>Penaeus japonicas</i>	Nakamoto <i>et al.</i> , 2008
<i>Daphnia similis</i>	<i>Lates calcarifer</i>	Chiu <i>et al.</i> , 2015
<i>Moina spp.</i>	<i>Osphronemus goramy</i>	Delacruz & Manalad, 2018
<i>Moina dubia</i>	<i>Heterobranchus bidorsalis</i>	Adeyema <i>et al.</i> , 1994
	<i>Clarias gariepinus</i>	
	<i>Hetero-clarias</i>	
<i>Moina macrocopa</i>	<i>Allotoca dugesi</i>	Domínguez-Domínguez <i>et al.</i> , 2002
	<i>Ameca splendens</i>	Peña-Aguado <i>et al.</i> , 2009
	<i>Chirostoma riojai</i>	Morales-Ventura <i>et al.</i> , 2004
	<i>Atractosteus tropicus</i>	Escalera-Vázquez <i>et al.</i> , 2018
	<i>Lates calcarifer</i>	Fermin, 1991
	<i>Oreochromis niloticus</i>	Loh <i>et al.</i> , 2009; Islam <i>et al.</i> , 2017
	<i>Pagrus major</i>	Kotani <i>et al.</i> , 2016; Kamrunnahar <i>et al.</i> , 2019
	<i>Penaeus japonicas</i>	Nakamoto <i>et al.</i> , 2008
	<i>Poecilia reticulata</i>	Peláez-Rodríguez <i>et al.</i> , 2020
<i>Moina micrura</i>	<i>Anabas testudineus</i>	Singh <i>et al.</i> , 2019
	<i>Betta splendens</i>	Rasdi <i>et al.</i> , 2020
	<i>Channa striatus</i>	Mehrajuddin <i>et al.</i> , 2011
	<i>Clarias anguilaris</i>	Ovie & Ovie, 2002
	<i>Clarias gariepinus</i>	Ngupula <i>et al.</i> , 2014
	<i>Hetero clarias</i>	Okunsebor & Ayuman, 2011
	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Alam <i>et al.</i> , 1993
<i>Moina mongolica</i>	<i>Pagrosomus major</i>	He <i>et al.</i> , 2001
	<i>Lateolabrax japonicas</i>	
<i>Simocephalus vetulus</i>	<i>Ameca splendens</i>	Peña-Aguado <i>et al.</i> , 2009

Los cladóceros del género *Moina*, se encuentra principalmente en cuerpos de agua dulce, en donde juega un papel importante en las cadenas tróficas del medio acuático (Iannacone & Alvarino, 2002; Vignatti *et al.*, 2013) y mantienen una importancia económica derivada de su uso en la acuicultura como alimento vivo para estadios larvales de peces (Vignatti *et al.*, 2013; Rasdi *et al.*, 2019). Son ideales para su uso en la acuicultura debido a su fácil manejo, tamaño adecuado, altas tasas de crecimiento, alimentación por filtración no selectiva y alto valor nutricional (Sarma *et al.*, 2005; Oh & Choi, 2012). El valor nutricional de *Moina* va a depender de la etapa del ciclo de vida y de su dieta, ya que los adultos suelen tener una mayor composición de proteínas y ácidos grasos que los juveniles (Rottman *et al.*, 2014). Las especies del género *Moina* contiene un 70% más de proteína que *Daphnia* y con menos porcentaje de ceniza (3.02%) (Radhakrishnan *et al.*, 2020). Pero al igual que otros alimentos vivos, *Moina* no satisface completamente las demandas de ácidos grasos altamente insaturados (HUFA) de larvas de peces y crustáceos (Kamrunnahar *et al.*, 2019), aunque esto se puede mejorar con la aplicación de estrategias para el enriquecimiento del alimento vivo (Parakrama *et al.*, 2012; Rasdi & Qin, 2018).

Enriquecimiento del alimento vivo

Las microalgas son las responsables de enriquecer al zooplancton utilizado como alimento vivo, trasladando los nutrientes a niveles tróficos más altos (Brown *et al.*, 1997; Guedes *et al.*, 2012). Las microalgas proporcionan nutrientes clave como vitaminas, ácidos grasos poliinsaturados, pigmentos, esteroides, proteínas y aminoácidos esenciales, que influyen en el valor nutricional del zooplancton herbívoro (Guedes *et al.*, 2015). Los cultivos de especies de zooplancton, generalmente se alimentan con algas verdes como *Chlorella vulgaris*, por su alto contenido en proteínas, polisacáridos, minerales, antioxidantes, carotenoides, lípidos, compuestos inmunoestimuladores y vitaminas (Maliwat *et al.*, 2017), demostrando que es una buena fuente de nutrientes para la producción de *M. macrocopa* (Nandini & Sarma, 2018). Se han buscado alternativas para modificar y producir microalgas con el fin de mejorar sus propiedades nutritivas y rendimiento en la acuicultura, y se ha visto que *Chlamydomonas reinhardtii* es apta para estas investigaciones (Purton, 2007; Neupert *et al.*, 2012).

Se ha demostrado que cuando las algas se producen en cultivos masivos para su uso en la acuicultura, el enriquecimiento con vitaminas y minerales es fundamental para su mantenimiento (Fallahi *et al.*, 2011). Las vitaminas B1, B7 y B12 se encuentran entre las vitaminas del grupo B que se absorben de los medios de cultivo y son esenciales para el

crecimiento de las algas y la producción del zooplancton utilizado en las cadenas tróficas de la acuicultura (Sipaúba-Tavares & Brachion, 2002; Fallahi *et al.*, 2011).

ANTECEDENTES

Maruyama y colaboradores (1989) investigaron la absorción de vitamina B12 por diferentes cepas de *Chlorella* de agua dulce. Se encontró, que las cepas eran capaces de absorber la vitamina del medio y almacenarla durante 30 días. Las cepas se dividieron en dos grupos, dependiendo de su capacidad de absorción, el primer grupo era capaz de absorber el 19% de la vitamina del medio. Esto se debe a su capacidad de producir carotenoides secundarios que están relacionados con la estructura y composición de las paredes celulares, y el segundo grupo es capaz de absorber el 80% de la vitamina y no son capaces de producir carotenoides secundarios.

Kilham y colaboradores (1997) realizaron un estudio con el fin de conocer los efectos del alga como alimento en la fecundidad y crecimiento poblacional de *Daphnia*. Se encontró que, la calidad de los alimentos influye de manera importante en la fecundidad y las respuestas en el crecimiento poblacional. Las tasas de crecimiento de las poblaciones de *Daphnia* se redujeron significativamente en condiciones con alimento de baja calidad con algas con nitrógeno (N) y fósforo (P) limitado.

Prieto y colaboradores (2006), realizaron un cultivo experimental de *Moina* sp. alimentada con *Ankistrodesmus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*. Los cultivos se mantuvieron en condiciones controladas de temperatura (22°C), pH (7.6), intensidad lumínica (2000 lux) y aireación. Las dos dietas se utilizaron a una concentración de 4×10^5 cel.ml⁻¹, para determinar el efecto sobre el desempeño de la población. Se obtuvieron diferencias significativas en el crecimiento poblacional con la dieta combinada de alga y levadura, con una densidad de 12.3 ± 0.30 org.ml⁻¹, concluyeron que los cladóceros presentan una adaptación favorable a las condiciones de manejo para una alta producción de biomasa, de tal forma que sirven como una partícula nutritiva en la acuicultura.

Otero y colaboradores (2013), realizaron un estudio con el fin de evaluar los efectos con diferentes tipos de dietas sobre *Diaphanosoma* sp. y *Alona* sp. bajo condiciones de laboratorio. Los organismos fueron alimentados con *Saccharomyces cerevisiae* y *Chorella vulgaris* a una concentración de 4×10^5 cel.ml⁻¹ cada una, en tres tratamientos: 1. *S. cerevisiae* 2. *C. vulgaris* y 3. *S. cerevisiae* + *C. vulgaris* en proporciones iguales. Ellos obtuvieron que los mejores resultados fueron los del tratamiento combinado, la dieta mixta de levadura y alga produjo mayor eficiencia en la tasa instantánea de crecimiento, tiempo de duplicación y rendimiento de ambas especies de cladóceros, constituyendo una alternativa de fuente de alimento vivo en la acuicultura.

Abedian-Kenari y colaboradores (2007), evaluaron el efecto de *Daphnia magna* enriquecida con aceite de hígado de bacalao como una fuente de ácidos grasos altamente insaturados sobre el crecimiento, la supervivencia, la resistencia al estrés y la

composición de ácidos grasos de las larvas de esturión persa, encontrando que el contenido de ácidos grasos aumentaba tanto en el cladócero, como en las larvas, dando como resultado una diferencia significativamente mayor en el crecimiento y una mayor resistencia al estrés por pH que aquellas larvas que no fueron enriquecidas.

Nandini y Sarma (2000), realizaron un estudio con el fin de evaluar el efecto de la densidad de alimento en las variables demográficas de cuatro especies de cladóceros (*Ceriodaphnia cornuta*, *Moina macrocopa*, *Pleuroxus aduncus* y *Simocephalus vetulus*). Los valores demográficos, como esperanza de vida, tasa de reproducción, tiempo generacional y tasa de crecimiento poblacional, fueron más altos en las concentraciones de alimento con 0.5×10^6 cel.ml⁻¹ de *Chlorella vulgaris*.

Keating (1985) realizó un estudio con el fin de evaluar la influencia de la vitamina B12 en la reproducción del cladócero *Daphnia pulex*. Se encontró que mientras se incrementa la concentración de vitamina B12 en el medio, el número de prole del cladócero aumentaba (de 20 a 320 individuos por hembra).

Sipaúba-Tavares y Brachion (2002), realizaron un estudio con el fin de conocer la influencia de dietas de *Ankistrodesmus gracilis* con vitamina B en el crecimiento poblacional, desarrollo, peso seco y valor nutricional en dos especies de zooplancton: *Moina micrura* y *Diaphanosoma birgei*. Se obtuvo que ambos cladóceros llegaron a su pico máximo más rápido con el tratamiento con vitamina. Las dietas adicionadas con vitamina B obtuvieron un mejor resultado en el desarrollo de los organismos, el uso de vitamina B en el alimento para cladócero es útil para su cultivo a grandes densidades.

Fallahi y colaboradores (2011), realizaron un experimento en donde evaluaron el efecto del enriquecimiento de *Chlorella* sp. y *Scenedesmus obliquus* con diferentes dosis de vitamina B en el crecimiento y supervivencia de las larvas de *Rutilus frisii*, usando como alimento vivo a *Daphnia magna*. En donde encontraron que el aumento de las dosis de vitamina B aumentaba significativamente el valor nutricional (Kcal) de las dos especies de algas, mejorando el valor nutricional de *D. magna* y elevando la tasa específica de crecimiento de las larvas hasta en un 46%.

Morales-Ventura y colaboradores (2004), determinaron la respuesta funcional del charal (*Chirostoma riojai*), alimentado con rotíferos y los cladóceros *M. macrocopa* y *Ceriodaphnia dubia*. Observaron que, a medida que la larva de *C. riojai* aumentaba de tamaño su alimentación fue a base de los cladóceros, debido al tamaño de la boca, lo que le permitía comer fácilmente estos organismos. De tal forma que concluyen que la presencia de cladóceros beneficiará la producción y mantenimiento de organismos con importancia comercial durante las últimas etapas larvarias.

JUSTIFICACIÓN

En la acuicultura, la producción adecuada de alimento vivo, como el zooplancton para las larvas de peces, sigue siendo una prioridad (Morales-Ventura *et al.*, 2012). Entre los grupos de zooplancton más utilizados, se encuentran los cladóceros, particularmente la especie *Moina macrocopa*, que en los últimos años se ha utilizado como una alternativa, para disminuir los costos de producción del alimento vivo (Vignatti *et al.*, 2013; Rasdi *et al.*, 2019), debido a su fácil manejo, tamaño adecuado, altas tasas de crecimiento, alimentación por filtración no selectiva, un 70% más de proteína que *Daphnia* y un menor porcentaje de ceniza (3%) (Sarma *et al.*, 2005; Oh & Choi, 2012). Pero al igual que otras especies utilizadas como alimento vivo, *M. macrocopa* no satisface las demandas nutricionales necesarias para el cultivo de peces, pero eso se puede mejorar con la administración de sustancias de interés, como vitaminas (Kamrunnahar *et al.*, 2019).

Las microalgas, *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii*, desempeñan un papel importante en el enriquecimiento del zooplancton, como una plataforma de suministro de nutrientes a niveles tróficos más altos (Brown, 2002). Las vitaminas B1, B7 y B12 se absorben de los medios de cultivo de las microalgas y son esenciales para la producción de alimento vivo (Sipaúba-Tavares & Brachion 2002). Por ello, es importante estudiar el efecto del enriquecimiento de *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* con vitamina B sobre el crecimiento poblacional de *M. macrocopa*.

HIPÓTESIS

Si el enriquecimiento con vitamina B es necesario para mejorar el crecimiento de las microalgas y elevar el valor nutricional del zooplancton usado en la producción de peces, entonces se espera que el enriquecimiento con vitamina B tenga un efecto positivo en los crecimientos poblacionales de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii*, y al ser usados como dietas para *Moina macrocopa*, los valores de tasa de crecimiento poblacional, densidad máxima y día de densidad máxima se verán beneficiados.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto del enriquecimiento con complejo de vitamina B sobre el crecimiento poblacional de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii* y su uso como dietas enriquecidas en el crecimiento poblacional de *Moina macrocopa*.

Objetivos específicos

Determinar el efecto del enriquecimiento con complejo de vitamina B sobre el crecimiento poblacional y la tasa de crecimiento poblacional de *Chlorella vulgaris* y *Chlamydomonas reinhardtii*.

Calcular la tasa de crecimiento poblacional, densidad máxima y día de densidad máxima de *Moina macrocopa* alimentada con dietas de algas enriquecidas con complejo de vitamina B.

MATERIALES Y MÉTODOS

Moina macrocopa fue aislada de cuerpos de agua locales del estado de Aguascalientes. Los cladóceros en masa se cultivaron en agua moderadamente dura (Weber, 1993) y se alimentaron con *Chlorella vulgaris* a 22 ± 2 °C, los cuales fueron cambiados cada día alternado y se les suministró alimento fresco.

A las algas *Chlorella vulgaris* (CL-V-3, CICESE, Ensenada, Baja California, México) y *Chlamydomonas reinhardtii* (Colección de la Universidad de Texas) se les adicionó una única vez 10 µl de Vitamina B (Bedoyecta-Tri) la cual estuvo compuesta por 0.1 µg de hidroxocobalamina, 1 µg de clorhidrato de tiamina y 0.5 µg de clorhidrato de piridoxina por cada litro de medio Bold basal (Borowitzka y Borowitzka, 1988). Las algas fueron cultivadas en matraces Erlenmeyer de 250 ml, cada tratamiento con cuatro repeticiones e igualmente para sus controles. Para el caso de *C. vulgaris*, a cada repetición se le adicionó 0.5 g.L⁻¹ NaHCO₃ cada tercer día, como una fuente adicional de carbono. Todos los tratamientos fueron expuestos a 24 horas de iluminación continua (30w), una temperatura de 21 ± 3 °C y agitación manual cada 24 horas.

Las algas se cosecharon después de 10 días, se dejaron sedimentar en un refrigerador durante tres días, se decantaron y la densidad se estimó usando un hemocitómetro Neubauer.

Los experimentos de crecimiento poblacional se llevaron a cabo en condiciones similares a las del cultivo en masa, se realizaron en contenedores de 50 ml con 20 ml de medio EPA, con una densidad inicial de *M. macrocopa* de 5 individuos de una población mixta (2 adultas y 3 neonatos) y una concentración de alimento de 0.5×10^6 cel.ml⁻¹ de *C. vulgaris* y 0.25×10^6 cel.ml⁻¹ de *C. reinhardtii* por separado. Para los dos tratamientos (*C. vulgaris* y *C. reinhardtii* con vitamina B) y sus dos controles (*C. vulgaris* y *C. reinhardtii* sin vitamina) se mantuvieron cuatro réplicas, dando un total de 16 recipientes de prueba (cuatro tipos de alimento x cuatro repeticiones). Los individuos fueron contados y transferidos a un medio fresco con la concentración apropiada de algas diariamente. El experimento continuó durante un periodo de dos semanas, hasta que las poblaciones comenzaron a disminuir.

Las tasas de crecimiento poblacional se calcularon usando la fórmula:

$$r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

Donde N_0 es la densidad de población inicial, N_t es la densidad de la población en el tiempo t y t es el tiempo en días (Krebs, 1985). La diferencia en las tasas de crecimiento poblacional (r), día de densidad máxima y densidad máxima se evaluaron mediante el análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido de comparaciones post hoc.

RESULTADOS

De manera general, las especies de algas *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* tuvieron densidades máximas mayores en los tratamientos que no fueron adicionados con vitamina. Para el caso de *C. vulgaris*, se observó que su densidad máxima para el tratamiento con vitamina B fue de 6.4×10^6 cel.ml⁻¹, que comparado con el tratamiento de *C. vulgaris* sin vitamina, alcanzó más del doble de su densidad máxima (13.8×10^6 cel.ml⁻¹) (Fig. 2).

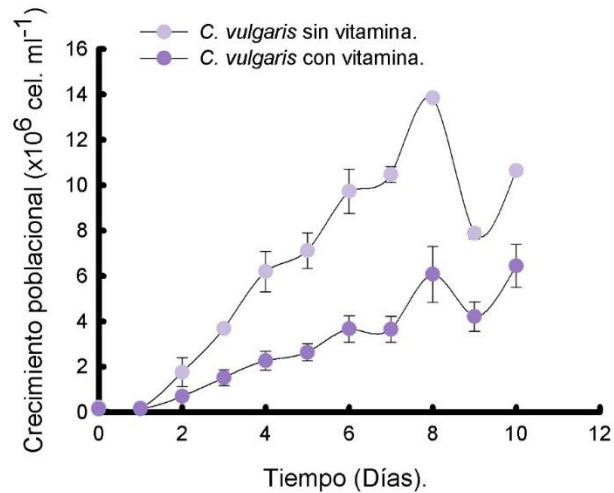


Figura 2. Curvas de crecimiento poblacional de *C. vulgaris* con y sin vitamina B. Los valores mostrados son una media \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

En referencia a *C. reinhardtii*, el tratamiento adicionado con vitamina alcanzó una densidad máxima de 3.06×10^6 cel.ml⁻¹, que fue menor en comparación con el tratamiento sin vitamina, en el que su densidad máxima fue de 5.09×10^6 cel.ml⁻¹ (Fig. 3).

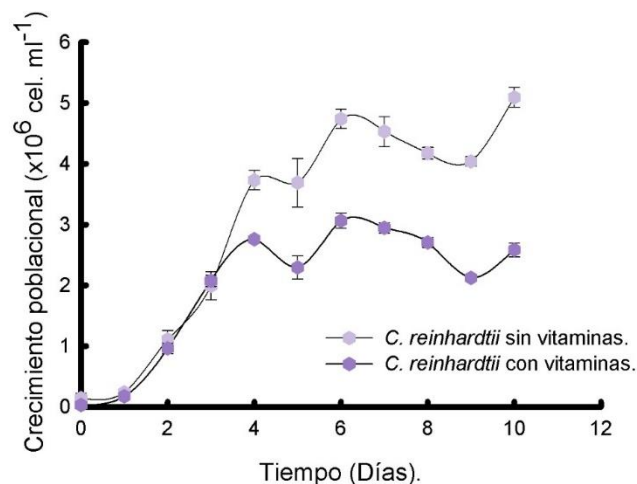


Figura 3. Curvas de crecimiento poblacional de *C. reinhardtii* con y sin vitamina B. Los valores mostrados son una media \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

Para la tasa de crecimiento poblacional de ambas algas, los tratamientos que no fueron adicionados de vitamina B tuvieron un valor de r significativamente más alto (Fig. 4). Para *C. vulgaris* sin vitamina fue de 0.54 d^{-1} y para los tratamientos con vitamina fueron de 0.24 d^{-1} (Fig. 4a). De igual manera para las tasas de crecimiento poblacional de *C. reinhardtii*, en donde los valores de r para los tratamientos sin vitamina fueron de 0.5 d^{-1} y los tratamientos con vitamina de 0.38 d^{-1} (Fig. 4b).

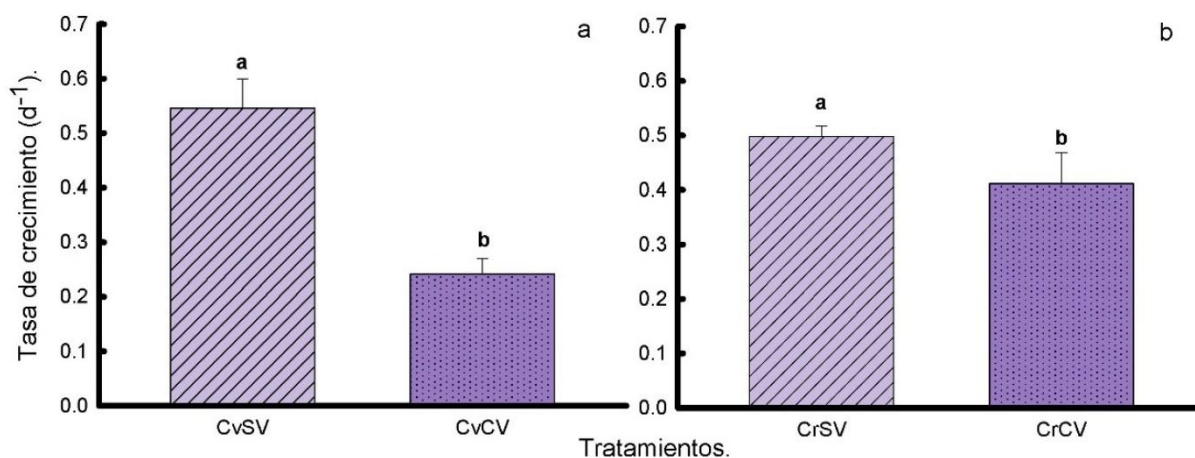


Figura 4. Tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}) de *C. vulgaris* (a) y *C. reinhardtii* (b) con y sin vitamina B (CvSV=*C. vulgaris* sin vitamina; CvCV=*C. vulgaris* con vitamina; CrSV=*C. reinhardtii* sin vitamina; CrCV=*C. reinhardtii* con vitamina). Los valores mostrados son una media \pm error estándar basado en cuatro réplicas. Las barras de datos que llevan diferentes letras para una variable dada son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En general, las curvas de crecimiento poblacional de *M. macrocopa* revelaron que las dietas de algas con vitamina, eran superiores a las curvas de las dietas que no fueron enriquecidas con vitamina B. Para la dieta de *C. vulgaris* sin vitamina, se alcanzaron densidades máximas bajas, 3.6 ind.ml^{-1} , en comparación de las dietas adicionadas con vitamina, las cuales alcanzaron densidades máximas de 4.4 ind.ml^{-1} (Fig. 5).

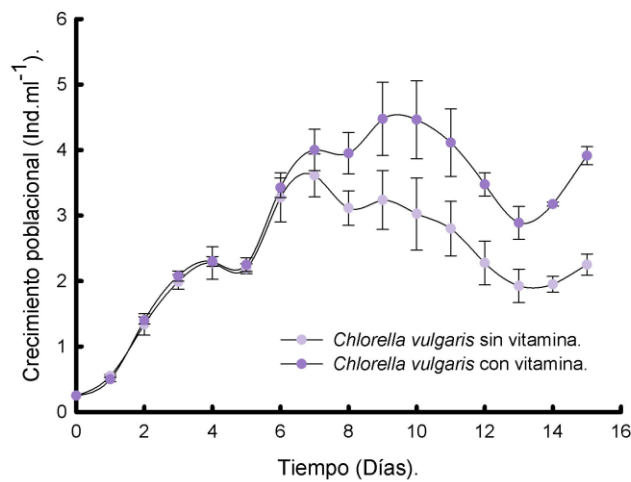


Figura 5. Curvas de crecimiento poblacional de *M. macrocopa* alimentados con *C. vulgaris* con y sin vitamina B. Los valores representan la media \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

De igual manera para la dieta de *C. reinhardtii* con vitamina B, la cual obtuvo densidades máximas mayores (5.6 ind. ml^{-1}) que el tratamiento sin vitamina (4.1 ind. ml^{-1}) (Fig. 6).

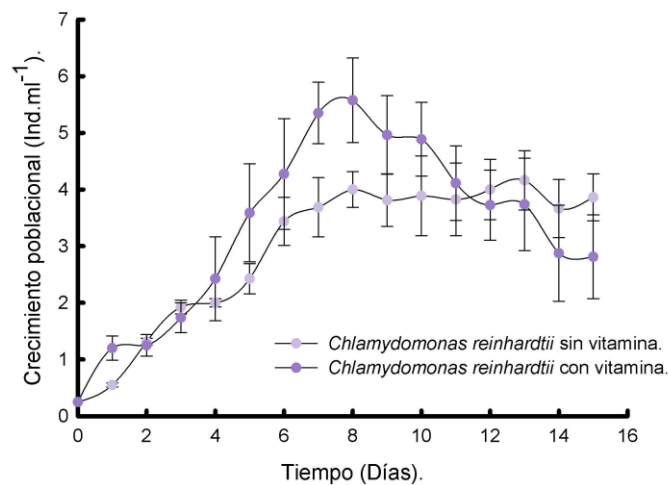


Figura 6. Curvas de crecimiento poblacional de *M. macrocopa* alimentados con *C. reinhardtii* con y sin vitamina B. Los valores representan la media \pm error estándar basado en cuatro réplicas.

La tasa de crecimiento poblacional de *M. macrocopa* fue influenciada significativamente por las dietas que fueron enriquecidas con vitamina B (Fig. 7). En general, los tratamientos con dietas adicionadas con vitamina tuvieron tasas de crecimiento significativamente más altas ($p < 0.05$). Para los tratamientos alimentados con *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* con vitamina su tasa de crecimiento fue de 0.29 d^{-1} y 0.42 d^{-1} respectivamente. Y para las dietas que no fueron adicionadas con vitamina fue de 0.22 d^{-1} para *C. vulgaris* y 0.36 d^{-1} para *C. reinhardtii*.

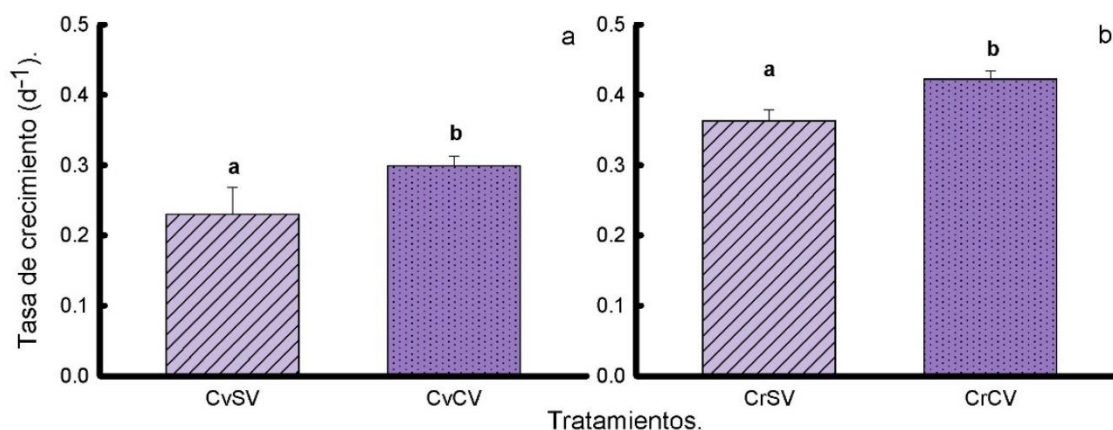


Figura 7. Tasa de crecimiento poblacional (d^{-1}) de *M. macrocopa* alimentada *C. vulgaris* (a) y *C. reinhardtii* (b) con y sin vitamina B (CvSV=*C. vulgaris* sin vitamina; CvCV=*C. vulgaris* con vitamina; CrSV=*C. reinhardtii* sin vitamina; CrCV=*C. reinhardtii* con vitamina). Los valores representan la media \pm error estándar de cuatro réplicas. Las barras de datos que llevan diferentes letras para una variable dada son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Los resultados de densidades máximas muestran que en los experimentos con *M. macrocopa*, la presencia de vitamina en las células de *C. vulgaris* tendrán un efecto positivo sobre la densidad del cladócer, alcanzando una densidad máxima de 4.9 ind.ml⁻¹ con *C. vulgaris* enriquecida y de 3.7 ind.ml⁻¹ para *C. vulgaris* sin vitamina. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) (Fig. 8a). En cambio, los tratamientos con *C. reinhardtii* con y sin vitamina no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) alcanzando densidades máximas 4.7 ind.ml⁻¹ y 5.9 ind.ml⁻¹, respectivamente (Fig. 8b).

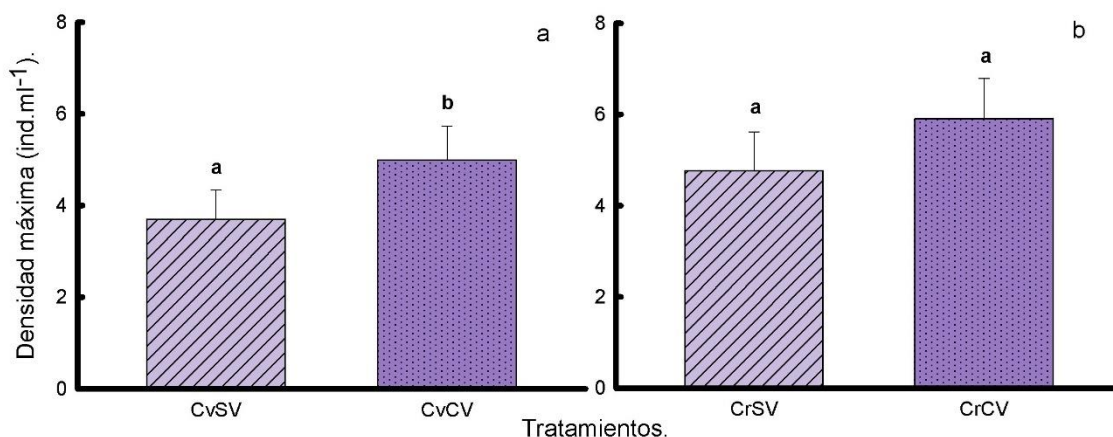


Figura 8. Densidades de crecimiento máximo (ind.ml⁻¹) de *M. macrocopa* alimentada con *C. vulgaris* (a) y *C. reinhardtii* (b) con y sin vitamina B (CvSV=*C. vulgaris* sin vitamina; CvCV=*C. vulgaris* con vitamina; CrSV=*C. reinhardtii* sin vitamina; CrCV=*C. reinhardtii* con vitamina).

CrSV=*C. reinhardtii* sin vitamina; CrCV=*C. reinhardtii* con vitamina). Los valores representan la media \pm error estándar de cuatro réplicas. Las barras de datos que llevan diferentes letras para una variable dada son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

Los resultados de días de densidad máxima de los experimentos de *M. macrocopa* alimentados con *C. vulgaris* mostraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$) (Fig. 9a). En cambio, los tratamientos con *C. reinhardtii* con y sin vitamina no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) (Fig. 9b). Se observó que la vitamina puede retrasar el tiempo en que se alcanza la densidad máxima en los tratamientos con *C. vulgaris* (Fig. 9a), y en *C. reinhardtii*.

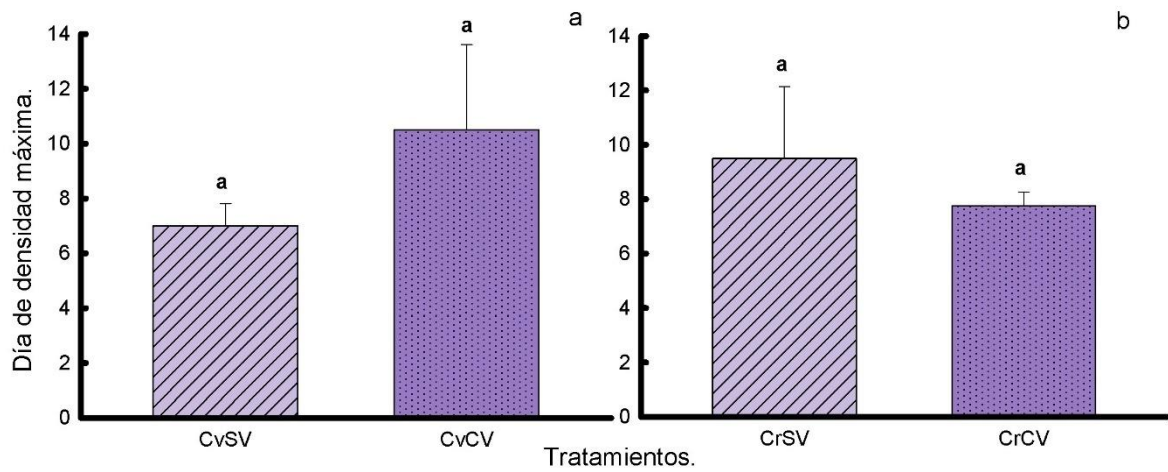


Figura 9. Días de densidades de crecimiento máximo de *M. macrocopa* alimentada *C. vulgaris* (a) y *C. reinhardtii* (b) con y sin vitamina B (CvSV=*C. vulgaris* sin vitamina; CvCV=*C. vulgaris* con vitamina; CrSV=*C. reinhardtii* sin vitamina; CrCV=*C. reinhardtii* con vitamina). Los valores representan la media \pm error estándar de cuatro réplicas. Las barras de datos que llevan diferentes letras para una variable dada son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

El uso de microalgas en la acuicultura tiene un papel bastante relevante debido a que representan el principal alimento del alimento vivo por sus altos niveles nutritivos (Radakrishnan, et al., 2019). Sin embargo, es necesario el enriquecimiento de estos organismos debido a que las microalgas son consideradas como organismos auxótrofos, lo que significa que dependen de una fuente externa de ciertos nutrientes, como la vitamina B, para su crecimiento (Provasoli y Carlucci, 1974). Esto debido a la pérdida de los genes implicados en la biosíntesis de los cofactores de la vitamina B (Croft et al., 2005). Por lo que es necesaria la liberación de proteínas que se encargan de la absorción de las vitaminas, como la proteína B12-Binder, que se une a la cobalamina (vitamina B12) para su transporte hacia el interior celular y promueve o inhibe el crecimiento en microalgas (Droop, 1968; Smayda, 1980). Por ejemplo, se ha observado que un exceso de la proteína B12-Binder puede ser un factor limitante en el crecimiento de microalgas auxótrofas (Zhang et al., 1996; Barber-Lluch et al., 2019). En el presente trabajo pudimos observar este proceso, ya que el crecimiento poblacional de las algas *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* adicionadas con vitamina B, tuvieron densidades máximas y tasas de crecimiento poblacional significativamente menores, en comparación con los crecimientos de las algas a las que no se les adicionó vitamina. Sin embargo, cuando se utilizan vitaminas B en conjunto (B1, B2, B3, B6, B7, B8, B9 y B12) da como resultado un aumento del 42% en su valor nutricional, en comparación con las algas no enriquecidas (Fallahi et al., 2011). Tomando en cuenta que la vitamina B12 está compuesta por cobalto, se ha observado que la adición extra de cloruro de cobalto al medio Bold basal, ayuda directamente a la síntesis de vitamina B12 en *C. vulgaris*, mejorando la producción de la vitamina, hasta un 12% (Jalilian et al., 2019). Sin embargo, son necesarios más investigaciones sobre los efectos en el metabolismo de la vitamina B en cultivos de microalgas (Croft et al., 2005).

Para evaluar la calidad de las dietas a base de microalgas, es preciso realizar bioensayos con zooplancton para determinar si se logran las cantidades de alimento adecuadas para la producción de larvas (Nandini et al., 2010a). Por ejemplo, en este trabajo se observó que los tratamientos enriquecidos de *C. vulgaris*, aumentaban significativamente ($p < 0.05$) la densidad máxima del cultivo, con intervalo de 3.7-5.9 ind.ml⁻¹ demostrando el valor que puede tener el enriquecimiento vitamínico. Los valores de densidad máxima fueron mayores que lo obtenido por Gama-Flores et al., (2015) que observaron una densidad máxima ca. 3 ind.ml⁻¹ o que Nandini y Sarma (2013b) que obtuvieron ca. 3 ind.m⁻¹, para el mismo cladócero en ambos casos sin vitamina. Por otra

parte, se encontró que la dieta enriquecida de *C. reinhardtii* mejoraba el crecimiento del cladóceros, aunque esto no tuvo diferencias significativas (Fig. 6). Sin embargo, la importancia de *C. reinhardtii* enriquecida recae principalmente en la disminución de los tiempos en que las poblaciones del cladóceros alcanzan su densidad máxima, donde disminuye hasta en 24 horas e incrementa la densidad máxima hasta un 25%, esto se ha observado en cultivos de alimento vivo, en donde se aumenta la densidad máxima y la tasa de crecimiento poblacional (Peña-Aguado *et al.*, 2005).

Este tipo de enriquecimiento tiene un impacto significativo en el valor nutricional de *Moina micrura* y *Daphnia magna*, ya que aumenta su porcentaje de proteínas, lípidos, fecundidad y mejora el desarrollo embrionario y postembrionario de su descendencia (Sipaúba-Tavares & Brachion, 2002; Fallahi *et al.*, 2011), lo que puede llegar a tener un efecto positivo en el porcentaje de peso corporal y en la tasa de crecimiento específico de las larvas de *Rutilus frisii* (Fallahi *et al.*, 2011).

En los experimentos de crecimiento poblacional se encontró que en *M. macrocopa*, ambas dietas adicionadas con vitamina alcanzaron tasas de crecimiento poblacional significativamente mayores (0.29 d^{-1} *C. vulgaris* y 0.42 d^{-1} *C. reinhardtii*; $p < 0.05$). Estos valores fueron similares con los resultados de Volkova y Zadereev (2012), Nandini y Sarma (2013b) y Gama-Flores *et al.*, (2015) (Fig. 10). Además, se puede resaltar que la dieta de *C. reinhardtii* con vitamina es la dieta en la que se obtienen los mejores resultados, ya que *M. macrocopa* alcanza tasas de crecimiento poblacional superiores en comparación con las otras dietas. Se puede afirmar que las tasas de crecimiento poblacional obtenidas en el presente trabajo son superiores incluso comparadas con otras especies de cladóceros utilizados de alimento vivo como *Ceriodaphnia dubia* ($0.12\text{-}0.27 \text{ d}^{-1}$), *Simocephalus vetulus* ($0.12\text{-}0.28 \text{ d}^{-1}$) y *Daphnia obtusa* ($0.25\text{-}0.28 \text{ d}^{-1}$) (Nandini & Sarma, 2000; Nandini & Sarma, 2002; Nix & Jenkins 2000). Lo anterior permite proponer a *M. macrocopa* como alimento vivo en acuicultura, debido a sus altas tasas de crecimiento, además de tener un alto número de neonatos por puesta y presentar una temprana edad de la primera reproducción (Santagelo *et al.*, 2018).

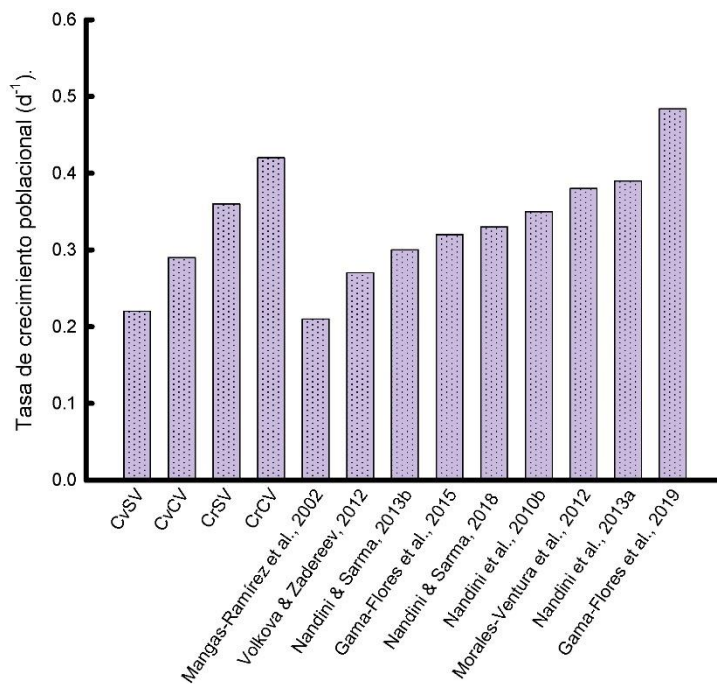


Fig. 10. Tasas de crecimiento poblacional de *Moina macrocopa* en diversos trabajos.

Los enriquecimientos con vitamina B no son los únicos que se han probado para elevar el valor nutricional de los cladóceros, tal es el caso de los enriquecimientos con probióticos, aceite de hígado de bacalao y vitaminas A y E, los cuales han demostrado aumentar su valor nutricional (Watanabe *et al.*, 1983; Prieto *et al.*, 2006; Abedian-Kenari *et al.*, 2007).

El uso de suplementos vitamínicos comerciales como enriquecedores del alimento vivo en acuicultura, puede ser una vertiente de investigación necesaria, tomando en cuenta los costos que pueden significar el uso de vitaminas de alta pureza, tal es el caso de las vitaminas utilizadas en el medio de cultivo de microalgas eurihalinas f/2 (Guillard, 1975) en donde se necesitan vitamina B1, B7 y B12. Esto podría reducir los costos de producción del zooplancton como alimento vivo en la acuicultura, y da pie a nuevas investigaciones sobre técnicas de bioencapsulación de nutrientes y fármacos para ser utilizado en las cadenas alimenticias dentro de la acuicultura, para la transferencia de sustancias de interés a niveles tróficos más altos, con ayuda de intermedios como el zooplancton.

Este estudio reitera la importancia de *M. macrocopa* como alimento vivo en de la acuicultura, ya que, dentro de los cladóceros, es uno de los pocos géneros con una edad mucho más corta para su primera reproducción, por lo que un cultivo a gran escala aseguraría las presas suficientes para las larvas de peces. Por otra parte, también demostramos que las dietas de algas verdes adicionadas con vitamina B, son apropiadas para el cultivo de *M. macrocopa*.

Finalmente, este tipo de trabajos permiten dilucidar la importancia que mantiene el alimento vivo como dieta de diferentes especies con importancia comercial, no obstante, serán necesarios diferentes investigaciones para complementar nuestros resultados. Entre estos se propone para futuras investigaciones se realicen 1. Determinar el valor nutricional del alga y *M. macrocopa* enriquecida, 2. Establecer cultivos a gran escala de *M. macrocopa* enriquecida y 3. Estudiar la respuesta funcional en larvas de peces alimentadas con alimento vivo enriquecido y su aplicación en la acuicultura.

CONCLUSIONES

La adición del complejo de vitamina B en el medio de cultivo de las microalgas *C. vulgaris* y *C. reinhardtii* influyó negativamente en su crecimiento poblacional y tasa de crecimiento poblacional, en comparación con los tratamientos sin adición de vitamina en los que se obtuvieron los valores más altos.

En cambio, el crecimiento poblacional de *M. macrocopa* se vio beneficiado ante el enriquecimiento de vitamina B, en donde *C. reinhardtii* con vitamina fue la dieta en la que se obtuvieron los mejores resultados, con tasas de crecimiento poblacional significativamente más altas y densidades máximas superiores, en un menor tiempo.

Este tipo de trabajos permiten conocer cuáles son los aportes del enriquecimiento a bajo costo, y qué impacto podrían tener estos resultados en las producciones masivas de alimento vivo para la larvicultura. Principalmente se vería beneficiado el sector acuícola, debido a la reducción de costos en enriquecimientos, además los tiempos de cultivo se reducirían y se produciría alimento de alta calidad, propiciando que los organismos con importancia comercial como peces, crustáceos o moluscos tengan beneficios en supervivencia, desarrollo somático e inmuoestimulación.

El uso de nuevas tecnologías aplicadas abre paso a la generación de nuevos métodos de aprovechamiento y especialización en la industria acuícola, que con el paso del tiempo seguirá impulsando el crecimiento del país como una potencia productora de alimento acuático. Motivando la investigación a profundidad en el aprovechamiento de especies nativas, desde las microalgas y zooplancton, hasta los consumidores secundarios como larvas de peces y crustáceos.

REFERENCIAS

- Abedian-Kenari, A.M., P.M.R. Ovissi & R.M. Nazari. 2007. Effect of N3-HUFA enriched *Daphnia magna* on growth, survival, stress resistance and fatty acid composition of larvae of *Persian sturgeon (Acipenser persicus)*. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 7(1): 1-14.
- Adeyema, A.A., G.A. Oladosu & A.O. Ayinla. 1994. Growth and survival of fry of african catfish species, *Claria gariepinus* (Burchell), *Heterobranchus bidorsalis* (Geoffrey) and *Heteroclarias* reared on *Moina dubia* in comparison with other first feed sources. *Aquaculture*. 119: 41-45.
- Aguilera, P. & P. Noriega. 1988. ¿Qué es la acuicultura? FONDE-PESCA. México.
- Alam, M.J., K.J. Ang, S.H. Cheah, M.A. Ambak & C.R. Saad. 1993. Effects of *Moina micrura* (Kurz) from two different culture sources as a replacement of *Artemia* spp. In production of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) post larvae. *Aquaculture Research*. 24: 47-56.
- Barber-Lluch, E., M. Hernández-Ruiz, A. Prieto, E. Fernández & E. Teira. 2019. Role of vitamin B12 in the microbial plankton response to nutrient enrichment. *Marine ecology progress series*. 626: 29-42.
- Bogut, I., Z. Adamek, Z. Puskadija & D. Galović. 2010. Nutritional value of planktonic cladoceran *Daphnia magna* for common carp (*Cyprinus carpio*) fry feeding. *Croatian Journal of Fisheries: Ribarstvo*. 68: 1-10.
- Borowitzka, M.A. & L.J. Borowitzka. 1988. *Dunaliella*, p. 28-59. En: *Microalgal Biotechnology*. Cambridge, EEUU.
- Brett, M.T. & D.C. Müller-Navarra. 1997. The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic food web processes. *Freshwater Biology*. 38(3): 483-499.
- Brown, M.R., S.W. Jeffrey, J.K. Volkman & G.A. Dunstan. 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 151: 315-331.
- Brown, M.R. 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. En: *Avances en Nutrición Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*.
- Calderón, C., O. Aburto & E. Ezcurra. 2009. El valor de los manglares. *CONABIO*. 82: 1-6.
- Chabalin, D., J.A. Senhorini & J.A. Ferraz De Lima. 1989. Estimativa de custo de produção de larvas e alevinos. *Boletim Técnico do CEPTA*. 2: 61-74.
- Chabat, J. 1990. Los instrumentos de la política exterior de Miguel de la Madrid. *Foro Internacional. Colegio de México. México*. (30): 398-418.

- Chauhan, A. & R. Singh. 2019. Probiotics in aquaculture: a promising emerging alternative approach. *Symbiosis*. 77, 99–113.
- Cházari, E. 1884. Piscicultura en agua dulce. Secretaría de Pesca. México. 828 p.
- Chiu, S.T., Y.L. Shiu, T.M. Wu, Y.S. Lin & C.H. Liu. 2015. Improvement in non-specific immunity and disease resistance of barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch), by diets containing *Daphnia similis* meal. *Fish Shellfish Immunology*. 44(1): 172-179.
- Chu, J. J.L. Anderson, F. Asche & L. Tudur. 2010. Stakeholders' perceptions of aquaculture and implications for its future: a comparison of the U.S.A. and Norway. *Marine Resource Economics*. 25(1): 61-76.
- Cifuentes-Lemus, J.L. & F. Cupul-Magaña. 2002. Un vistazo a la historia de la pesca en México: administración, legislación y esfuerzos para su investigación. *Ciencia Ergo-Sum*. UAEM. México. 9(1): 112-118.
- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). 2011. Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. CONAPESCA-SAGARPA, México.
- Conceição, L.E.C., M. Yúfera, P. Makridis, S. Morais & M.T. Dinis. 2010. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*. 41: 613-640.
- Cordera, R. 2015. La gran transformación del milagro mexicano. A 20 años del TLCAN: de la adopción a la adaptación. *Latinoamericana de Economía. Problemas de Desarrollo*. 180(46): 11-25.
- Croft, M.T., A.D. Lawrence, E. Raux-Deery, M. J. Warren & A.G. Smith. 2005. Algae acquire vitamin B-12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*. 438: 90-93.
- Cuéllar-Lugo, M.B., A. Asian-Hoyos, J.P. Juárez-Sánchez, J.L. Reta-Mendiola & F. Gallardo-López. 2018. Normative and institutional evolution of aquaculture in Mexico. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*. 15(4): 541-564.
- Cuevas-Uribe, R. & S.D. Mims. 2014. Investigation in reuse of decommissioned wastewater facility and reclaimed water for culturing paddlefish fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*. 45(3): 322-332.
- D'Abramo, L.R. & S.S. Sheen. 1993. Polyunsaturated fatty acid nutrition in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 115: 63-86.
- Delacruz, J.A. & E. Manaland. 2018. Larval rearing of giant gourami, *Osphronemus goramy* Lacépède 1801 fed with different live food organisms. *Asian Fisheries Science*. 31: 113-126.
- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2001. Decreto por el que se aprueba el Plan Nacional de Desarrollo 2001-2006.

- Diario Oficial de la Federación (DOF). 2013. Carta Nacional Acuícola. Actualización 2da. Edición. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Domínguez-Domínguez, O., S. Nandini & S.S.S. Sarma. 2002. Larval feeding behaviour of the endangered fish golden Bublebee goodeid, *Allotoca dugesli*, implications for conservation of an endangered species. *Fisheries Management and Ecology*. 9: 285-291.
- Droop, M.R. 1968. Vitamin B12 and marine ecology. IV. The kinetics of uptake, growth and inhibition in *Monochrysis lutheri*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 48: 689-733.
- Engle, C.R. & N.M. Stone. 2013. Competitiveness of U.S. aquaculture within the current U.S. regulatory framework. *Aquaculture Economics & Management*. 17: 251-280.
- Escalera-Vázquez, L.H., O. Domínguez-Domínguez, E. Molina-Domínguez, S.S.S. Sarma & S. Nandini. 2018. Determination of optimal prey for rearing tropical gar *Atractosteus tropicus* (Lepisosteiformes: Lepisosteidae). *Revista de Biología Tropical*. 66(3): 1018-1033.
- Espinosa-Plascencia, A. & M.C. Bermúdez-Almada. 2011. La acuicultura y su impacto al medio ambiente. *Estudios Sociales*. 2: 219-232.
- Fallahi, M., G.A. Takami, G.H. Vossoughi, A. Mashinchian & N. Mehdipour. 2011. Effects of *Daphnia magna* fed with B group vitamins-enriched *Chlorella* sp and *Scenedesmus obliquus* on the growth rate of *Rutilus frisii kutum* fry. *International Journal of Environmental Research*. 5(3): 763-768.
- Farhadian, O., M.H. Khanjani, Y. Keivany & E. Ebrahimi-Dorche. 2012. Culture experiments with a freshwater cladoceran, *Ceriodaphnia quadrangula* (O. F. Müller, 1785), as suitable live food for mayan cichlid (*Cichlasoma urophthalmus* Gunther, 1862) larvae. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*. 16(2): 1-11.
- Fereidouni, A. E., N. Fathi & M.K. Khalesi. 2013. Enrichment of *Daphnia magna* with canola oil and its effects on the growth, survival and stress resistance of the caspian kutum (*Rutilus frisii kutum*) larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 13: 119-123.
- Fermin, A.C. 1991. Freshwater cladoceran *Moina macrocopa* (Strauss) as an alternative live feed for rearing sea bass *Lates calicifer* (Bloch) fry. *Journal of Applied Ichthyology*. 7(1): 8-14.
- Ferrão-Filho, A.S., C. Fileto, N.P. Lopes & M.S. Arcifa. 2003. Effects of essential fatty acids and N and P-limited algae on the growth rate of tropical cladocerans. *Freshwater Biology*. 48: 759-67.

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2011. Desarrollo de la acuicultura 4; Enfoque ecosistémico a la acuicultura. Orientaciones Técnicas para la pesca responsable No. 5 Sul. 4. Roma.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2012. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2018. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). 2020. The state of world fisheries and aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome.
- Furgala-Selezniow, G., A. Skrzypczak, D. Kucharczyk, R. Kujawa, A. Mamcarz, D. Źarski & K. Targońska. 2014. Food selection of burbot (*Lota lota* L.) larvae reared in illuminated net cages in mesotrophic Lake Maróz (north-eastern Poland). *Aquaculture international*. 22: 41–52.
- Gama-Flores, J.L., M.E. Huidobro-Salas, S.S.S. Sarma, S. Nandini, R. Zepeda-Mejia & R.D. Gulati. 2015. Temperature and age affect the life history characteristics and fatty acid profiles of *Moina macrocopa* (Cladocera). *Journal of Thermal Biology*. 53: 135-42.
- Gama-Flores, J.L., M.E. Huidobro, S.S.S. Sarma & S. Nandini. 2019. Demographic responses of cladocerans (Cladocera) in relation to different concentrations of humic substances. *Journal of Environmental Science and Health*. 54(13): 1311-1317.
- Guedes, A.C. & F.X. Malcata. 2012. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. *Aquaculture*. 59-78.
- Guedes, A.C., I.S. Pinto & F.X. Malcata. 2015. Application of microalgae protein to aquafeed. *En: Handbook of Marine Microalgae*. Academic Press. 93-125.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. *En: Culture of marine invertebrate animals*. Plenum Press, New York.
- Gutiérrez-Yurrita, P.J. 1999. La acuicultura en México: 1. Época prehispánica y colonial. *Biología informa*. 20(10): 7.
- Han, D., X. Shan, W. Zhang, Y. Chen, Q. Wang, Z. Li, G. Zhang, P. Xu, J. Li, S. Xie, K. Mai, Q. Tang & S.S. De Silva. 2016. A revisit to fishmeal usage and associated consequences in Chinese aquaculture. *Reviews in Aquaculture*. 10(2): 493-507.
- He, Z.H., J.G. Qin, Y. Wang, H. Jiang & Z. Wen. 2001. Biology of *Moina mongolica* (Moinidae, Cladocera) and perspective as live food for marine fish larvae: review. *Hydrobiologia*. 457: 25-37.

- Iannacone, J.A. & L. Alvarino. 2002. *Cnironomus calligrapghus* Goeldi y *Moina macrocopa* (Sars) como herramientas ecotoxicológicas para la evaluación del lindano y clorpirifos. *Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción* (Chile) 73: 33-39.
- Instituto Nacional de Economía Social (INAES). 2018. Acuicultura, historia y actualidad en México. Gobierno de México.
- Islam, M., M. Hassan, M. Begum, N. Punom, M. Begum & N. Sultana. 2017. Effects of feeding zooplankton, *Moina macrocopa* (Straus, 1820) on the growth of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*. 52: 81-88.
- Jalilian, N., G.D. Najafpour & M. Khajouei. 2019. Enhanced vitamin B12 production using *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Engineering, Transactions B: Applications*. 32(1): 1-9.
- Jomori, R.K., D.J. Carneiro, E.B. Malheiros & M.C. Portella. 2003. Growth and survival of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) juveniles reared in ponds or at different initial larviculture periods indoors. *Aquaculture*. 221: 277-287.
- Juárez-Palacios, R.R. 1987. La acuicultura en México, importancia social y económica. En: Desarrollo pesquero mexicano 1986-1987. Secretaría de Pesca. México. pp: 219-232.
- Kahan, D., T. Bar-El, Y. Brandstein, M. Rigbi & B. Oland. 1980. Free living nematodes as a dietary supplement in the rearing of fish fry in hatcheries. *General Fisheries Council of the Mediterranean Studies and Reviews*. 57: 67-78.
- Kaiser, H., F. Endemann & T.G. Paulet. 2003. A comparison of artificial and natural foods and their combinations in the rearing of goldfish, *Carassius auratus* (L.). *Aquaculture Research*. 34: 943-950.
- Kamrunnahar, K., M. Anisuzzaman, J.U. Cheol & S.J. Kang. 2019. Mass culture of *Moina macrocopa* using organic waste and its feeding effects on the performance of *Pagrus major* larvae. *Egyptian Journal of Aquatic Research*. 45: 75-80.
- Keating, K.I. 1985. The influence of vitamin B 12 deficiency on the reproduction of *Daphnia pulex* Leydig (Cladocera). *Journal of Crustacean Biology*. 5(1): 130-136.
- Kilham, S.S., D.A. Kreeger, C.E. Goulden & S. Lynn. 1997. Effects of nutrient limitation on biochemical constituents of *Ankistrodesmus falcatus*. *Freshwater Biology*. 38: 591-596.
- Kojima, J.T. 2012. Ponto-de-não-retorno e períodos de restrição alimentar nos parâmetros zootécnicos e no desenvolvimento muscular de larvas de pacu Dissertation Aquaculture Center, Jaboticabal, Sao Paulo, Brazil. 62.

- Kolkovski, S. 2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture*. 200: 181-201.
- Kotani, T., H. Imari, A. Miyashima & H. Fushimi. 2016. Effects of feeding with frozen freshwater cladoceran *Moina macrocopa* on the performance of red sea bream *Pagrus major* larviculture. *Aquaculture International*. 24: 183-197.
- Krebs, C.J. 1985. Ecology; the experimental analysis of distribution and abundance. Harper and Row, New York, USA.
- Kuz'mina, V.V. & I.L. Golovanova. 2004. Contribution of prey proteinases and carbohydrases in fish digestion. *Aquaculture*. 234: 347-360.
- Lacerda, C.H.F., C. Hayashi, C.M. Soares & C.E.B. Fernandes. 2010. Influence of aquatic plants on the predation of *Piaractus mesopotamicus* larvae by *Pantala flavescens*. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. 32: 147-151.
- Lavens, P. & P. Sorgeloos. 1996. Manual on the production and use of live food for aquaculture. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome, Italy.
- Lechuga, R. & R. González. 1985. La Acuicultura en México II. *Acuavisión*. 4-9.
- Leger, P. & P. Sorgeloos. 1992. Optimized feeding regimes in shrimp hatcheries. *En: Marine shrimp culture: principles and practices*. Elsevier Science, New York, New York, USA. 225-244.
- Ljubobratovic, U., B. Kucska, Z. Sandor, A. Peteri & A. Ronyai. 2016. Effects of stocking density, feeding technique and vitamin C supplementation on the habituation on dry feed of pikeperch (*Sander lucioperca*) pond reared juveniles. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 15(4): 1337-1347.
- Loh, J. Y., C. How, Y. Hii, G. Khoo & A. Ong. 2009. Fish faeces as a potential food source for cultivating the water flea, *Moina macrocopa*. *Journal of Science and Technology in the Tropics*. 5: 5-10.
- Mai, M.G & E. Zaniboni-Filho. 2005. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis*. *Acta Scientific*. 27: 287-296.
- Maliwat, G.C., S. Velasquez, J.L. Robil, M. Chan, R.F. Traifalgar, M. Tayamen & J.A. Ragaza. 2017. Growth and immune response of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (De Man) postlarvae fed diets containing *Chlorella vulgaris* (Beijerinck). *Aquaculture Research*. 48: 1666-1676.
- Mangas-Ramírez, E., S.S.S. Sarma & S. Nandini. 2002. Combined effects of algal (*Chlorella vulgaris*) density and ammonia concentration on the population dynamics of *Ceriodaphnia dubia* and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 51(3): 216-222.

- Mártir-Mendoza, A. 2006. La acuicultura como estrategia de desarrollo de zonas costeras y rurales de México. *Ra-Ximhai*. 2(3): 769-793.
- Maruyama, I., Y. Ando, T. Maeda & K. Hirayama. 1989. Uptake of vitamin B12 by the various strains of unicellular algae *Chlorella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 55: 1785-1790.
- Mehrajuddin, W., K. Altaff & M.A. Haniffa. 2011. Growth and survival of larval snakehead *Channa striatus* (Bloch, 1793) fed different live feed organisms. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 11: 523-528.
- Mona, M., M.E. Gamal, F.A. Razeq & M.N. Eldeen. 2017. Utilization of *Daphnia longispina* as supplementary food for rearing *Marsupenaeus japonicus* post larvae. *Journal of the Marine Biological Association of India*. 59: 74.
- Morales-Ventura, J., S. Nandini & S.S.S. Sarma. 2004. Functional responses during the early larval stages of the charal fish *Chirostoma riojai* (Pisces: Atherinidae) fed zooplankton (rotifers and cladocerans). *Journal of Applied Ichthyology*. 20: 417-421.
- Morales-Ventura, J., S. Nandini, S.S.S. Sarma & M.E. Castellanos-Páez. 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.
- Nakamoto, M. I., H. Kimura, Y. Inanda & A. Hagiwara. 2008. Two cladoceran species *Moina macrocopa* and *Diaphanosoma celebensis*, as live feed for larval prawn, *Penaeus japonicus*. *Aquaculture Science*. 56: 31-36.
- Nandini, S & S.S.S. Sarma. 2000. Lifetable demography of four cladoceran species in relation to algal food (*Chlorella vulgaris*) density. *Hydrobiologia*. 435(1-3): 117-126.
- Nandini, S. & S.S.S. Sarma. 2002. Competition between *Moina macrocopa* and *Ceriodaphnia dubia*: a life table demography study. *International Review of Hydrobiology*. 87: 85-95.
- Nandini, S., P. Ramírez-García & S.S.S. Sarma. 2010a. Evaluation of primary and secondary production using wastewater as the culture medium. *Waste Management & Research*. 28: 928-935.
- Nandini S., S.S.S. Sarma & H.J. Dumont. 2010b. Predatory and toxic effects of the turbellarian (*Stenostomum cf leucops*) on the population dynamics of *Euchlanis dilatata*, *Plationus patulus* (Rotifera) and *Moina macrocopa* (Cladocera). *Hydrobiologia*. 662(1): 171-177.

- Nandini, S., R. Alonso-Soto & S.S.S. Sarma. 2013a. Growth of Plankton (*Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae) and *Moina macracopa* (Cladocera)) on domestic wastewater. *CLEAN Soil Air Water*. 41: 11-15.
- Nandini S. & S.S.S. Sarma. 2013b. Demographic characteristics of cladocerans subject to predation by the flatworm *Stenostomum leucops*. *Hydrobiologia*. 715(1): 159-168.
- Nandini, S. & S.S.S. Sarma. 2018. Reproductive strategies of *Moina* (Cladocera) in relation to their habitat. *Limnetica*. 38(1): 137-145.
- Neupert, J., N. Shao, Y. Lu & R. Bock. 2012. Genetic transformation of the model green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Methods in Molecular Biology*. 847: 35-47.
- Ngupula, G.W., A.P. Shoko, M. Musiba, J. Ndikumana & E. Zziwa. 2014. Performance of *Artemia* shell-free embryos, *Moina micrura* and phytoplankton on larvae of reared african catfish. *African Crop Science Journal*. 22: 875-881.
- Nix, M.H. & D.G. Jenkins. 2000. Life history comparisons of *Daphnia obtusa* from temporary ponds, cultured with low quality food. *Aquatic Ecology*. 34: 19-27.
- Oh, S. & K. Choi. 2012. Optimal conditions for three brood chronic toxicity test method using a freshwater macroinvertebrate *Moina macrocopa*. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184: 3687-3695.
- Okunsebor, S.A. & A.O. Sotolu. 2011. Growth performance and survival rate of *Clarias gariepinus* fry fed on live feeds *Brachionus calyciflorus*, *Ceriodaphnia reticulata* and shell free *Artemia*. *Production 62. Agriculture and Technology*. 7(2): 108-115.
- Okunsebor, S.A. & V. Ayuma 2011. Growth, survival rate and condition factor of *Heteroclarias* hatchlings fed cultured *Moina micrura*, shell free *Artemia* and combination of both as starter feed. *Livestock Research for Rural Development*. 23(3).
- Olurin, K. & A. Oluwo. 2010. Growth and survival of african catfish (*Clarias gariepinus*) larvae fed decapsulated *Artemia*, live *Daphnia*, or commercial starter diet. *The Israeli journal of aquaculture-Bamidgeh*. 62: 50-55.
- Otero, A., M. Muñoz, V. Medina-Robles & P. Cruz-Casallas. 2013. Effect of food intake on productive variables of two species of Cladocera, under laboratory conditions. *Revista MVZ Córdoba*. 18: 3642-3647.
- Ovie, S.I & S.O. Ovie. 2002. Fish-larval rearing: the effect of pure/mixed zooplankton and artificial diet on the growth and survival of *Clarias anguilaris* (Linnaeus, 64. 1758) larvae. *Journal of Aquatic Sciences*. 17(1): 69-73.
- Parakrama, M.G.I.S., K.D. Rawat, G. Venkateshwarlu & A.K. Reddy. 2012. Supply of astaxanthin and its combinations through live feed (*Moina micrura*) enrichment affects the growth, survival and fatty acid profile of *Macrobrachium resenvergii*

- larvae. *Journal of the National Aquatic Resources Research and Development Agency of Sri Lanka*. 41: 44-58.
- Peláez-Rodríguez, E., S.S.S. Sarma & S. Nandini. 2020. Morphotype-dependent feeding responses in the guppy *Poecilia reticulata* Peters, 1859 (Class: Actinopterygii) fed zooplankton. *Aquaculture Research*. 52(2): 1-12.
- Peña-Aguado, F., S. Nandini & S.S.S. Sarma. 2005. Differences in population growth of rotifers and cladocerans raised on algal diets supplemented with yeast. *Limnologica*. 35: 298-303.
- Peña-Aguado, F., S. Nandini & S.S.S. Sarma. 2009. Functional response of *Ameca splendens* (Family Goodeidae) fed cladocerans during the early larval stage. *Aquaculture Research*. 40(14): 1594-1604.
- Portella, M.C., M.B. Tasser, R.K. Jomori & D.J. Carneiro. 2002. Substituição do Alimento Vivo na Larvicultura. *En: Memórias de Simpósio Brasileiro de Aqüicultura*.
- Prieto, M., L. De La Cruz & M. Morales. 2006. Cultivo experimental del cladócero *Moina* sp alimentado con *Ankistrodesmus* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista MVZ Córdoba*. 11(1): 705-714.
- Provasoli, L. & A.F. Carlucci. 1974. Vitamins and growth regulators. *En: Algal Physiology and Biochemistry*. 741-787.
- Purton, S. 2007. Tools and techniques for chloroplast transformation of *Chlamydomonas*. *Transgenic microalgae as green cell factories*. 616: 34-45.
- Radhakrishnan DK., I. AkbarAli, B.V. Schmidt, E.M. John, S. Sivanpillai & T.V. Sankar. 2020. Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: an overview. *Aquaculture Research*. 51: 1-17.
- Rasdi, N.W. & J.G. Qin. 2018. Copepod supplementation as a live food improved growth and survival of asian seabass *Lates calcarifer* larvae. *Aquaculture Research*. 49: 3606-3613.
- Rasdi, N.W., H. Suhaimi, A. Hagiwara, M. Ikhwanuddin, M.A. Ghaffar, A. Yuslan & S. Najuwu. 2019. Effect of different salinities gradient on fatty acid composition, growth, survival and reproductive performance of *Moina macrocopa* (Straus 1820) (Crustacean, Cladocera). *Preprints*.
- Rasdi, N.W., A. Ramlee, A. Abol-Munafi, M. Ikhwanuddin, N. Azani, A. Yuslan, H. Suhaimi & A. Arshad. 2020. The effect of enriched cladocera on growth, survivability and body coloration of siamese fighting fish. *Journal of Environmental Biology*. 41: 1257-1263.

- Rodríguez-Valencia, J.A., D. Crespo & M. López-Camacho. 2010. La camaronicultura y la sustentabilidad del Golfo de California. WWF-México, Programa Golfo de California. 13.
- Rottmann, R.W., J.S. Graves, C. Watson & R.P.E. Yanong. 2014. Culture techniques of *Moina*: the ideal *Daphnia* for feeding freshwater fry. University of Florida. CIR 1054. FAO, Rome. 2-9.
- Saenz de Rodriguez, M., F.V. Aguilar-Tellez, F.J. Alarcón-López, R. Pedrosa-Islas, E.S. Peña-Marín, R. Martínez-García, R. Guerrero-Zárate, W.A. Matamoros & C.A. Álvarez-González. 2018. Alimentos microencapsulados para el cultivo de larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Revista de Biología tropical*. 66(3): 1298-1313.
- Samir, M. & S. Banik. 2015. Production and application of live food organisms for freshwater ornamental fish larviculture. *Advances in BioResearch*. 6: 159-167.
- Santangelo, J.M., B.N. Soares, T. Paes, P. Maia-Barbosa, R. Tollrian & R.L. Bozelli. 2018. Effects of vertebrate and invertebrate predators on the life history of *Daphnia similis* and *Moina macrocopa* (Crustacea: Cladocera). *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*. 54(25): 1-6.
- Sarma, S.S.S., S. Nandini & R.D. Gulati. 2005. Life history strategies of cladocerans: comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia*. 542: 315-333.
- Sarma, S.S.S. & S. Nandini. 2006. Review of recent ecotoxicological studies on cladocerans. *Journal of Environmental Science and Health part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural*. 41: 1417-1430.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Avanza México como potencia en producción acuícola. Comunicado de prensa. México.
- Senhorini, J.A., N.A. Fontes, A.F.B. Lucas & J.R.S. Santos. 1991. Larvicultura do pacu *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887, (pisces Characidae) em viveiros com e sem organofosforado (Folidol 60%). *Boletim Técnico do CEPTA*. 4: 11-22.
- Sevilla, H.M. 1981. Introducción a la acuicultura. Editorial Consejo Nacional para la enseñanza de la biología. Compañía Editorial Continental. México. 111.
- Shi, B., D. Zhao, S. Duan & P. Wang. 2018. Implements of a monitoring and control system for freshwater intensive aquaculture. *37th Chinese Control Conference (CCC)*, Wuhan. 5004-5009.

- Singh, K., S. Munilkumar, N.P. Sahu, A. Das & G.A. Devi. 2019. Feeding HUFA and vitamin C-enriched *Moina micrura* enhances growth and survival of *Anabas testudineus* (Bloch, 1792) larvae. *Aquaculture*. 500: 378-384.
- Sipaúba-Tavares, L.H. & M.A. Bachion. 2002. Population growth and development of two species of Cladocera, *Moina micrura* and *Diaphanosoma birgei*, in laboratory. *Brazilian Journal of Biology*. 62: 701-711.
- Sipaúba-Tavares, L.H. & O. Rocha. 2003. Produção de plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos. São Carlos (Bra): RIMA. 106. 20-24.
- Smayda, T.J. 1980. Phytoplankton species succession. *En: The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell, Oxford. 493-570.
- Sorgeloos, P. & G. Persoone. 1975. Technical improvements for the cultivation of invertebrates as food for fishes and crustaceans. II. Hatching and culturing the brine shrimp, *Artemia salina* L. *Aquaculture*. 6: 303-317.
- Sorgeloos, P., P. Coutteau, P. Dhert, G. Merchie & P. Lavens. 2017. Use of brine shrimp, *Artemia* spp. in larval crustacean nutrition: a review. *Reviews in Fisheries Science*. 6: 55-68.
- Stearns, S.C. 1976. Life history tactics: a review of ideas. *The Quarterly Review of Biology*. 51: 3-47.
- Sumithra, V., A. Janakiraman & K. Altaff. 2014. Influence of different type of feeds on growth performance in black molly, *Poecilia sphenops*. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 1(6): 24-26.
- Urbina, R. 1978. La acuicultura en México. Memorias del II congreso latinoamericano de acuicultura. México.
- Vignatti, A.M., G.C. Cabrera & S.A. Echaniz. 2013. Distribution and biological aspects of the introduced species *Moina macrocopa* (Straus, 1820) (Crustacea, Cladocera) in the semi-arid central region of Argentina. *Biota Neotropica*. 13: 86-92.
- Villaseñor, R. & F. Amezcua. 2014. Mexican fisheries: their management and administration to regulate impacts to fish habitat. *En: Managing impacts to fish and fish habitat*. American Fisheries Society, Symposium 78, Bethesda, Maryland. p. 51-69.
- Volkova, E.N. & E.S. Zadereev. 2012. Effect of methyl farnesoate on the change of the reproduction mode in *Moina macrocopa* (Cladocera). *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 447: 282-5.
- Watanabe, T., C. Kitajima & S. Fujita. 1983. Nutritional values of live organisms used in Japan for mass propagation of fish: a review. *Aquaculture*. 34: 115-143.

- Weber, C.I. 1993. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. US Environmental Protection Agency EPA/600/4-90/027. Washington, D.C., USA.
- Zhang, J., T. Nishijima & K. Fukami. 1996. Production of vitamin B12 binder by *Heterosigma akashiwo* and some of its properties. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 62(4): 647-653.
- Zimmermann, S. & H.C. Jost. 1998. Recentes avanços na nutrição de peixes: a nutrição por fases em piscicultura intensiva. *En: Memórias de simpósio sobre manejo e nutrição de peixes*. 123-62.