



PROTOCOLO CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO

CÓDIGO: DGIA/LAV/P-02.01/CR

Rev. N°.	Fecha	Descripción de la Modificación	Edición	Aprobado por

DISTRIBUIDO A:

DEC	DGIA	AFIA	
-----	------	------	--



Copia No:
ÉSTA ES UNA COPIA CONTROLADA, SALVO SE INDIQUE DE OTRA MANERA.

Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 2 de 11

1. OBJETIVO:

Establecer las pautas a seguir para el cultivo de rotíferos para la producción alimento vivo para las larvas de peces.

2. ALCANCE:

Se aplica a los procesos de laboratorio para el cultivo de rotíferos, alimento esencial con el que se inicia la alimentación en los primeros estadios de vida. La técnica de cultivo de rotífero se desarrolla en el laboratorio bajo condiciones controladas de temperatura y alimentación diaria.

3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

- **Rotífero:** Grupo perteneciente a los más pequeños metazoarios. Ellos raramente alcanzan 2 mm en la longitud del cuerpo. Los machos tienen un tamaño reducido y son menos desarrollados que las hembras; algunos miden tan solo 60 μ m.
- **Inóculo:** Cantidad de cultivo necesario para elevar el volumen de cultivo de un nivel a otro superior.
- **Enriquecedor:** Compuesto por agua, aceite de pescado y algas secas, que se adiciona a los cultivos para mejorar la cantidad de ácidos grasos de los mismos.

4. RESPONSABILIDADES

El Responsable o Jefe de Laboratorio:

- 4.1. Es responsable de asegurar el cumplimiento del presente protocolo.
- 4.2. Supervisa las actividades involucran al cultivo.
- 4.3. Gestiona y verifica el cumplimiento del plan de mantenimiento y calibración de equipos.
- 4.4. Supervisa el correcto ingreso de datos de los registros internos de trabajo.
- 4.5. Designa y autoriza al personal capacitado para ejecución de muestreo, cultivo, y/o manejo de equipos según corresponda. .
- 4.6. Emite el informe correspondiente.



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 3 de 11

El Analista (Debidamente autorizado):

- 4.7. Aplica el presente protocolo.
- 4.8. Realiza el control de parámetros físico-químicos del ambiente y cultivo.
- 4.9. Realiza el mantenimiento de los cultivos.
- 4.10. Calcula y procesa los resultados.
- 4.11. Realiza el mantenimiento preventivo a los equipos.
- 4.12. Registra la información de los formatos correspondientes.

El Técnico (Debidamente autorizado):

- 4.13. Apoya en las actividades de cosecha, alimentación, siembra y lavado de materiales, u otros que se le indique.

5. EQUIPOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS

5.1. EQUIPOS

- Termostatos.
- Bomba dosificadora.
- Oxímetro.
- Potenciómetro (pHmetro).
- Microscopio.
- Estereoscopio.
- Refractómetro.
- Sistema de esterilización ultravioleta (UV)

5.2. MATERIALES

- Tanques de 200L.
- Tamiz de 60 μ
- Pipetas de 10ml.
- Baldes de 4, 10, 12,15 y 20L.
- Mangueras de silicona 3/16.
- Llaves de paso.



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 4 de 11

- Piedras difusoras (grandes y medianas).
- Manguera de 1' (cosecha).
- Jarras de 1 y 2L.
- Baguetas.
- Contador celular.
- Placas Petri.
- Porta objetos.
- Cubre objetos.
- Pipetas.
- Termómetros de mínima y máxima T °C.
- Fluorescentes.
- Viales de vidrio.
- Agua de mar y potable.

5.3. REACTIVOS

- Hipoclorito de sodio.
- Tiosulfato de sodio p.a.

5.4. INSUMOS

- Enriquecedor (DHA).
- Levadura fresca.
- Microalgas

6. PROCEDIMIENTO DEL CULTIVO

6.1. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD/OPERACIÓN

Tenga en cuenta las siguientes consideraciones antes de iniciar el cultivo:

- a. Verifique la limpieza de los tanques antes del inicio de la siembra.
- b. Evite todo contacto del tanque de cultivo con el hipoclorito de sodio para evitar la muerte de los rotíferos por contaminación.



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 5 de 11

- c. Mantenga limpios los tamices (que son empleados en la cosecha) para evitar la contaminación de algún otro organismo, principalmente protozoarios. Para ello desinfecte con hipoclorito de sodio al 10% y enjuague con abundante agua hasta eliminar completamente los rastros de lejía.

6.2. ACONDICIONAMIENTO DE LA CEPA

- a. El Banco de Germoplasma de Organismos Acuáticos, proporciona 1L cepa de *Brachionus plicatilis*, el mismo que se aclimata a temperatura ambiente (25 °C) en el laboratorio, aproximadamente (24 horas).

6.3. CULTIVO BAJO CONDICIONES CONTROLADAS

Luego del periodo de aclimatación, proceda de la siguiente manera:

- Coseche las cepas de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y colóquelo en un beaker de 1L, el cual debe contener agua de mar filtrada más 250 mL de alimento (El alimento proporcionado es la microalga: *Nannochloropsis oceánica*).
- Lave los rotíferos con agua en un tamiz de 60 µm de poro de malla y colóquelos en un balde de 4L con agua de mar estéril.
- Aliméntelos con 1L de microalga: *Nannochloropsis oceánica* (La alimentación debe suministrarse una sola vez al día).
- En esta etapa realice el primer conteo de organismos con el uso de una cámara de Sedgwick-Rafter.
- Lave los cultivos como en el ítem b e incremente los niveles del cultivo de 15 y 25L, tenga en consideración que el tiempo entre cada nivel es de 7 días.
- Registre el conteo de organismos, el cual debe realizarse diariamente.
- En el nivel de 25 L se realiza la cosecha y la concentración de los rotíferos utilizando un tamiz de 60 µm de poro de malla, para luego pasarlos a un balde de 2 L, los mismos que se usaran como inóculo para un nuevo cultivo en los tanques de 210 litros.



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 6 de 11

- h. La producción masiva de rotífero en los tanques de 210 L, se inicia con un volumen de 70L, agregue el 50% de microalgas, 20% de agua potable y el 30% de agua de mar filtrada para alcanzar una salinidad de 27 ppm. Siembre el inoculo de rotíferos concentrados en 2L.
- i. Incremente diariamente un volumen de 35 L, con el 10% agua de mar, 30% agua potable, 60% microalga y complemente el cultivo con levadura fresca. (Este proceso empieza a partir del primer día de cultivo).
- j. Realice un previo conteo en el tanque de cultivo por mililitros, antes de que alimente con levadura fresca de cultivo.

$$\text{Lev} = \frac{V_{tq} \times N^{\circ}/\text{ml} \times \%H.H}{1000000}$$

Donde:

- Lev = Cantidad de levadura a entregar al cultivo (g).
 V_{tq} = Volumen del tanque en mL.
 N°/ml = Número de rotíferos por mL.
H.H = Hembras con huevo.

- k. Al cuarto día en que se completa el volumen total del tanque, coseche el 30% del volumen total del tanque con una malla de 60 μm de apertura de poro y proceda a volver a nivelarlo con 35 L de microalga, 12 L de agua potable y 16 L agua de mar UV. Realice este procedimiento hasta el día 10 de cultivo, en el día 11 proceda a la cosecha total del tanque de cultivo.
- l. Después de realizada la cosecha total del tanque de cultivo, proceda a lavar el tanque.
- m. Lave el tanque con abundante agua potable a presión sobre las paredes, prepare en un balde de 4L la solución desinfectante conformada por lejía comercial (5%), detergente y agua potable, la misma que se utilizara para el lavado del tanque con la ayuda de una mopa, eliminando así la materia adheridas a las paredes, enjuagar con abundante agua, luego llene el tanque



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTÍFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 7 de 11

con agua potable y agregar lejía comercial (5%) dejándolo sin uso por 24 horas, pasado el tiempo enjuagar con abundante agua las paredes del tanque, finalmente estará listo para ser usado en el cultivo nuevamente.

7. DATOS, CÁLCULOS Y RESULTADOS

7.1. CONTEO DE LOS CULTIVOS DE ROTÍFEROS

- a. Realice el conteo de rotíferos diariamente para poder tener un seguimiento del incremento de la población.
- b. Para ello tome con una pipeta una alícuota de 4 mL del tanque de cultivo y se fija con una gota de lugol.
- c. Coloque 1 mL en la cámara Sedgwick-Rafter, cubra y deje reposar por 15 minutos.
- d. Lleve al microscopio y proceda a realizar el conteo.
- e. Obtenga la concentración del tanque aplicando la siguiente fórmula:

$$N^{\circ} \text{ total} = N^{\circ} \times \text{Vol.}$$

Donde:

$N^{\circ} \text{ total}$ = Densidad total de rotíferos del tanque.

Vol. = Volumen total del tanque

N° = Número de rotíferos contados en 1mL.

8. BIBLIOGRAFIA

APROMAR 2012. "Protocolo de Rotífero". Centro Regional de Investigación Pesquera (CRIP) Manzanillo, Colima.



Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--



**PROTOCOLO
-IMARPE-**

DGIA/LAV/P-02.01/CR

**CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE
ALIMENTO VIVO**

Edición: 01
Revisión: 0
Fecha : 08/07/2016
Página 8 de 11

ANEXOS

Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán
Ing. Wilmer Gaspar Reyes
Fecha: Enero 2016

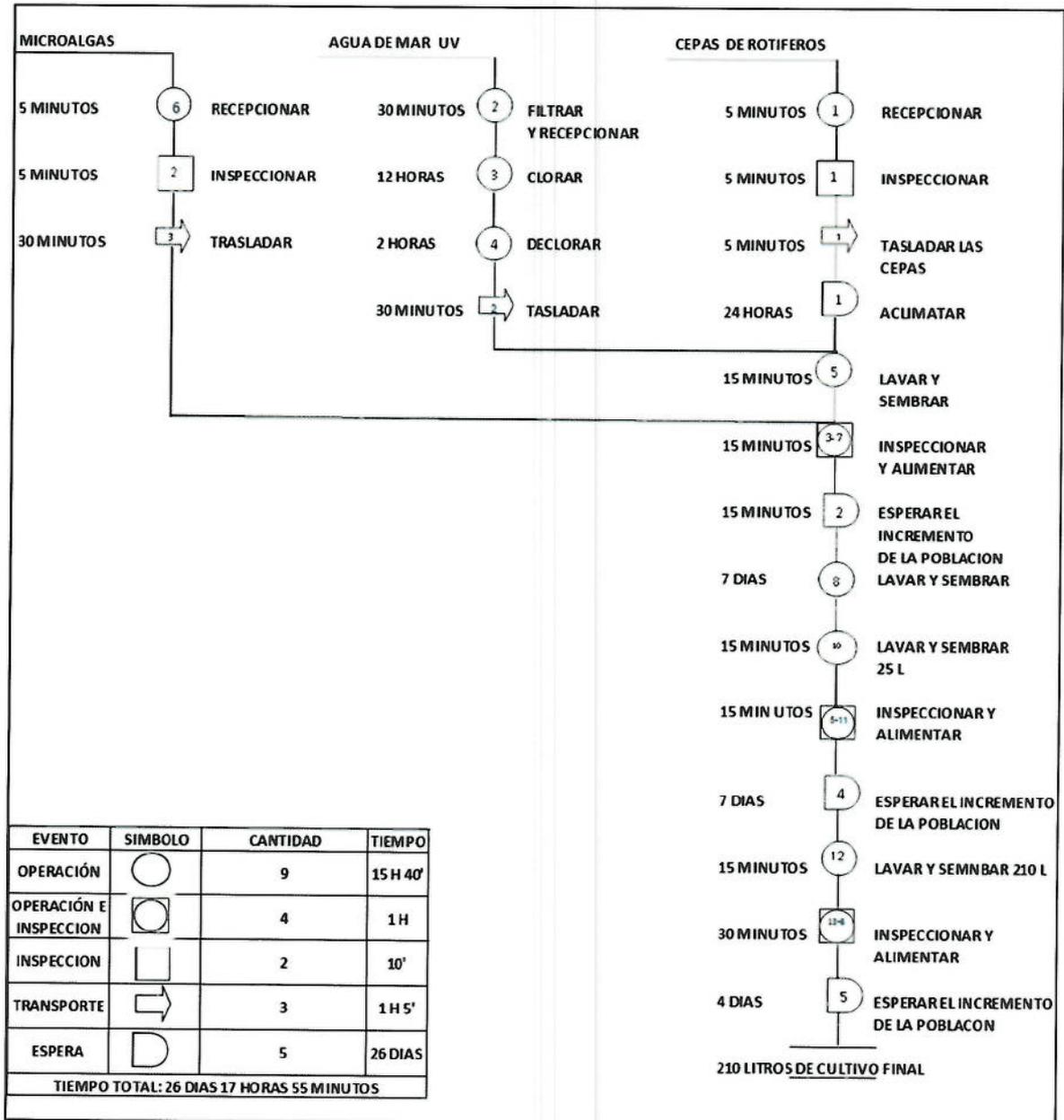
Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco
Fecha: Junio 2016

Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos
Directora DGIA
Fecha: Julio 2016

	PROTOCOLO -IMARPE-	DGIA/LAV/P-02.01/CR
	CULTIVO DE ROTIFEROS PARA LA PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO	Edición: 01 Revisión: 0 Fecha : 08/07/2016 Página 9 de 11

ANEXO 1.

DIAGRAMA DE FLUJO DE CULTIVO DE ROTIFEROS



L. CARRERA

Elaborado: Blga. Gheraldine A. Ynga Huamán Ing. Wilmer Gaspar Reyes Fecha: Enero 2016	Revisado: M.Sc. María Elena Jacinto Tayco Fecha: Junio 2016	Autorizado: Ing. Lili J. Carrera Santos Directora DGIA Fecha: Julio 2016
---	--	--

