



“Taller de avances en el cultivo de lenguado”

“PRODUCCION DE CULTIVO DE ALIMENTO VIVO”



Víctor Chili Layme
Luis Rodríguez Ruiro
Centro de Acuicultura Morro Sama
Tacna

Lima, noviembre de 2013



ANTECEDENTES



En las últimas décadas y a nivel mundial se ha tenido un gran progreso en el cultivo de varias especies de peces, moluscos y crustáceos, obteniéndose mayor conocimiento sobre los requerimientos en cada especie y en cada etapa de desarrollo, principalmente larvario que es donde directamente interviene el alimento vivo representando un aspecto muy importante en la acuicultura

PUNTO CRÍTICO



La captura del alimento comienza cuando las larvas terminan de consumir su vitelo, el cual es la reserva energética que alimenta al embrión por varios días. El punto crítico en la vida de las larvas está en el tiempo que pasa entre la terminación del vitelo y la captura del primer alimento. Se tiene conocimiento que es la etapa larvaria en donde se presenta la mayor mortalidad, ya que en este período las especies son más vulnerables a las condiciones del medio, a las enfermedades y al alimento, por que no cubra los requisitos de la especie, como son tamaño, movilidad, olor o contenido nutritivo adecuado. Por lo que para que la larva de un organismo sobreviva y pase a las siguientes etapas postlarvales juveniles y adulta, debe entre otros factores , disponer de alimento pertinente, con calidad apropiada y en la concentración requerida, que variara dependiendo de la etapa de desarrollo y de la especie.

CUALIDADES

El alimento vivo tiene cualidades que no tiene un alimento inerte, como es el movimiento, que estimula ser atrapado por el depredador, el color, que es atractivo para su captura, la calidad nutritiva ya que, los organismos que se aprovechan como alimento y que se cultivan, contienen la cantidad y calidad de nutrientes indispensables para el adecuado crecimiento de las especies en el agua. Por otra parte , el alimento vivo tiene la cualidad de no afectar la calidad del agua, debido a que este es consumido antes de que llegue al fondo, sin causar ningún tipo de descomposición, a diferencia del alimento inerte, causando a veces una mortalidad total del estanque.



Conjunto de actividades para producir un tipo de alimento vivo

- En cantidad
 - En calidad
 - En el momento requerido
- CEPAS:
- * Productivas
 - * Resistentes
 - * Adecuadas

PRODUCCIÓN DE ALIMENTO VIVO



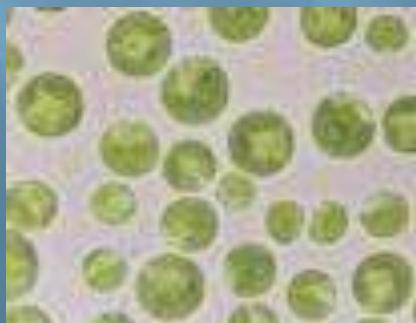
Estudiar y manipular factores ambientales, nutricionales y de manejo



Mejorar la composición química



Intensificar el cultivo



REQUERIMIENTOS QUE DEBEN CUMPLIR LOS ORGANISMOS ACUÁTICOS PARA SER USADOS COMO ALIMENTO VIVO

1. AMBIENTALES

Soportar amplios rangos de factores abióticos



2. NUTRICIONALES

* Alto valor nutricional.

* Aceptabilidad para el predador (Perceptible, tamaño)

* Digestibilidad elevada.



3. DE MANEJO

* Resistencia a la manipulación

* Cultivo a altas densidades

* Métodos sencillo de cultivo

* Disponibilidad segura



4. ECONÓMICOS

* bajo costo de cultivo

* Rentable

Sistemas de cultivo

ESTÁTICO O BATCH: No se añade ningún sustrato a la carga inicial, ni tampoco se retira ningún producto hasta final del proceso. La concentración de nutrientes cambia a lo largo del tiempo como consecuencia del aumento de la densidad poblacional.

CONTINUO: El sustrato se añade de forma continua y el producto se retira de forma continua, de forma tal que el volumen es constante, al igual que la densidad de microalgas y la concentración de nutrientes, una vez alcanzado el equilibrio.

SEMICONTINUO: Una parte del sustrato se reemplaza, sacando una cierta cantidad del cultivo e incorporando medio fresco a intervalos de tiempo fijos.

USOS EN LA ACUICULTURA

Rotífero



Artemia



Ostras



Lenguado



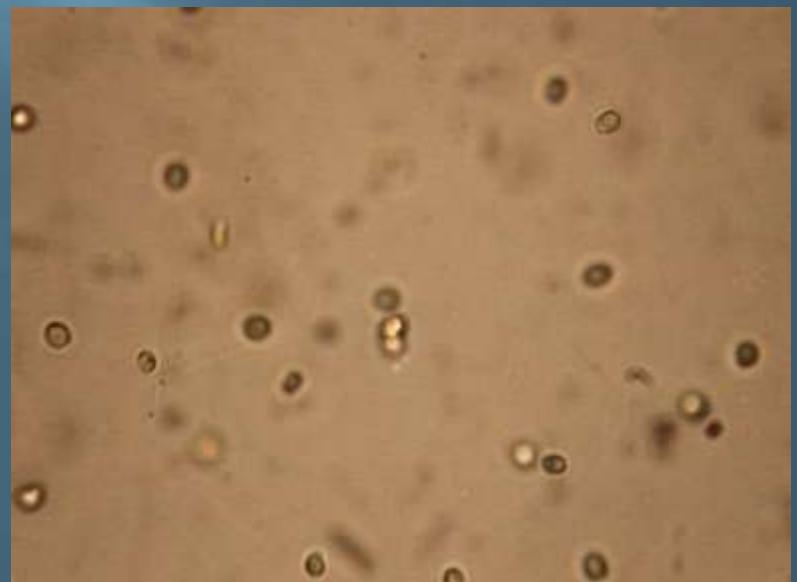
Concha de Abanico



Erizo

CULTIVO DE MICROALGAS

- Grupo heterogéneo de plantas que poseen una amplia diversidad de tamaños , pigmentación, mecanismos reproductivos , composición química, hábitat y un bajo nivel de especialización celular.
- Son típicamente acuáticas y viven fijas a un sustrato o flotando libremente en el plancton.
- Adquieren variadas formas , se organizan en unicelulares o coloniales.



Limpieza de materiales



Productos Empleados :

- Ácido muriático Concentración 1:1
- Hipoclorito de Sodio al 5% (lejía)
- Yodo (2 mL/L)

Materiales :

- Escobillas
- Esponja verde

Preparación de medios de Cultivo



Volúmenes hasta 800 mL :

- Agua de mar Clorada (0.5 mL/L), Neutralizado con Tiosulfato
- Filtrado de Agua a 0.20 y 0.45 µm (filtros de membrana)
- Adición de Nutrientes (1mL/L de medio de cultivo)
- Autoclavado (121 °C por 15 – 20 minutos)

Volúmenes hasta 1000 L

- Adición directa de nutriente Mix (4 L y 18 L)
- Adición directa de nutriente Foliar (80 L y 1000 L)



Medio de cultivo Guillard f/2

(Guillard & Ryther 1962, Guillard 1975)

Complete el volumen hasta 1 litro con agua de mar filtrada. Coloque en autoclave después de todas las adiciones, excepto las vitaminas.

A 950 ml de agua de mar filtrada añadir:

Cantidad	Compuesto	Solución Stock
1.0 mL	NaNO ₃	75.0 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1.0 mL	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	5.0 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1.0 mL	Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	30.0 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1.0 mL	Solución de metales traza f/2 **	1.0 mL
	Solución de Vitaminas f/2 **	0.5 mL

Complete hasta un volumen final de 1.06 cuartos de galón con agua destilada.

Esterilice por filtración en recipientes plásticos y guarde en refrigeración.

Solución de metales traza

Para preparar la solución stock de metales adicione los siguientes compuestos a 950 mL de agua destilada:

Cantidad	Compuesto	Solución Stock
3.15 g	FeCl ₃ .6H ₂ O	
4.36 g	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	
1 mL	CuSO ₄ .5H ₂ O	9.8 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1 mL	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6.3 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1 mL	ZnSO ₄ .7H ₂ O	22 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1 mL	CoCl ₂ .6H ₂ O	10 g L ⁻¹ H ₂ O destilada
1 mL	MnCl ₂ .4H ₂ O	180 g L ⁻¹ H ₂ O destilada

Complete con agua destilada hasta un volumen final de 1 litro y lleve a la autoclave.

Solución de Vitaminas

A 950 ml de agua destilada adicione:

Cantidad	Compuesto	Solución Stock
1.0 ml	Vitamina B ₁₂	1.0 g·L ⁻¹ H ₂ O destilada
10.0 ml	Biotina	0.1 g·L ⁻¹ H ₂ O destilada
200.0 mg	Tiamina HCl	

Siembra en Flujo

- El inoculo ideal esta representado por el 20% del volumen total.
- Se determina un tiempo de cultivo de acuerdo a la curva de crecimiento.
- Los cultivos son mantenidos en un ambiente climatizado (18 – 20 °C)



ETAPAS DE CULTIVO



MANTENIMIENTO DE CEPAS



CULTIVOS INICIALES



CULTIVO INTERMEDIO



CULTIVO MASIVO

CULTIVO MASIVO DE MICROALGAS

Actividades de cultivo masivo

- Agua de mar Microfiltrada 1 µm (U.V.)
- Nutriente Foliar :
 - Tanques 1000 L 100 ml (Nitrofosca)
 - Tanques 80 L 8 ml (Nitrofosca)
- Adición de vitaminas (4.98 g – 0.415 g)



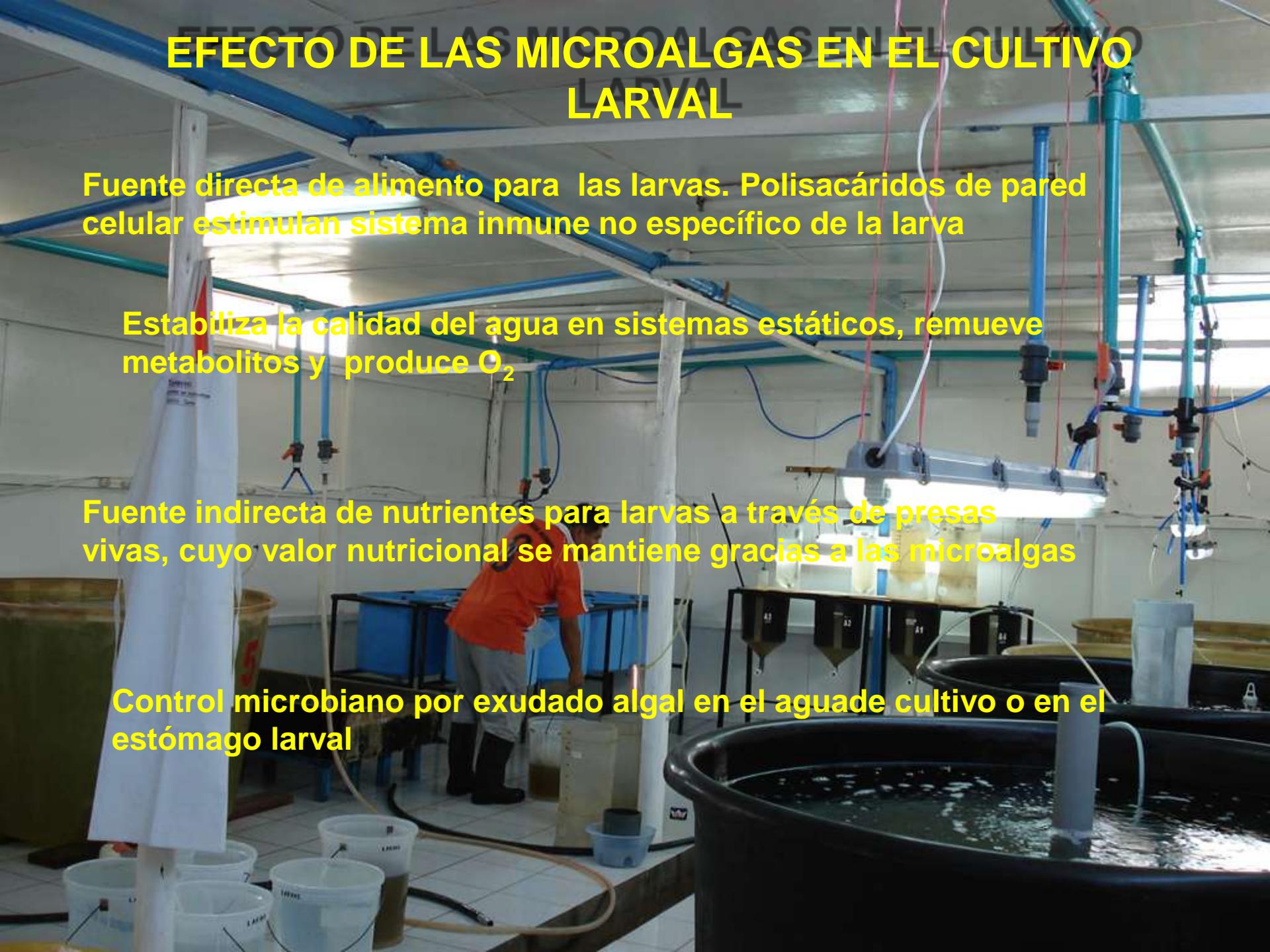
EFECTO DE LAS MICROALGAS EN EL CULTIVO LARVAL

Fuente directa de alimento para las larvas. Polisacáridos de pared celular estimulan sistema inmune no específico de la larva

Estabiliza la calidad del agua en sistemas estáticos, remueve metabolitos y produce O₂

Fuente indirecta de nutrientes para larvas a través de presas vivas, cuyo valor nutricional se mantiene gracias a las microalgas

Control microbiano por exudado algal en el aguade cultivo o en el estómago larval



Valor nutricional de algunas cepas empleadas en acuicultura

Especie	Peso seco (pg·cél ⁻¹)	Clorfila a	Proteínas (% del peso total seco)	Carbohidratos	Lípidos
<i>Ch. calcitrans</i>	11,3	3,01	34	6,0	16,0
<i>Ch. muelleri</i>	74,8	1,04	12	4,7	7,2
<i>T. pseudonana</i>	28,4	0,95	34	8,8	19,0
<i>D. tertiolecta</i>	99,9	1,73	20	12,2	15,0
<i>N. atomus</i>	21,4	0,37	30	23,0	21,0
<i>N. oculata</i>	6,4	0,89	35	7,8	18,0
<i>I. galbana</i>	30,5	0,98	29	12,9	23,0
<i>Iso spp var. t</i>	29,7	0,98	23	6,0	20,0
<i>P. lutheri</i>	102,3	0,84	29	9,0	12,0

PRINCIPALES ESPECIES DE ROTÍFEROS UTILIZADOS EN CULTIVO LARVAL

DENOMINACIÓN

Tamaño

Forma lórica

T °C favorable

Peso seco (μg/rot)

Volúmen (mm³)

Salinidad (%)

B. rotundiformis

Cepa S

100 - 220 μm

Redonda

Alta (28-35 °C)

0.22

0.0040

normal

B. plicatilis

Cepa L

200 - 360 μm

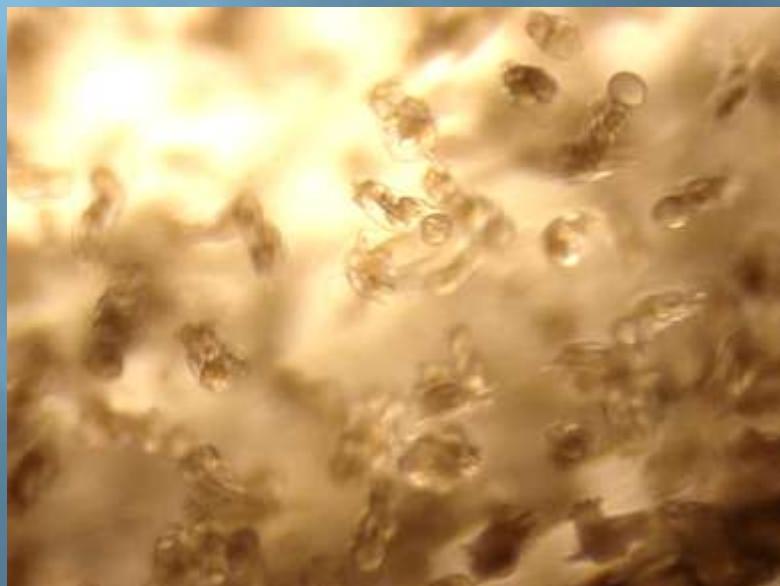
Elongada

Baja (18-25 °C)

0.33

0.016

20 a 25



Rotífero marino



Rotífero de agua dulce

CONDICIONES GENERALES PARA UN CULTIVO DE ROTÍFEROS

Parámetros	Rango aceptable	Optimo (MOSA)
Temperatura	20 °C a 30 °C	25 °C
Oxígeno	Mayor a 4 mg/L	5 a 7 mg/L
Salinidad	25 a 35 ‰	25 ‰
pH	6.5 a 8.0	7.0 a 8.0
Fotoperíodo		24 Horas
Luz	Natural	2500 a 5000 Lux
Amonio	Menor 1 mg/L	Menor 1 mg/L
Alimentos	Microalgas, levadura, alimentos comerciales	

MANTENIMIENTO DE CEPAS

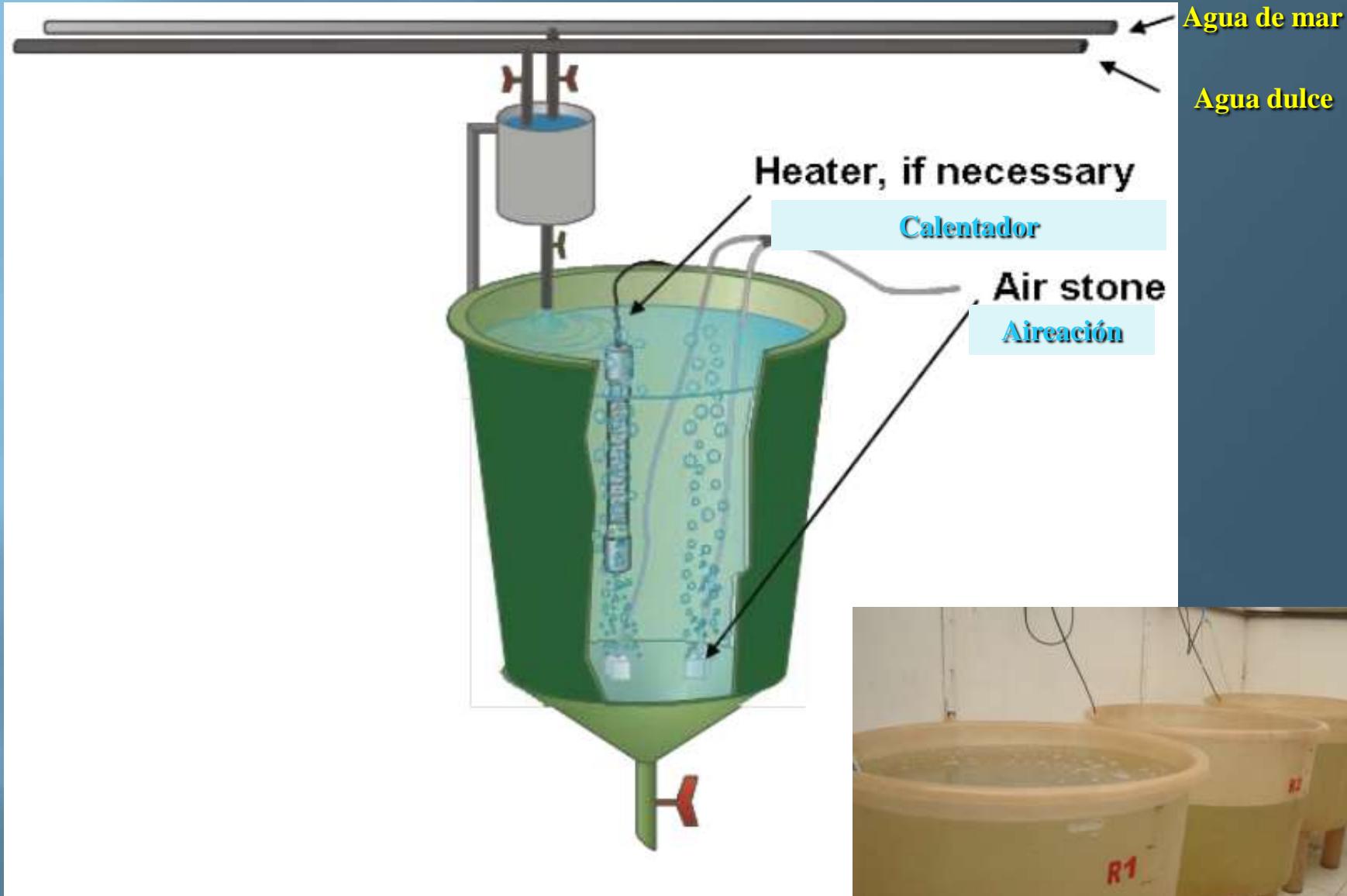
- Volúmenes de cultivo : 50 mL
- Densidad de carga : 10 - 15 rotíferos / mL
- Alimento suministrado : Exclusivamente microalgas (*Nannochloris*)
- Dosificación del alimento: 80×10^6 cel / mL / semana
- Monitoreo:
- Observación del porcentaje de hembras por mililitro.
- Observación de la cantidad de huevos por hembra.
- Verificación de la calidad del medio
- Verificación de las condiciones físicas del rotífero.

Condiciones de mantenimiento:

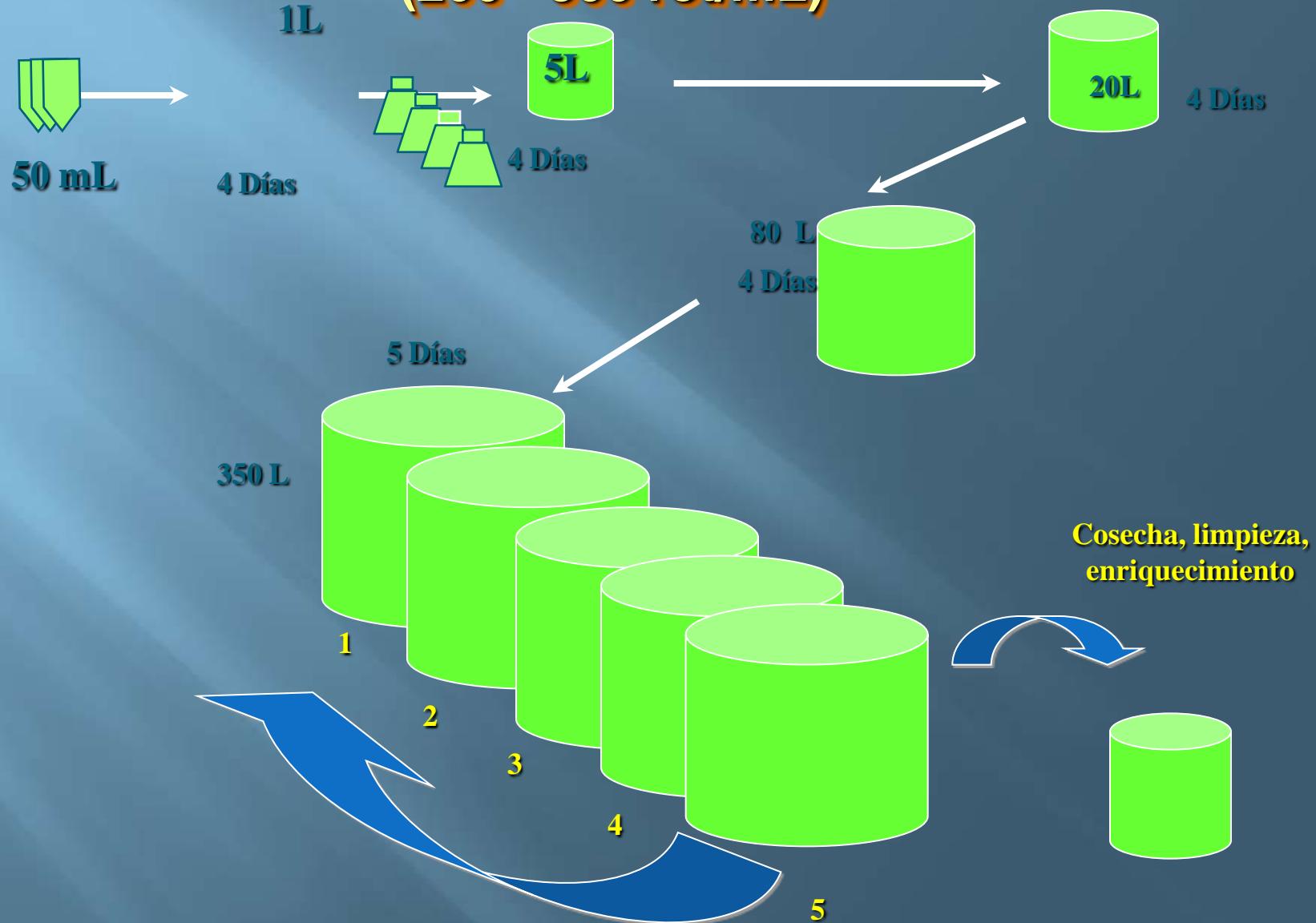
- Medio : Agua mar U.V. microfiltrada 0.45 – 1 μm .
- Temperatura: 25º C
- Luz : 2500 lux
- Aireación : Nula
- Confinamiento: Ambiente estéril, libre de polvo, sin cambios inestables temperatura.
- Limpieza : Lavado constante y recambio del medio cada 7 días o según criterio.
- Materiales empleados:
 - Tubos cilindrocónicos 50 mL
 - Vasos precipitados 50 -100 mL
 - Pipetas 5 ml
 - Tamices 60 – 300 μm
 - Agua U.V microfiltrada
 - Lejía



CARACTERÍSTICAS DE UN TANQUE DE ROTIFEROS



FLUJO DEL LEVANTE DEL CULTIVO (200 - 300 rot/mL)



MANEJO TÉCNICO

ALIMENTACION:

- Levadura: 0.8 - 1g/millon rotiferos
- Microalgas: 2-3 millones cel/mL
- Estimuladores de crecimiento: Lecitina de soya, vitamina B-12



MONITOREO Y MANTENIMIENTO DE CULTIVO:

- Observación de las condiciones biológicas de la especie
- Observación de las condiciones del medio de cultivo
 - Recuento (se realiza por duplicado)
 - Registro de parámetros fisico-químicos
 - Manejo de volúmenes de cultivo (% de renovación)
 - Edad de los cultivos



COMPORTAMIENTO EN CULTIVO SEMI CONTINUO

Una vez alcanzado la capacidad final del tanque, se procedera durante los próximos días a la cosecha parcial del 15 % y respectiva reposición de medio hasta que el cultivo haya finalizado. Por medio de esta técnica puede obtenerse cultivos de rotíferos relativamente densos, sin embargo, después de haber aplicado una serie de cosechas, se observará un decrecimiento en la tasa de reproducción de la población. (según C.A. MOSA).

INCREMENTO PROGRESIVO DEL VOLUMEN Y ALIMENTACIÓN

DIA	VOLUMEN	<i>Nannochloris oculata</i>	AGUA DE MAR (UV)	AGUA POTABLE	COSECHA	TOTAL
0	150	40	65	45	0	150
1	150	35	0	15	0	50
2	200	35	0	15	0	50
3	250	35	0	15	0	50
4	300	35	0	15	0	50
5	350	30	5	15	50	50
6	350	30	5	15	50	50
7	350	30	5	15	50	50
8	350	30	5	15	50	50

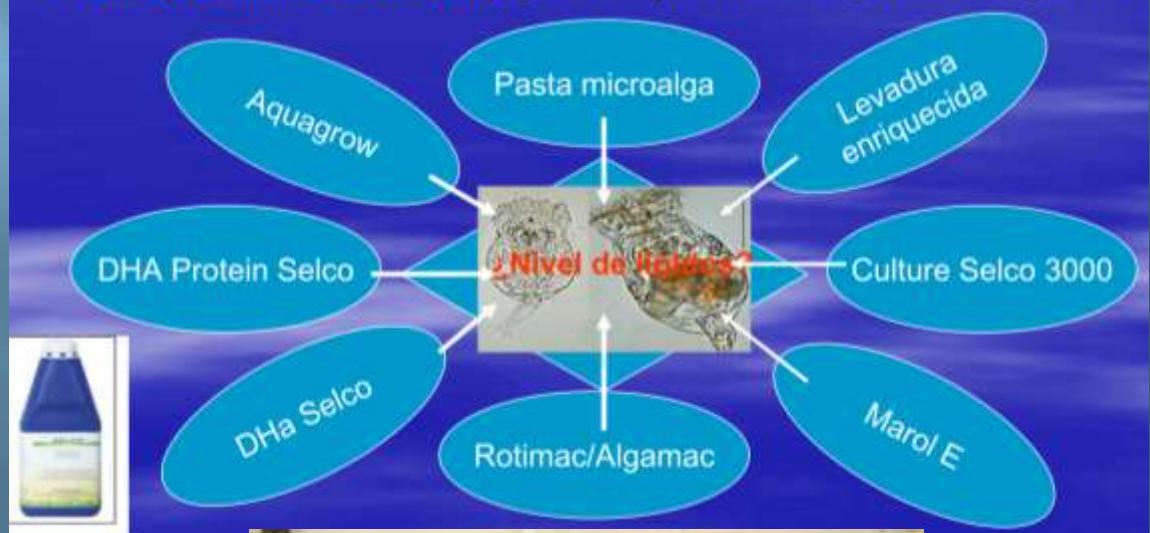
SALINIDAD	AGUA MAR	AGUA DULCE
25 %o	70%	30%
28 %o	75%	25%
37 %o	Salinidad Normal	



TÉCNICAS DE ENRIQUECIMIENTO



- **Enriquecimiento largo (LT):** rotiferos producidos combinando crecimiento y enriquecimiento con levadura y aceites emulsionados u otros productos (algamac, rotimac, microalgas)
- **Enriquecimiento corto (ST):** (< 24 hrs) de rotiferos producidos por LT.



UTILIDAD DE LA ARTEMIA EN CULTIVO LARVAL DE PECES

- Pequeño tamaño pero mayor que rotífero (250 a 500 micras)
 - Como cistos puede almacenarse e incubarse fácilmente
 - Resiste un manejo intenso
 - Puede ser desinfectado fácilmente
 - Fácil de capturar y percibir por presa
 - Puede convertirse en una biocápsula



PROBLEMAS

- Inadecuado tamaño para los primeros estadios larvales
 - Diferencias nutricionales según su origen
- Cistos deben ser incubados y nauplios - metanauplios enriquecida antes de dar a las larvas
 - Variabilidad en % de eclosión de cistos
 - Escasez y altos precios
 - Difícil separar nauplios y cubierta de cistos



DESCAPSULACIÓN

- VENTAJAS

- Desinfección de cistos
- Remoción de cubierta de cistos
- Mejora de eficiencia de eclosión
- Mejora separación de embriones

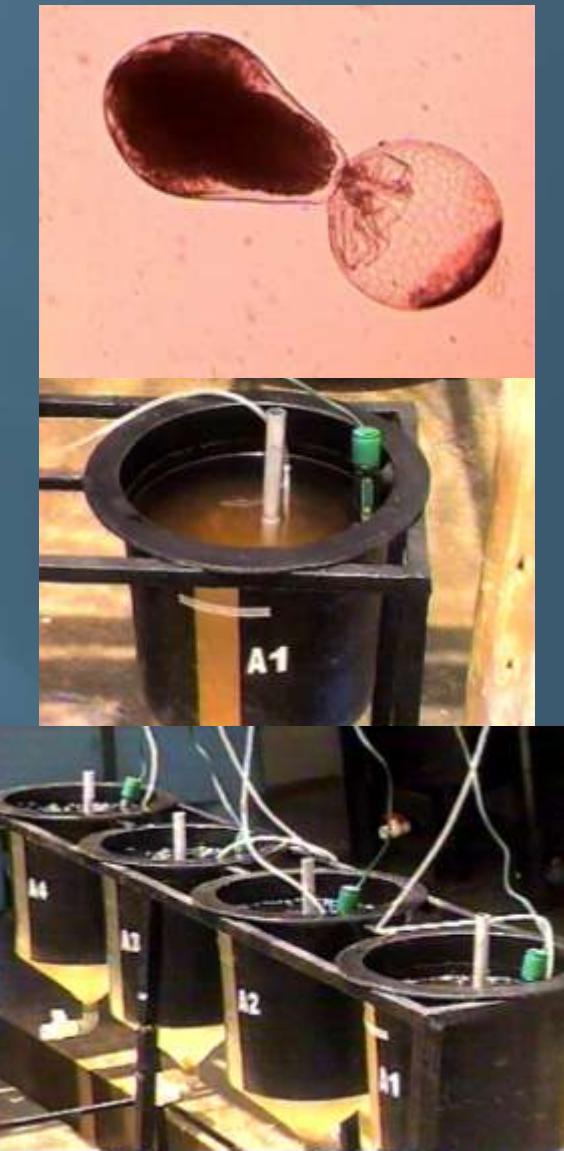
SOLUCIÓN DESCAPSULADORA

- Na OH (99.9 %)
- Na OCI (5.25%)
- Hielo para control de Tº (<30 °C)



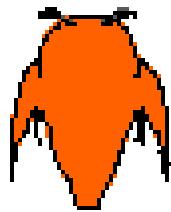
TÉCNICA PARA INCUBACIÓN DE CISTOS

- Tanques : Tanques cilindrocónicos transparentes aireados desde el fondo.
- Aireación: Intensa Para mantener O₂ (>2 mg/L) y cistos en suspensión.
 - Temperatura : 28 °C
 - Salinidad: 28‰
 - pH: Normal entre 7.7 y 8.5
- Hidratación: 1 Hr (20 g/litro) Tº ambiente
- Incubación Cistos: 2g - 3g /L de agua (máx. 5 g/L)
- Iluminación : Fuerte y directa (\geq 5000 lux)
 - Tiempo de eclosión: 12 a 24 horas.

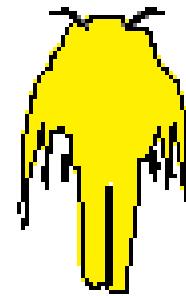


CARACTERISTICAS DE LOS NAUPLIOS DESPUES DE LA PRESERVACION BAJO DIFERENTES TEMPERATURAS

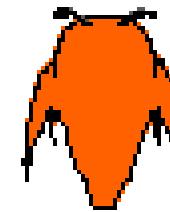
Alimentación directa a las larvas



Preservación a temperatura ambiente durante 24 h



Preservación al frío (4 -10 °C) durante 24 h



EDAD

0 h

24 h

24 h

LONGITUD

480 μm

700-900 μm

480 μm

PESO SECO

100 %

61-78 %

97-98 %

ENERGÍA

100 %

66-84 %



ENRIQUECIMIENTO

La mayoría de organismos marinos carecen de capacidad para biosintetizar ác. grasos esenciales a partir de ác. grasos insaturados de cadena corta, como el 18:3 n3 (ác. Linolénico)

Niveles de Enriquecimiento en nauplios de artemias (mg x g de p.s.)

	DHA	EPA	Sum HUFA n3
Super Selco (Inve)	14,0	28,6	50,3
DHA Selco (Inve)	17,7	10,8	32,7
Superartemia (Catvis)	9,7	13,2	26,3
SuperHufa (Salt Creek)	16,4	21,0	41,1



En vista de las deficiencias de ácidos grasos en artemias, se precisa modificar composición bioquímica

PROYECTOS Y PROTOCOLOS

- Proyecto de Investigación “Optimización del volumen de la concentración del inoculo de *Isochrysis galbana* para una máxima productividad”
- Proyecto “Efecto de dos tipos de levadura de panificación y tres diferentes salinidades en la producción masiva de rotíferos *B. plicatilis*
- Protocolo de cultivo masivo de rotíferos *Brachionus plicatilis*



GRACIAS