

 EDUCACIÓN	SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO	
	INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO	
	Portada del Proyecto de Residencia Profesional	

Efecto de microalgas suministradas como alimento al rotífero *Brachionus plicatilis* cultivado en condiciones controladas

Nombre del Alumno:
Eliezer Alfonso Parra Alvarez

Número de control:
18990069

Nombre de la carrera:
Licenciatura en Biología

Especialidad:
Biología Marina


 M.C. Ana Lilia Platas Pinos
 Nombre del Asesor Interno


 INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO
 BOCA DEL RÍO, VERACRUZ
 2013


 Dr. Ignacio Alejandro Pérez Laguarda
 Nombre Asesor Externo


 INSTITUTO TECNOLÓGICO DE BOCA DEL RÍO
 BOCA DEL RÍO, VERACRUZ
 2013

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy ahora, varios de mis logros se los debo a ellos.

A la escuela por darme la oportunidad de adquirir nuevas experiencias y formar lazos inquebrantables, además de abrirme las puertas a un nuevo mundo con el cual solo podía soñar.

Al Dr. Ignacio Alejandro Pérez Legaspi por permitir realizar mi proyecto de residencia en el Laboratorio de Alimento Vivo, razón por la cual este trabajo es posible

A mis maestros, amigos y compañeros que estuvieron conmigo a lo largo de estos años de formación, por los grandes momentos que pasamos juntos y el conocimiento adquirido durante todo este tiempo.

DEDICATORIA

A las tres mujeres más importantes de mi vida, mi madre María del Pilar, mi tía
Jessica y mi abuela María del Pilar.

A mi padre Enrique, que, a pesar de no ser mi padre biológico, ha actuado
como si lo fuera.

Además de velar por mí todos estos años, me han hecho un hombre de bien, de
todo corazón estoy agradecido con ustedes.

Los amo y gracias por todo.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE TABLAS	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
1. EMPRESA	3
1.1. Misión	5
1.2. Visión.....	5
1.3. Valores	6
1.4. Laboratorio de Alimento Vivo (LAV).....	8
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	10
2.1 Características generales de <i>B. plicatilis</i>	10
2.1.1. El uso del rotífero <i>B. plicatilis</i> en la actualidad	11
2.1.2. Ciclo biológico de <i>B. plicatilis</i>	12
2.1.3. Alimentación.....	13
2.2. Microalgas	14

2.2.1. Reproducción	15
2.2.2. Las microalgas en la acuicultura	15
2.3. Diatomeas	16
2.3.1. Gotas de lípidos en diatomeas.....	17
2.4. Características de <i>P. tricornutum</i>	18
2.4.1. Rangos de pH y salinidad para el crecimiento de <i>P. tricornutum</i> ..	21
2.4.2. Productos almacenados en <i>P. tricornutum</i>	22
2.5. Características de <i>Chaetoceros muelleri</i>	23
2.5.1. Contenido nutricional de <i>C. muelleri</i>	24
2.6. Tablas de vida	26
2.6.1. Función y usos de las tablas de vida	26
2.6.2. Tipos de tablas.....	27
3. OBJETIVOS.....	28
3.1. Objetivo general.....	28
3.2. Objetivos específicos.....	28
JUSTIFICACIÓN.....	29
4. ACTIVIDADES	29
5. RESULTADOS.....	35
CONCLUSIONES	49
RECOMENDACIONES	52

REFERENCIAS	53
ANEXO A.....	57
ANEXO B.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^5 cel/mL)	35
Tabla 2. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^6 cel/mL)	36
Tabla 3. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^7 cel/mL)	37
Tabla 4. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^5 cel/mL)	37
Tabla 5. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^6 cel/mL)	38
Tabla 6. Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^7 cel/mL)	39
Tabla 7. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>C. muelleri</i> (1×10^5 cel/mL)	41
Tabla 8. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>C. muelleri</i> (1×10^6 cel/mL)	42
Tabla 9. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>C. muelleri</i> (1×10^7 cel/mL)	43
Tabla 10. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>P. tricornutum</i> (1×10^5 cel/mL)	44
Tabla 11. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>P. tricornutum</i> (1×10^6 cel/mL)	45

Tabla 12. Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>P.</i> <i>tricornutum</i> (1×10^7 cel/mL)	46
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig 1. Organigrama de la empresa (Instituto Tecnológico de Boca del Río)	7
Fig 2. Diagrama de flujo de las actividades en el Laboratorio de Alimento Vivo.	9
Fig 3. Diagrama del ciclo de vida de un rotífero	13
Fig 4. Células de <i>P. tricornutum</i> observadas a 10x en una cámara de Neubauer.	20
Fig 5. Células de <i>P. tricornutum</i> observadas a 40x	20
Fig 6. Tamaño de la célula de <i>P. tricornutum</i>	21
Fig 7. Tamaño de una célula de <i>C. muelleri</i>	25
Fig 8. Proceso de siembra de las microalgas (<i>P. tricornutum</i> y <i>C. muelleri</i>)	33
Fig. 9. Proceso de elaboración de tablas de vida de <i>B. plicatilis</i>	34
Fig 10. Gráfica del valor reproductivo de <i>B. plicatilis</i> con <i>C. muelleri</i>	47
Fig 11. Gráfica de sobrevivencia de <i>B. plicatilis</i> con <i>C. muelleri</i>	47
Fig 12. Gráfica del valor reproductivo de <i>B. plicatilis</i> con <i>P. tricornutum</i>	48
Fig 13. Gráfica de sobrevivencia de <i>B. plicatilis</i> con <i>P. tricornutum</i>	48
Fig 14. Uso de vitaminas para la preparación del medio de cultivo Guillard o F/2	49

Fig 15. Observación de rotíferos en un microscopio estereoscópico	49
Fig 16. Tubo Falcon utilizando para separar los huevos de las hembras...	57
Fig 17. Anatomía del rotífero <i>Brachionus plicatilis</i>	58
Fig 18. Cultivo de <i>B. plicatilis</i> en placas de poliestireno	58
Fig 19. Macronutrientes con silicatos para la elaboración de los medios de cultivo	59
Fig 20. Macronutrientes con silicatos para la elaboración de los medios de cultivo	60
Fig 21. Micronutrientes para la elaboración de medios de cultivo	61
Fig 22. Vitaminas para la elaboración de medios de cultivo.....	61

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es uno de los sectores productivos con mayor crecimiento sostenido y en un futuro superará a los volúmenes de pesca de captura como fuente de pesca sostenible. Representa una estrategia que genera impacto en la seguridad alimentaria, alivio de la pobreza y desarrollo rural. Sin embargo, se presentan problemas a nivel de nutrición, pues a pesar de existir una gran variedad de alimentos para especies acuícolas, estos no contienen los aportes suficientes para el desarrollo óptimo de los organismos (Castro-Barrera et al., 1994; Garrido-Weber, 2018).

A su vez, la alimentación de los organismos acuáticos cultivados constituye una importante tarea sobre la cual se desarrollan grandes esfuerzos a fin de generar un rendimiento óptimo del proceso de cría o cultivo. Además, hay diversos tipos de alimento con el que se pueden cultivar los organismos, dentro de los cuales se destacan dos, el alimento procesado y el alimento vivo (FAO, n.d; Godínez et al., 2004).

De esta manera la composición bioquímica del alimento vivo es importante para los peces, ya que contienen la mayoría de los elementos nutritivos que garantizan la sobrevivencia y el óptimo desarrollo de las postlarvas (Prieto et al., 2006; Villamar-Ochoa, 2000).

Entre los grupos de zooplancton más utilizados está la artemia, los rotíferos, cladóceros y copépodos. El valor nutricional de los rotíferos está sujeto al alimento ofrecido; son considerados excelente alimento para larvas de peces marinos y algunos de agua dulce, gracias a su pequeño tamaño, constante movimiento en el agua, corto ciclo de vida para su cultivo y son considerados de alto valor nutricional por su digestibilidad y capacidad de transferencia de nutrientes cuando son enriquecidos (Prieto, 2006).

A lo largo de mi estadía en el Laboratorio de Alimento Vivo en el Instituto Tecnológico de Boca del Río realicé dos cultivos de *Brachionus plicatilis*, uno siendo alimentado con *Phaeodactylum tricornutum* y el otro con *Chaetoceros muelleri* en un medio Guillard o F/2" a 30 partes de salinidad, después de dejar que la población de rotíferos aumentara, se separaron a las hembras que poseían huevos partenogenéticos. Los huevos fueron aislados hasta su eclosión durante un plazo de 24 horas, momento tras el cual se separarán las crías o neonatos y se colocaron en placas de poliestireno con 24 pozas cada una, usando una placa para cada una de las 3 concentraciones de alimento (1×10^5 , 1×10^6 y 1×10^7 cel/mL) así como para cada una de las cepas de microalgas utilizadas, poniendo una sola cría en cada una de las pozas y con el paso de los días contabilizando al progenitor y sus descendientes, dando por terminado el experimento una vez que todas las crías originales (progenitores) hayan muerto y posteriormente analizando los datos en el programa de Microsoft Excel para su interpretación.

Por lo tanto, con la información proporcionada a través de este proyecto de residencias profesionales se conocerá que especie de microalga y en qué concentración se les debe suministrar para conseguir una buena cantidad de rotíferos, lo cual a su vez ayudará al suministrárselo a diversos organismos marinos y de agua dulce de índole acuícola, lo cual ha ido tomando una gran importancia con el paso de los años, viéndose entonces reflejado en un aumento en la economía de las granjas acuícolas, las cuales ofrecerán productos de mejor calidad, logrando que el valor en producción de alimentos para el consumo humano por medio de la acuicultura siga en aumento, ofreciendo una gran alternativa de pesca sostenible resolviendo de esta manera el problema de la explotación observada en la sobrepesca alrededor del mundo, llegando a equiparar o incluso superar los volúmenes de pesca obtenidos por medio de estas malas prácticas que no se han dejado de ver con el paso de los años.

1. EMPRESA

Se puede afirmar que la educación en Ciencia y Tecnología del Mar tuvo su origen en el año 1957, en la ciudad de Veracruz, en el seno de una prestigiada

institución educativa, el Instituto Tecnológico de Veracruz. La creación del Instituto Tecnológico del Mar es el resultado de la evaluación de dos etapas previas para consolidarse.

Primero, la creación de la Estación Marina, que funcionó como el origen (1957-1965), con su adscripción al Instituto Regional de Veracruz. Segundo, su transformación para convertirse en el Centro Nacional de Ciencias y Tecnologías Marinas (1966-1974).

A partir de Septiembre de 1975, la institución por Acuerdo Presidencial, se transformó en el Instituto Tecnológico de Pesca, cuyo nombre cambió a Instituto de Estudios Superiores en Ciencia y Tecnología del Mar, y en 1981 finalmente se designó como Instituto Tecnológico del Mar; con la reestructuración de la SEP, como parte del proceso integrador en octubre del 2005 el plantel posee una nueva imagen institucional, tomando el nuevo nombre de Instituto Tecnológico de Boca del Río, siendo parte del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica, el cual posteriormente cambia a Tecnológico Nacional de México. Su creación se justificó con base en que nuestro país está bordeado por dos grandes océanos mundiales: El Pacífico y el Atlántico, además cuenta con una extensión litoral de 11,593 Km. de longitud y posee una zona económica exclusiva cuya superficie es de 2,71,252 Km², que ocupa el 9° lugar en extensión a nivel mundial.

Con una trayectoria de más de 40 años, se preparan jóvenes profesionistas que se incorporan al sector privado y público. Actualmente cuenta con planes de

estudio basados en competencias profesionales, y con reconocimiento con la Norma ISO 9001:2008 (Instituto Tecnológico de Boca del Río, n.d).

1.1. Misión

Contribuid a la conformación de una sociedad más justa, humana y con amplia cultura científico-tecnológica, mediante una educación equitativa en su cobertura y de alta calidad.

1.2. Visión

Ser un instituto Tecnológico de alto desempeño que sea soporte del desarrollo acuícola e industrial sostenido, sustentable y equitativo de la región, de la nación y del fortalecimiento de su diversidad cultural.

1.3. Valores

A fin de guiar y orientar las acciones cotidianas de todo su personal, el Instituto Tecnológico de Boca del Río define los siguientes valores institucionales:

- Respeto: Miramiento, consideración, deferencia.
- Puntualidad: Disciplina de estar a tiempo para cumplir nuestras obligaciones.
- Honestidad: Cualidad humana por la que la persona se determina a elegir actuar siempre con base en la verdad y en la auténtica justicia, dando a cada quien lo que le corresponde, incluida ella misma.
- Tolerancia: Respeto a las ideas, creencias o prácticas de los demás cuando son diferentes o contrarias a las propias.
- Responsabilidad: Es una obligación, ya sea moral o incluso legal de cumplir con lo que se ha comprometido (Instituto Tecnológico de Boca del Río, n.d).

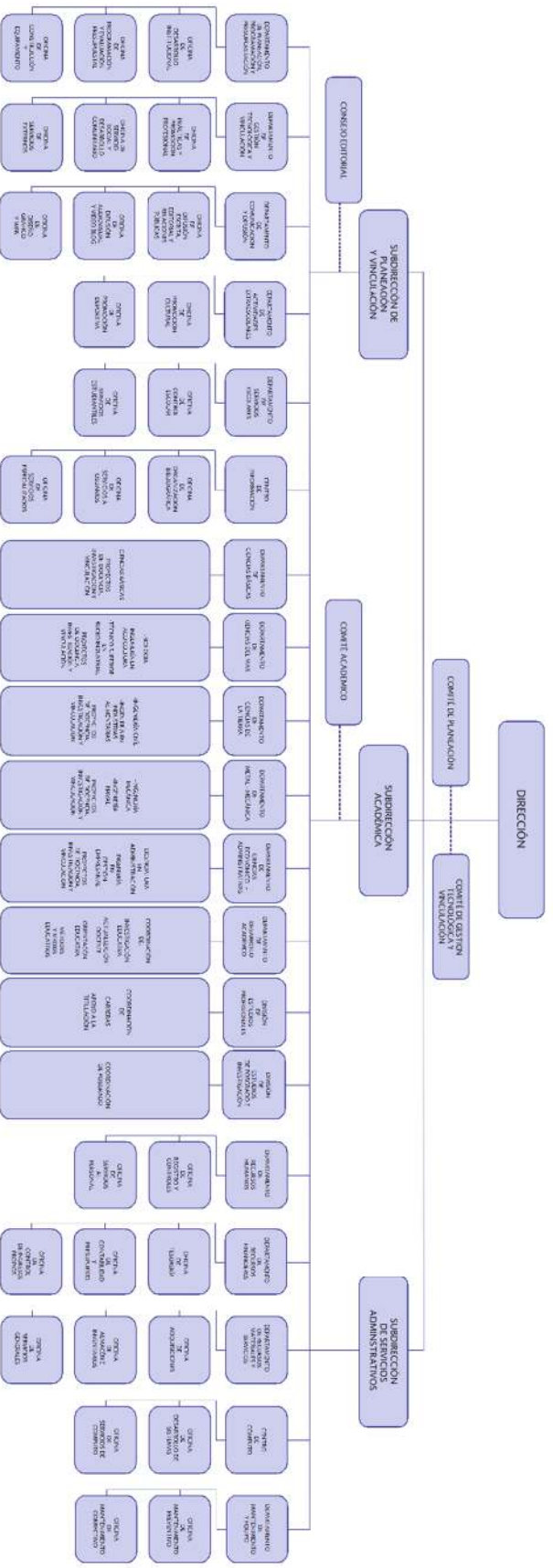


Fig 1. Organigrama de la empresa (Instituto Tecnológico de Boca del Río)

1.4. Laboratorio de Alimento Vivo (LAV)

En esta área del instituto se llevó a cabo el proyecto de residencia profesional, dentro de la misma se realizan diferentes actividades relacionadas con el cultivo de diversas especies, ya sea de microalgas o microorganismos que sirven como alimento para otras especies, el estudio de éstos y su análisis para diversos proyectos.

Dentro de las microalgas que se cultivan en el laboratorio se encuentran *Tetraselmis suecica*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Chaetoceros muelleri*, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, *Spirulina platensis*, *Dunaliella salina* y *Dunaliella tertiolecta*. Además, entre las especies de microorganismos con los que se trabajan en el laboratorio están los rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y pulgas de agua (*Daphnia* sp.).

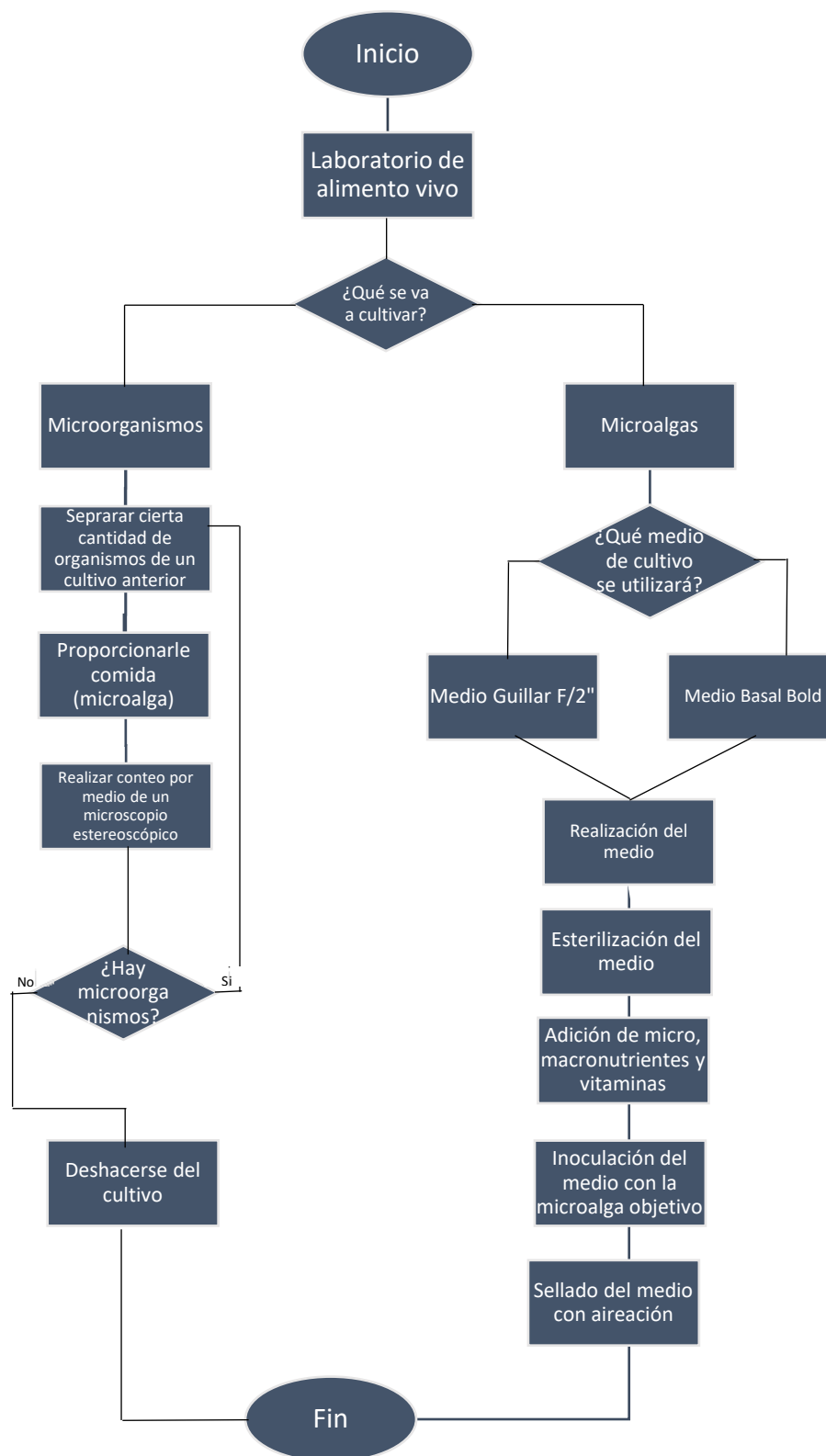


Fig 2. Diagrama de flujo de las actividades en el Laboratorio de Alimento Vivo.

La problemática que se resolvió durante mi estadía en el LAV fue el obtener información para mejorar la producción de los cultivos de *B. plicatilis*, al conocer qué microalga y en qué concentración funciona mejor con los organismos y así obtener una gran cantidad durante el período de tiempo que dura su ciclo de vida.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Características generales de *B. plicatilis*

La clase Monogononta, la cual abarca organismos partenogenéticos, distribuidos globalmente en sistemas de aguas continentales. *B. plicatilis* es una especie cosmopolita y encontrada comúnmente en lagos y lagunas costeras salobres. Entre los años 50 y 60, estos organismos fueron observados e identificados por primera vez como una peste presente en taques de cultivo para anguilas, fue gracias a diversos investigadores japoneses que se descubrió la utilidad de los rotíferos como alimento vivo el cual se podía suministrar a peces marinos y dulceacuícolas en sus primeros estadios. Debido a dicha utilidad se han buscado y aplicado técnicas para cultivarlos de una forma intensiva con el paso de los años (Gómez *et al.*, 2002; Mendoza *et al.*, 2014).

La corona ciliar que presentan los rotíferos en la parte anterior del cuerpo es lo que les da su nombre, la función de dicha corona es la de poder crear corrientes que facilitan la alimentación de los mismos. Estos organismos son clasificados como filtradores no selectivos, lo cual significa que no son capaces de seleccionar su alimento y consumen todo lo que pueda caber en su boca. La producción ya sea de quistes o huevos latentes mediante el cambio en su tipo de reproducción es una característica la cual los hace atractivos para su cultivo (Mendoza *et al.*, 2014).

2.1.1. El uso del rotífero *B. plicatilis* en la actualidad

Debido a que los rotíferos poseen características útiles para la alimentación de peces marinos y dulces es que ha sido cultivado y utilizado alrededor del mundo. A pesar de que existen aproximadamente 2000 especies de rotíferos las cuales han sido descritas, *Brachionus plicatilis* ha sido el elegido por sus aportes nutricionales, dentro de los cuales se encuentran nutrientes esenciales como lo son los aminoácidos esenciales y también los ácidos grasos de cadena larga. Otras características que desde 1960 han decantado a los investigadores para utilizar a estos organismos se encuentran su tamaño de entre 130-300 µm, el cual es microscópico, la facilidad para alimentar a los peces debido a su lento

movimiento, su tasa de reproducción que es muy alta y, por último, la alimentación de los mismos con fitoplancton, que puede llegar a ser económico (Contreras-Sillero *et al.*, 2019; Guevara *et al.*, 2011).

2.1.2. Ciclo biológico de *B. plicatilis*

Al igual que en los demás rotíferos monogonontes, *B. plicatilis* se reproduce partenogenéticamente por huevos producidos por hembras asexuales amícticas que continuamente producen más hembras del mismo tipo. Este ciclo asexual se desvía hacia una fase sexual por la acción de estímulos míclicos aún no bien conocidos, produciendo hembras casi indistinguibles de las primeras. Esta clase de hembras producen huevos partenogenéticos haploides que pueden seguir dos rutas distintas; si no son fecundados, resultarán en hembras haploides, y si son fecundados por el esperma de un macho resultarán en huevos durables diploides de aspecto diferente a los huevos inmediatos y capaces de resistir variaciones ambientales y la eclosión de los huevos produce hembras asexuales que comienzan de nuevo el ciclo (Modesto-Pozuelo, 1975).

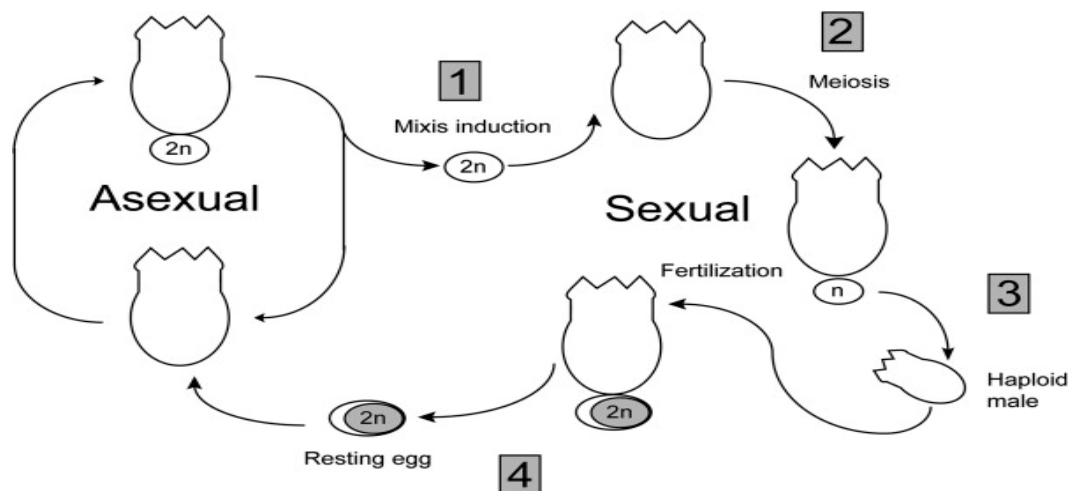


Fig 3. Hanson, S. n.d. Diagrama del ciclo de vida de un rotífero. Research Gate: <https://www.researchgate.net/profile/John-Logsdon-3/publication/239941317/figure/fig1/AS:213419010596871@1427894465631/Diagram-of-monogonont-rotifer-life-cycle-Asexual-females-undergo-ameiotic-oogenesis-to.png>

2.1.3. Alimentación

Los rotíferos han sido alimentados con varias especies de microalgas, sin embargo, estos rotíferos se alimentan de diferentes elementos incluyendo microalgas, bacterias y flóculos de las mismas, dependiendo del ambiente, ya sea natural o en condiciones de laboratorio. Su alimentación está limitada por el tamaño de la corona ciliar y la boca respectivamente, además, no hay especies de microalgas específicas que sirvan como alimento para *B. plicatilis* (Contreras-Sillero, 2019).

2.2. Microalgas

Hensen en el año 1887 fue la primera persona en utilizar el término plancton, que viene el griego *plangktós*: errante, el cual englobaba a todas las partículas organogénicas, estuvieran vivas o muertas, las cuales se movían totalmente influenciadas por las aguas. Las comunidades planctónicas se clasifican en dos grupos: Fitoplancton y zooplancton, siendo este último conformado por organismos los cuales representan el primer eslabón de la cadena alimenticia, siendo las primeras productoras de materia orgánica dentro de la misma, funcionando, así como productoras primarias. Se pueden clasificar en eucariotas y procariotas, dentro de éstas últimas se encuentran las Cianobacterias y Proclorófitas, mientras que dentro de las eucariotas están: Clorofíceas, Crisofíceas, Haptofíceas, Baciliarofíceas, Pirrofíceas, Criptofíceas y Euglenofíceas (Cajamar, 2015; Gómez-Luna, 2007).

Son organismos con un tamaño de entre 2-200 μm , unicelulares y generalmente fotoautótrofos, es decir, que obtienen su energía de la luz solar y se desarrollan a partir de materia inorgánica, sin embargo, también existen organismos que son fotoheterótrofos, los cuales a pesar de obtener también la energía del sol, hacen uso de compuestos orgánicos como su fuente de carbono, también los hay mixotróficos, los cuales son capaces de crecer empleando procesos tanto autótrofos como heterótrofos, pudiendo obtener energía mediante la luz solar y

compuestos orgánicos y utilizando el CO₂ y compuestos orgánicos para conseguir carbono (Cajamar, 2015).

2.2.1. Reproducción

Su reproducción es por fisión binaria generalmente, los tiempos de duplicación varían, teniendo las procariotas 1 hora o menos, mientras que las eucariotas de 8 a 24 horas, o incluso más. Algunas microalgas presentan un ritmo de división natural más marcado que otras. En cuanto a las diatomeas, éstas pueden dividirse ya sea durante el periodo de luz o el de oscuridad, siendo esto influenciado por la temperatura (Abalde *et al.*, 1995).

2.2.2. Las microalgas en la acuicultura

Debido a los costes de producción, que son generalmente altos, no se ha podido hacer uso como alimento animal, sin embargo, ha encontrado su lugar en la acuicultura para el cultivo de moluscos bivalvos como las ostras, almejas, vieiras

y mejillones, larvas de crustáceos como *Penaeus*, peces como la tilapia y zooplancton, siendo un componente esencial en la dieta de los mismos.

Al momento de ser utilizadas se deben tener en cuenta ciertos factores que afectan en su capacidad nutritiva, dentro de los cuales se encuentran el tamaño celular, que tiene que ser el adecuado dependiendo de la especie a alimentar, la pared celular, concretamente su composición, grosor y tamaño debido a que se relaciona directamente con su digestibilidad, la movilidad, concretamente las especies que son móviles se prefieren ya que las inmóviles se sedimentan en el fondo, y por último su composición química, de la cual dependen los demás factores anteriormente mencionados, particularmente la composición de aminoácidos y lípidos son importantes para determinar el valor nutricional de las microalgas, dicha composición variará dependiendo de las condiciones en las que se encuentre el cultivo (Abalde *et al.*, 1995).

2.3. Diatomeas

Las diatomeas son un grupo filogenético compuesto por entre 10,000 y 100,000 especies, son algas unicelulares fotoautótrofas que juegan un rol importante en los ecosistemas fijando el CO₂ atmosférico en los océanos. A través de la

fotosíntesis, las diatomeas producen más del 20% del oxígeno generado en la tierra, una contribución equivalente a la de todos los bosques del mundo. Además, participan en el ciclo biogeoquímico de los silicatos disueltos para integrarlos dentro de sus paredes celulares llamadas frústulas (Daboussi et al., 2014).

Son algas pardas pertenecientes a la división Heterokonta y se piensa que surgieron de una endobiosis secundaria entre algas rojas (Rhodophyta) y un flagelado heterótrofo (relacionado con los Oomycetos) hace alrededor de 300 millones de años. Eso explicaría el por qué sus plástidos están rodeados de cuatro membranas en lugar de dos (Scala et al., 2002).

2.3.1. Gotas de lípidos en diatomeas

Las diatomeas están permanentemente expuestas a variaciones ambientales y al estrés, a la falta de nutrientes, altas temperaturas, alta luz, exposición al óxido nítrico, al peróxido de hidrógeno y a una gran variedad de químicos los cuales se sabe que desencadenan una intensa remodelación de lípidos marcada por una acumulación de gotas de lípidos (LD derivado de su nombre en inglés “lipid droplets”).

La arquitectura de las gotas de lípidos está basada en un núcleo hidrofóbico que contiene lípidos neutrales como los triacilgliceroles (TAG) y pigmentos hidrofóbicos. El núcleo está rodeado por una monocapa de lípidos polares, principalmente fosfolípidos, con proteínas asociadas transitoriamente. La biogénesis de las gotas se produce en la parte externa del retículo endoplasmático, por lo que el proteoma de dichas gotas puede incluir: Enzimas ubicadas en el retículo endoplasmático que sintetizan lípidos neutros como el diacilglicerol aciltransferasa (DGAT), o el fosfotidilcolina: diacilglicerol aciltransferasa (PDAT), proteínas involucradas en el ensamblaje de las gotas de lípidos, proteínas estructurales que estabilizan su forma subesférica y protegen su núcleo hidrofóbico, enzimas involucradas en la hidrólisis de lípidos neutros, principalmente TAG lipasas así como también proteínas involucradas en el acoplamiento al citoesqueleto y orgánulos como las mitocondrias (Lupette et al., 2019).

2.4. Características de *P. tricornutum*

Phaeodactylum tricornutum pertenece al orden Bacillariales y es una especie atípica debido a su pleiomorfia, antes del reconocimiento de la misma, la cual está caracterizada por tres morfotipos: Oval, trirradiada y fusiforme, su posición

filogenética era difícil de determinar. La forma fusiforme fue aislada por Allen y Nelson (1910) y descrita como *Nitzschia closterium*. La forma trirradiada había sido descrita por Bohlin (1897) y nombrada como *Phaeodactylum tricornutum*. Wilson (1946) reveló la existencia de los tres morfotipos de la especie.

La ausencia de una estructura silicificada en la pared celular de *P. tricornutum* llevó a la conclusión que esta alga no podía ser clasificada como una diatomea (Hendey 1954). No fue hasta después de la observación de un rafe silicificado de forma oval que Lewin (1958) asignó a *Phaeodactylum* a la clase de Bacillariophyceae (Yu-Hong *et al.*, 2017).

P. tricornutum es una especie de agua salobre con una distribución mundial. Desde el último siglo, ha sido aislada de diferentes áreas geográficas, en su mayoría de aguas costeras, su hábitat principal. También ha sido observada en lagos alcalinos de agua salada. Los tres morfotipos han sido reportados globalmente. La forma oval es principalmente bentónica, mientras que las formas fusiforme y trirradiada son planctónicas. En comparación con la mayoría de las microalgas cuya habilidad es crecer en ambientes con pH alto, *Phaeodactylum* puede crecer en con pH alto con un límite superior de 10.3 y en ambientes con grandes rangos de salinidad (5-65 psu) (Martín-Jezequiel & Tesson, 2012).

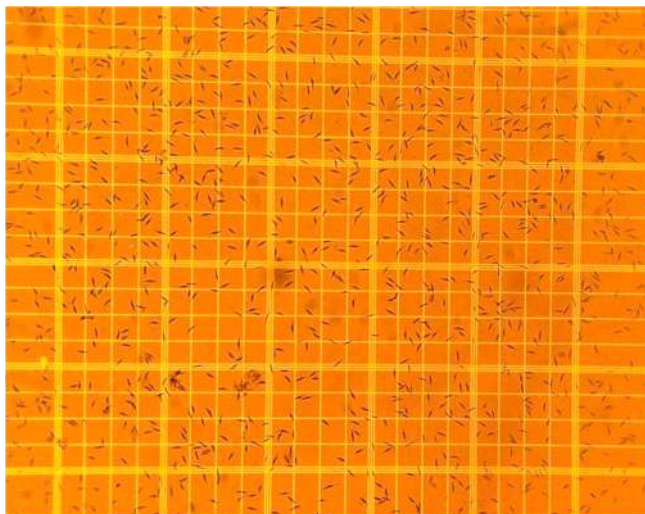


Fig 4. Células de *P. tricornutum* observadas a 10x en una cámara de Neubauer



Fig 5. Células de *P. tricornutum* observadas a 40x

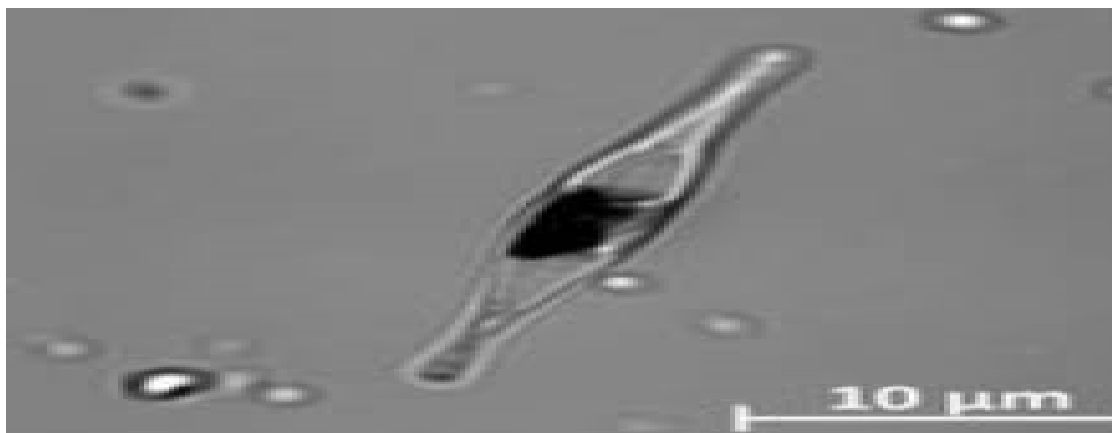


Fig 6. Kramer, J. 2019. Tamaño de una célula de *P. tricornutum*. SMBB: <https://smbb.mx/wp-content/uploads/2021/12/Garcia-et-al.-2021.pdf>

2.4.1. Rangos de pH y salinidad para el crecimiento de *P. tricornutum*

La habilidad de *Phaeodactylum* para crecer en ambientes de pH alcalino es debido a su característica de asimilación de carbono. Esto podría indicar la especialización de sus sistemas enzimáticos dependiendo de los nichos ecológicos. El transporte de carbono de otras especies parece ser diferente en *Phaeodactylum*, pues posee varios sistemas de transporte de carbono inorgánico disuelto incluyendo un transportador de HCO_3^- dependiente de K^+ inducido a pH alcalino y múltiples isoenzimas anhidrasas carbónicas (CA) que permiten una gran flexibilidad para la asimilación del carbono (Cui *et al.*, 2019).

A pesar de las diferencias morfológicas, los tres morfotipos tienen estructuras celulares similares excepto por su pared celular. Poseen estructuras silicificadas localizadas en la epitoca, pero a diferencia de otras diatomeas, la pared celular está compuesta esencialmente de compuestos orgánicos. *Phaeodactylum* posee una estructura de tres capas: Una capa orgánica externa, una capa intermedia silicificada y una capa orgánica interna.

Aunque, en contraste con otras especies, *Phaeodactylum* es la única diatomea que no requiere silicio para crecer, incluso si las tres formas asimilan el silicio. La asimilación de silicio difiere de otras diatomeas, con una cinética de absorción de Si caracterizada por altos valores de K_s . Del Amo y Brzezinski (1999) han mostrado una cinética de captación bifásica inusual para el morfotipo oval, la cual depende del pH y la concentración de Si. Los autores interpretaron que este fenómeno fue posible por la presencia de dos sistemas de transporte diferentes: La asimilación de $\text{SiO}(\text{OH})_3$, además del ácido silícico no dissociado $\text{Si}(\text{OH})_4$. Sin embargo, igualmente es posible que *P. tricornutum* no difiera de otras diatomeas con respecto a las características de absorción de silicio (Butler *et al.*, 2020).

2.4.2. Productos almacenados en *P. tricornutum*

P. tricornutum posee una gran cantidad de fucoxantina, incluso más que varias fuentes ricas fucoxantina. Además, contiene 1,3- β -D-glucano, localizado en la vacuola de la microalga, también grandes cantidades de residuos de glucosil. Recientes estudios han mostrado que *Phaeodactylum* posee varias enzimas envueltas en la digestión de crisolaminarin, exo-1,3- β -glucanasas y endo-1,3- β -glucanasas (Martín-Jezequiel & Tesson, 2012; Yu-Hong *et al.*, 2017).

2.5. Características de *Chaetoceros muelleri*

El género *Chaetoceros* es de gran importancia en la acuicultura puesto que muchas especies de este género han demostrado ser excelentes alimentos para organismos marinos. Entre estas, *Chaetoceros muelleri* es la más popular en la acuicultura mexicana (Lemus *et al.*, 2006).

Es una microalga fitoplanctónica, la cual se presenta en forma de células individuales, es pequeña y rectangular en vista lateral. Las valvas muestran una marcada complejidad en la ornamentación de las puntas, las cuales se pueden presentar en forma de espina, alvéolas o canales tubulares. Tiene un diámetro de valva de 6 a 10 μm . Todas las especies de *Chaetoceros* están caracterizadas

por tolerar altas temperaturas y en el caso de *C. muelleri* la máxima temperatura para el crecimiento es de 37°C, con un intervalo óptimo de temperatura de 25-30°C. La mínima salinidad para su desarrollo es de 6%, pero esta especie puede crecer hasta salinidades arriba del 50%, con un óptimo de 17-25% (Carranza *et al.*, 2015; Gallegos-Simental, 1997).

Esta microalga es cosmopolita y habita tanto en ecosistemas costeros como también en regiones de surgencia, es encontrada a profundidades de entre 10-200 m. Además, su reproducción se produce de forma asexual por medio de una división mitótica, a través de la cual el tamaño de las células se va reduciendo, por lo que, una vez han alcanzado un tamaño tan pequeño que no se pueden volver a dividir, se cambia a una reproducción sexual por medio de auxosporas (Pernet *et al.*, 2003; Xin-Wei *et al.*, 2013).

2.5.1. Contenido nutricional de *C. muelleri*

C. muelleri contiene una alta cantidad de ácidos grasos saturados y monoinsaturados, representando un 47.5% y 34.8% respectivamente. Dentro de los ácidos grasos saturados se encuentran el C14:0 (mirístico) y el C16:0 (palmítico), en el caso de los monoinsaturados el C16:1 n-7 fue el predominante.

Además, presenta ácidos grasos poliinsaturados representando un 31.4%, siendo los que poseen mayores proporciones el C20:5 n-3, el 16:3 n-4 y el C20:4 n-6, siendo este último el que presenta mayor proporción en la microalga (Lemus *et al.*, 2006).

Esta microalga es caracterizada debido a un complejo de proteínas, el cual une la fucoxantina y la clorofila, sin embargo, la fucoxantina es el pigmento que más abunda en el proceso de asimilación de la luz (Lovio-Fragoso, 2021).

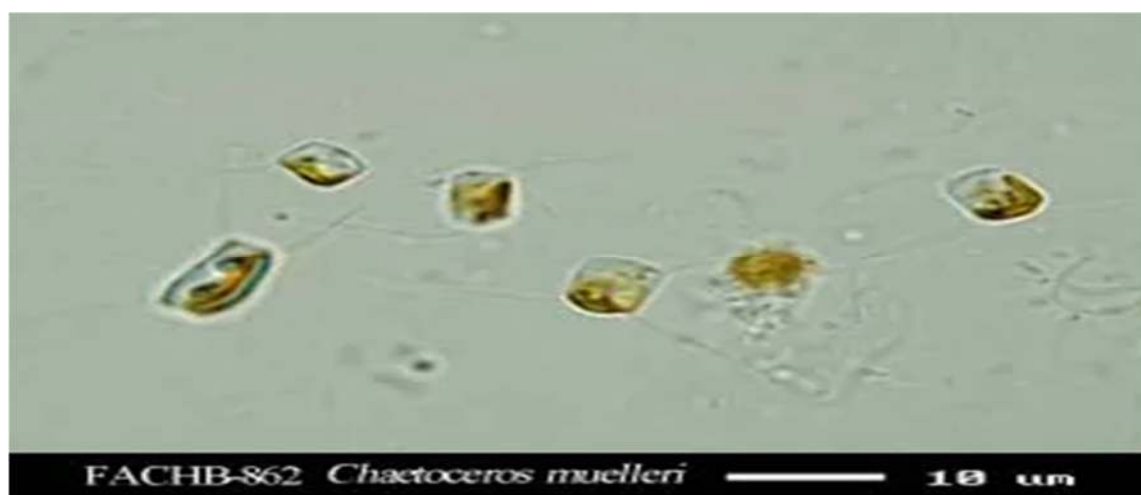


Fig 7. Unidad Experimental Kino. 2019. Tamaño de una célula de *C. muelleri*. UEK: <https://i0.wp.com/www.uek.uson.mx/wp-content/uploads/2017/05/862.jpg?fit=300%2C228>

2.6. Tablas de vida

Las tablas de vida se tratan de presentaciones en forma tabular las cuales contienen el progreso de una cohorte con el pasar del tiempo y para empezar a realizar una tabla de vida el primer paso que se debe seguir se trata de dividir el tiempo de seguimiento en intervalos de tiempo de forma consecutiva (Díaz-Ceballos, 2005).

2.6.1. Función y usos de las tablas de vida

Se le da utilidad en diversos estudios demográficos para estudiar diversos factores, entre los cuales se encuentran: Longevidad, fertilidad, migraciones, crecimiento poblacional y cálculos para realizar proyecciones poblacionales. Es una descripción del proceso de extinción de toda una generación y culmina con la desaparición del último elemento de la misma dada con la mortalidad durante un periodo fijo. La diferencia presente entre unas tablas de vida y otras deriva de cuán rápido se llega al final. Se pueden usar para estudiar a una población entera o también puede aplicarse a un subgrupo específico de la misma población.

Los usos que se les pueden dar se relacionan todos con la mortalidad, como lo pueden ser un resumen, descripción y comportamiento de la misma en una población, además de su tendencia, esto debido a que la mortalidad se ve envuelta en estudios demográficos, por lo que, derivado de ésta, también se puede conocer la esperanza de vida, reproducción, crecimiento y estructura de la población estudiada (Arribazalga, 2007).

2.6.2. Tipos de tablas

A través del tiempo se han descrito dos formas en las que se pueden clasificar las tablas de vida: Cohorte y Actuarial. Mientras la primera consiste en el seguimiento de una determinada población hasta la extinción de la misma, o bien se puede dar por terminado el periodo de estudio, aunque presenta algunos problemas, dentro de los cuales se encuentran el tamaño poblacional y el tiempo que conllevará el estudio. En cambio, la tabla actuarial proporciona una visión acerca de la supervivencia y mortalidad de las edades de una población durante un periodo de tiempo significativamente más corto, por lo general consistente en un año y está basada enteramente en la mortalidad por edad de la población que se va a estudiar (Arribazalga, 2007).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Desarrollar una tabla de vida del rotífero *Brachionus plicatilis* para reconocer las diferencias en su historia de vida al alimentarlo con las microalgas *Phaeodactylum tricornutum* y *Chaetoceros muelleri*.

3.2. Objetivos específicos

1. Estandarizar el cultivo de las microalgas *P. tricornutum* y *C. muelleri* en condiciones controladas de laboratorio.
2. Cultivar el rotífero *B. plicatilis* para suministrarle las cepas de microalga cultivadas.
3. Distinguir cuál cepa de microalga favorece la reproducción y sobrevivencia del rotífero por medio de una tabla de vida.

JUSTIFICACIÓN

Aunque no se puede negar que la acuicultura ha tomado una gran relevancia con el paso de los años, aunado al hecho de que el alimento vivo es la opción por excelencia para el cultivo de los organismos marinos y dulceacuícolas, no se debe dejar a un lado el aspecto ecológico y biológico que rodea a dicho alimento, puesto que sería de utilidad a la hora de saber cuál tipo de alimento ofrece mejores resultados basándonos en la dinámica de poblaciones, lo cual representaría una gran introducción para mí al ámbito laboral, ya que proyectos como éste ayudarían a mejorar la calidad de las especies cultivadas, sabiendo que los alimentos que se les dan cumplen con los perfiles nutricionales óptimos para su desarrollo, derivado de la optimización en los cultivos de alimento vivo para su producción a gran escala.

Además, gracias a la realización de este proyecto de residencias profesionales en el Laboratorio de Alimento Vivo, se conseguirá la optimización en cuanto al proceso de cultivo del rotífero *Brachionus plicatilis* se refiere, además con base en los resultados se logrará obtener el conocimiento de cuál de las microalgas de entre las dos elegidas (*Phaeodactylum tricornutum* y *Chaetoceros muelleri*) es mejor, viéndose reflejado todo lo dicho anteriormente en una gran producción de esta especie en un corto periodo de tiempo, gracias a lo cual se podrán tener a estos organismos en caso de ser necesarios para otros proyectos que se vayan

a realizar en el área, sin el miedo de que si se usan se corra el riesgo de perder todo el cultivo de la especie.

4. ACTIVIDADES

Se obtuvieron ambas cepas de microalga (*P. tricornutum* y *C. muelleri*) del cepario presente en el laboratorio de Alimento Vivo, se preparó un medio Guillard o F/2” en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL con agua destilada a una concentración de 30 partes de salinidad, la cual se midió por medio de un refractómetro manual Master-S/Mill α , uno para cada cepa, una vez preparados los medios se introdujeron en una autoclave junto con un tapón de corcho y 3 pipetas de vidrio de 1 mL cada una para su esterilización, proceso el cual se realizó dejando que la autoclave alcanzara una presión de 0.1 MPa y una temperatura de 121 °C, momento tras el cual se contaron 15 minutos manteniendo estos valores y evitando que sobrepasaran los 0.15 MPa y los 126 °C, pasado es tiempo se apagó la autoclave dejando que bajara la presión totalmente. Posteriormente se sacaron los matraces para dejarlos enfriar dentro de un recipiente lleno de agua fría durante una hora, después se llevaron los dos matraces a la campana de flujo laminar para incorporarles 1 mL de macronutrientes, ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , K_2HPO_4 , NaNO_3 , $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), 1 mL de micronutrientes (Na_2EDTA , $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,

ZnSO₄*7H₂O, CoCl₂*H₂O, MnCl₂*4H₂O, NaMoO₄*2H₂O) y 1 mL de vitaminas (Tiamina, Biotina, Cianocobalamina) a partir de soluciones stock previamente preparadas. Lo anterior, utilizando una pipeta Pasteur de vidrio para cada elemento, en el caso de *P. tricornutum* se utilizaron macronutrientes con silicatos. Se procedió a inocular los matraces con 100 mL de *P. tricornutum* y 100 mL de *C. muelleri* para su sellado con el tapón de corcho y cinta de emplayar para dejar bajo aireación e iluminación constante (2,000 luxes) y a una temperatura de 18°C durante aproximadamente una semana esperando que las microalgas crecieran.

En el transcurso de la semana donde las microalgas crecían se comenzó con el cultivo del rotífero *B. plicatilis* observado mediante un microscopio estereoscópico LEICA EZ4 dentro de una caja de Petri, al cual se le comenzó dando *Tetraselmis suecica* debido a que ese era su alimento anteriormente, una vez pasada la semana y con una población elevada de rotíferos, se les separó en dos cajas para suministrarles gradualmente las dos cepas de microalgas cultivadas y observar el comportamiento del cultivo ante el cambio de alimento. Cuando se observó una adaptación favorable se colocó en ambas cajas 50 mL del nuevo alimento, al día siguiente se separaron las hembras que poseían huevos en tubos Falcon a 30 mL, una vez separadas las hembras, se agitó el tubo por 5 minutos para desprender los huevos y se separaron en otras cajas Petri esperando su eclosión en un periodo de 24 horas, pasado ese tiempo y una vez que las crías nacieron, se separaron en placas de poliestireno de la marca Costar, colocando una hembra recién nacida en cada una de las 24 pozas que conformaban las mismas, manteniendo los cultivos con un medio marino a 30 psu, el cual se

realizó con agua destilada y sal marina Instant Ocean, además de tener una temperatura promedio de 26 °C.

Día con día se hizo un conteo de cuántas hembras quedaban vivas con el paso de los días, así como también de si las mismas tenían huevos, dejaron crías o ambas cosas, para proceder a la separación de la hembra original en caso de ésta seguir viva y transferirla a una nueva caja, donde se les daba microalga de las cepas cultivadas en 3 concentraciones (1×10^5 , 1×10^6 y 1×10^7 cel/mL), utilizando estas concentraciones para cada una de las microalgas. Además, se fueron apuntando todos estos registros en una libreta y se continuó diariamente hasta que la última de las hembras progenitoras pereciera, dando por terminado el tratamiento.

Una vez que todas las hembras originales habían muerto y se habían recopilado los datos, se colocaron los datos en una tabla dentro del programa Microsoft Excel, mediante las cuales se incluyeron las ecuaciones correspondientes a las tablas de vida de tipo Cohorte (ver ecuaciones #1-4) de acuerdo a Krebs (1985) y se llegaron a los resultados para su posterior interpretación.

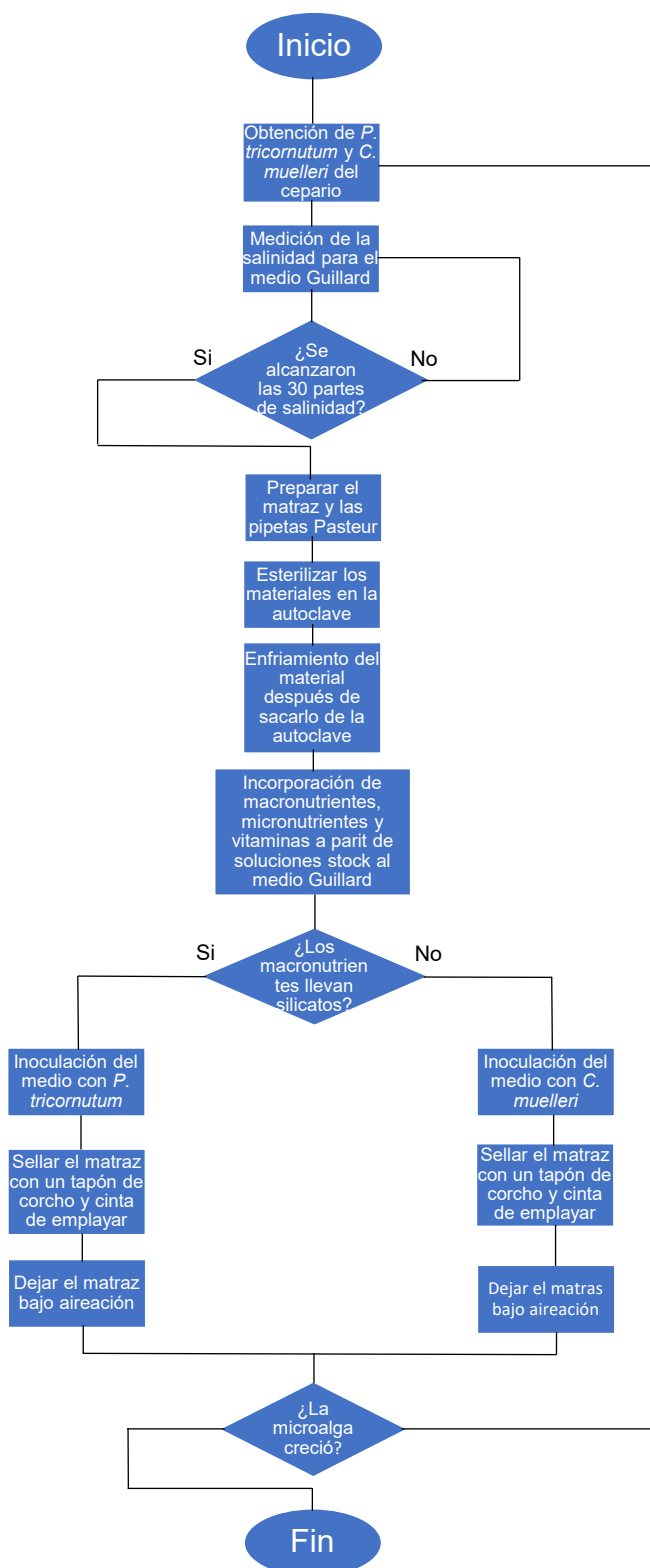


Fig 8. Proceso de siembra de las microalgas (*P. tricornutum* y *C. muelleri*)

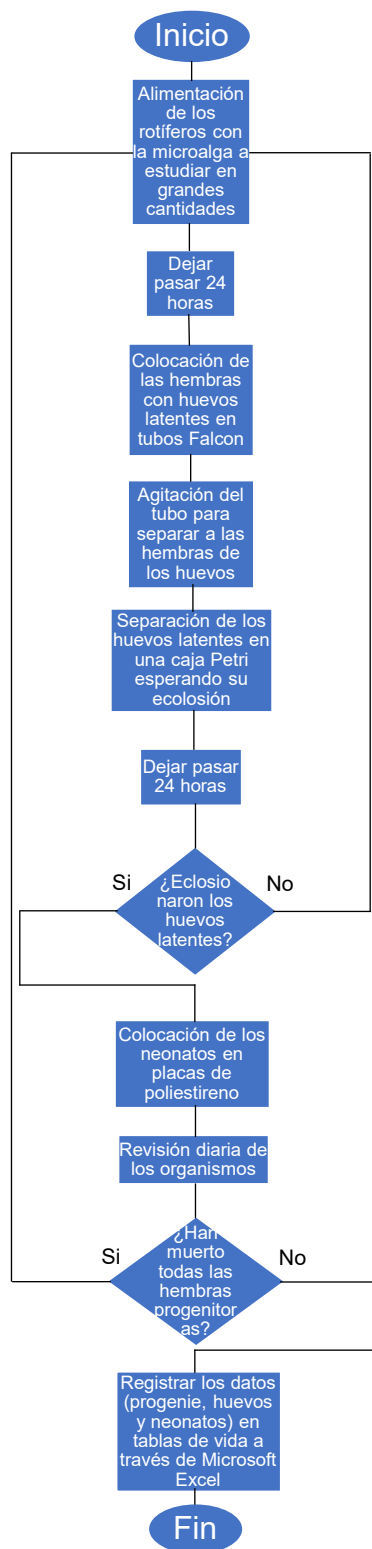


Fig. 9. Proceso de elaboración de tablas de vida de *B. plicatilis*

5. RESULTADOS

Una vez que las todas las hembras originales murieron, se tomaron los datos obtenidos (Progenie, huevos y neonatos), y se pasaron a una tabla usando Microsoft Excel, quedando de la siguiente manera:

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^5 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	23	8	0
2	19	15	2
3	10	5	0
4	8	6	1
5	7	4	2
6	6	3	2
7	4	5	2
8	3	3	2
9	2	2	1
10	1	0	0
11	1	0	0
12	0	0	0
		Total=	12

Tabla 1

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^6 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	14	20	0
2	13	20	1
3	13	21	5
4	13	24	11
5	11	15	26
6	10	13	8
7	9	14	13
8	9	15	8
9	6	7	1
10	2	0	1
11	1	0	0
12	1	0	0
13	0	0	0
		Total=	74

Tabla 2

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>C. muelleri</i> (1×10^7 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	20	21	0
2	20	26	14
3	18	33	16
4	16	27	19
5	15	31	54
6	14	24	21
7	13	21	23
8	11	25	22
9	9	20	16
10	5	11	6
11	2	3	4
12	1	1	1
13	0	0	0
		Total=	196

Tabla 3

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^5 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	24	33	1
2	20	24	1
3	14	6	2
4	3	2	3
5	2	0	1
6	2	2	2
7	0	0	0
		Total=	10

Tabla 4

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^6 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	24	56	9
2	24	61	51
3	24	53	72
4	22	41	49
5	22	26	49
6	21	34	49
7	19	30	39
8	18	22	31
9	17	20	31
10	16	21	34
11	14	22	30
12	11	11	17
13	9	13	14
14	8	13	18
15	7	10	7
16	6	6	8
17	5	3	5
18	0	0	0
		Total=	513

Tabla 5

Datos obtenidos en <i>Brachionus plicatilis</i> utilizando <i>P. tricornutum</i> (1×10^7 cel/mL)			
Día	Progenie	Huevos	Neonatos
0	24	0	0
1	20	9	0
2	18	13	10
3	16	17	13
4	13	10	14
5	13	17	41
6	12	19	17
7	12	19	26
8	11	16	23
9	11	19	19
10	7	7	6
11	4	8	11
12	2	4	3
13	0	0	0
		Total=	183

Tabla 6

Posteriormente de acuerdo a Krebs (1985) y Begon *et al.* (1996) se calcularon la proporción de organismos que sobrevivieron al inicio del intervalo “x” (l_x), el número de organismos que murieron durante el intervalo “x” a “x+1” (dx), el índice de mortalidad durante el intervalo “x” a “x+1” (qx), el número de organismos vivos en promedio durante el intervalo de edad que va de “x” a “x+1” (L_x), el conjunto de individuos por días (T_x), el índice reproductivo neto (R_0), la duración promedio de una generación (G), la tasa de incremento natural aproximada y ajustada (R_m), el índice finito de incremento (λ), la esperanza de vida adicional (e_x) y el

coeficiente de correlación entre “lx” y “ex” (R^2), y siendo ordenados de la siguiente forma:

Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>C. muelleri</i> (1x10 ⁵ cel/mL)													
	lx= nx/ho	dx= no-nx	dx/lx	nx+nx+1/2	sum Lx: Lx+1	Tx/nx	ind producido s por tiempo	ind producidos por sobreviviente s	"Vx"	(x)/(lx)(mx)	Ajuste de m		
Día (x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex	Fx	mx	lxmx	(x)/(lx)(mx)	rm(x)	e-(rm*x)	e-(rm*x= lxmx)
1	0.958	1	0.041	23.5	96	4	4	0	0	0	2.832	0.058	0
2	0.826	4	0.173	21	72.5	3.152	0	0	0	0	2.714	0.066	0
3	0.526	9	0.473	14.5	51.5	2.711	2	0.105	0.055	0.111	2.242	0.106	0.005
4	0.8	2	0.2	9	37	3.7	0	0	0	0	1.18	0.307	0
5	0.875	1	0.125	7.5	28	3.5	1	0.125	0.109	0.437	0.944	0.389	0.042
6	0.857	1	0.142	6.5	20.5	2.928	2	0.285	0.244	1.224	0.826	0.437	0.107
7	0.666	2	0.333	5	14	2.333	2	0.333	0.222	1.333	0.708	0.492	0.109
8	0.75	1	0.25	3.5	9	2.25	2	0.5	0.375	2.625	0.472	0.623	0.233
9	0.666	1	0.333	2.5	5.5	1.833	2	0.666	0.444	3.555	0.354	0.701	0.311
10	0.5	1	0.5	1.5	3	1.5	1	0.5	0.25	2.25	0.236	0.789	0.197
11	1	0	0	1	1.5	1.5	0	0	0	0	0.118	0.888	0
12	0	1	1	0.5	0.5	0.5	0	0	0	0	0.118	0.888	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
								R0=	1.701	11.536			1.008
								(Vx)					
								G=	6.781 días				
					λ =	1.125244		Aproximado	rm=	3.985			
					R2=	0.791		Ajustada	rm=	0.118			

Tabla 7

Datos calculados a partir de los resultados obtenidos con <i>P. tricornutum</i> (1x10 ⁵ cel/mL)													
	lx= nx/no	dx= no-nx	dx/lx	nx+nx+1/2	sum Lx: Lx+1	Tx/nx	ind producido s por tiempo	ind producidos por sobreviviente s	"Vx"	(x)(lx)(mx)	Ajuste de rm		
Día (x)	lx	dx	qx	Lx	Tx	ex	Fx	mx	lxmx	(x)(lx)(mx)	rm(x)	e-(rm*x)	e-(rm*x)= lxmx
1	1	0	0	24	77	3.208	0	0	0	0	1.656	0.191	0
2	0.833	4	0.166	22	53	2.208	1	0.041	0.034	0.034	1.656	0.191	0.006
3	0.7	6	0.3	17	31	1.55	1	0.05	0.035	0.07	1.38	0.251	0.008
4	0.214	11	0.785	8.5	14	1	2	0.142	0.031	0.091	0.966	0.381	0.011
5	0.666	1	0.333	2.5	5.5	1.833	3	1	0.666	2.666	0.207	0.813	0.542
6	1	0	0	2	3	1.5	1	0.5	0.5	2.5	0.138	0.871	0.435
7	0	2	1	1	1	0.5	2	1	0	0	0.138	0.871	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
								R0=	1.267	5.363			1.004
								(Vx)					
								G=	4.233 días				
					λ=	1.071		Aproximado	rm=	3.341			
			lx vs ex					Ajustada	rm=	0.069			
		R2=	0.867										

Tabla 10

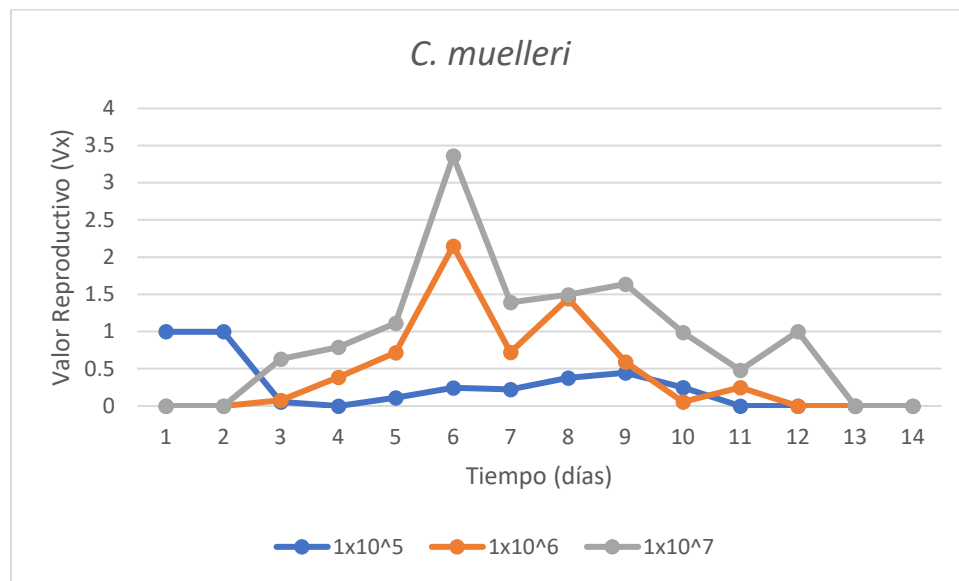


Fig 10. Gráfica del valor reproductivo de *B. plicatilis* con *C. muelleri*

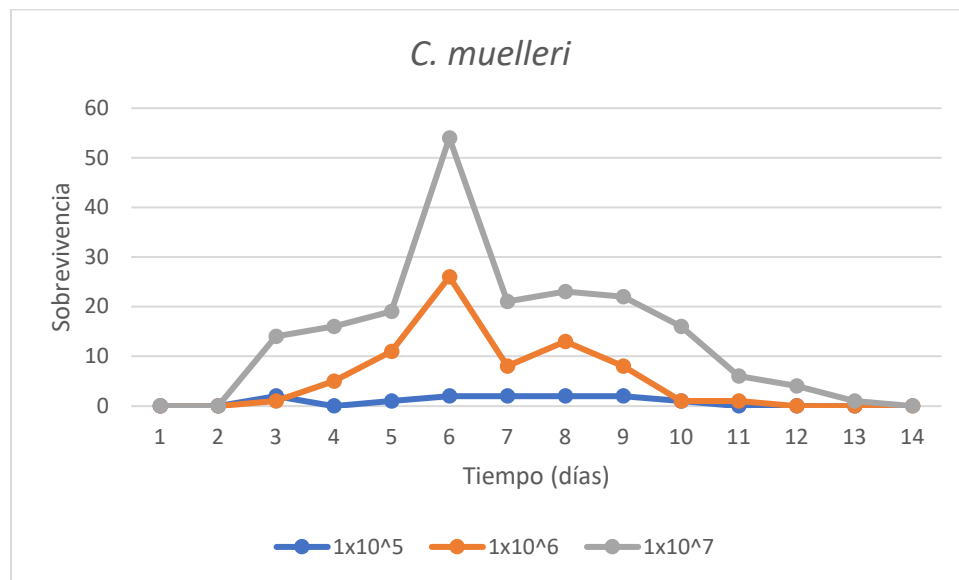


Fig 11. Gráfica de sobrevivencia de *B. plicatilis* con *C. muelleri*

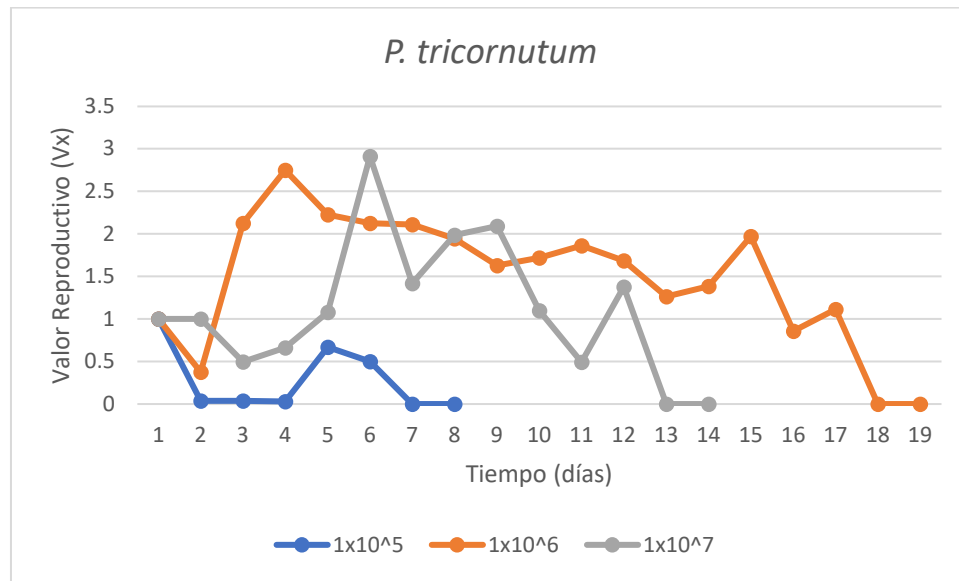


Fig 12. Gráfica del valor reproductivo de *B. plicatilis* con *P. tricornutum*

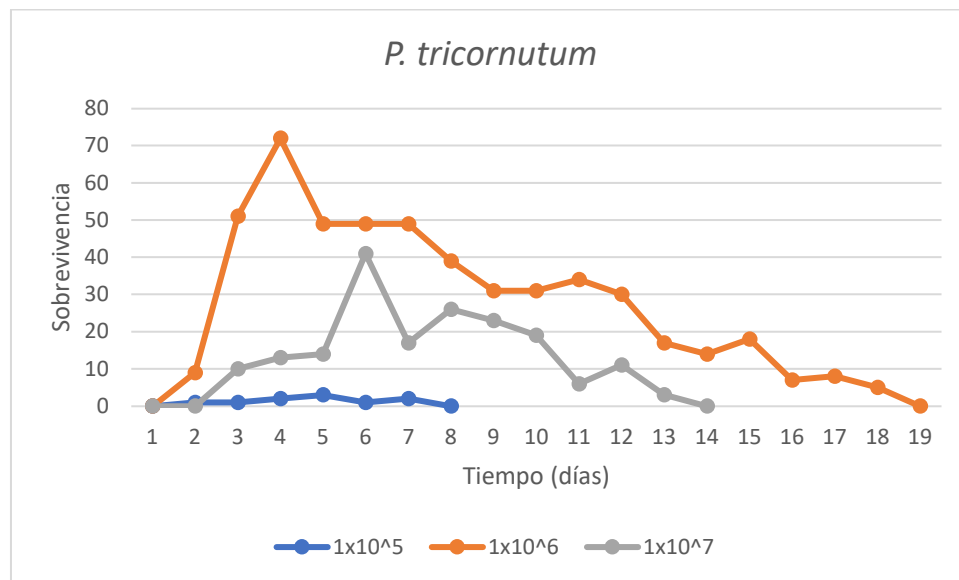


Fig 13. Gráfica de sobrevivencia de *B. plicatilis* con *P. tricornutum*



Fig 14. Uso de vitaminas para la preparación del medio de cultivo Guillard o F/2"



Fig 15. Observación de rotíferos en un microscopio estereoscópico

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos a lo largo de la investigación, se concluye que de las tres concentraciones de *C. muelleri* utilizadas la que dio mejores resultados fue 1×10^7 cel/mL debido a que se alcanzó la mayor cantidad de neonatos para esta microalga con un total de 13 días, además de tener un mayor promedio de generación con 6 días y altos índices tanto reproductivo neto como finito de incremento.

En el caso de *P. tricornutum* se notó que la concentración 1×10^6 cel/mL fue la mejor para los rotíferos, consiguiendo un total de 513 neonatos en un periodo de 18 días, con un promedio de generación de 8 días y con altos índices tanto reproductivo neto como el finito de incremento.

A pesar de que con *C. muelleri* tienen un periodo de vida más corto, lo que permitiría una mayor velocidad en cuanto a la producción de los rotíferos se refiere, la diferencia entre los neonatos con *P. tricornutum* es significativa, lo cual aumentaría la cantidad de organismos que se pueden alimentar con esta especie de microalga.

Con base en lo dicho por Yu-Hong (2006) *P. tricornutum* ha resultado ser una mejor microalga a nivel de producción y cultivo debido a que posee grandes cantidades de fucoxantina, incluso entre las microalgas que la contienen como lo puede ser *C. muelleri*, y es por eso que con la concentración de 1×10^6 cel/mL se

han conseguido mejores resultados, debido a que un exceso de estos pudo llegar a mermar la población haciendo que decayera más rápido.

Caso contrario a *C. muelleri*, ya que con lo dicho por Lemus *et al.* (2006) posee grandes concentraciones de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y también poliinsaturados, pero para que surtieran efecto en los rotíferos se debió de suministrar en altas concentraciones, como lo fue en esta ocasión 1×10^7 cel/mL.

RECOMENDACIONES

Se podrían emplear otras técnicas para observar si se obtienen resultados distintos, tales como reemplazar el medio usado para los cultivos de rotíferos, como sugerencia el poder usar agua de mar tratada, la cual posteriormente se pasaría por papel filtro para eliminar las impurezas que pudiera tener y ser diluida con agua destilada hasta obtener la salinidad deseada, en lugar de usar agua destilada a la cual se le adicionó sal hasta llegar a los psu deseados. A su vez también estaría la posibilidad de que, una vez obtenidos los huevos de los rotíferos, usar un tamiz para separar los que presenten un mayor tamaño.

Algunas cosas que se podrían realizar después de los experimentos sería el someter a estrés a las microalgas como el cambio en el color de la luz o la falta de nitrógeno o el añadir un contaminante al medio de los rotíferos como bactericidas para así poder observar el cambio en las tablas de vida y compararlas con los resultados obtenidos en este trabajo.

REFERENCIAS

Abalde, J., Cid, A., Fidalgo, P., Torres, E. y Herrero, C. 1995. Microalgas: Cultivo y aplicaciones: <https://doi.org/10.17979/spudc.9788497497695>

Arribazalga, E. 2007. Interpretación de las curvas de supervivencia. *Revista Chilena de Cirugía* 59(1) 75-83: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-40262007000100013>

Butler, T., Kapoore, R. y Vaidyanathan, S. 2020. *Phaeodactylum tricornutum*: A Diatom Cell Factory. *Trends in Biotechnology* 38(6) 606-622: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.12.023>

Cajamar. 2015. ¿Qué son las microalgas? Interés y uso: <https://www.cajamar.es/storage/documents/microalgas-1444391623-ca345.pdf>

Campus. n.d. Consultado el 2 de enero de 2023. Instituto Tecnológico de Boca del Río, página web: <https://bdelrio.tecnm.mx/conocenos/campus.html>

Carranza-Espinal, E., Gómez-Portillo, R. y Antonio Martínez, M. 2015. Comparación de tres salinidades para evaluar el crecimiento poblacional de la microalga *Chaetoceros muelleri*. *Revista Ciencia y Tecnología* 16 36-49: <https://doi.org/10.5377/rct.v0i16.2178>

Castro-Barrera, T., Lara-Andrade, R. y Castro-Mejía, J. 1995. El crustáceo *Artemia franciscana* alimentado con *Spirulina* spp. fresca, como dieta para especies acuáticas comerciales. *HIDROBIOLÓGICA* 4(1) 15-20: <https://hidrobiologica.izt.uam.mx/index.php/revHidro/article/view/559>

Contreras-Sillero, M., Pacheco-Vega, J., Cadena-Roa, M., Contreras-Chavarría, J., Rangel-Dávalos, C., Valdez-González, F. y González-Hermoso, J. 2019. Evaluación del crecimiento y composición bromatológica del rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con diferentes microalgas nativas del Golfo de California. *Revista Bio ciencias* 6(509): <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e509>

Cui, Y., Thomas-Hall, S. y Schenk, P. 2019. *Phaeodactylum tricornutum* microalgae as a rich source of omega-3 oil: Progress in lipid induction techniques towards industry adoption. *Food Chemistry* 297: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.004>

Daboussi, F., Leduc, S., Maréchal, A., Dubois, G., Guyot, V., Pérez-Michaut, C., Amato, A., Falciatore, A., Juillerat, A., Beurdeley, M., Voytas, D., Cavarec, L. y Duchateau, P. 2014. Genome engineering empowers the diatom *Phaeodactylum*

tricornutum for biotechnology. *Nature Communications* 5(3831): <https://doi.org/10.1038/ncomms4831>

Díaz-Ceballos, F. 2005. Introducción a los estudios de cohorte en epidemiología y al análisis de supervivencia. *MedUNAB* 8(1) 43-53: <https://doi.org/10.29375/issn.0123-7047>

Filosofía Institucional. n.d. Consultado el 2 de enero de 2023. Instituto Tecnológico de Boca del Río, página web: <https://bdelrio.tecnm.mx/conocenos/filosofia.html>

Gallegos-Simental, G. 1997. Crecimiento y perfil pigmentario de *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae) durante tres estaciones del año bajo condiciones de laboratorio y al exterior: <http://hdl.handle.net/20.500.12984/451>

Garrido-Weber, E. 2018. Producción y evaluación de *Artemia salina* como alimento vivo en alevines de Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*). *Limitaciones y oportunidades para el desarrollo del Caribe Colombiano* 73-83: https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/5786/limitaciones_oportunidad_desarrollo_caribe_colombiano.pdf?sequence=1&isAllowed=y#page=73

Godínez, D., Gallo, M., Gelabert, R., Díaz, A., Gamboa, J., Landa, V. y Godínez, E. 2004. Crecimiento larvario de *Artemia franciscana* (Kellog, 1906) alimentada con dos especies de microalgas vivas. *Zootecnia tropical* 22(3) 265-276: http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0798-72692004000300005&script=sci_arttext

Gómez, A., Serra, M., Carvalho, G.R. y Lunt, D.H. 2002. SPECIATION IN ANCIENT CRYPTIC SPECIES COMPLEXES: EVIDENCE FROM THE MOLECULAR PHYLOGENY OF *BRACHIONUS PLICATILIS* (ROTIFERA). *Evolution* 56(7) 1431-1444: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01455.x>

Gómez-Luna, L. 2007. Microalgas: Aspectos ecológicos y biotecnológicos. *Revista Cubana de Química* 19(2) 2-20: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543707001>

Guevara, M., Bastardo, L., Roraysi, C., Arredondo-Vega, B., Romero, L. y Gómez, P. 2011. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotífera). *Revista de Biología Tropical* 59(4): https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442011000400006&script=sci_arttext

Lemus, N., Urbano, T., Arredondo-Vega, B., Guevara, M., Vásquez, A., Carreón-Palau, L. y Vallejo, N. 2006. Crecimiento y perfil bioquímico de *Chaetoceros muelleri* cultivada en sistemas discontinuos y semicontinuos. *Ciencias Marinas*. 32(3) 597-603: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48032311>

Lovio-Fragoso, J. 2021. Análisis transcriptómico de la diatomea *Chaetoceros muelleri*, bajo condiciones limitantes de fósforo y su relación con la acumulación de aceites: <http://hdl.handle.net/20.500.12984/6679>

Lupette, J., Jaussaud, A., Seddiki, K., Morabito, C., Brugière, S., Schaller, H., Kuntz, M., Putaux, J., Jouneau, P., Rébeillé, F., Falconet, D., Couté, Y., Jouget, J., Tardif, M., Salvaing, J. y Maréchal, E. 2019. The architecture of lipid droplets in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Algal Research* 38: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101415>

Martín-Jezequiel, V. y Tesson, B. 2012. *Phaeodactylum tricornutum* polymorphism: an overview. *Advances in Algal Cell Biology*. Berlín, Boston: De Gruyter, 43-80. <https://doi.org/10.1515/9783110229615.43>

Mendoza, M., Salazar, M., Suárez, C. y Micolta, V. 2014. Cultivo masivo de rotíferos *Brachionus* spp. Recuperado el 2 de enero de 2023, de: <https://www.ceniacua.org/assets/PDFS/Cultivo%20Marino%20de%20Rotiferos.pdf>

Modesto-Pozuelo, M. 1975. Cultivo del rotífero “*Brachionus plicatilis*”: obtención de un “zooplankton artificial”. *Junta de Estudios de Pesca* 11 401-416: <http://hdl.handle.net/10261/163080>

Pernet, F., Tremblay, R., Demers, E. y Roussy M. 2003. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. *Aquaculture* 1(4) 393-406: [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00030-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00030-9)

Prieto-Guevara, M. 2006. Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuicola*. 2(2): <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/reipa/article/view/1597>

Prieto-Guevara, M., Castaño, F., Sierra, J., Logato, P. y Botero, J. 2006. Alimento vivo en la larvicultura de peces marinos: Copépodos y mesocosmos. *Revista MVZ Córdoba* 11 (Supl) 30-36: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1042>

Scala, S., Carels, N., Falciatore, A., Chiusano, M. y Bowler, C. 2002. Genome Properties of the Diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant Physiology* 129(3) 993-1002: <https://doi.org/10.1104/pp.010713>

Villamar-Ochoa, C. 2000. La *Artemia salina* y su importancia en la producción camaronera. *Revista AquaTIC* 11: <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/95/84>

Xin-Wei, W., Rong-Liang, J., Shan Luo, C., Ping Chen, C. y Hui Gao, Y. 2014. Biomass, total lipid production, and fatty acid composition of the marine diatom

Chaetoceros muelleri in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology* 161 124-130: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.012>

Yu-Hong, Y., Du, L., Hosokawa, M., Miyashita, K., Kokubun, Y., Arai, H. y Taroda, H. 2017. Fatty Acid and Lipid Class Composition of the Microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Oleo Science* 66(4) 363-368: <https://doi.org/10.5650/jos.ess16205>

ANEXO A

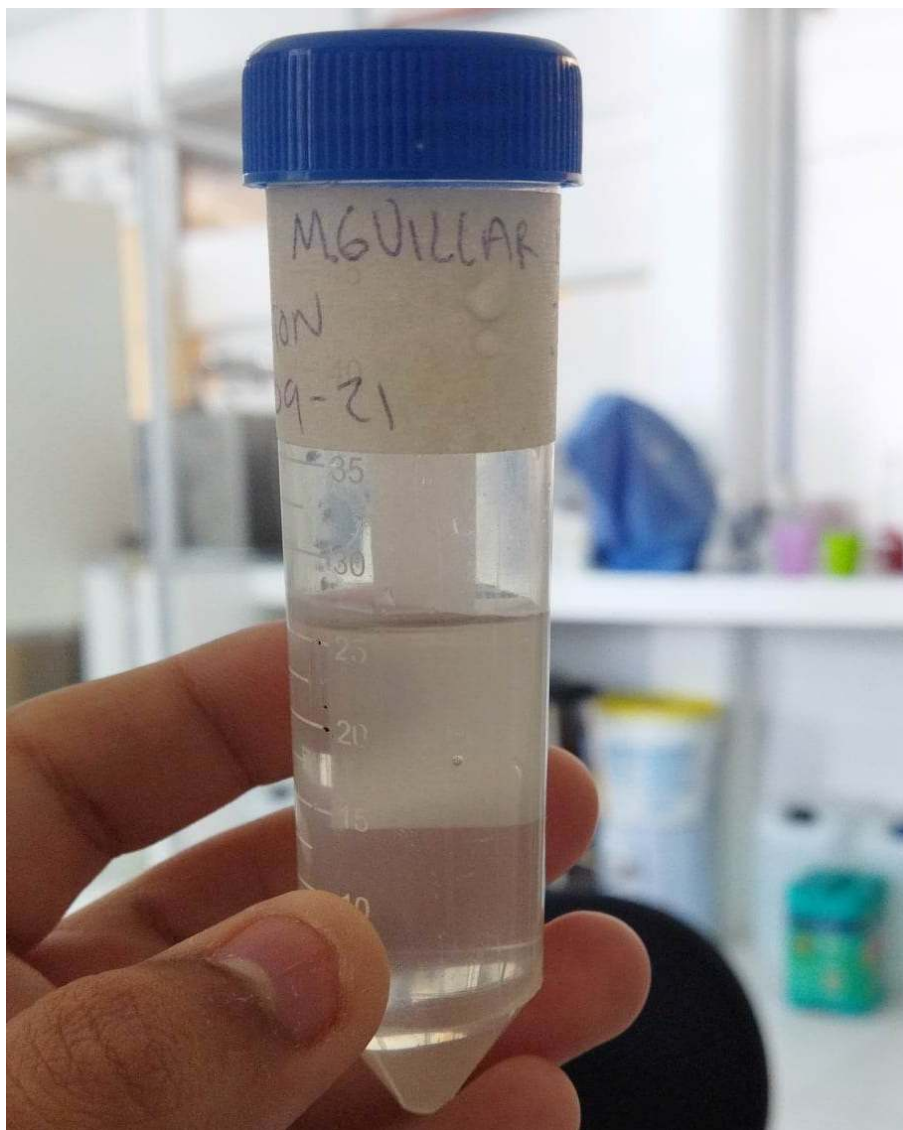


Fig 16. Tubo Falcon utilizando para separar los huevos de las hembras

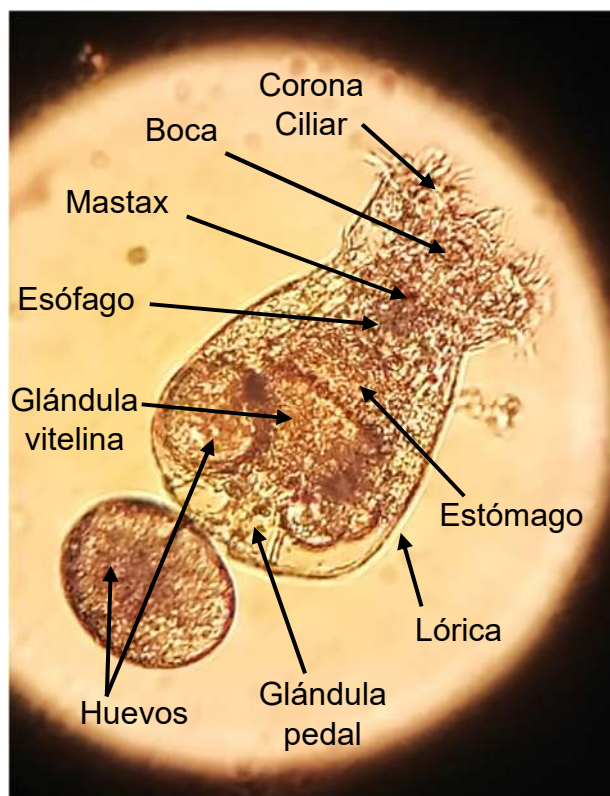


Fig 17. Anatomía del rotífero *Brachionus plicatilis*



Fig 18. Cultivo de *B. plicatilis* en placas de poliestireno

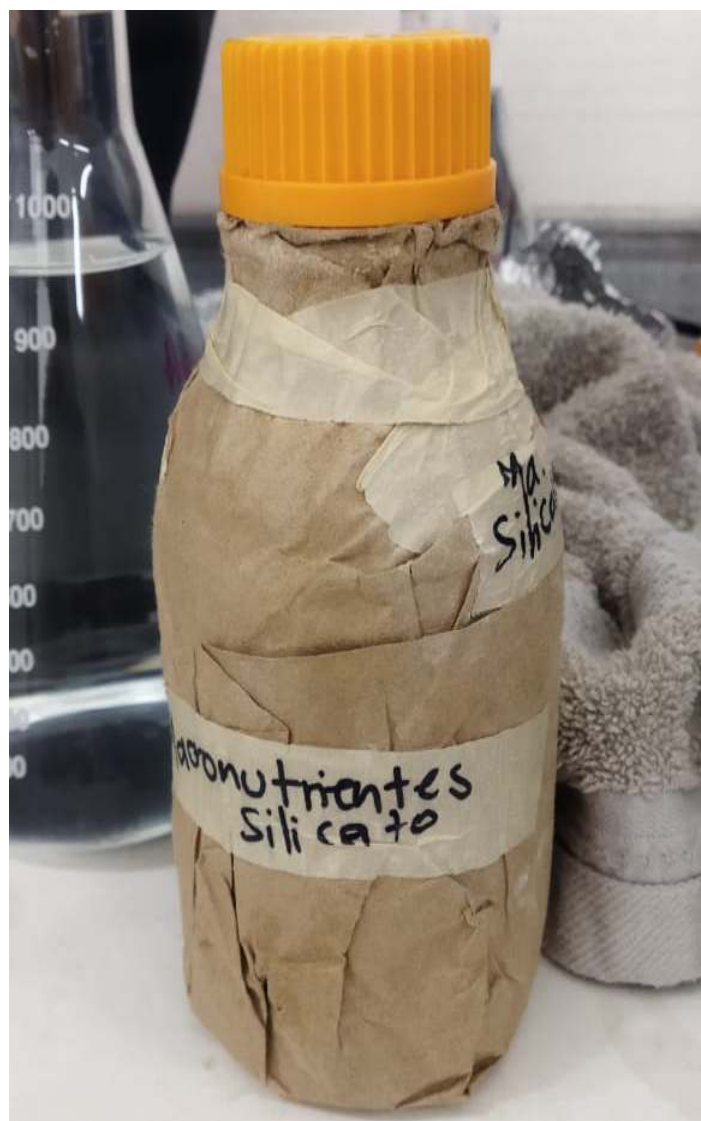


Fig 19. Macronutrientes con silicatos para la elaboración de los medios de cultivo

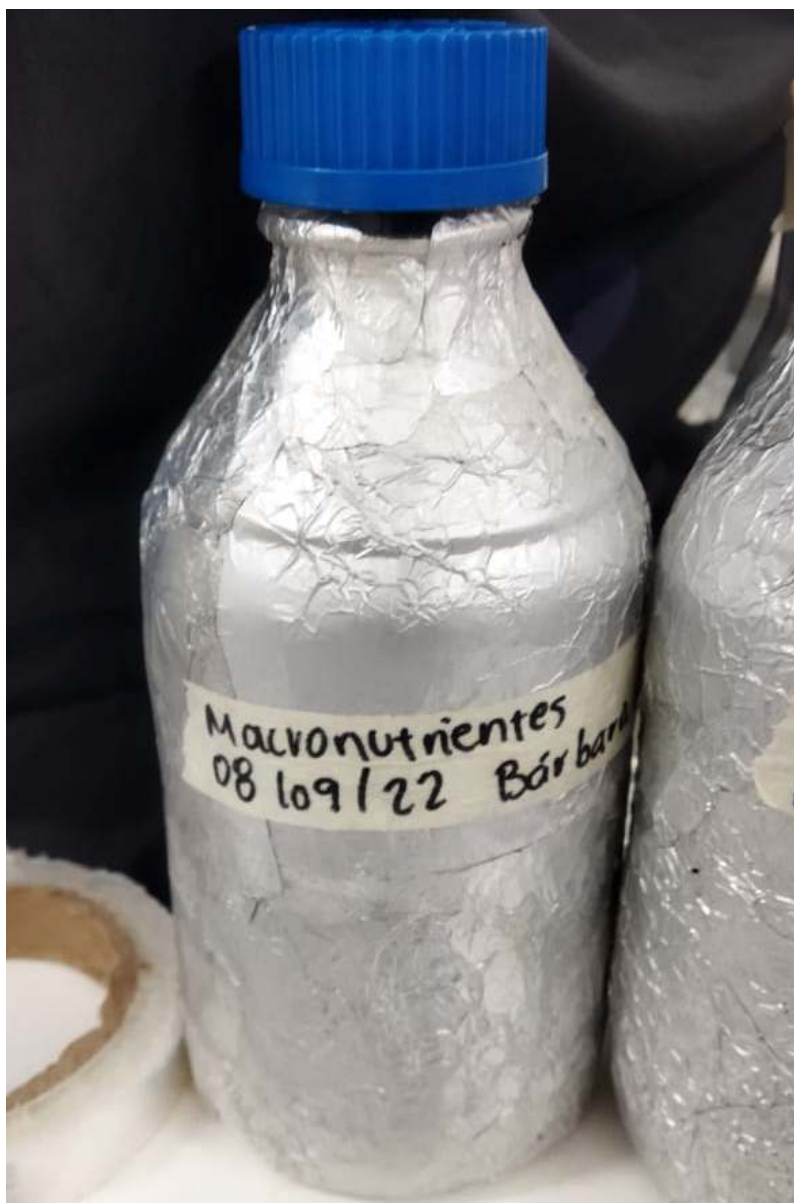


Fig 20. Macronutrientes con silicatos para la elaboración de los medios de cultivo

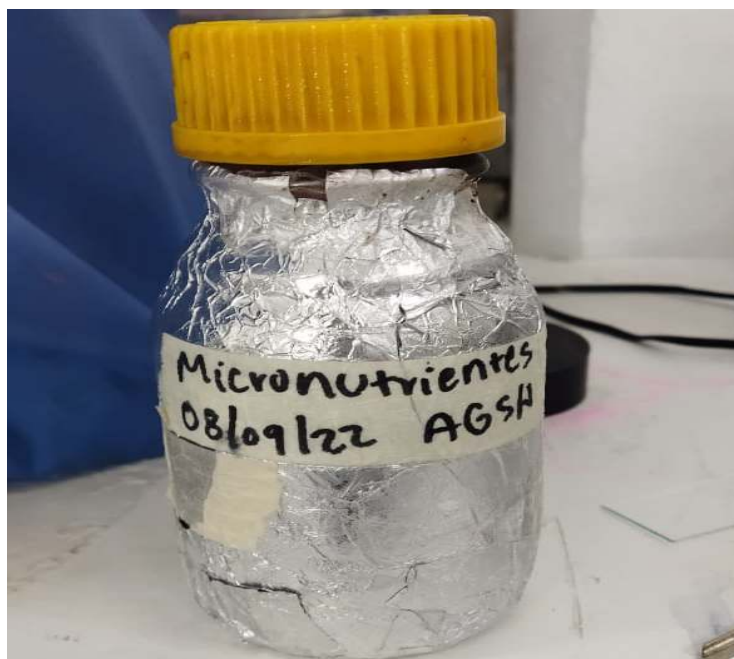


Fig 21. Micronutrientes para la elaboración de medios de cultivo

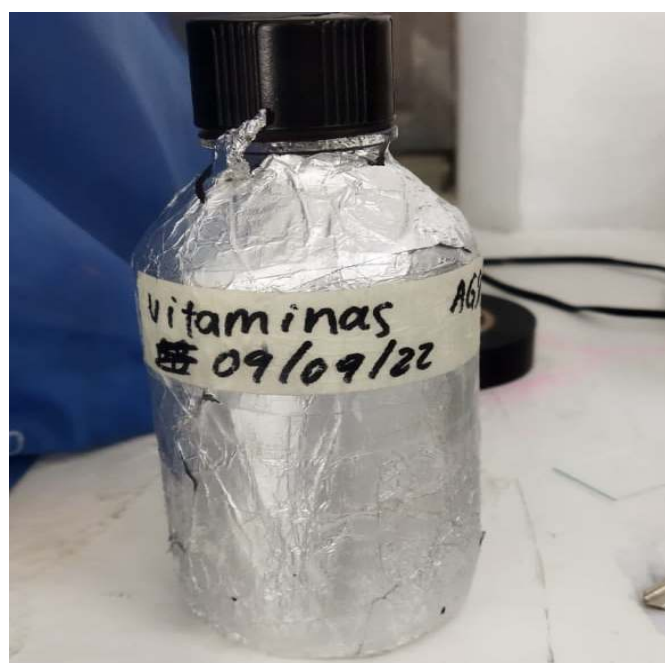


Fig 22. Vitaminas para la elaboración de medios de cultivo

ANEXO B

$$q_x = \frac{d_x}{n_x}$$

Fórmula 1. Cálculo del índice de mortalidad durante el intervalo de “x” a “x+1”

$$l_x = \frac{n_x}{n_0}$$

Fórmula 2. Cálculo de la proporción de organismos sobreviviente al inicio del intervalo “x”

$$L_x = \frac{n_x + (n_{x+1})}{2}$$

Fórmula 3. Cálculo del número de individuos vivos en promedio durante el intervalo de “x” a “x+1”

$$T_x = \sum_{-\infty}^{\infty} L_x$$

Fórmula 3. Cálculo del conjunto de individuos/unidades de tiempo (días)

$$ex = \frac{Tx}{nx}$$

Fórmula 4. Cálculo de la esperanza de vida promedio de los organismos (Krebs, 1985).

$$300 / \# \text{ de células contadas} = x (400)(10,000)$$

Fórmula 5. Cálculo del número de cel/mL en las áreas A, B y C de la cámara de Neubauer

$$\frac{(concentración \text{ a usar})(100ml)}{Total \text{ de cel/mL en las áreas A, B y C}/3}$$

Fórmula 6. Cálculo de los mililitros a usar de microalga para la comida de los rotíferos (Krebs, 1985).