



**ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO**

EFFECTO EN LOS CULTIVOS DEL COPÉPODO *Apocyclops aff. spartinus*  
ALIMENTADOS CON LA MICROALGA *Diacronema lutheri*, Y LOS HONGOS  
*Schizochytrium sp* Y *Saccharomyces cerevisiae*

**Línea de investigación:**  
**Desarrollo de productos de la acuicultura**

Tesis para optar el grado académico de Maestro en Acuicultura

**Autor**

Figueroa Vargas Machuca, Manuel Eduardo

**Asesor**

Rodenas Seytuque, Pedro José

ORCID: 0000-0002-0830-6202

**Jurado**

Lescano Sandoval, Jorge

Martínez Alban, Pascual Alejandro

Marín Machuca, Olegario

**Lima - Perú**

**2024**



# EFFECTO EN LOS CULTIVOS DEL COPÉPODO Apocyclops aff. spartinus ALIMENTADOS CON LA MICROALGA Diacronema lutheri, Y LOS HONGOS Schizochytrium sp Y Saccharomyces cerevisiae

## INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

16%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://pt.scribd.com">pt.scribd.com</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="https://cibnor.repositorioinstitucional.mx">cibnor.repositorioinstitucional.mx</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="https://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="https://minerva.usc.es">minerva.usc.es</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="https://www.fao.org">www.fao.org</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="https://revistas.unal.edu.co">revistas.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="https://documents.mx">documents.mx</a> Fuente de Internet	1%



ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO

EFFECTO EN LOS CULTIVOS DEL COPÉPODO *Apocyclops aff. spartinus*  
ALIMENTADOS CON LA MICROALGA *Diacronema lutheri*, Y LOS HONGOS  
*Schizochytrium sp* Y *Saccharomyces cerevisiae*

Línea de investigación

Desarrollo de productos de la acuicultura

Tesis para optar el grado académico de Maestro en Acuicultura

Autor

Figueroa Vargas Machuca, Manuel Eduardo

Asesor

Rodenas Seytuque, Pedro José

ORCID: 0000-0002-0830-6202

Jurado

Lescano Sandoval, Jorge

Martínez Alban, Pascual Alejandro

Marín Machuca, Olegario

Lima - Perú

2024

**Dedicatoria:**

Dedico la presente tesis a mi familia,  
quienes me han apoyado desde el  
principio en el desarrollo de la misma.

**Agradecimiento:**

A mi asesor el Doctor Pedro José Rodenas Seytuque por su valiosa dirección en la elaboración del presente trabajo.

Al personal del área de alimento vivo en el IMARPE que siempre colaboraron desinteresadamente para la realización del trabajo.

A los Ingenieros en la Estación la Arena de FONDEPES, Oswaldo Mayta Castellanos y Elizabeth Urrutia Aguilar por la ayuda técnica brindada.

A la Doctora Cecil Tenorio García Blasquez y al Ingeniero Claudio Angles Medeiros por su valioso asesoramiento.

A la Mg. Carmen del Pilar Minaya Agüero por su valioso apoyo.

## Índice

RESUMEN.....	xi
ABSTRACT .....	xii
I. Introducción .....	1
1.1. Planteamiento del Problema .....	1
1.2. Descripción del Problema.....	1
1.3. Formulación del Problema .....	4
1.3.1. <i>Problema General</i> .....	4
1.3.2. <i>Problemas Específicos</i> .....	4
1.4. Antecedentes .....	4
1.5. Justificación de la Investigación .....	7
1.6. Limitaciones de la Investigación.....	9
1.7. Objetivos de la Investigación .....	9
1.7.1. <i>Objetivo General</i> .....	9
1.7.2. <i>Objetivos Específicos</i> .....	10
1.8. Hipótesis .....	10
II. Marco Teórico .....	11
2.1. Marco Conceptual .....	11
2.1.1. <i>Alimento Vivo en Acuicultura</i> .....	11
2.1.2. <i>Fitoplancton</i> .....	13

2.1.2.1.	<b>Biología del Fitoplancton.</b>	14
2.1.2.2.	<b><i>Diacronema lutheri.</i></b>	16
2.1.3.	<i>Hongos</i>	17
2.1.3.1.	<b><i>Saccharomyces cerevisiae.</i></b>	18
2.1.3.2.	<b><i>Schizochytrium sp.</i></b>	19
2.1.4.	<i>Zooplancton</i>	21
2.1.4.1.	<b>Copéodos.</b>	21
2.1.4.2.	<b>Morfología de los Copéodos</b>	22
2.1.4.3.	<b>Reproducción de los Copéodos</b>	23
2.1.4.4.	<b>Descripción de género <i>Apocyclops</i></b>	23
2.1.5.	<i>Ácidos Grasos Poliinsaturados</i>	25
III.	<b>Método</b>	28
3.1.	Tipo de investigación	28
3.2.	Población y muestra	28
3.3.	Operacionalización de Variables	29
3.4.	Instrumentos	30
3.5.	Procedimiento	31
3.5.1.	<i>Identificación</i>	31
3.5.2.	<i>Acondicionamiento y Cultivo</i>	31
3.5.3.	<i>Mantenimiento</i>	34
3.5.4.	<i>Control de Parámetros</i>	34

3.6. Análisis de datos .....	35
IV. Resultados .....	36
4.1. Análisis del <i>Apocyclops aff. spartinus</i> alimentado con la microalga <i>Diacronema lutheri</i> .....	36
4.2. Análisis del <i>Apocyclops aff. spartinus</i> alimentado con el hongo <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	37
4.3. Análisis del <i>Apocyclops aff. spartinus</i> alimentado con el hongo <i>Schizochytrium</i> sp.....	39
4.4. Comparación del perfil lipídico del copépodo alimentado con tres alimentos.	41
4.4.1. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C18-3n 3 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	42
4.4.2. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C20-5n 3 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	44
4.4.3. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C22-6n 3 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	46
4.4.4. Comparación del contenido de ácido graso Omega 6: C18-2n 6 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	48
4.4.5. Comparación del contenido de ácido graso Omega 6: C20-4n 6 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	50
4.4.6. Comparación del contenido de ácido graso Omega 9: C18-1n 9 en los copéodos alimentados con los tres alimentos .....	52
4.5. Análisis de la curva de crecimiento del copépodo <i>Apocyclops aff. spartinus</i> alimentado con tres alimentos.....	54

4.5.1. <i>Análisis de la tendencia de crecimiento con el alimento Diacronema lutheri</i> .....	56
4.5.2. <i>Análisis de la tendencia de crecimiento con el hongo Saccharomyces cerevisiae</i> .....	57
4.5.3. <i>Análisis de la tendencia de crecimiento con el hongo con Schizochytrium sp</i> .....	58
4.6. Valores promedio de pH y Oxígeno disuelto obtenidos.....	59
V. Discusión de los resultados.....	60
VI. Conclusiones.....	63
VII. Recomendaciones.....	64
VIII. Referencias.....	65
IX. Anexos.....	71

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1</b>	<i>Operación de variables</i> .....	29
<b>Tabla 2</b>	<i>Equipos</i> .....	30
<b>Tabla 3</b>	<i>Porcentaje de lípidos totales en los copépodos alimentados con Diacronema lutheri</i> .....	36
<b>Tabla 4</b>	<i>Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copépodos alimentados con Diacronema lutheri</i> .....	36
<b>Tabla 5</b>	<i>Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en los copépodos por grupos Omega</i> .....	37
<b>Tabla 6</b>	<i>Porcentaje de lípidos totales en los copépodos alimentados con Saccharomyces cerevisiae</i> .....	38
<b>Tabla 7</b>	<i>Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copépodos alimentados con el hongo Saccharomyces cerevisiae</i> .....	38
<b>Tabla 8</b>	<i>Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en el copépodo por grupos Omega</i>	39
<b>Tabla 9</b>	<i>Porcentaje de lípidos totales en los copépodos alimentados con Schizochytrium sp</i> .....	40
<b>Tabla 10</b>	<i>Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copépodos alimentados con el hongo Schizochytrium sp</i> .....	40
<b>Tabla 11</b>	<i>Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en el copépodo por grupos Omega</i>	41
<b>Tabla 12</b>	<i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3: C18-3n 3</i> .....	42
<b>Tabla 13</b>	<i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3: C20-5n 3</i> .....	44

<b>Tabla 14</b> <i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3:</i> <i>C22-6n 3</i> .....	46
<b>Tabla 15</b> <i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 6:</i> <i>C18-2n 6</i> .....	48
<b>Tabla 16</b> <i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 6:</i> <i>C20-4n 6</i> .....	50
<b>Tabla 17</b> <i>Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 9:</i> <i>C18-1n 9</i> .....	52
<b>Tabla 18</b> <i>Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Diacronema lutheri</i> .....	54
<b>Tabla 19</b> <i>Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Saccharomyces cerevisiae</i> .....	55
<b>Tabla 20</b> <i>Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Schizochytrium sp</i> .....	55
<b>Tabla 21</b> <i>Valores promedio de los diferentes cultivos</i> .....	59

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b>	<i>Diacronema lutheri</i> .....	17
<b>Figura 2</b>	<i>Sacchamoryces Cervevisiae</i> .....	19
<b>Figura 3</b>	<i>Schizochytrium</i> sp.....	20
<b>Figura 4</b>	<i>Apocyclops aff. sparrtinus</i> .....	25
<b>Figura 5</b>	Cultivo de <i>Apocyclops aff. spartinus</i> en matraces de 500ml.....	31
<b>Figura 6</b>	Cultivo de <i>Apocyclops aff. spartinus</i> en beackers de 1 litro.....	32
<b>Figura 7</b>	Cultivo final de <i>Apocyclops aff. spartinus</i> a 120 litros .....	33
<b>Figura 8</b>	Curvas de crecimiento de <i>Apocyclops aff. spartinus</i> con los alimentos .....	56
<b>Figura 9</b>	Curva de crecimiento del copépodo alimentado con el alga <i>Diacrenema lutheri</i> .56	
<b>Figura10</b>	Curva de crecimiento del copépodo alimentado con el hongo <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	57
<b>Figura 11</b>	Curva de crecimiento del copépodo alimentado con <i>Schizochytrium</i> sp .....	58
<b>Figura 12</b>	Cultivo de copépodos alimentados con <i>D. lutheri</i> .....	71
<b>Figura 13</b>	Cultivo de copépodo alimentados con <i>S. cerevisiae</i> .....	71
<b>Figura 14</b>	Cultivo de copépodo alimentados con <i>Schizochytrium</i> sp.....	72

## Resumen

**Objetivo:** Determinar el efecto en los cultivos del copépodo *Apocyclops aff. spartinus*, alimentados con la microalga *Diacronema lutheri*, y los hongos *Schizochytrium* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*. **Método:** El trabajo se realizó en el laboratorio de Cultivos Menores y Ficología de la FOPCA de la Universidad Nacional Federico Villarreal. Se evaluó durante 3 semanas la densidad, la salinidad, temperatura, oxígeno, pH y luminosidad; al término de este tiempo se realizó los análisis de lípidos y ácidos grasos. **Resultados:** Los copéodos alimentados con *Diacronema lutheri* dieron un contenido promedio de 565.37 ug/g en C 22:6n-3 (DHA) y 116.51 ug/g en C 20:5n-3 (EPA), con *Schizochytrium* sp. el valor de DHA fue de 646.98 y de EPA de 281.92 ug/g, cuando el alimento fue el hongo *Saccharomyces cerevisiae*, el resultado fue de 0.84 ug/g en DHA y de 0.17 ug/g en EPA. El cultivo de los copéodos alimentados con la microalga registro un valor promedio de O<sub>2</sub> de 4.7 mg/l un pH de 8, en el caso de *Saccharomyces cerevisiae* el valor promedio de O<sub>2</sub> fue de 3.9 mg/litro y un pH promedio de 7.5, con *Schizochytrium* sp. el valor promedio del O<sub>2</sub> fue de 3.8 mg./l y un pH promedio de 7.2. La mejor densidad fue de 4299 org. /L alimentados con *Diacronema lutheri*. **Conclusiones:** Los mejores alimentos desde el punto de vista nutricional fueron *Diacronema lutheri* y *Schizochytrium* sp. Poblacionalmente *Diacronema lutheri* supero a las otras dos.

*Palabras claves:* copépodo, alimento, valor nutricional

### Abstract

**Objective:** Determine the effect on crops of the copepod *Apocyclops* aff. *spartinus*, fed with the microalgae *Diacronema lutheri*, and the fungi *Schizochytrium* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. **Method:** The work was carried out in the Minor Crops and Phycology laboratory of the FOPCA of the National University Federico Villarreal. Density, salinity, temperature, oxygen, pH and luminosity were evaluated for 3 weeks; At the end of this time, lipid and fatty acid analyzes were performed. **Results:** Copepods fed *Diacronema lutheri* gave an average content of 565.37 ug/g in C 22:6n-3 (DHA) and 116.51 ug/g in C 20:5n-3 (EPA), with *Schizochytrium* sp. the value of DHA was 646.98 and EPA was 281.92 ug/g, when the food was the fungus *Saccharomyces cerevisiae*, the result was 0.84 ug/g in DHA and 0.17 ug/g in EPA. The culture of the copepods fed with the microalga recorded an average O<sub>2</sub> value of 4.7 mg/l and a pH of 8, in the case of *Saccharomyces cerevisiae* the average O<sub>2</sub> value was 3.9 mg/liter and an average pH of 7.5, with *Schizochytrium* sp. The average value of O<sub>2</sub> was 3.8 mg/l and an average pH of 7.2. The best density was 4299 org. /L fed with *Diacronema lutheri*. **Conclusions:** The best foods from a nutritional point of view were *Diacronema lutheri* and *Schizochytrium* sp. Populationally, *Dicronema lutheri* surpassed the other two.

*Keywords:* copepod, food, nutritional value

## **I. Introducción**

La Acuicultura y la pesca han sido y siguen siendo las actividades por las cuales los seres humanos tenemos acceso a los recursos hidrobiológicos, ambas actividades tuvieron una curva ascendente hasta hace cerca de 40 años, donde la pesca se detiene y mantiene una meseta hasta el día de hoy, debido a políticas globales a nivel mundial sobre todo para evitar una sobre explotación del recurso.

La demanda del recurso sigue en aumento y esto es lógico pues la población sigue creciendo y por consiguiente la acuicultura sigue en ascenso, el mayor problema que tiene la acuicultura es el tener un alimento idóneo para las primeras etapas del cultivo.

Es en este sentido es que se realizó el siguiente trabajo donde se evaluó a los copépodos con diferentes dietas, ya que estos podrán ser utilizados como alimento para organismos hidrobiológicos en sus primeros estadios.

### **1.1. Planteamiento del Problema**

Carencia de organismos que reúnan las condiciones requeridas para su utilización como alimento en el cultivo de larvas y juveniles de especies hidrobiológicas.

### **1.2. Descripción del Problema**

En el año 2018, en la acuicultura de animales, los tres principales rubros fueron: los peces de aleta (54,3 millones de toneladas, 139 700 millones de USD), procedentes tanto de aguas continentales (47 millones de toneladas, 104 300 millones de USD), como de la acuicultura marina y costera (7,3 millones de toneladas, 35 400 millones de USD). En segundo lugar, se ubicaron los moluscos (17,7 millones de toneladas, 34 600 millones de USD), los crustáceos ocuparon el tercer lugar (9,4 millones de toneladas, 69 300 millones de USD), invertebrados marinos (435 400 toneladas, 2 000 millones de USD). (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2020). Cuyo alimento fue a base de pellet y de plancton según su estadio.

En 2020, los peces de aleta cultivados alcanzaron los 57,5 millones de toneladas (146 100 millones de USD), que incluían 49,1 millones de toneladas (109 800 millones de USD) procedentes de la acuicultura continental y 8,3 millones de toneladas (36 200 millones de USD) del cultivo marino y la acuicultura costera. (FAO, 2022, p 27)

Según el reporte oficial del Estado (Ministerio de la Producción, [PRODUCE], 2022, p.140) podemos deducir que La acuicultura en el Perú está representada por un número limitado de especies, siendo las más importantes la trucha, tilapia, langostino, concha de abanico. existen otras especies de cultivo sobre todo amazónicas como el paiche, paco y gamitana.

El cultivo de especies hidrobiológicas en varios países de Latinoamérica tiene como principal recurso principalmente a especies introducidas, donde los protocolos están desde hace años bien conocidos, los países de la región hacen esfuerzos para poder cultivar sus recursos endémicos tratando de adaptar las tecnologías ya conocidas muchas veces con ayuda de países más desarrollados, a pesar de esto nuevamente el cuello de botella sigue siendo el encontrar un alimento que no solamente sea atractivo visualmente sino que reúna las características nutricionales que requieren los organismos que estamos cultivando en sus primeros estadios, de esta manera podremos mejorar el rendimiento y por ende hacer atractivo económicamente el cultivo. “Para que la larva de un organismo sobreviva y pase a las siguientes etapas pos larvales, juveniles y adulta, debe de disponer de alimento adecuado, con la calidad apropiada y en la concentración requerida entre otros requisitos” (Castro, 2004, p. XIV)

En Acuicultura siempre el punto álgido para el cultivo de muchas especies de interés comercial es el encontrar un alimento que reúna las condiciones nutricionales, sobre todo la presencia de ácidos grasos insaturados muy importante en los primeros estadios larvarios ya sea de crustáceos o peces. En los primeros días de vida de los organismos acuáticos, estos no

ingieren comida preparada artificialmente. Muchas veces porque el alimento es más grande que sus bocas o que visualmente no les es atractivo para consumirlo (Stikney, 2009).

Uno de los puntos álgidos en los cultivos es la parte nutricional, esto a pesar de que tenemos en el mercado una amplia oferta de productos de alimentos para diferente tipo de especies acuícolas, sobre todo para peces, sin embargo, también podemos apreciar que estos alimentos no satisfacen las necesidades de las especies de cultivo sobre todo cuando estamos trabajando con organismos en sus primeras etapas no logrando el desarrollo adecuado. (Castro, 2004).

La correcta toma, digestión y asimilación de los alimentos es fundamental para el normal crecimiento y supervivencia de las larvas de peces; de no ser así éstas mueren. Las larvas de peces poseen sistemas digestivos y tienen hábitos alimenticios que difieren de los adultos. Las larvas tienen un régimen de ontogenia trófica, la dieta va evolucionando a medida que el animal va creciendo, y esto se ve en la transformación que ocurre con sus requerimientos digestivos. Cuando reciben la primera alimentación, el sistema digestivo de las larvas es básico, estructural y funcionalmente menos complejo que el de los adultos. (Govoni et al., 1986).

La *Artemia* y el rotífero (*Brachionus* spp.) como alimento vivo no han podido solucionar el problema nutricional o de aceptación para los organismos de cultivo, ya sea porque no tienen el valor nutricional que requiere la larva, el tamaño que no es el adecuado o simplemente por su comportamiento. Se ha observado que las larvas de peces de diferentes especies capturadas en la naturaleza, los nauplios de copépodos calanoides son parte importante en su dieta. (Marcus, 2005).

En tal sentido, los copépodos están siendo utilizados sobre todo en la acuicultura de peces marinos, aún se desconoce mucho acerca de sus requerimientos fisicoquímicos y biológicos de muchas especies, se siguen haciendo estudios acerca de su alimentación no solo

para optimizar su cultivo, sino que estos lleguen con un mejor valor nutricional a las larvas o juveniles de las especies cultivadas.

### **1.3. Formulación del Problema**

#### **1.3.1. Problema General**

¿De qué manera *Diacronema lutheri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizochytrium* sp. afectan el cultivo de *Apocyclops aff. spartinus*?

#### **1.3.2. Problemas Específicos**

¿Cómo incide *Diacronema lutheri* en el perfil lipídico de *Apocyclops aff. spartinus*?

¿Cómo incide *Saccharomyces cerevisiae* en el perfil lipídico de *Apocyclops aff. spartinus*?

¿Cómo incide *Schizochytrium* sp. en el perfil lipídico de *Apocyclops aff. spartinus*?

¿Cómo afectan *Diacronema lutheri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizochytrium* sp. en la curva de crecimiento y densidad de *Apocyclops aff. spartinus*?

### **1.4. Antecedentes**

Comenzaremos mencionando los trabajos realizados en el exterior. “En Japón a mediados de los 70 se hicieron estudios intensivos por especialistas en plancton para determinar procedimientos técnicos en el desarrollo del cultivo de copépodos marinos” (Anraku & Hirano, 1973 como se citó en Uye, 2005, p. 77).

En 1972 La Agencia de Pesca comenzó un proyecto titulado “Búsqueda de especies adecuadas y cultivo en masa de zooplancton como alimento para la etapa temprana de semillas de peces en la piscicultura marina”. Fruto de esto fue la recomendación de 13 especies de copépodos: *Acartia clausi*, *A. longiremis*, *Eurytemora pacifica*, *Euterpina acutifrons*, *Microsetella norvegica*, *Oithona brevicornis*, *O. nana*, *O. similis*, *Pseudodiaptomus inopinus*, *P. marinus* y *Tigriopus japonicus*. De estos solo *Tigriopus japonicus* resulto satisfactorio para el cultivo, en la actualidad los copépodos

comúnmente usados son *Tigriopus japonicus* y *Acartia tsuensis* (Omori, 1973; Nyhon, 1979 como se citó en Uye, 2005, p. 77).

“En Taiwan, Shiao en 1988 realizó estudios básicos del copépodo *Schmackeria dubia* luego identificado como el copépodo *Pseudodiaptomus annandalei* para estudiar la alimentación selectiva del copépodo” (Shiao, 1988 como se citó en Su et al., 2005, p. 187).

(Chang, 1992) estudio la fisioecología del copépodo cyclopoide *Apocyclops royi* con la finalidad de ver la relación de temperatura, salinidad y densidad de alimento con el ciclo vital del mismo. ambos estudios se diseñaron originalmente para proporcionar una base de datos para estimar la producción de copépodos en fuentes de agua naturales.

A fines del siglo pasado y comienzos de este se hizo frecuente las publicaciones donde se consideraba a los copépodos como una fuente importante de alimento vivo para la acuicultura tal es el caso de publicaciones referentes como el *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture* (Lavens & Sorgeloos, 1996), *Intensive Cultivation of a Calanoid Copepod for Live Food in Fish Culture* (Rippingale & Payne, 2001) y *Live Feeds in Marine Aquaculture* (Støttrup & McEvoy, 2003). Sin embargo, debido a la gran cantidad de especies existentes no se ha podido establecer a la fecha un protocolo de cultivo uniforme, o en todo caso ver un género que satisfaga las necesidades en acuicultura.

Han aparecido un número importante de copépodos que reúnen las condiciones para la industria acuícola, por ejemplo, en el grupo de los harparticoides tenemos el caso de *Tisbe* spp (Kahan et. al, 1982; Zhang & Uhling, 1993; Støttrup & Norsker, 1997; Nanton & Castell, 1998), *Euterpina acutifrons* (Kraul, 1990), *Amphiascoides atopus* (Sun & Fleeger, 1995) y *Nitroka lacustris* (Rhodes, 2003), los resultados obtenidos en estos trabajos muestran que tienen una alta perspectiva para poder ser utilizados en la industria acuícola. (Fleeger, 2005, p. 14)

En la India se realizó la investigación del copépodo calanoide *Oithona rigida* (Vasudevan et al, 2013) con el fin de ver su posibilidad de cultivo y uso en la maricultura usando como alimento *Chlorella vulgaris* y *Skeletonema costatum*.

En Egipto tenemos el estudio realizado por Magouz et al. (2021), donde se ve como incide la soya, levadura, el salvado de arroz y el almidón de maíz en el cultivo de *Oithona nana*.

En Chile encontramos el trabajo Cultivo experimental de *Tigriopus* sp. (Mujica et al., 1995), donde estudian la factibilidad biológica del cultivo de esta especie, a fin de alimentar larvas de peces y crustáceos de interés comercial. En el presente estudio se entregan los resultados obtenidos en el cultivo experimental de esta especie, referidos a crecimiento poblacional, fecundidad, estado de desarrollo, alimentación, temperatura y salinidad.

En Colombia Ruiz-Guzman et al. (2011) publican un trabajo donde realizan el cultivo experimental del copépodo *Cyclopina* sp. Utilizando como alimento diferentes tipos de microalgas.

En Ecuador, Cambefort (2009), evalúa el cultivo de *Acartia* spp. Alimentándolos con tres diferentes microalgas por espacio de siete días.

En México, Osorio (1998), realiza un estudio durante 15 días para determinar los efectos de la salinidad y temperatura sobre el calanoide *Pseudodiaptomus euryalinus*, determinando temperatura y salinidad óptimas de 23 °C y 35 psu, respectivamente.

También encontramos el trabajo realizado en dos copéodos uno harpaticoide *Tisbe monozota* y un calanoide *Pseudodiaptomus euryhalinus* por Puello et al. (2008). Ambas especies mostraron valores superiores en contenido proteico y de lípidos totales que el alimento vivo empleado rutinariamente para larvicultura (artemia y rotíferos enriquecidos). Así mismo presentaron gran adaptabilidad para su cultivo.

En el Perú Cisneros & De La Cruz (2007) en el informe técnico anual de IMARPE del año del 2007 mencionan sobre el cultivo de *Brachionus* sp. y un copépodo nativo ambos de las Salinas de Chilca, pero no identifican al copépodo.

Torres (2019) en su tesis de Ingeniero compara los cultivos de *Oithona nana* alimentados con *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros* sp.

Alejos et al. (2021) realizaron un estudio para ver la composición de ácidos grasos en copepoditos de *Tisbe* sp. y *Apocyclops* sp. alimentándolos con *Isochrysis galbana*.

### **1.5. Justificación de la Investigación**

Las larvas de muchos organismos marinos deben alimentarse mucho antes de que concluya el desarrollo de su sistema digestivo. Los alimentos preparados existentes en el mercado no son los apropiados para para las primeras fases de la vida larvaria, es necesario alimentar a las larvas con organismos vivos desde la primera ingesta. En los cultivos en general, se han tenido que realizar cultivos paralelos, uno de microalgas que sirve de alimento al segundo cultivo que es el de producción de zooplancton (generalmente artemias o rotíferos) el cual sirve para alimentar las larvas de los peces. A lo largo de los años se hicieron numerosas pruebas para poder establecer un protocolo de trabajo en cuanto a estos cultivos auxiliares; la nutrición de estos organismos ha requerido de estudios tan prolijos como al de sus predadores. Sin embargo, los costos de producción siguen siendo elevados y son estos la mayor preocupación de los acuicultores y no la calidad nutricional de los alimentos vivos (Guillaume et al., 2004).

Los organismos que utilizamos en acuicultura para alimentar a los primeros estadios de peces y crustáceos son micro invertebrados y por décadas se han utilizado principalmente *Artemia* spp. Y *Brachionus* spp.

Los rotíferos del género *Brachionus* son los ampliamente utilizados sobre todo en piscicultura marina siendo el más común *Brachionus plicatilis*, otro más pequeño es

*Brachionus rotundiformis*, existiendo diferentes linajes de este género, presentando diferentes tasas de crecimiento y rendimiento, estos organismos son utilizados como primer alimento para los peces y larvas de camarón (Stikney, 2009).

La *Artemia* también es utilizada como primer alimento en muchos organismos acuáticos o como segundo alimento cuando previamente se ha utilizado rotíferos, generalmente se brinda este organismo en su fase de nauplio, esto tiene la ventaja de no hacer un cultivo auxiliar de microalgas para alimentarlos (Stikney, 2009).

En los océanos los animales por lo general en sus primeras etapas consumen zooplancton, principalmente copépodos hay que tener en cuenta que estos organismos representan alrededor del 90% del zooplancton marino, tal vez sean los seres vivos pluricelulares más numerosos del planeta, aproximadamente 11500 especies (Lee et al., 2005).

Varias investigaciones han comprobado que algunas variedades de copépodos tienen un valor nutricional más alto que la *Artemia*, esto se debe a que el perfil nutricional de los copépodos aparentemente coincide mejor con los requisitos nutricionales de las larvas de peces marinos. Por otro lado, se pueden suministrar bajo sus diferentes estadios, ya sea como nauplios o copepoditos al inicio de la alimentación y como copépodos adultos hasta el cambio de régimen alimenticio por el artificial. Otra ventaja es su movimiento característico en zigzag, seguido de una corta fase de planeo, este estímulo visual es importante para muchos peces que los prefieren antes que a otro tipo de zooplancton como los rotíferos. Una ventaja que ofrecen los copépodos, específicamente especies de tipo bentónico como *Tisbe*, es que los copépodos no consumidos mantienen limpias las paredes de los tanques de cría de larvas de peces mediante el pastoreo de algas y residuos. (Lavens & Sorgeloos, 1996).

Como se ha podido ver, es reconocido el papel que juegan los copépodos en la alimentación inicial de muchas especies marinas comerciales, no solo por el valor nutricional que estos tienen, sino por las características que presentan, ya sea tamaño o movimiento.

De las especies que se han investigado, pocas son las que presentan un potencial para ser utilizadas como una alternativa en la alimentación de larvas de peces y crustáceos, factores como infraestructura, velocidad de reproducción, densidades, tipo de alimentación, comportamiento y sobre todo su valor nutricional han hecho que estos no sean completamente satisfactorios en acuicultura.

Los acuicultores siguen buscando el tipo de copépodo que presente características positivas ante estos factores y de esta manera mejorar el rendimiento de la producción de peces y crustáceos ya que hasta el momento sigue siendo el cuello de botella en la producción de estas especies en cautiverio.

Es por ello por lo que estudiar el copépodo *Apocyclops aff spartinus* y ver su respuesta en función a una alimentación compuesta por estos tres microorganismos nos ayudaría a determinar su factibilidad biológica de cultivo, nos indicara si es el organismo que solucione parcial o totalmente esta fase tan delicada como es la alimentación de larvas de especies marinas cultivadas.

## **1.6. Limitaciones de la Investigación**

Al tratarse de una investigación que se desarrolló en el laboratorio de Cultivos Menores de la FOPCA básicamente se enfrentó a dos limitantes, la primera es la imposibilidad de hacer cultivos a gran escala y de esta manera poder evaluar el cultivo tal como sucedería en una eclosión de peces o crustáceos, la segunda es no poder evaluar el copépodo como alimento directamente con las larvas de los peces y crustáceos.

## **1.7. Objetivos de la Investigación**

### ***1.7.1. Objetivo General***

Evaluar el efecto en los cultivos del copépodo *Apocyclops aff. spartinus* alimentados con la microalga *Diacronema lutheri*, y los hongos *Schizochytrium* sp. y *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1.7.2. *Objetivos Específicos*

Evaluar el efecto de la microalga *Diacronema lutheri* en el perfil lipídico del copépodo *Apocyclops aff. spartinus*.

Evaluar el efecto del hongo *Saccharomyces cerevisiae* en el perfil lipídico del copépodo *Apocyclops aff. spartinus*

Evaluar el efecto del hongo *Schizochytrium* sp. en el perfil lipídico del copépodo *Apocyclops aff. spartinus*

Comparar el perfil lipídico del copépodo *Apocyclops aff. Spartinus* alimentados con los tres alimentos.

Determinar la curva de crecimiento del copépodo *Apocyclops aff. Spartinus* alimentado con los tres alimentos.

### 1.8. **Hipótesis**

La microalga *Diacronema lutheri*, y los hongos *Schizochytrium* sp y *Saccharomyces cerevisiae* tienen un efecto positivo en el cultivo del copépodo *Apocyclops aff. spartinus* mejorando su valor nutricional, así como su velocidad de reproducción y densidades alcanzadas.

## II. Marco Teórico

### 2.1. Marco Conceptual

El marco teórico es el conjunto central de teorías a usar para desarrollar los argumentos de la presente tesis. Como el propósito central de esta investigación es efecto de tres tipos de alimento sobre el cultivo del copépodo *Apocyclops aff. spartinus* es necesario tener en claro los conceptos referentes al organismo en estudio, así como del alimento empleado en la presente investigación,

#### 2.1.1. Alimento Vivo en Acuicultura

Las larvas se clasifican en precociales y altriciales, las precociales son aquellas que tienen todo su organismo desarrollado y por lo tanto pueden ingerir alimento artificial mientras que en las altriciales su sistema digestivo no está completamente desarrollado, este tipo de larvas requieren de alimento vivo para poder sobrevivir, la elección de estas presas vivas muchas veces se decide por el tamaño de la boca de la larva. Otros factores que considerar son la palatabilidad ya que el exoesqueleto delgado y el alto contenido de agua resulta más atractivo que un alimento formulado, el tamaño, el tiempo que permanece en suspensión, el aspecto visual también es interesante, el movimiento que genera el zooplancton llama la atención de las larvas haciendo que se active su característica de predador (Bengtson,2003).

Uno de los puntos más álgidos cuando se desarrollan cultivos acuícolas y en especial aquellos donde trabajamos con larvas altriciales es el de la alimentación, por lo general las grandes mortandades se dan en las primeras fases de los organismos que cultivamos, esto en primer lugar porque el alimento suministrado no tiene los requerimientos nutricionales que requiere la larva. Por otro lado, los costos de alimentación no deben ser onerosos, no vaya a ser que la inversión final de como resultado que el cultivo que deseamos desarrollar no sea económicamente rentable.

El alimento vivo podemos dividirlo en dos categorías: el fitoplancton que son aquellos organismos que tienen la capacidad de realizar la fotosíntesis para poder realizar sus procesos fisiológicos y el zooplancton que son los actores secundarios dentro de la cadena trófica estos requieren consumir otros organismos para poder desarrollar sus procesos fisiológicos.

El plancton en general es esencial para el desarrollo larvario de peces, crustáceos y moluscos. Durante años el desarrollo de la acuicultura se basó en el uso de una docena de especies fitoplanctónicas y el uso de *Brachionus* spp. y *Artemia* spp. (zooplancton) como alimento.

El alimento vivo o natural es muy importante en la alimentación de las especies ícticas ya que incide en el crecimiento, la reproducción, la salud y la sobrevivencia, representando la mejor opción para la nutrición de la mayoría de las especies de peces en estadios larvales. (Luna-Figueroa et al., 2018).

Es recién, que hace un par de décadas comenzó a profundizarse en el estudio del uso de los copépodos como alimento vivo, siempre se pensó que este recurso no era viable en la industria acuícola porque se asumía un complejo ciclo reproductivo, hábitos y requerimientos que no hacían viables o por lo menos rentables su cultivo.

En la actualidad es cada vez más frecuente su uso, es verdad que la investigación orientada hacia los copépodos como fuente de alimentación sigue en desarrollo. En los países asiáticos es donde se ve más el uso de este recurso, sobre todo para el cultivo de peces y crustáceos.

En la región la acuicultura tiene bastante éxito, sin embargo debemos ser conscientes de que esta en la mayoría de los casos se inicia con especies introducidas donde los protocolos de cultivo ya son conocidos, en muchos casos estos protocolos se han ido adaptando para poder trabajar con especies de importancia económica de los países de la región, muchas veces con

ayuda de países más adelantados que en algunos casos el beneficio que buscan es extender zonas de cultivo pero con especies de interés para ellos.

Se ha tratado de sustituir los alimentos vivos por dietas micro encapsuladas, una técnica que disuelve los nutrientes en líquido para formar partículas muy pequeñas con una membrana de naturaleza proteica, el tamaño resultante es de pocas micras; se ha utilizado en rotíferos, moluscos, camarones y algunas especies marinas no ha tenido el éxito esperado posiblemente porque no llama la atención de los organismos en cultivo y no las han consumido (Stickney, 2009). El almacenamiento por congelado o liofilización por tiempo indefinido, son procesos que funcionan pero que no son viables a gran escala, a nivel de la eucarística podemos ver muchos de estos productos incluso pastas de microalgas.

El uso de otros microorganismos como el caso de las levaduras vivas o atomizadas es común en acuicultura sobre todo en el cultivo de rotíferos, por ejemplo, en Japón la levadura se cultiva enriqueciéndola con aceite de hígado de sepia para elevar su contenido de ácidos grasos y de ahí ser utilizadas como alimento para los organismos que van a fungir de presas (Guillaume et al., 2004).

Otro aspecto importante es el correcto manejo de los parámetros fisicoquímicos en los cultivos de fitoplancton y zooplancton, brindarles las condiciones óptimas de temperatura, salinidad, oxígeno, todos estos factores inciden en la eficiencia de los procesos fisiológicos de los organismos regulando de esta manera productos como aminoácidos y ácidos grasos insaturados.

### **2.1.2. *Fitoplancton***

Es la base de la cadena alimentaria acuática, responsable de la producción de unos 100 millones de toneladas de recursos renovables por año a partir de la pesca. De tal manera, no debe sorprender que las microalgas que son el constituyente del fitoplancton cumplan un papel nutricional fundamental en la actividad acuícola especialmente en la maricultura, tanto para

moluscos, crustáceos y peces. Los acuicultores por lo general tienen que instalar un sistema de producción de microalgas y, cuando se trata de instalaciones para peces, un sistema de cultivo de zooplancton para la alimentación de las larvas en el caso de las larvas y juveniles. Las microalgas y las cianobacterias son dos grupos importantes en el ecosistema y juegan un rol trascendental en la formación y mantenimiento de la atmósfera de la Tierra, ya que son las que producen el oxígeno y consumen dióxido de carbono. Varias decenas de miles de especies se clasifican en 15 clases principales. (Muller-Feuga et al., 2003)

2.1.2.1. **Biología del Fitoplancton.** Gracias a su pequeño tamaño y su hábitat acuático, las microalgas no requieren de un esqueleto rígido para contrarrestar la fuerza de la gravedad como las plantas vasculares. Sin embargo, hay excepciones, tal es el caso de algunas clases, como las peridiniales y las diatomeas, que exhiben teca externa. Como en el caso de la mayoría de los microorganismos, la reproducción en general es asexual, sin embargo, se han descrito tipos similares a la formación de gametos para ciertas especies. La reproducción vegetativa consiste en la división equitativa de la célula madre en dos células hijas, cada una exactamente la mitad del tamaño de la célula madre. Las células hijas a veces permanecen dentro de la pared celular de la célula madre hasta que se han producido dos o tres divisiones. Por lo tanto, el metabolismo de las microalgas se dirige hacia la división celular y el aumento de tamaño, utilizando la luz como única fuente de energía. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, algunas algas pueden utilizar sustratos orgánicos, de manera similar a las bacterias y hongos. (Muller-Feuga et al., 2003)

Las microalgas se encuentran en una gran variedad de ambientes, desde fuentes de agua caliente hasta los polos, y algunas especies presentan una gran resistencia a la poca humedad, alta salinidad, poca luz, etc. La fisiología de las microalgas involucra una gran cantidad de compuestos bioquímicos de utilidad en la nutrición, la industria de los cosméticos y productos farmacéuticos. Se cree que tienen una mayor variedad de estos compuestos que las plantas

terrestres que han evolucionado de una de las dos líneas del tronco evolutivo de algas. Su adaptabilidad gracias a su fisiológica le facilita la adaptación a una amplia gama de condiciones ambientales. La flexibilidad metabólica de las microalgas ha sido bien estudiada, sobre todo su capacidad para sintetizar ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) beneficioso para la nutrición animal. Las microalgas tienen la habilidad de formar mecanismos antirradicales contra las especies de oxígeno activado. Como otros microorganismos, tienen la capacidad para combatir la depredación al sintetizar sustancias bioactivas. Las primeras especies de microalgas con las que se comenzó a trabajar en acuicultura fueron aquellas que en forma natural predominaron en las estaciones acuícolas pioneras y lógicamente fueron las más fáciles de cultivar. Con el paso de los años, se investigaron otras especies colectadas y se hicieron los cultivos de las que mostraban más valor nutricionalmente. Entre las numerosas especies aisladas, solo un pequeño grupo se usa en la actualidad. Casi todas son eucariotas, con membranas plastidiales que separan sus orgánulos. Pero hay un pequeño grupo, las cianobacterias del género *Arthrospira* que también son consideradas en acuicultura tanto en la etapa larval como para el crecimiento de diferentes especies. Estas cianobacterias tienen sistemas fotoquímicos I y II como los eucariotas, pero solo clorofila a en lugar de a y b. Los dinoflagelados son considerados tóxicos por la clase de metabolitos que producen, pero se está considerando algún representante de esta clase para ser utilizado en acuicultura. (Muller-Feuga et al., 2003). Por parámetros fisicoquímicos como son la salinidad, la intensidad de luz de luz y los nutrientes, la morfología de las microalgas pueden cambiar, con el consiguiente problema de identificarlas correctamente. Con los avances de las técnicas de ADN la sistemática evoluciona no solo en lo que respecta al cambio de géneros o especies, sino que incluso han variado de grupo taxonómico. En la web podemos encontrar no solo información detallada sobre las algas, también de los institutos que se dedican a esta disciplina y donde podemos adquirir cepas

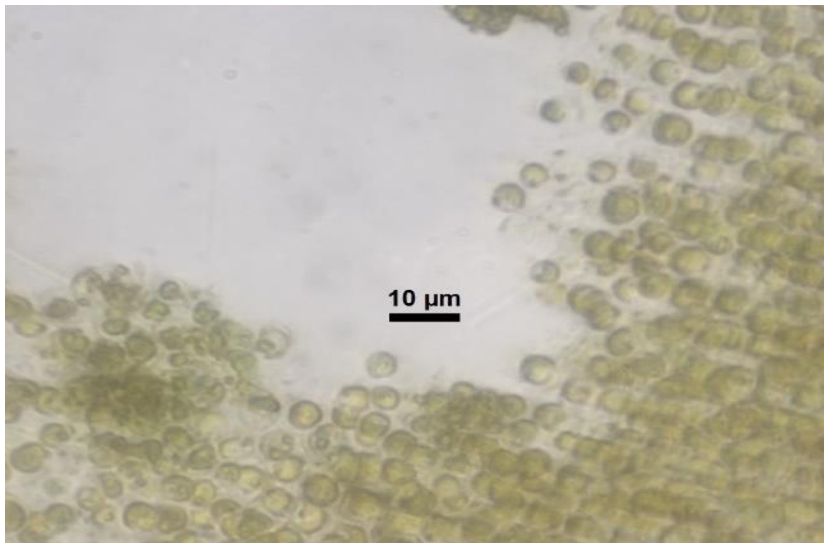
certificadas suministrar cepas. Uno de los sitios donde podemos hallar información por ejemplo es la Phycological Society of America ([www.psaalgae.org](http://www.psaalgae.org)). (Muller-Feuga et al., 2003).

La gran mayoría de las microalgas utilizadas en acuicultura son de vida libre. Estas son pelágicas y están en el rango de tamaño de 2–20  $\mu\text{m}$ . Las microalgas bentónicas no han tenido el nivel de estudio en comparación con las pelágicas que sirven de alimento a muchos organismos filtradores, pero con la incursión del cultivo de gasterópodos como por ejemplo el abalon se ha visto la importancia del cultivo de estas microalgas. Lo ideal en una microalga para cultivo es que sea unicelular, las células de diatomeas como las de cianobacterias muchas veces permanecen asociadas formando cadenas, de modo que el conteo es difícil y el peso celular generalmente no es determinable. (Muller et al., 2003). Un problema con estas cadenas de células es el que no van a poder ser consumidas sobre todo por los organismos filtradores.

2.1.2.2. ***Diacronema lutheri***. En la descripción del género *Diacronema* Bendif et al., (2011) señalan lo siguiente: Células móviles con dos flagelos desiguales y un haptonema corto. Flagelo anterior más largo con finos pelos no tubulares y con o sin diminutos cuerpos densos; flagelo posterior algunas veces con una hinchazón basal y vestigial. Ocasionalmente denso, cuerpos en la superficie celular. Un hoyo o canal que penetra en la celda cerca del flagelo anterior largo. Cloroplasto simple o doble sin un pirenoide, a veces con una mancha ocular ubicada en la cara externa del plastidio.

En la figura 1 podemos apreciar una muestra del cultivo.

La clasificación sistemática es la siguiente: Phylum: Haptophyta, Clase: Pavlovophyceae, Orden: Pavloales, Familia: Pavlovaceae, Género: *Diacronema*, Especie: *D. lutherii* (AlgaeBase, 13 de julio de 2023)

**Figura 1***Diacronema lutheri*

*Nota.* Agrupación de células del cultivo axénico

### 2.1.3. Hongos

Los hongos toman sus nutrientes y energía a partir de materia orgánica muerta. Son parte fundamental del ecosistema al poder descomponer estos organismos. Cuando descomponen estos compuestos, liberan al ambiente carbono donde se recicla. Varios pueden formar asociaciones simbióticas. Por ejemplo, algunos hongos viven simbióticamente con algas y cianobacterias como líquenes. Un grupo son parásitos y pueden causar enfermedades o muerte en animales o plantas. (Solomon et al., 2013)

Todos los hongos son eucariotas; sus células contienen núcleos encerrados en membrana, mitocondrias y otros organelos membranosos. Aunque varían notablemente en tamaño y forma, los hongos comparten ciertos caracteres clave, incluida su forma de obtener nutrición. El pH óptimo para la mayoría de las especies de hongos es de más o menos 5.6, pero varios de ellos pueden tolerar y crecer en ambientes donde el pH varía de 2 a 9. Muchos hongos son menos sensibles a altas presiones osmóticas que las bacterias. Como resultado, pueden crecer en soluciones salinas concentradas o en soluciones azucaradas como mermelada, que desalienta o

evita el crecimiento bacteriano. Los hongos también proliferan en un amplio rango de temperaturas. (Solomon et. al, 2013, p. 602). Los hongos son heterótrofos. Para satisfacer sus necesidades nutricionales y de energía, requieren de moléculas de carbono preformadas producidas por otros organismos. Pero estos organismos no ingieren alimento y luego lo digieren, lo que hacen es tomar una fuente alimenticia y segregar enzimas digestivas en ella. La digestión tiene lugar afuera del cuerpo. Entonces moléculas complejas se van a descomponer en compuestos más pequeños, recién ahí los hongos absorben el alimento pre digerido en su cuerpo. (Solomon et. al, 2013). "La mayoría de los hongos se reproducen mediante esporas microscópicas, células reproductivas que pueden desarrollarse hasta ser nuevos organismos" (Solomon et. al, 2013, p.603). "Los hongos producen esporas o sexual o asexualmente. Con la reproducción asexual se producen rápidamente nuevos individuos, pero hay poca variabilidad genética. La reproducción sexual involucra meiosis y genera nuevos genotipos" (Solomon et al., 2013, p. 603).

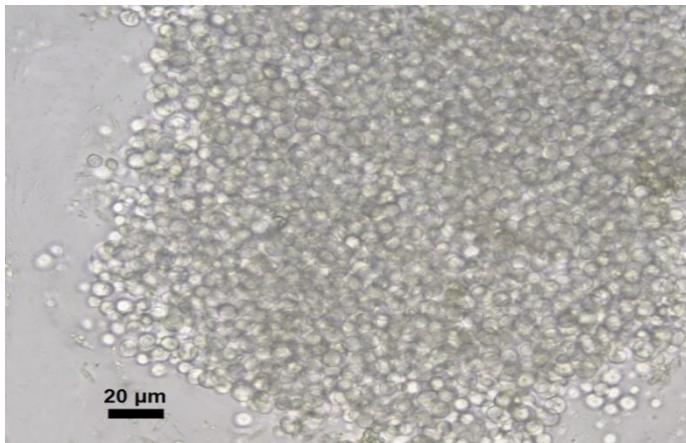
La reproducción asexual es típica en las levaduras, generalmente mediante yemas que nacen de la célula progenitora. Hay también hongos multicelulares que se reproducen asexualmente. La generación de esporas se realiza por mitosis, para posteriormente ser liberadas al medio. (Solomon et al., 2013)

2.1.3.1. ***Saccharomyces cerevisiae***. Más conocida como la levadura de la cerveza es un hongo ambiental común de un componente transitorio de las microbiotas digestiva y cutánea humanas. También es un hongo levaduriforme de pared lisa en su interior, que presenta células alargadas, globoides a elipsoidales con gemaciones o blastoconidios multilaterales, hasta cuatro ascosporas esféricas o elipsoides en un rango de 5 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro externo y de 1 a 7  $\mu\text{m}$  de diámetro interno (Llanos, 2007, como se citó en Jacome et al., 2023, p.2435).

En la Figura 2 podemos observar células activadas de este hongo. Del grupo de las levaduras, la especie *Saccharomyces cerevisiae* es tal vez la más conocida y estudiada, además se emplea en la industria para la elaboración del vino, cerveza, pan entre otros. Los investigadores le han encontrado uso en la industria farmacéutica, siendo utilizado como medicamento para el ser humano. En la década del 80 se utilizó para la producción de la vacuna de hepatitis B, en 1996 se le estableció la secuencia genómica completa, gracias a ello sirvió de comparación para las secuencias de humanos y de otros organismos (Suárez, Garrido, & Guevara, 2016, como se citó en Jacome et al., 2023). Su clasificación es la siguiente: División Ascomycota, Clase Sacaromicetos, Familia Saccharomycetaceae. (Integrante Taxonomic Information System [ITIS], 14 de julio de 2023)

## Figura 2

*Saccharomyces cerevisiae*



*Nota.* Células activas en cultivo

2.1.3.2. ***Schizochytrium* sp.** Es un microorganismo esférico unicelular, que se caracteriza por la presencia de una red de ectoplasma; este ectoplasma puede presentarse en diversos estadios como zoospora biflagelada, aplanospora y células ameboides. El rango de tamaño es de 10-20  $\mu\text{m}$ , además la célula madura puede dividirse por fisión binaria o formar diadas, tétradas y clusters. Cada célula de *Schizochytrium* puede desarrollar dentro

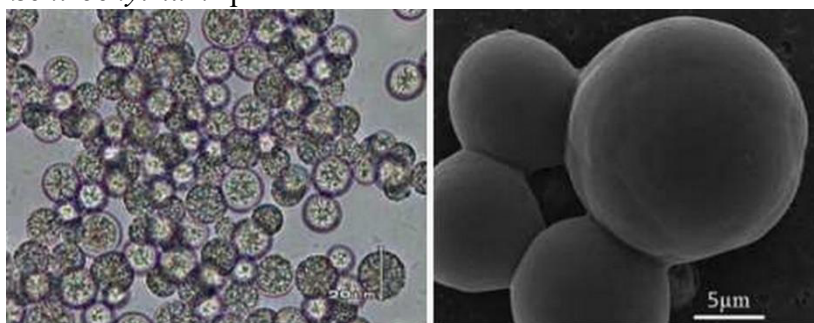
de ella un esporangio que produce varias zoosporas (Hakim, 2012; Kamlangdee; Fan, 2003, como se citó en Cruz, 2019, p.10).

*Schizochytrium* es otro de los microorganismos que ha tomado gran importancia a nivel industrial para ser usado como suplemento alimenticio ya que puede llegar a presentar hasta un 37% de DHA y un 16% de EPA, estos han sido objeto de estudios debido a los efectos benéficos observados en el tratamiento contra la arterioesclerosis, cáncer y artritis reumatoide (Hakim, 2012, como se citó en Cruz, 2019), además ha cobrado importante interés en la alimentación animal principalmente en la acuicultura donde está siendo utilizado como potencial reemplazo de aceite de pescado (Sarker et al., 2016, como se citó en Cruz, 2019, p.10). (Figura 3)

La sistemática de *Schizochytrium* es la siguiente: División Myxomicota, Clase Phycomycota, Familia Thraustochytriaceae (Integrated Taxonomic Information System [ITIS], 14 de julio de 2023).

### Figura 3

*Schizochytrium* sp.



*Nota.* Figura tomada de *Schizochytrium* sp.: (a) fotomicrografía obtida por microscopia de luz (aumento x400) e (b) fotomicrografía obtida por microscopia de varredura (aumento x5.000). Imagem: Hong et al. (2011), por Coelho, 2017, Microalgas como ingrediente e suplemento dietético para tilápia *Oreochromis niloticus*: valor biológico, desempenho e composição da carcaça.

#### **2.1.4. Zooplancton**

Son organismos heterótrofos siendo los principales consumidores del mundo oceánico, son el segundo eslabón dentro de la cadena trófica, después de las microalgas, de ahí su importancia en la transferencia de energía a niveles superiores. Además, controlan las poblaciones de microalgas evitando los afloramientos. Es el suministro de alimento para los alevinos, su presencia garantiza la supervivencia y desarrollo para los peces en crecimiento. (Lagos et al., 2014, pp. 2-3). “El zooplancton marino está constituido por organismos con habilidad restringida para desplazarse horizontalmente, de tal modo que su distribución está altamente influenciada por procesos físicos” (Harris, 1987, como se citó en Morales & Vargas, 1995, p. 207).

2.1.4.1. **Copépodos.** El zooplancton marino se divide en dos grupos: el merozooplancton, que incluye los estadios larvarios de los hidrobiontes, y el holozoplancton, que incluye organismos que completan su ciclo de vida en comunidades planctónicas. El último grupo incluye a los copépodos. Estos organismos con alta diversidad morfológica son pequeños crustáceos maxilópodos con unas 8500 especies dentro de 10 órdenes. Se encuentran en todos los ambientes de agua marina y salobre, ambientes húmedos y de agua dulce representan una parte muy importante de las cadenas alimentarias acuáticas (Morales & Vargas, 1995).

Los copépodos son los filtradores más importantes y diversos del holozoplancton en el medio marino. Su importancia está en el papel de eslabón en los procesos de transferencia de energía desde los productores primarios, las microalgas hacia los organismos superiores (peces). (Morales & Vargas, 1995).

En los ambientes acuáticos, los copépodos forman un primer eslabón importante en la cadena alimentaria marina desde los productores primarios hasta otros organismos como peces, crustáceos y algunos moluscos. En el ambiente marino abierto, los calanoides dominan el zooplancton herbívoro y forman la base de la cadena alimenticia para casi todas las larvas de

peces marinos y planctívoros. En estuarios y zonas costeras, los harpacticidas son una parte importante de la dieta de larvas y juveniles de peces, lenguados y salmónidos. Por lo tanto, los copépodos juegan un papel central en la producción mundial de organismos acuáticos (peces). (Støttrup & McEvoy, 2003).

Los copépodos en su mayoría son marinos, pero se les puede encontrar en aguas continentales. El término copépodo se origina del griego kope que significa "remo" y podos que significa "pie", en alusión a las patas de natación planas y con forma de paleta. Existen alrededor de 200 familias con unos 1650 géneros y 11,500 especies. A los copépodos planctónicos de vida libre, los tenemos en todos los mares, los bentónicos viven en la superficie de macroalgas o en sedimentos marinos, hay especies subterráneas donde el hábitat son aguas subterráneas o canales hidrotermales de aguas profundas. Aproximadamente un tercio de las especies de copépodos marinos son parásitos o conviven con otros organismos. En la actividad acuícola, se conoce más a los copépodos parásitos de los peces que a las especies de copépodos de vida libre, más comunes y útiles. Las especies más utilizadas en acuicultura son los copépodos que se encuentra dentro de los órdenes Calanoida, Harpacticoida y Cyclopoida. (Støttrup, 2003)

**2.1.4.2. Morfología de los Copépodos.** Los copépodos de vida libre generalmente tienen cuerpos cilíndricos con un abdomen estrecho (formas planctónicas) o, en el caso de formas bentónicas o de superficie, cuerpos más anchos y / o formas comprimidas dorsoventralmente. El tronco está compuesto por un tórax (metasoma) y un abdomen (urosoma). La cabeza (cefalosoma) está fusionada con el tórax y lleva anteriormente un ojo mediano típico, un conjunto visible de antenas y los diversos apéndices utilizados para alimentarse y nadar. Esta parte anterior ha sido designada como el prosoma. El abdomen es generalmente más angosto que el tórax, sin apéndices, excepto las ramas caudales. La abertura genital generalmente se encuentra en el primer segmento abdominal, mientras que el último

segmento lleva la abertura anal (somita anal). El urosoma termina en una furca formada por dos ramas simétricas adornadas con setas. (Støttrup, 2003, p.149). “El cuerpo de los nauplios recién nacidos tiene una forma ovalada, está dorsoventralmente comprimido y no segmentado, con relativamente pocos apéndices y un solo ojo naupliar. Los nauplios ciclopoides tienen un cuerpo en forma de pera” (Dussart & Defaye, 2001 como se citó en Støttrup, 2003, p.152). “La musculatura es más primitiva en los ciclopoides, lo que produce sacudidas erráticas simples hacia adelante o hacia los lados, mientras que los calanoides exhiben movimientos circulares, de salto mortal o helicoidales” (Björnberg, 1986 como se citó en Støttrup, 2003, p.152). “El esqueleto o integumento externo consta de varias capas dispuestas en tres estructuras distintas: una cutícula externa compuesta de una epicutícula delgada y una procutícula más gruesa, la epidermis y la lámina basal” (Dussart & Defaye, 2001 como se citó en Støttrup, 2003, p.152).

2.1.4.3. **Reproducción de los Copépodos.** La reproducción sexual es la que predomina. Los machos colocan el espermatóforo al lado de la abertura genital de la hembra. (Mauchline, 1998 como se citó en Støttrup, 2003). “Los copépodos pueden producir huevos que no son viables o no están fertilizados, dependiendo de las condiciones de los alimentos” (Poulet-Ianora et al., 1994 como se citó en Støttrup, 2003, p.155). “En los ciclopoides, los huevos están contenidos dentro de sacos de huevos emparejados” (Huys & Boxshall, 1991 como se citó en Støttrup, 2003, p.155). “El tamaño de la nidada en las especies ciclopoides marinas varía desde unos pocos huevos hasta alrededor de 100, producidos a intervalos de 1 día a 4 días” (Hopcroft & Roff, 1996, como se citó en Støttrup, 2003, p.155). “La fecundidad en especies con masas de huevos está dentro del rango de 10–200 huevos, y la de reproductores libres entre 30 y 700 huevos” (Mauchline, 1998, como se citó en Støttrup, 2003, p.155).

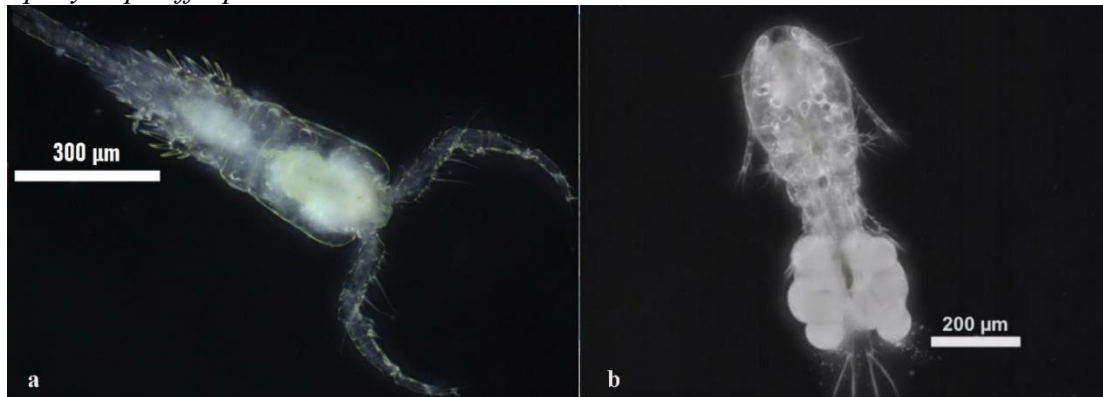
2.1.4.4. **Descripción de género *Apocyclops*.** Prosoma ligeramente más grande que el urosoma. Las esquinas posteriores del tercer y a veces del segundo segmento torácico libre expandidos posteriormente. Primer segmento del urosoma expandido latero-

posteriormente. Segmento genital doble alargado anteriormente, estrechándose gradualmente hacia atrás hasta alcanzar un ancho constante en el tercio posterior. Rama caudal al menos 3 veces más largo que ancho, con márgenes laterales lisos y portando: cerda insertada lateralmente un poco más allá de la mitad del margen externo de la rama; cerda apical exterior subterminal, tan larga o más larga que la cerda apical interna; cerdas medianas sin zona de rotura basal, la interior un poco más larga que la exterior; todas las cerdas caudales homogéneamente plumosas. anténula con 11 artículos y ornamentada de la siguiente manera: 8, 4, 6, 2, 1 + 1 espina, 2, 3, 2 + 1 esteto, 2, 2 + 1 esteto, 7 + 1 esteto; longitud variable de la antena, alcanzando, al menos, el tercio distal del cefalotórax y, como máximo, la mitad del segundo segmento torácico libre. Antena compuesta por coxas reducidas y sin cerdas; base con áreas espinosas, 2 cerdas en el ángulo interno distal y cerda que representa el exopodito llegando al vértice de la articulación terminal; y endópodo triarticulado. Base y primera articulación del endopódito de la antena pueden estar fusionados; segunda articulación del endópodo con 7 a 10 setas a lo largo de la margen interna de la antena, Segmento distal con 7 cerdas apicales. Palpo maxilar con endopodito portando 3 cerdas. Maxilar con 5 articulaciones, siendo la articulación distal muy reducida. Maxilípodo con 4 articulaciones y cerdas con fórmula = 3.2.1.3. Patas natatorias biarticuladas; muslo, base y escleritos intercoxales ornamentados por diferentes patrones de disposición espínula. Fórmula de las espinas y setas de la articulación terminal del exopodito: 3.4.4.3 y 5.5.5.5, respectivamente; fórmula de espinas y cerdas de la articulación terminal del endopodito: 1.1.1.1 y 5.6.6.5, respectivamente. Quinta pata (P5) con articulación terminal más ancha que larga, de modo que la columna interna y las cerdas exteriores están muy separadas entre sí. P5 articula un poco ventralmente en el ápice de cada expansión latero-ventral del pedigeron 5. P5 del macho con espina más largo en relación con la cerda en el P5 de la hembra. Sexta pata (P6) de macho con 1 espina interna y 2 cerdas. (Cohelo, 1999, pp. 14-15). Figura 4

Se describe la clasificación taxonómica de Apocyclops. Phylum: Arthropoda, Subphylum: Crustácea, Clase: Copépoda, Orden: Cyclopoida, Familia: Ciclopidae, Género: *Apocyclops* (Torres, 2019)

#### Figura 4

*Apocyclops aff. sparrtinus*



Nota. a) Ejemplar macho adulto b) Ejemplar hembra adulta con huevos

#### 2.1.5. Ácidos Grasos Poliinsaturados

Los ácidos grasos que no contengan enlaces dobles, se le llama saturados mientras que los ácidos grasos con un doble enlace son monoinsaturados, los que poseen dos o más enlaces dobles son los poliinsaturados, el ácido linolénico es un ejemplo de ello. (Stickney, 2009).

Los animales pueden necesitar de Ácidos Grasos Poliinsaturados (AGPI), que se encuentran en uno de los tres grupos conocidos como ácidos grasos omega. Está demostrado los beneficios para la salud del ácido graso omega-3 ( $\omega$ 3). El ácido linolénico es el ácido graso de menor peso molecular de este grupo. Otros grupos de AGPI están representadas por ejemplo con el ácido oleico ( $\omega$ 9) y el ácido linoleico ( $\omega$ 6). Que son los de menor peso molecular en su respectivo grupo. (Stickney, 2009).

Existe una abreviatura para los AGPI, por ejemplo, el ácido linolénico se abrevia como  $18:3\omega$ 3 o  $18:3n$ 3. El 18 nos indica al número de átomos de carbono en la molécula. El 3 que va después de los dos puntos corresponde con el número de enlaces dobles en la molécula y el último 3 indica el número de átomos, desde el carbono del grupo metilo terminal ( $\text{CH}_3$ )

hasta el primer doble enlace. Las transformaciones bioquímicas de un ácido graso a otro en los AGPI pueden realizarse dentro del organismo, pero un ácido graso que se encuentre en cualquiera de las tres familias, el organismo acuático no puede usarlo para sintetizar alguno de las otras dos familias. (Stickney, 2009).

Muchos animales terrestres tienen necesidad de  $\omega 6$ , mientras que en los organismos acuáticos son de  $\omega 3$  y a veces de ambos ( $\omega 3$  y  $\omega 6$ ). Para los animales marinos, el ácido eicosapentaenoico o EPA ( $20:5\omega 3$ ) y el ácido docosahexaenoico o DHA ( $22:6\omega 3$ ) son generalmente necesarios. A ambos se les conocen como ácidos grasos altamente insaturados (AGAI), fundamentales para el desarrollo y funcionamiento adecuado de las membranas celulares, la carencia de estos se asocia con problemas en el desarrollo de la visión en las larvas de los peces. El requerimiento de los AGAI por los organismos queda solucionado con uno de ellos o una combinación de ambos. (Stickney, 2009).

Los peces de agua dulce al parecer son capaces de convertir el  $18:3\omega 3$  a AGAI mucho mejor que los peces marinos, por lo que en sus dietas hay un mínimo de AGAI. (Stickney, 2009, p. 342).

Entre los peces, los marinos y los salmónidos anádromos, la presencia de los ácidos grasos  $\omega 3$ , también conocidos como  $n 3$  parece ser fundamental dentro del alimento, mientras que para los peces no-anádromos de agua dulce y algunos invertebrados necesitarían tanto el ácido graso  $\omega 3$  como  $\omega 6$ . Eso lo vemos en la tilapia (*Oreochromis spp.*). Por ejemplo, algunas especies de camarones marinos parecen ser capaces de desarrollarse de igual modo con dietas que contengan aceite de soja o grasa de ave (ricas en AGAI  $\omega 6$ ), así como con dietas elaboradas con aceite de pescado (ricas en AGPI  $\omega 3$ ). (Stickney, 2009).

Watanabe (1987) menciona que los peces requieren de ácidos grasos esenciales y que los requerimientos por los peces varían entre las especies; tanto en las dietas formuladas, como en las presas vivas y en su cuerpo están presentes tres series, las cuales son el oleico (n-9), el

linoleico (n-6) y el linolénico (n-3), las dos últimas familias PUFA tienen la mayor importancia nutricional.

El ácido eicosapentaenoico (EPA), el ácido decosaheptaenoico (DHA), o juntos con homólogos de la serie (n-6) de ácidos grasos (p. ej., ácido linoleico y ácido araquidónico) se consideran esenciales para el crecimiento normal, alimentación, salud y viabilidad reproductiva (Higgs & Dong, 2000). El DHA y EPA también es de gran importancia para las larvas de peces marinos (Olsen et al., 2014). Las familias de ácidos grasos de sus respectivos ácidos originales por un sistema enzimático común de desaturasas y elongasas alternas, así mismo, los miembros de una familia no son inconvertibles con los de otro (Balfry & Higgs, 2001).

### **III. Método**

#### **3.1. Tipo de investigación**

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo porque analiza datos utilizando métodos estadísticos así mismo es de tipo experimental y correlacional. El estudio consiste en la experimentación de una variable no comprobada, bajo condiciones estrictamente controladas, con la finalidad de explicar de qué modo y por qué causa se produce una situación o evento particular.

Según Hernández et al. (2014) una investigación de enfoque cuantitativo es aquella que explora, describe, explica, evalúa, compara e interpreta causalidades y sus implicaciones.

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Cultivos Menores perteneciente a la Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura (FOPCA) de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV).

#### **3.2. Población y muestra**

Para realizar el trabajo se contó con la población existente de copépodos del ceparío del Laboratorio dentro del área de zooplancton. El estudio sistemático se hizo en el Laboratorio de Hidrobiología II de la FOPCA, por medio de claves y por comparación con material ya clasificado perteneciente al mismo. Los organismos seleccionados para el cultivo son la muestra de la investigación siendo la unidad de medida cada espécimen de cultivo.

### 3.3. Operacionalización de Variables

**Tabla 1**

*Operación de variables*

Determinar el efecto en los cultivos del copépodo <i>Apocyclops aff. spartinus</i> , alimentados con la microalga <i>Diacronema lutheri</i> y los hongos <i>Schizochytrium sp.</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i>			
Objetivos Especificos	Variables	Dimensión	Indicadores
Evaluar la incidencia de <i>Diacronema lutheri</i> , <i>Saccharomyces sereviceae</i> y <i>Schizochytrium sp.</i> en el perfil lipídico de <i>Apocyclops aff. Spartinus</i>	Cultivo del copépodo	Aspectos del cultivo del copépodo	Densidad Valor nutricional Velocidad de reproducción Tamaño
Determinar los requerimientos de <i>Diacronema lutheri</i> , <i>Saccharomyces sereviceae</i> y <i>Schizochytrium sp.</i> en el cultivo de <i>Apocyclops aff. Spartinus</i>	Alimentación con la microalga y con los hongos	Tipo de microalga y hongos	Tamaño Salinidad pH Temperatura Densidad Peso
Determinar Curva de crecimiento y densidad <i>Apocyclops aff. Spartinus</i>			

### 3.4. Instrumentos

Los equipos utilizados para la siguiente investigación se muestran en la tabla 2

**Tabla 2**

*Equipos*

	Equipos	Propósito
1	Microscopio binocular eléctrico con cámara fotográfica marca OPTIKA	Identificación, determinación del estadio del copépodo, medición y registro fotográfico. Identificación del alimento, determinación de la densidad celular
2	Estereoscopio binocular eléctrico con cámara marca EUROLAB	Determinación del estadio de los copéodos, registro fotográfico
3	Microscopio binocular invertido marca AUSTRIA MICROS	Determinación densidad de los copéodos
4	Cámara de Sedgwick-Rafter marca GRATICULES OPTICS LIMITED	Determinación densidad de los copéodos
5	Cámara de Neubauer marca FORTUNA	Determinar la densidad de la microalga
6	Refractómetro óptico marca ATC	Medición de la salinidad
7	pH-metro digital marca	Medición del pH del cultivo
8	Oxímetro digital marca HANNA	Medición del oxígeno disuelto en el cultivo
9	Termómetro de mercurio marca ISOLAB	Medición temperatura de cultivo
10	Balanza analítica marca OHAUS	Preparación de medios de cultivo
11	Destilador de agua marca BOECO	Preparación de medios de cultivo
12	Autoclave marca BOECO	Esterilización agua de mar, preparación de medios de cultivo
13	Estufa marca SELECTA	Esterilización de material
14	Luxómetro marca EZOO mod. DL-204	Medición intensidad de luz
15	Termostatos marca SOBO	Control de la temperatura
16	Bomba marca FLUVAL mod. A-852	Aireación del acuario

### 3.5. Procedimiento

#### 3.5.1. Identificación

Con los ejemplares del Laboratorio de Cultivos Menores, se procedió a su identificación. El estudio sistemático se hizo con ayuda de claves y por comparación con material ya clasificado perteneciente al Laboratorio de Hidrobiología II de la FOPCA.

#### 3.5.2. Acondicionamiento y Cultivo

Una vez validada su identificación, 50 ejemplares de copépodos adultos se colocaron en matraces de 500ml (seis matraces en total), con 300ml de agua de mar tratada (filtrada y esterilizada) a 35 ups. cada uno.

En un acuario de 100 cm x 50 cm x 40 cm se colocó tres gradillas y sobre estas los matraces, se llenó con agua de grifo hasta que el tirante de agua se emparejó con el nivel de agua de los matraces (figura 5), utilizando un termostato dentro del acuario se pudo mantener la temperatura a 28 grados Celsius, con un fotoperiodo 12:12 y 690 lux, se siguió alimentándolas con *Chaetoceros calcitrans* que era la microalga con que se mantenía el cultivo originalmente.

### Figura 5

*Cultivo de Apocyclops aff. spartinus en matraces de 500 ml*



Alcanzada una densidad constante, que se produjo a la tercera semana (3 cop./ml) se pasó a reubicarlos en 10 vasos de precipitado de 1 litro (300 organismos por vaso), utilizando el litro de capacidad, en vez del acuario se utilizó una poza de concreto ubicada en el mismo Laboratorio pero en el área descubierta y protegida con una malla mosquitera, la poza tiene en dimensiones internas 82 cm x 62 cm x 45 cm el tirante de agua que se le dio fue 24 cm, (figura 6), las condiciones fisicoquímicas fueron las misma que en el cultivo anterior salvo en la iluminación que fue indirecta registrándose 1200 lux, en vez de las rejillas se colocó una plancha de vidrio doble de 64 cm x50 cm que descansaba sobre cuatro tubos de PVC de 5 cm de diámetro y 10 cm de largo, la alimentación fue la misma, se siguió el cultivo hasta que este alcanzó a las dos semanas una densidad constante (3 cop./ml). Para el conteo se empleó el protocolo del Standard Methods, (Rice & Baird, 2017)

### Figura 6

*Cultivo intermedio de Apocyclops aff. spartinus en beakers de 1 litro*

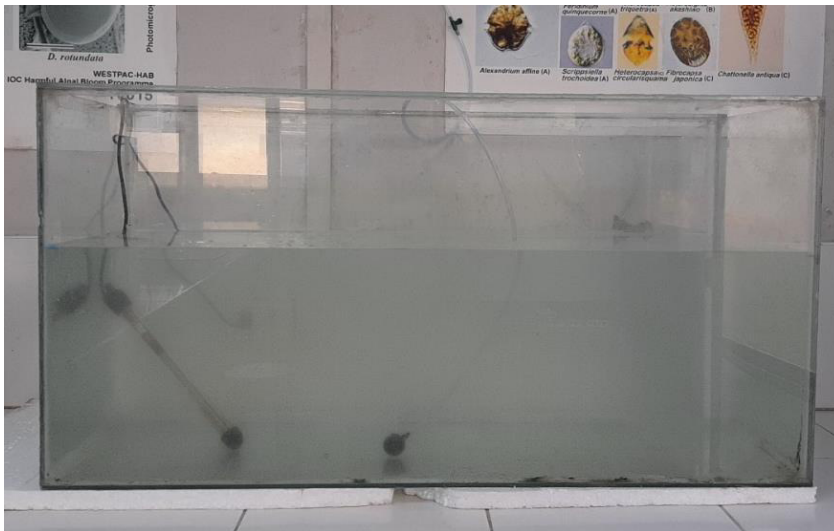


El cultivo final se hizo en un acuario de la misma medida que el anterior (200 litros de capacidad), aquí se sembró los copépodos a una densidad de un copépodo por mililitro, el volumen de agua utilizado fue de 120 litros (figura 7 ), el agua también fue tratada se mantuvo a 35ups y 28 grados Celsius, a diferencia de los dos cultivos anteriores estos se realizaron con el apoyo de una bomba que proporcione aireación a través de una manguera para acuario y

pedra difusora de esta manera lograr una circulación del agua que no perturbe a los organismos, el fotoperiodo e iluminación fue igual que en la primera etapa, en esta fase es que se prueba los tres alimentos realizándose la cosecha en los tres casos a la tercera semana.

### Figura 7

#### *Cultivo final de Apocyclops aff. spartinus a 120 litros*



La microalga utilizada fue *Diacronema lutheri*, procedentes del cepario del laboratorio de Cultivos Menores, la preparación de los medios, el cultivo y el control de este se hizo en el mismo laboratorio.

Para la preparación de los medios y el cultivo se siguió el protocolo de (Andersen, 2005) el cultivo se realizó en contenedores de policarbonato, a una intensidad de luz de 650 lux y fotoperiodo 12:12, los controles de densidad se llevaron a cabo por medio de la cámara de Neubauer y el microscopio óptico.

La densidad algal fue entre  $7.5$  y  $8 \times 10^4$  cél/ml durante el cultivo del copépedo.

En el caso del hongo *Schizochytrium* sp. (en polvo) se hizo una emulsión con agua destilada, la cantidad pesada era en función de la cantidad de organismos presentes, estableciéndose en 1 gramo por millón de organismos. Cuando se alimentó con *Saccharomyces cerevisiae*; la densidad fue de  $3.5 \times 10^4$  cél/ ml en promedio.

### 3.5.3. *Mantenimiento*

Para el recambio de agua, se retiró aproximadamente el 20 % del volumen de agua cada tres días usando una manguera para acuario (5 mm Ø) con un retazo de malla planctónica (2,5 x 2,5 cm) y se agregó el mismo volumen de agua de mar tratada (esterilizada).

### 3.5.4. *Control de Parámetros*

Se hizo un control diario en lo que respecta al alimento brindado a los copépodos, así como en los copépodos cultivados, se aprovechó para ver la presencia de algún tipo de contaminación biológica. Cada tres días se midió el pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad (tabla 21).

Para determinar los lípidos totales el protocolo fue el siguiente: Se pesó 200 mg de muestra y se extrajo los lípidos con 3 mL de la mezcla de solventes cloroformo-metanol (2:1), la extracción se realizó dos veces. Se utilizó un baño de ultrasonido Branson 2510 con hielo, a temperatura aproximada de 4 °C, por 30 min para mejorar la extracción. Luego, se añadió 1,5 mL de cloruro de potasio 0,88% (w/v) al extracto. La fase orgánica fue separada y evaporada con nitrógeno gaseoso para obtener el extracto seco de lípidos. Los extractos se almacenaron en vacío y oscuridad durante 14 h y luego fueron pesados.

Para el ensayo de ácidos grasos el procedimiento fue el siguiente: Se añadió tolueno, metanol y ácido clorhídrico a los lípidos extraídos, luego se incubó la mezcla a 45° C para la derivatización y se extrajeron los metilesteres producidos con hexano para luego ser analizados por cromatografía gaseosa en el equipo Varian CP-3800, usando una columna Restek, Stabilwax® WCOT fused silica de 30 m x 0.25 mm x 0,25 µm, método de inyección splitless (0.50 minuto), volumen de inyección de 1 µL, la temperatura del inyector fue de 250 °C, el gas de arrastre fue helio a un flujo de 1 mL/min, la rampa de temperatura fue de 120 °C por un minuto, 30 °C/min hasta 160 °C, 160 °C por un minuto, 4 °C/min hasta 240 °C, 240 °C por 7 minutos. El tiempo total del programa de temperatura fue de 30,33 min y la temperatura

programada del detector de 260 °C. Los análisis de lípidos y ácidos grasos se realizaron en el IMARPE.

### **3.6. Análisis de datos**

Los datos obtenidos de las diferentes mediciones y análisis de laboratorio fueron ordenados y clasificados de acuerdo con los objetivos en una hoja de cálculo Excel

Para el procesamiento de datos, se utilizó como herramienta el software estadístico IBM SPSS.26.0. En función a los objetivos de la investigación se utilizaron métodos descriptivos tales como las tablas de distribución, gráficos y medidas estadísticas; así mismo se utilizaron métodos estadísticos inferenciales para comparar resultados.

Los datos del perfil lipídico del copépodo alimentado con cada uno de ellos se presentan a nivel descriptivo mediante tablas de distribución, promedios, dispersiones, así como sus respectivas descripciones.

Para la comparación del perfil lipídico de los copéodos alimentados con los tres tipos de alimento, se aplicó el Diseño Completamente al Azar (DCA), por existir un solo factor en estudio siendo el tipo alimento suministrado al copépodo, (3 categorías), es decir tres tipos diferentes de alimento. Luego se aplicó la prueba de Fisher para saber si hay o no significancia entre los tratamientos en estudio y a continuación la prueba de Tukey para comparar los promedios. Así mismo también se desarrolló las curvas de crecimiento aplicando análisis correlacional (R de Pearson) entre el tiempo y la densidad de cultivo.

## IV. Resultados

### 4.1. Análisis del *Apocyclops aff. spartinus* alimentado con la microalga *Diacronema lutheri*

En las tablas 3 y 4 se observa el porcentaje total de lípidos y la concentración de ácidos grasos insaturados que contiene el copépodo que fue alimentado con la microalga

**Tabla 3**

*Porcentaje de lípidos totales en los copépodos alimentados con Diacronema lutheri*

Muestra	1	2	3
Lípidos	0.76	0.77	0.76
Promedio	0.76		
Desviación estándar	0.01		

**Tabla 4**

*Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copépodos alimentados con Diacronema lutheri*

Muestra	1	2	3	Promedio	Desviación estándar
<b>Ácidos Grasos</b>					
C 14:0	214.14	210.89	235.58	220.20	13.42
C 16:0	534.47	540.00	583.84	552.77	27.05
C 16:1n-7	113.07	117.42	129.52	120.00	8.52
C 18:0	190.98	190.02	196.72	192.57	3.62
C 18:1n-9	164.59	164.05	172.97	167.20	5.00
C 18:1n-7	39.57	41.66	42.58	41.27	1.54
C 18:2n-6	145.47	154.70	163.66	154.61	9.10
C 18:3n-6	17.81	18.88	21.24	19.31	1.75
C 18:3n-3	104.04	111.72	119.24	111.67	7.60
C 18:4n-3	118.84	130.29	153.30	134.14	17.55
C 20:4n-6	32.98	32.14	35.67	33.60	1.84
C 20:4n-3	38.29	37.45	40.22	38.65	1.42
C 20:5n-3 (EPA)	110	114.01	125.51	116.51	8.09
C 22:6n-3 (DHA)	522.33	558.31	615.47	565.37	46.97

La Tabla 5 presenta los ácidos grasos de importancia para la alimentación de recursos hidrobiológicos en los siguientes grupos: Omega 3 (n3), Omega 6 (n6) y Omega 9 (n9).

**Tabla 5**

*Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en los copéodos por grupos Omega.*

Grupo Omega	Ácido graso	Promedio (ug/ml)
Omega 3 (n3)	C 18:3n-3	111.67
	C 18:4n-3	134.14
	C 20:4n-3	38.65
	C 20:5n-3 (EPA)	116.51
	C 22:6n-3 (DHA)	565.37
Omega 6 (n6)	C 18:2n-6	154.61
	C 18:3n-6	19.31
	C 20:4n-6	33.60
Omega 9 (n9)	C 18:1n-9	167.20

*Nota.* En la tabla 5 se puede observar que en el grupo de ácidos grasos Omega 3 el máximo contenido de 565.37 ug/g corresponde al C 22:6n-3 (DHA). En el grupo Omega 6 el máximo valor de 154.61 corresponde al C 18: 2n-6, y en el grupo Omega 9 hay solo un ácido graso determinado con un contenido de 167.20 que pertenece al C 18: 1n-9.

#### **4.2. Análisis del *Apocyclops aff. spartinus* alimentado con el hongo *Saccharomyces cerevisiae***

A continuación, se presenta el porcentaje de lípidos y el análisis del perfil lipídico con el contenido de ácidos grasos insaturados del copéodo alimentado con el mencionado hongo.

En el campo de la acuicultura la importancia de los ácidos grasos insaturados se justifica por su efecto positivo desde el punto de vista nutricional para los organismos hidrobiológicos durante sus periodos de vida iniciales, así mismo dichos compuestos son utilizados para la alimentación humana.

En las tablas 6 y 7 se observa el porcentaje total de lípidos y la concentración de ácidos grasos insaturados que contiene el copépodo que fue alimentado con el hongo *Saccharomyces cerevisiae*.

**Tabla 6**

*Porcentaje de lípidos totales en los copéodos alimentados con Saccharomyces cerevisiae*

Muestra	1	2	3	
Lípidos	1.69	2.07	1.96	
Promedio				1.91
Desviación estándar				0.19

**Tabla 7**

*Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copéodos alimentados con el hongo Saccharomyces cerevisiae*

Muestra	1	2	3	Promedio	Desviación estándar
<b>Ácidos Grasos</b>					
C 14:0	0.04	0.06	0.05	0.05	0.09
C 16:0	0.79	0.71	0.80	0.77	0.04
C 16:1n-7	0.30	0.26	0.24	0.27	0.03
C 18:0	0.37	0.44	0.38	0.40	0.03
C 18:1n-9	0.35	0.22	0.31	0.29	0.05
C 18:1n-7	0.27	0.33	0.29	0.30	0.03
C 18:2n-6	0.95	0.66	0.90	0.84	0.13
C 18:3n-6	0.01	0.03	0.04	0.03	0.01
C 18:3n-3	0.10	0.15	0.18	0.14	0.04
C 18:4n-3	0.03	0.03	0.04	0.03	0.01
C 20:4n-6	0.08	0.03	0.06	0.06	0.02
C 20:4n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 20:5n-3 (EPA)	0.16	0.15	0.19	0.17	0.02
C 22:5n-6	0.11	0.16	0.12	0.13	0.02
C 22:5n-3	0.10	0.09	0.06	0.08	0.02
C 22:6n-3 (DHA)	0.81	0.83	0.87	0.84	0.03

La Tabla 8 presenta los ácidos grasos de importancia para la alimentación de recursos hidrobiológicos en los siguientes grupos: Omega 3 (n3), Omega 6 (n6) y Omega 9 (n9).

**Tabla 8**

*Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en el copépodo por grupos Omega.*

Grupo Omega	Ácido graso	Promedio (ug/g)
Omega 3 (n3)	C 18:3n-3	0.14
	C 18:4n-3	0.03
	C 20:5n-3 (EPA)	0.17
	C 22:6n-3 (DHA)	0.84
	C 22:5n-3	0.08
Omega 6 (n6)	C 18:2n-6	0.84
	C 18:3n-6	0.03
	C 20:4n-6	0.06
	C 22:5n-6	0.13
Omega 9 (n9)	C 18:1n-9	0.29

*Nota.* En la tabla 8 se puede observar que en el grupo de ácidos grasos Omega 3 el máximo contenido de 0,84 ug/g corresponde al C 22:6n-3 (DHA). En el grupo Omega 6 el máximo valor de 0.84 corresponde al C 18: 2n-6, y en el grupo Omega 9 hay solo un ácido graso determinado con un contenido de 0.29 que pertenece al C 18: 1n-9. En todos los tipos de Omegas se observan valores muy bajos, los cuales comparados con los correspondientes a los otros dos alimentos son muy diferenciados.

#### **4.3. Análisis del *Apocyclops aff. spartinus* alimentado con el hongo *Schizochytrium* sp.**

A continuación, se presenta el análisis individual del hongo *Schizochytrium* sp. el cual fue utilizado como alimento para el copépodo y luego se presenta el análisis del perfil lipídico con el contenido de ácidos grasos insaturados del copépodo que fue alimentado con el mencionado hongo

En las tablas 9 y 10 se observa el porcentaje total de lípidos y la concentración de ácidos grasos insaturados que contiene el copépodo que fue alimentado con el hongo *Schizochytrium* sp.

**Tabla 9**

*Porcentaje de lípidos totales en los copéodos alimentados con Schizochytrium sp.*

Muestra	1	2	3	
Lípidos	1.10	1.18	1.15	
Promedio				1.14
Desviación estándar				0.04

**Tabla 10**

*Concentración de ácidos grasos (ug/g) en los copéodos alimentados con el hongo Schizochytrium sp.*

Muestra	1	2	3	Promedio	Desviación estándar
<b>Ácidos Grasos</b>					
C 14:0	84.56	83.85	80.31	82.90	2.27
C 16:0	1002.19	1023.15	279.28	1001.54	21.94
C 16:1n-7	259.74	266.66	253.36	259.92	6.65
C 18:0	328.04	335.47	326.24	329.92	4.89
C 18:1n-9	239.85	257.44	261.87	253.05	11.65
C 18:1n-7	234.22	251.67	248.13	244.67	9.22
C 18:2n-6	541.05	576.57	569.16	562.26	18.74
C 18:3n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 18:3n-3	117.85	126.29	121.55	121.89	4.23
C 18:4n-3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C 20:4n-6	151.20	163.74	163.80	159.58	7.26
C 20:4n-3	37.88	40.91	40.10	39.63	1.57
C 20:5n-3 (EPA)	269.67	291.50	284.57	281.92	11.15
C 22:5n-3	80.87	99.11	89.36	89.78	9.13
C 22:6n-3 (DHA)	609.79	675.69	655.45	646.98	33.76

La Tabla 11 presenta los ácidos grasos de importancia para la alimentación de recursos hidrobiológicos en los siguientes grupos: Omega 3 (n3), Omega 6 (n6) y Omega 9 (n9).

**Tabla 11**

*Contenido promedio de ácidos grasos (ug/g) en el copépodo por grupos Omega.*

Grupo Omega	Ácido graso	Promedio (ug/ml)
Omega 3 (n3)	C 18:3n-3	121.89
	C 20:4n-3	39.63
	C 20:5n-3 (EPA)	281.92
	C 22:6n-3 (DHA)	646.98
	C 22:5n-3	89.78
Omega 6 (n6)	C 18:2n-6	562.26
	C 20:4n-6	159.58
Omega 9 (n9)	C 18:1n-9	253.05

*Nota.* En la tabla 11 se puede observar que en el grupo de ácidos grasos Omega 3 el máximo contenido de 646,98 ug/g corresponde al C 22:6n-3 (DHA). En el grupo Omega 6 el máximo valor de 562.26 corresponde al C 18: 2n-6, y en el grupo Omega 9 hay solo un ácido graso determinado con un contenido de 253.05 que pertenece al C 18: 1n-9.

#### **4.4. Comparación del perfil lipídico del copépodo alimentado con tres alimentos**

El análisis del perfil lipídico se realizó a nivel de ácidos grasos insaturados contenidos en el copépodo objeto de estudio los cuales fueron alimentados por tres tipos de alimentos diferentes, donde uno de ellos era una microalga y los dos restantes hongos.

Los ácidos grasos insaturados sometidos a comparación son los siguientes.

- Ácidos grasos tipo Omega 3: C18:3n-3
- Ácidos grasos tipo Omega 3: C20:5n-3
- Ácidos grasos tipo Omega 3: C22:6n-3
- Ácidos grasos tipo Omega 6: C18:2n-6
- Ácidos grasos tipo Omega 6: C20:4n-6
- Ácidos grasos tipo Omega 9: C18:1n-9

A continuación, se realiza un análisis inferencial en cada categoría aplicando el Diseño Completamente al Azar, la prueba de Fisher y la prueba de Tukey para la comparación de promedios entre los tipos de alimento.

#### 4.4.1. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C18-3n 3 en los copépodos alimentados con los tres alimentos

Se aplicó el Diseño Completamente al Azar para un factor en estudio

Factor en estudio: Alimento para copépodo

Categorías del factor: Alimento 1: microalga *Diacronema lutheri*

Alimento 2: hongo *Saccharomyces cerevisiae*

Alimento 3: hongo *Schizochytrium* sp.

En la siguiente tabla (12) se presenta el análisis de la varianza (ANOVA) para el ácido graso Omega 3: C18-3n 3

**Tabla 12**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3: C18-3n 3*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	27365.981	2	13682.990	542.529	.000
Error	151.325	6	25.221		
Total	27517.306	8			

*Nota.* La tabla proporciona información para el desarrollo de la Prueba de Fisher.

#### **Prueba de Fisher**

Ho: Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 3: C18-3n 3

Ha: Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 3: C18-3n 3

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $p \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 5\%$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 3: C18-3n 3.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

Como están en comparación tres alimentos, el número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C18-3n 3.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.103

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.103 > \alpha = 0.05$ , entonces se acepta  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen igual promedio de ácido graso Omega 3: C18-3n 3.

### **Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3**

Ho:  $\mu_2 = \mu_3$

Ha:  $\mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza Ho

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C18-3n 3.

#### **4.4.2. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C20-5n 3 en los copépodos alimentados con los tres alimentos**

En la siguiente tabla (13) se presenta el análisis de la varianza (ANOVA) para el ácido graso Omega 3: C20-5n 3

**Tabla 13**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3: C20-5n 3*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	120275.545	2	60137.773	953.326	.000
Error	378.492	6	63.082		
Total	120654.037	8			

*Nota.* La tabla proporciona información para el desarrollo de la Prueba de Fisher.

### **Prueba de Fisher**

Ho: Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 3: C20-5n 3

Ha: Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de

ácido graso Omega 3: C20-5n 3

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: p valor = 0.000 <  $\alpha = 5\%$ , entonces se rechaza  $H_0$

decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 3: C20-5n 3.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

Como están en comparación tres alimentos, el número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C20-5n 3.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen diferente promedio de ácido graso Omega 3: C20-5n 3.

### **Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_2 = \mu_3$

$H_a: \mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C20-5n 3.

#### **4.4.3. Comparación del contenido de ácido graso Omega 3: C22-6n 3 en los copépodos alimentados con los tres alimentos**

La tabla 14 presenta el análisis de la varianza para el ácido graso Omega 3: C22-6n 3

**Tabla 14**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 3: C22-6n 3*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	742854.432	2	371427.216	333.049	.000
Error	6691.398	6	1115.233		
Total	749545.830	8			

#### **Prueba de Fisher**

$H_0$ : Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 3: C22-6n 3

$H_a$ : Los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 3: C22-6n 3

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: p valor = 0.000 <  $\alpha = 5\%$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 3: C22-6n 3.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

Como están en comparación tres alimentos, el número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

#### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C22-6n 3.

#### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.055

Tabla de decisión: P valor = 0.055 >  $\alpha = 0.05$ , entonces se acepta  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen igual promedio de ácido graso Omega 3: C22-6n 3.

### **Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3**

Ho:  $\mu_2 = \mu_3$

Ha:  $\mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza Ho

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 3: C22-6n 3.

#### **4.4.4. Comparación del contenido de ácido graso Omega 6: C18-2n 6 en los copéodos alimentados con los tres alimentos**

La tabla 15 presenta el análisis de la varianza para el ácido graso Omega 6: C18-2n 6

**Tabla 15**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 6: C18-2n 6*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	505020.920	2	252510.460	1745.970	.000
Error	867.478	6	144.625		
Total	505888.668	8			

#### **Prueba de Fisher**

Ho: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 6: C18-2n 6

Ha: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 6: C18-2n 6

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $p \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 6: C18-2n 6.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

Como están en comparación tres alimentos, el número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C18-2n 6.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C18-2n 6.

### **Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3**

Ho:  $\mu_2 = \mu_3$

Ha:  $\mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza Ho

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C18-2n 6

#### **4.4.5. Comparación del contenido de ácido graso Omega 6: C20-4n 6 en los copéodos alimentados con los tres alimentos**

La tabla 16 presenta el análisis de la varianza para el ácido graso Omega 6: C20-4n 6

**Tabla 16**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 6: C20-4n 6*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	42444.426	2	21222.213	1135.480	.000
Error	112.141	6	18.690		
Total	42556.566	8			

#### **Prueba de Fisher**

Ho: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 6: C20-4n 6

Ha: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 6: C20-4n 6

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $p \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 6: C20-4n 6.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

Como están en comparación tres alimentos, el número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C20-4n 6.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C20-4n 6.

### **Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3**

Ho:  $\mu_2 = \mu_3$

Ha:  $\mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza Ho

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copéodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 6: C19-4n 6

#### **4.4.6. Comparación del contenido de ácido graso Omega 9: C18-1n 9 en los copéodos alimentados con los tres alimentos**

La tabla 17 presenta el análisis de la varianza para el ácido graso Omega 9: C18-1n 9

**Tabla 17**

*Análisis de la Varianza e indicadores de prueba F para el ácido graso Omega 9: C18-1n 9*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	F	Sig
Alimentos	99116.788	2	49558.394	925.343	.000
Error	321.341	6	53.557		
Total	99438.129	8			

#### **Prueba de Fisher**

Ho: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen igual contenido de ácido graso Omega 9: C18-1n 9

Ha: Los copéodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 9: C18-1n 9

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $p \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: A un nivel de significancia del 5% se rechaza  $H_0$ , por lo tanto, existe evidencia para afirmar que los copépodos alimentados con los tres alimentos tienen diferente contenido de ácido graso Omega 9: C18-1n 9.

### **Prueba de Tukey**

Aplicamos esta prueba para poder comparar los promedios de contenido de los ácidos grasos en los copépodos alimentados con tres alimentos diferentes.

El número de comparación de promedios para la prueba será de tres.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 2**

$H_0: \mu_1 = \mu_2$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 2 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 9: C18-1n 9.

### **Comparación de Alimento 1 vs Alimento 3**

$H_0: \mu_1 = \mu_3$

$H_a: \mu_1 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión:  $P \text{ valor} = 0.000 < \alpha = 0.05$ , entonces se rechaza  $H_0$

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 1 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 9: C18-1n 9.

### Comparación de Alimento 2 vs Alimento 3

Ho:  $\mu_2 = \mu_3$

Ha:  $\mu_2 \neq \mu_3$

Nivel de significancia:  $\alpha = 5\%$

P valor = 0.000

Tabla de decisión: P valor = 0.000 <  $\alpha = 0.05$ , entonces se rechaza Ho

Decisión: por lo tanto, se puede afirmar que los copépodos alimentados con los alimentos 2 y 3 tienen diferentes promedios de ácido graso Omega 9: C18-1n 9

#### 4.5. Análisis de la curva de crecimiento del copépodo *Apocyclops aff. spartinus* alimentado con tres alimentos.

La tabla 18 presenta el crecimiento del copépodo alimentado con la microalga

**Tabla 18**

*Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Diacronema lutheri*

Día	M1	M2	M3	Promedio	Desviación estándar
(N° de organismos/litro)					
0	200	200	200	200	0.00
3	410	420	416	415	5.03
6	955	960	952	956	4.04
9	1180	1165	1150	1165	15.00
12	2225	2218	2240	2228	11.24
15	3315	3322	3340	3326	12.90
18	4118	4120	4100	4113	11.02
21	4305	4292	4300	4299	6.56

La tabla 19 presenta el crecimiento del copépodo alimentado con el hongo *Saccharomyces cerevisiae*

**Tabla 19**

*Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Saccharomyces cerevisiae*

Día	M1	M2	M3	Promedio	Desviación estándar
(N° de organismos/litro)					
0	200	200	200	200	0.00
3	220	244	236	233	12.22
6	359	380	364	355	10.97
9	800	790	780	790	10.00
12	1400	1380	1370	1383	15.28
15	1840	1822	1840	1834	10.39
18	2218	2210	2205	2211	6.56
21	2366	2370	2382	2373	8.33

La tabla 20 presenta el crecimiento del copépodo alimentado con el hongo *Schizochytrium* sp

**Tabla 20**

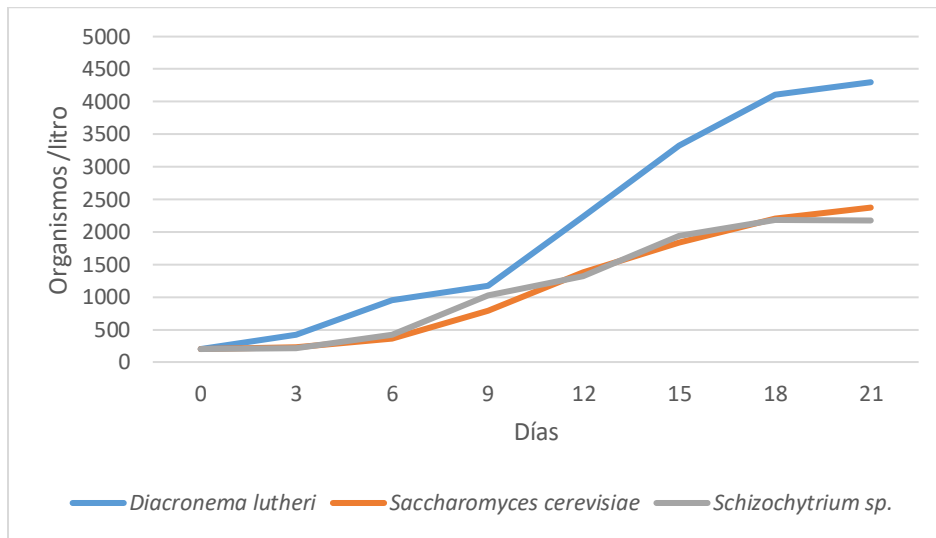
*Crecimiento del cultivo de Apocyclops aff. spartinus alimentado con Schizochytrium* sp.

Día	M1	M2	M3	Promedio	Desviación estándar
(N° de organismos/litro)					
0	200	200	200	200	0.00
3	190	230	240	220	26.46
6	414	422	428	421	7.02
9	1010	1026	1018	1018	8.00
12	1409	1425	1427	1320	9.87
15	1940	1925	1932	1932	7.51
18	2190	2175	2185	2183	7.64
	2180	2164	2171	2172	8.02

En la figura 8 se muestra las tendencias de incremento de las densidades del copépodo (N° de organismos/litro) con cada uno de los tres alimentos

**Figura 8**

*Curvas de crecimiento de Apocyclops aff. spartinus con los tres alimentos*

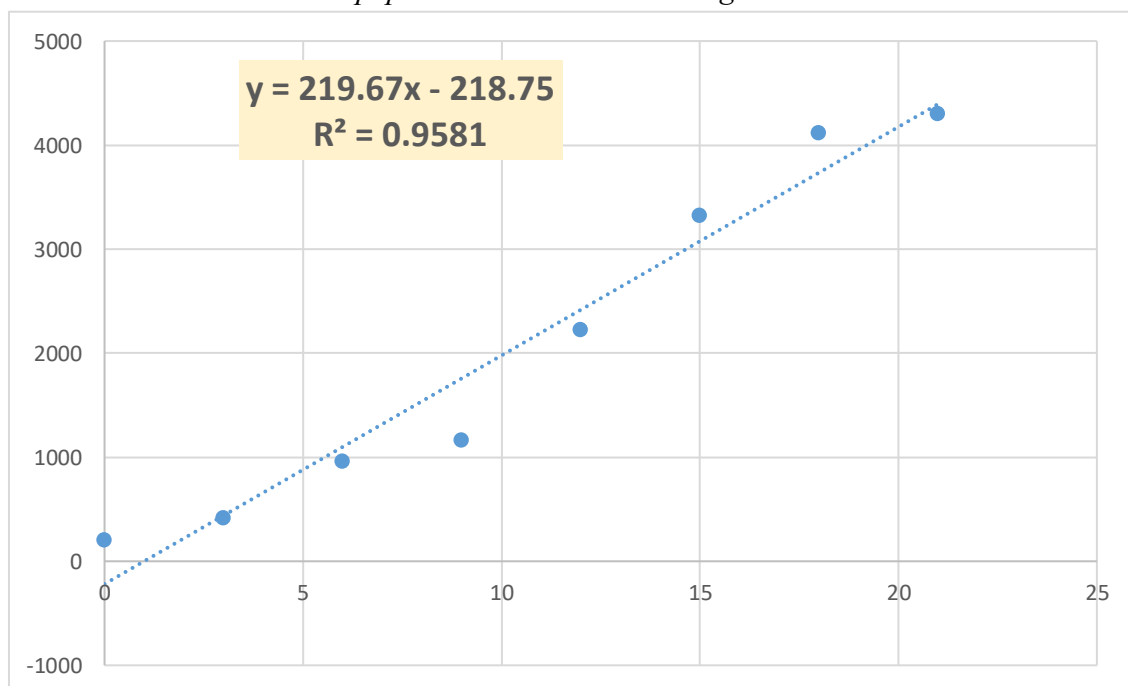


#### 4.5.1. Análisis de la tendencia de crecimiento con el alimento *Diacronema lutheri*

En la figura 9 se presenta la curva de crecimiento, la ecuación de regresión lineal simple y el coeficiente de determinación del modelo.

**Figura 9**

*Curva de crecimiento del copépodo alimentado con el alga *Diacronema lutheri**



Según los resultados obtenidos en la figura 9 se puede deducir las siguientes apreciaciones: Respecto al coeficiente de determinación  $R^2$ :

$$R^2 = 0.9581$$

El 95.81% de las variaciones del incremento de la densidad de cultivo del copéodo, se debe al tiempo

Respecto al coeficiente de regresión (pendiente):

$$b = 219.67$$

Cuando el tiempo de cultivo se incrementa en 1 día, entonces la densidad de cultivo también se incrementa en 219 organismos/litro.

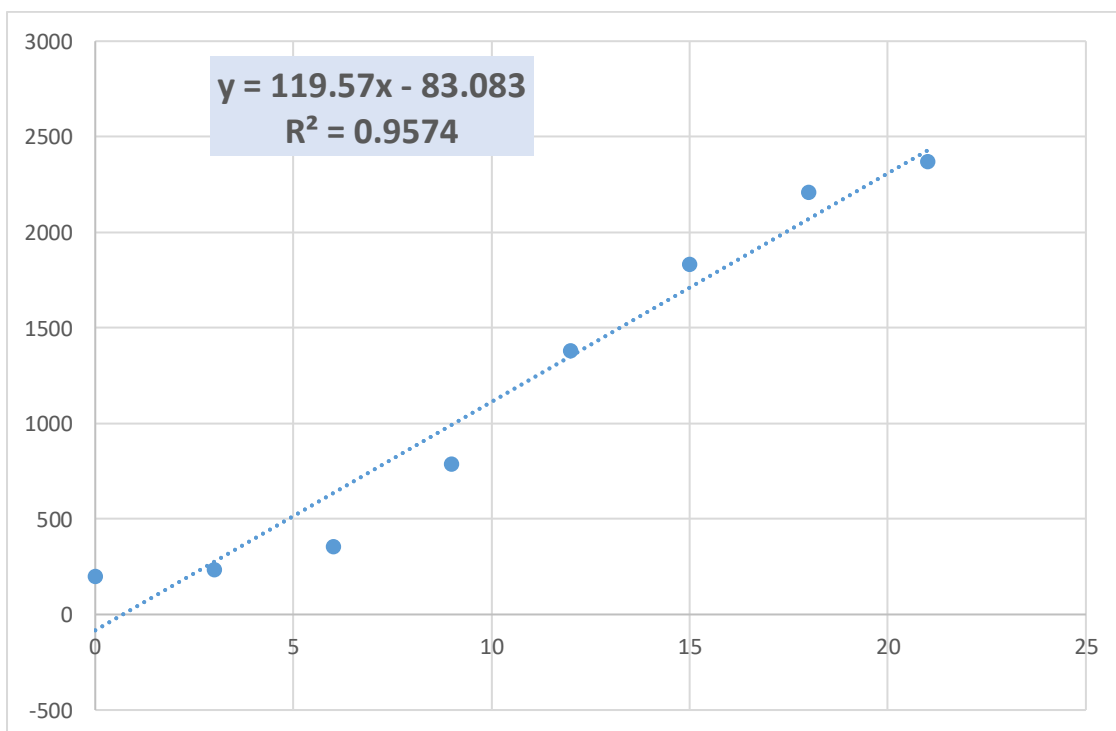
#### 4.5.2. Análisis de la tendencia de crecimiento con el hongo *Saccharomyces cerevisiae*

En la figura 10 se presenta la curva de crecimiento, la ecuación de regresión

Lineal simple y el coeficiente de determinación del modelo.

#### Figura 10

*Curva de crecimiento del copéodo alimentado con el hongo Saccharomyces cerevisiae*



Según los resultados obtenidos en la figura 10 se puede deducir las siguientes apreciaciones:

Respecto al coeficiente de determinación  $R^2$ :

$$R^2 = 0.9574$$

El 95.74% de las variaciones del incremento de la densidad de cultivo del copépodo, se debe al tiempo

Respecto al coeficiente de regresión (pendiente):

$$b = 119.57$$

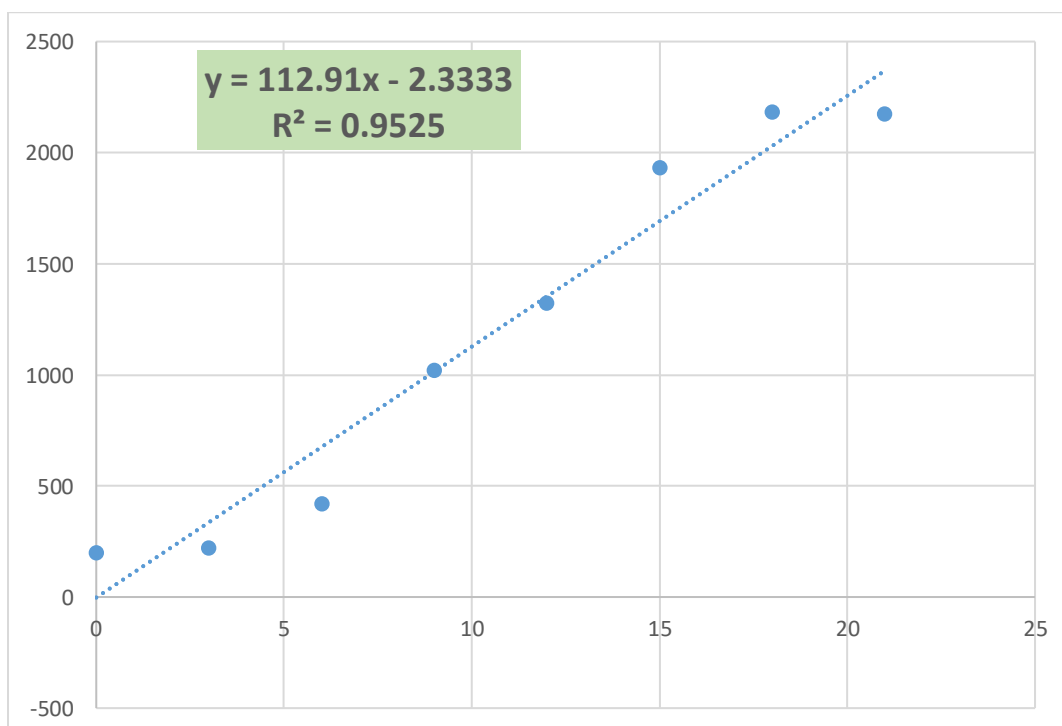
Cuando el tiempo de cultivo se incrementa en 1 día, entonces la densidad de cultivo también se incrementa en 119 organismos/litro

#### 4.5.3. Análisis de la tendencia de crecimiento con el hongo con *Schizochytrium sp.*

En la figura 11 se presenta la curva de crecimiento, la ecuación de regresión lineal simple y el coeficiente de determinación del modelo

#### Figura 11

Curva de crecimiento del copépodo alimentado con *Schizochytrium sp.*



Según los resultados obtenidos en la figura 11 se puede deducir las siguientes apreciaciones:

Respecto al coeficiente de determinación  $R^2$ :

$$R^2 = 0.9525$$

El 95.25% de las variaciones del incremento de la densidad de cultivo del copépodo, se debe al tiempo

Respecto al coeficiente de regresión (pendiente):

$$b = 112.91$$

Cuando el tiempo de cultivo se incrementa en 1 día, entonces la densidad de cultivo también se incrementa en 113 organismos/litro.

#### 4.6. Valores promedio de pH y Oxígeno disuelto obtenidos

La tabla 21 presenta los valores de pH y Oxígeno disuelto obtenidos en los cultivos de los copéodos nutridos con los tres alimentos.

**Tabla 21**

*Valores promedio de los diferentes cultivos*

Cultivo del copépodo	Parámetro			
	T (°C)	S (psu)	pH	O <sub>2</sub> (mg/L)
Alimentado con <i>Diacronema lutheri</i>	28	35	8	4.7
Alimentado con <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28	35	7.5	3.9
Alimentado con <i>Schizochytrium</i> sp.	28	35	7.2	3.7

*Nota.* Temperatura y Salinidad son controlados

## V. Discusión de los resultados

A nivel de ácidos grasos insaturados cuando se realizó el perfil lipídico en los copépodos alimentados con los tres alimentos (*Diacronema lutheri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Schizochytrium* sp.) encontramos AGI coincidentes dentro de 3 grupos Omega ( $\omega$ 3,  $\omega$ 6,  $\omega$ 9). Los AGI coincidentes fueron: C 18:3n-3, C 20:5n3 y C 22:6n3 en el grupo  $\omega$ 3; C 18:2n6 y C 20:4n6 en la familia  $\omega$ 6 y C 18:1n-9 en la familia  $\omega$ 9. En cuanto a los requerimientos de ácidos grasos insaturados (Stickney, 2009) hace hincapié en dos familias de Omega, menciona que los  $\omega$ 6 son necesarios para los animales terrestres y que los animales acuáticos requieren de  $\omega$ 3 y en algunos casos de  $\omega$ 6; indica que para la mayoría de las especies marinas el EPA (C 20:5n3) y el DHA (C 22:6n3) son vitales para el normal desarrollo celular, haciendo mención en los problemas que ocasionaría una deficiencia de estos en dichos organismos. La presencia de estos AGI reafirma la premisa de una buena alternativa de uso como alimento en los cultivos de copépodos.

Los copépodos alimentados con la microalga *Diacronema lutheri* dieron valores de EPA 125  $\mu$ g/g, de DHA 615.47  $\mu$ g/g y 33.60 de ARA (C20: 4n6). De acuerdo con Alejos et al. (2021) estos 3 ácidos grasos insaturados son esenciales para los organismos marinos en general, el alimento utilizado en este caso fue *Isochrysis galbana* realizando el trabajo con *Apocyclops* sp. y *Tisbe* sp. los resultados fueron reportados en ng/ind. Así mismo indica que la relación DHA: EPA debe ser mayor a 2:1 para las dietas de larvas marinas, en mi caso fue de 4.92 por otro lado Rippingale. & Payne (2001) trabajando con el copépodo *Gladioferens imparipes* y utilizando como alimento *Isochrysis galbana* obtuvo relaciones de DHA: EPA mayores a 4.9, al hacer una combinación con otra microalga baja dicha relación a 3.6, en este caso también se podría hacer la combinación para mejorar los niveles de EPA y reducir la relación con el DHA.

Los copépodos alimentados con el hongo *Saccharomyces cerevisiae* arrojan valores de EPA: 0.19  $\mu$ g/g y de DHA: 0.87  $\mu$ g/g, valores muy inferiores a los mostrados por los copépodos

alimentados con la microalga, en general los resultados mostrados fueron muy bajos, incluso el ARA fue de 0.06  $\mu\text{g/g}$ . Si comparamos estos resultados con los expuestos por Magouz et al. (2021) donde trabaja con los copépodos *Oithona nana* alimentados con levadura, podemos observar que los copépodos no registran valores en estos AGI, la explicación puede estar en que la levadura utilizada como alimento es la comercial (cepa inactiva), según Rippingale. & Payne (2001) esta levadura no presenta ninguno de los ácidos grasos insaturados mencionados mientras que la levadura utilizada proviene de una cepa madre (activada y en cultivo) lo cual aparentemente ha beneficiado su carga nutricional.

En general los ácidos grasos insaturados encontrados en los copépodos alimentados con el hongo *Schizochytrium* sp. fueron los más elevados; para el ARA dio un valor de 159.58  $\mu\text{g/g}$ , el EPA fue de 284.57  $\mu\text{g/g}$  y el DHA de 655.45  $\mu\text{g/g}$ . Esto confirma lo expresado por (Hakim, 2012, como se citó en Cruz, 2019), quien dice que *Schizochytrium* sp. es una fuente importante de DHA (37%) y EPA (16%). Por otro lado, coincido con la afirmación de (Sarker et al., 2016, como se citó en Cruz, 2019, p.10) en que es un alimento viable en acuicultura para ser utilizado como potencial reemplazo del aceite de pescado. En cuanto a la relación ideal de DHA:EPA que debe ser mayor a 2:1 en los alimentos según Alejos et al. (2021), cumple satisfactoriamente.

En los experimentos realizados podemos ver que la mayor densidad de copépodos se obtuvo con la microalga *Diacronema lutheri* (4299 cop. /litro), seguido, pero por bastante diferencia de los alimentados con los hongos *Saccharomyces cerevisiae* (2373 cop. /litro) y *Schizochytrium* sp (2172 cop. /litro). En el trabajo de Magouz et al. (2021), *Oithona nana* alcanza densidades de 9000 cop./litro alimentados con almidón de maíz y cerca de 5000 cop/litro cuando los alimenta con levadura; Torres (2019) trabajando también con *Oithona nana* alcanza densidades promedio de 6371 cop./litro, alimentando a los copépodos con una mezcla de *Chaetoceros* sp. e *Isochrysis galbana*, podemos apreciar que siendo el mismo

ejemplar de copépodo en ambos trabajos, las densidades varían de acuerdo al alimento, pero hay que tener en cuenta que las pruebas se hicieron a diferentes densidades de siembra y en volúmenes diferentes; en el caso de Torres (2019) uso matraces de un litro con un volumen útil de 800 ml, sembrando 20 copépodos, mientras que Magouz et al. (2021) utilizo tanques de vidrio con 30 litros de capacidad y su densidad de siembra fue de 1000 copépodos por litro. Podemos inferir que se debe tener en cuenta estos aspectos de volúmenes y densidades de siembra al hacer cálculos poblacionales. Ruiz-Guzmán et al. (2011) alcanza densidades de 10000 organismos/litro con el copépodo *Cyclopina* sp. usando como alimento una combinación de *Tetraselmis suecica* e *Isochrysis galbana*, cuando utiliza levadura como alimento solo llega a densidades de 3000 cop. /litro explicando esto por la casi nula presencia de ácidos grasos insaturados, esenciales para el desarrollo de estos organismos; estos resultados coinciden con los hallados en este trabajo. Las diferentes experiencias demuestran que en general los mejores resultados se dan en la combinación de dos alimentos, ya que se complementan y de esta manera satisfacen las demandas nutricionales de los copépodos. Podemos ver que los valores poblacionales cambian de acuerdo con el género del copépodo, el alimento utilizado y las características que presenta el mismo.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos el O<sub>2</sub>, en el cultivo alimentado con *D. lutheri* tuvo como promedio 4.7 mg/l, con *S. cerevisiae* 3.9 mg./l y con *Schizochytrium* sp. 3.7 mg./l. El pH en el caso del cultivo alimentado con *D. lutheri* tuvo como promedio 8, con *S. cerevisiae* 7.5 y con *Schizochytrium* sp. 7.2. Estos valores coinciden con los registros de Ruiz-Guzmán et al. (2011). Las microalgas tienen la ventaja de mejorar la calidad del agua.

## VI. Conclusiones

Desde el punto de vista nutricional el hongo *Schizochytrium* sp. junto con la microalga *Diacronema lutheri*, tuvieron los mejores resultados, el aporte nutricional del hongo *Saccharomyces cerevisiae* en cuanto a EPA y DHA fue bastante bajo.

La mayor densidad alcanzada por los copépodos fue cuando estos estuvieron alimentados con la microalga *Diacronema lutheri*, ya que cuando fueron alimentados con los hongos *Schizochytrium* sp. y *Saccharomyces cerevisiae* las poblaciones alcanzaron valores de un poco más de la mitad de la alcanzada con la microalga.

El trabajar con *Diacronema lutheri* tiene la ventaja de mantener o mejorar la calidad del agua donde se cultivan los copépodos, no sucede lo mismo cuando el alimento es *Schizochytrium* sp. y *Saccharomyces cerevisiae* donde los tenores de oxígeno y pH se ven afectados.

## VII. Recomendaciones

La combinación de dos tipos de alimento parece ser la mejor opción para el cultivo de copéodos, los diferentes trabajos muestran que un solo tipo de alimento no satisface las necesidades nutricionales de los mismos, en este caso, por ejemplo, la levadura es muy utilizada en acuicultura, el copéodo la acepta, pero su aporte nutricional es bajo, combinada con una microalga posiblemente el resultado sería mucho mejor.

Para futuras investigaciones trabajar con volúmenes menores facilitaría bastante el trabajo, se tomó la decisión en este caso con el fin de poder asegurar una biomasa que facilite el análisis de los ácidos grasos insaturados. Hay que tener en cuenta también que las densidades varían de acuerdo con el tipo de copéodo que se cultive.

En el caso de *Diacronema lutheri* y *Saccharomyces cerevisiae* se les suministro en forma viva, mientras que *Schizochytrium* sp. fue una emulsión (polvo más agua) con los copéodos esta última presentación no tuvo los resultados esperados, tal vez por cuestiones de palatabilidad, ser un organismo inerte. Lo mejor sería experimentar con cepas vivas de este organismo.

### VIII. Referencias

- Alejos, R., Gaspar, W., Flores, L., Ynga, G., Ruiz, A. & Niño, A. (2021) Effect of time in culture on fatty acid composition of copepods *Tisbe* sp. and *Apocyclops* sp.. *Journal of the World Aquaculture Society*, 53(2), 475–484. <https://doi.org/10.1111/jwas.12827>
- AlgaeBase, (13 de julio del 2023). *Diacronema lutheri*. <https://www.algaebase.org>
- Andersen, R (2005) *Algal Culturing Techniques*. Elsevier Academic Press
- Baird, R., Eaton, A. & Rice, E. (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. (23 ed.). American Water Works Association.
- Balfry & Higgs (2001). Influence of Dietary Lipid Composition on the Immune System and Disease Resistance of Finfish. En Lim Ch & Webster C. (Ed.), *Nutrition and Fish Health*. (pp.213-234).
- Bendif, E., Proberta, I., Hervéc, A., Billardb, Ch., Goux, D., Lelongb, Ch., Cadoret, J., & Vérona, B. (2011) Integrative Taxonomy of the Pavlovophyceae (Haptophyta): A Reassessment. *Protist*, (162)5,23.
- Bengtson, D. (2003). Status of Marine Aquaculture in Relation to Live Prey: Past, Present and Future. En Støttrup, J.G. & McEvoy, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture* (pp. 1-16). Blackwell Science Ltd.
- Cambefort, S. (2009). *Efecto de las microalgas chaetoceros gracilis, tetraselmis sp. e isochrysis galbana sobre la producción y desarrollo naupliar en copéodos calanoideos marinos tropicales, acartia spp.* [Tesis de ingeniero]. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Ecuador.
- Castro, T. (2004). *Alimento vivo para organismos acuáticos*. (1 ed.). México: AGT Editor.
- Chang, W.B. (1992). Studies on the physioecology of a copepod, *Apocyclops royi* (family: Cyclopoidae). (Ph.D. tesis). National Taiwan University.

- Cisneros, R. & De la Cruz, M. (2007). *Cultivo del Rotífero Brachionus sp. y Copépodos Nativos en Ambiente Controlado*. Unidad de Investigaciones en Acuicultura, IMARPE
- Cohelo, M. (1999). *Revisão do gênero Apocyclops Lindberg, 1942 (Copepoda : Cyclopoida)*. [Tesis de Doctorado, Universidade de São Paulo] <https://repositorio.usp.br/item/001082749>
- Cohelo, R. (2017) *Microalgas como ingrediente e suplemento dietético para tilápia Oreochromis niloticus: valor biológico, desempenho e composição da carcaça*. [Tesis de Doctorado, Universidade de São Paulo]. <https://doi.org/10.11606/T.11.2017.tde-07062017-085309>
- Cruz, I. (2019). *Evaluación de Microalgas endémicas para el cultivo y enriquecimiento de presas vivas y su aplicación en la primera alimentación de Seriola rivoliana*. [Tesis de doctorado, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.]. <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/1624>
- FAO. (2020). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. La sostenibilidad en acción*. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.
- FAO. (2022). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul*. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461es>
- Fleeger, J. (2005) The Potential to Mass-Culture Harpacticoid Copepods for Use as Food for Larval Fish. En C-S. Lee., P. O'Bryen & N. Marcus (Eds.) *Copepods in Aquaculture* (pp. 11-24). Blackwell Publishing.
- Govoni, J., Boehlert, G., & Watanabe, Y. (1986). *The physiology of digestion in fish larvae*. Environmental Biology of Fishes Vol. 16, No. 1-3, pp. 59-77. Dordrecht: Dr W. Junk Publishers
- Guillaume, J., Kaushik, S., Bergot, P. & Métailler, R. (2004). *Nutrición y Alimentación de Peces y Crustáceos*. (1 ed.). Ediciones Mundi-Prensa.

Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, M. (2014). *Metodología de la Investigación*. (6 ed.). McGraw Hill Education.

Higgs, D.A. and F.M. Dong. (2000). Lipids and fatty acids. In R.R. Stickney (Ed.), *The Encyclopedia of Aquaculture* (pp. 1-20). New York: Jhon Wiley and Sons, Inc.

ITIS. (14 de julio del 2023). *Saccharomyces*. <https://www.itis.gov>

Jácome, P., Moreno, C., Mazabanda, R., Merino, D., & Patín, M. (2023). Identificación y cuantificación de levaduras *Saccharomyces Cerevisiae* en la fermentación de mostos de vinos. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades* 4(1), 2430–2445. <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.427>

Lagos, A., Angulo, A., Daza, A., Toro, D., González, J., León, V., López, M., Naar, O., Polanco, P., Londoño, R. & Quiroga, S. (2014). *INFOZOA Boletín de Zoología Zooplancton* (1a ed.). Universidad del Magdalena.

Lavens, P. and Sorgeloos, P. (1996). *Manual on the Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361.

Lee, C-S., O'Bryen, P. & Marcus, N. (2005). *Copepods in Aquaculture*. Blackwell Publishing

Luna-Figueroa, J., Arce, E. y Figueroa, J. (2018). Ventajas e inconvenientes del uso de alimento vivo en la nutrición de peces. *Inventio: la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, 14 (33), pp. 39-43. <http://inventio.uaem.mx/index.php/inventio/article/view/128/89>

Magouz, F., Essa, M., Matter, M., Mansour, A., Alkafafy, M., & Ashour, M. (2021) Population Dynamics, Fecundity and Fatty Acid Composition of *Oithona nana* (Cyclopoida, Copepoda), Fed on Different Diets. *Animals*, 11, 12.

Marcus, N. (2005) Calanoid Copepods. Resting Eggs, and Aquaculture. En C-S. Lee., P. O'Bryen & N. Marcus (Eds.) *Copepods in Aquaculture* (pp. 3-9). Blackwell Publishing.

- Morales, A. & Vargas, J. (1995). Especies comunes de copépodos (C:rustacea: Copepoda) pelágicos del Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 43(1-3), 207-218.
- Mujica R, A., Carvajal U, C., & Miranda E, O. (1995). Cultivo experimental de Tigriopus sp. (Copepoda: Harpacticoidea). *Investigaciones Marinas*. 23: 75-82.
- Muller-Feuga, A., Moal, J. & Kaas, R. (2003). The microalgae of Aquaculture. En Støttrup, J.G. & McEvoy, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture* (pp. 206-252). Blackwell Science Ltd.
- Olsen, Yngvar; Evjemo Jan Ove; Kjørsvik, Elin; Larssen, Harald; Li, Keshuai; Overrein, Ingrid & Rainuzzo, Jose (2014). DHA content in dietary phospholipids of cod larvae and larval performance. *Aquaculture Volumes 428-429*, 20 May 2014, Pages 203-214.
- Osorio, M. (1998). *Efecto de la temperatura y la salinidad en parámetros poblacionales de pseudodiaptomus ezyhalinus johnson (crustacea: copepoda: calanoidea) en condiciones controladas*. [Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas]
- PRODUCE. (2022). *Anuario Estadístico Pesquero y acuícola 2021*. Lima. Ministerio de la Producción.
- Puello, A., González-Rodríguez, B. & García, A. (2008). Investigación en Producción y Uso de Copépodos en Larvicultura. En L. Cruz, D. Rique, M. Tapia, M. Nieto, D. Villarreal, J. Lazo & T. Viana (Eds.), *Avances en Nutrición Acuicola IX Simposio Internacional de Nutrición Acuicola* (pp. 90-107). Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Rippingale, R. & Payne, M. (2001). Intensive cultivation of a calanoid copepod for live food in fish culture. On-line version, <https://www.frdc.com.au/sites/default/files/products/1996-398-DLD.pdf>

- Ruiz-Guzmán, J., Jiménez, C., Velasquez, C., Romero, C. & Prieto, M. (2011). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 25:97-105.
- Solomon, E., Berg, R. & Martin, D. (2013) *Biología*. (9 ed.). Cengage Learning Editores, S.A. de C.V
- Stickney, R. (2009). *Acuicultura Texto introductorio*. (2ed.). Editorial Acribia, S.A.
- Støttrup, J.G. (2003). Production and nutritional value of copepods. En Støttrup, J.G. & McEvoy, L.A. *Live Feeds in Marine Aquaculture* (pp. 145-295). Blackwell Science Ltd.
- Støttrup, J.G. and McEvoy, L.A. (2003). *Live Feeds in Marine Aquaculture*. (1 ed.). Blackwell Science Ltd.
- Su, H-M., Cheng, S-H., Chen, T-I & Su, M-S. (2005) Culture of Copepods and Applications to Marine Finfish Larval Rearing in Taiwan. En C-S. Lee., P. O'Bryen & N. Marcus. (Eds.), *Copepods in Aquaculture* (pp. 183-194). Blackwell Publishing.
- Torres, F. (2019). *Efecto de las migroalgas /sochrysis galbana y chaetoceros sp.en la producción de copépodos marinos nativos cultivados en condiciones de laboratorio en la región de Tacna*. [Tesis de ingeniero, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann]. <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3788>
- Uye, S. (2005) A Brief Review of Mass Culture of Copepods Used for Fish Food in Japanese Mariculture and a Proposed Plan to Use High Biomass Natural Populations of Brackish-Water Copepods. En C. Sheng Lee (Ed.) *Copepods in Aquaculture* (pp.77-89) Blackwell Publishing
- Vasudevan, S., Arulmoorthy, M., Gnanamoorthy, P. & Ashok prabu, V. (2013) Intensive cultivation of the calanoid copepod oithona rigida for mariculture purpose. *International journal of Pharmacy and Biological Sciences* 3 (4),317-323.

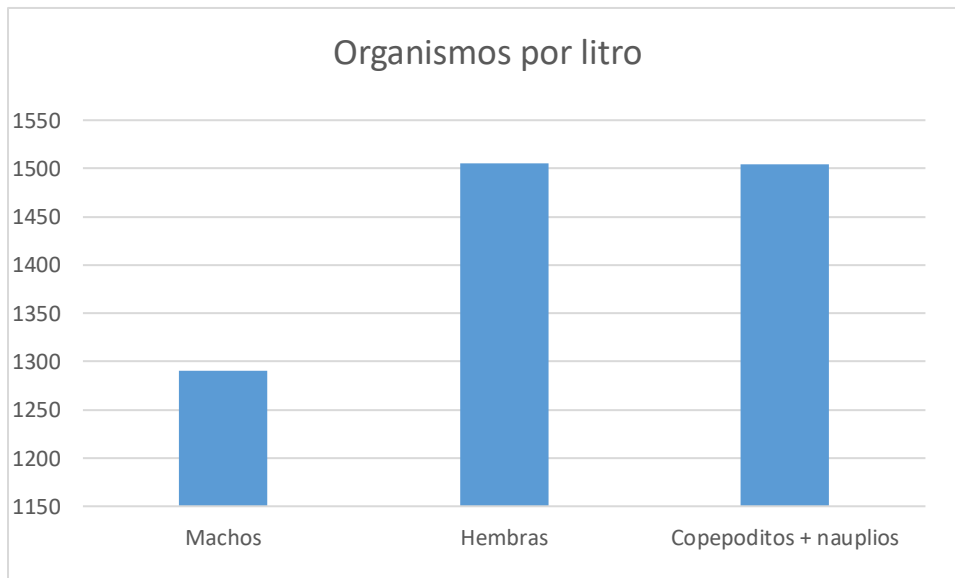
- Watanabe T. (1987) Requerimiento de ácidos grasos y nutrición lipídica en los peces. En Espinoza de los Monteros J. & Labarta U. (Ed.) *Nutrición en Acuicultura II* (pp. 99-166) CAYCIT.
- Zhang, Q. and Uhlig, G. (1993). Effect of density on larval development and female productivity of *Tisbe holothuriae* (Copepoda, Harpacticoida) under laboratory conditions. *Helgolander Meeresuntersuchungen*, 47, 229–24.

## IX. Anexos

Anexo A: Distribución de Machos, hembras, copepoditos y nauplios en los cultivos

**Figura 12**

*Cultivo de copepodos alimentados con D. lutheri*



**Figura 13**

*Cultivo de copepodos alimentados con S. cerevisiae*



**Figura 14**

*Cultivo de copéodos alimentados con Schizochytrium sp.*

