

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA RICA

ÁREA ACADÉMICA AGROFORESTAL

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN GESTIÓN DE RECURSOS NATURALES Y
TECNOLOGÍAS DE PRODUCCIÓN

**FACTIBILIDAD TÉCNICA Y ECONÓMICA DE DOS SISTEMAS DE
PRODUCCIÓN INTENSIVA DE ROTÍFEROS (*BRACHIONUS PLICATILIS*)
PARA LA ALIMENTACIÓN DE LARVAS DE PARGO MANCHADO
(*LUTJANUS GUTTATUS*)**

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN SOMETIDO AL TRIBUNAL DEL ÁREA
ACADÉMICA AGROFORESTAL DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE COSTA
RICA PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAGISTER EN GESTIÓN DE
RECURSOS NATURALES Y TECNOLOGÍAS DE PRODUCCIÓN

MARÍA DEL MILAGRO CARVAJAL OSES
SUSTENTANTE

CAMPUS CARTAGO, COSTA RICA

2013

DEDICATORIA

A Dios que me ha dado todo lo que tengo y
a mi papá que me apoyó desde el cielo.

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios que me permitió salir siempre adelante, a mi mamá que siempre estuvo con migo, a mis hermanos y sobrinos, por todo el apoyo que recibí.

Al Dr. Ángel Herrera Ulloa que me brindó su apoyo incondicional, por ser mi guía en la elaboración de este Trabajo Final de Graduación y sobre todo por su gran amistad.

Al M.G.A. Rooel Campos Rodríguez, por la colaboración a lo largo de la investigación.

Al MSc. Jonathan Chacón Guzmán por brindarme su ayuda a lo largo de este año.

A mi amiga y asistente de laboratorio Felicia Matarrita por todo el apoyo y ayuda en la toma de datos para este Trabajo Final de Graduación.

Al Parque Marino del Pacífico por todas las facilidades que me brindó para poder llevar a cabo la investigación.

Al Programa de Maestría en Gestión de Recursos Naturales y Tecnología de Producción coordinado por el MSc. Rodolfo Canessa Mora por todos los conocimientos adquiridos.

Hoja de aprobación

Este Trabajo Final de Graduación fue aceptado por el Tribunal del Área Académica Agroforestal del Instituto Tecnológico de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado de Magister en Gestión de Recursos Naturales y Tecnologías de Producción.

Dr. Ángel Herrera Ulloa
Profesor Tutor

M.G.A. Rooel Campos Rodríguez
Lector

MSc. Rodolfo Canessa Mora
Coordinador del Área Académica Agroforestal

María del Milagro Carvajal Oses
Sustentante

2013

LISTA DE CONTENIDOS

Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Hoja de aprobación	v
Lista de contenidos	vi
Lista de cuadros.....	x
Lista de figuras.....	xi
Lista de anexos	xiv
Lista de abreviaturas.....	xv
Resumen.....	xvii
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. Introducción al tema.....	2
1.2. Justificación	3
1.3. Objetivo general.....	6
1.4. Objetivos específicos	6
1.5. Hipótesis	6
1.6. Definición de términos.....	7
1.7. Definición de variables	11
1.8. Delimitaciones.....	12
1.9. Limitaciones	12
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1. Pargo la mancha (<i>Lutjanus guttatus</i>)	15
2.2. Cronología de la acuicultura masiva de <i>Lutjanus guttatus</i> en Costa Rica	16
2.3. Importancia del alimento vivo en acuicultura	17

2.4. Rotíferos (<i>Brachionus plicatilis</i>).....	18
2.5. Tipos de cultivos de rotíferos	22
2.6. Microalgas.....	23
3. METODOLOGÍA	27
3.1. Tipo de investigación	27
3.2. Método de investigación	27
3.3. Ubicación temporal y espacial	27
3.2.1. Reseña del Parque Marino del Pacífico	28
3.3. Instrumentos utilizados para la ejecución del proyecto	29
3.4. Procedimiento	30
3.4.1. Definición las curvas de crecimiento poblacional de dos sistemas de producción intensiva de rotíferos, con y sin adición de oxígeno puro, utilizados en la alimentación de larvas de pargo manchado.....	30
3.4.1.1. Calidad del agua para ambos sistemas.....	31
3.4.1.2. Alimentación en ambos sistemas.....	33
3.4.1.3. Monitoreo de variables físico químicas del agua en ambos sistemas	38
3.4.1.4. Parámetros de producción para ambos sistemas	38
3.4.1.5. Comportamiento poblacional	39
3.4.1.6. Longitud de rotíferos	40
3.4.1.7. Contaminación de los cultivos producto de protozoarios.	41
3.4.1.8. Tratamiento de la información.....	41
3.4.2. Comparación de los costos de producción de rotíferos (<i>Brachionus plicatilis</i>) bajo los sistemas con y sin adición de oxígeno puro, para la alimentación de larvas de pargo manchado (<i>Lutjanus guttatus</i>).	42
3.4.3. Diseño de un esquema del proceso integrado de producción de alevines de pargo en el Parque Marino del Pacífico.	43

4. RESULTADOS	46
4.1. Definición de las curvas de crecimiento poblacional de dos sistemas de producción intensiva de rotíferos, con y sin adición de oxígeno puro, utilizados en la alimentación de larvas de pargo manchado	46
4.1.1. Parámetros abióticos.....	46
4.1.1.1. Oxígeno (mg.l^{-1}).....	46
4.1.1.2. pH.....	48
4.1.1.3. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$).....	49
4.1.1.4. Nitrito (NO_2^{-1}), Nitrato (NO_3^{-1}) y Amonio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^{+}$).....	51
4.1.2. Curvas de crecimiento poblacional.....	53
4.1.3. Parámetros de producción.....	57
4.1.3.1. Fecundidad.....	57
4.1.3.2. Dinámica poblacional.....	60
4.1.4. Tamaño de rotíferos.....	63
4.1.5. Contaminación de los cultivos producto de los protozoarios.....	66
4.2. Comparación de los costos de producción de rotíferos (<i>Brachionus plicatilis</i>), bajo los sistemas, con y sin adición de oxígeno puro, para la alimentación de larvas de Pargo manchado (<i>Lutjanus guttatus</i>)	70
4.2.1. Impacto económico de la implementación de ambos sistemas de producción de rotíferos.....	71
4.2.2. Impacto económico de la producción de rotíferos, bajo ambos sistemas, en el cultivo de <i>Lutjanus guttatus</i>	77
4.3. Diseño de un esquema del proceso integrado de producción de alevines de pargo en el Parque Marino del Pacífico	82
4.3.1. Captura de reproductores de <i>Lutjanus guttatus</i> en el mar.....	82
4.3.2. Maduración de reproductores.....	83
4.3.3. Desoves e incubación.....	84
4.3.4. Larvicultura.....	85
4.3.5. Alevinaje.....	86

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	89
5.1. Conclusiones	89
5.2. Recomendaciones	91
6. REFERENCIAS	93
7. ANEXOS	107

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de <i>Brachionus plicatilis</i>	19
Cuadro 2. Porcentaje de componentes de los rotíferos sometidos a diferentes dietas.	25
Cuadro 3. F/2 de Guillard y Rhyter, para preparar soluciones madre de un litro.	35
Cuadro 4. Cantidad de huevos.ml ⁻¹ (M+DS) presentes en ambos sistemas de rotíferos y los respectivos <i>P</i> obtenidos por medio del ANOVA.....	60
Cuadro 5. Estimados (M+DS) de la tasa instantánea de crecimiento (día ⁻¹), tiempo de duplicación (día ⁻¹), rendimiento del cultivo (rot.l ⁻¹ .día ⁻¹) y los respectivos valores de <i>P</i> obtenidos por medio de la ANOVA.	63
Cuadro 6. Comparación de tasas de crecimiento específicas entre <i>Brachionus plicatilis</i> (con y sin adición de oxígeno) y especies/biotipos del complejo <i>B. plicatilis</i>	63
Cuadro 7. Estimados (M+DS) de la longitud (µm) y ancho (µm) de los rotíferos en ambos tratamientos y los respectivos valores de <i>P</i> obtenidos en la ANOVA.	64
Cuadro 8. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de rotíferos de un mes para ambos sistemas.	74
Cuadro 9. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de microalgas de un mes para ambos sistemas.	76
Cuadro 10. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de microalgas para un tanque de 6 m ³ con larvas de <i>Lutjanus guttatus</i>	80
Cuadro 11. Desglose de costos (\$) utilizados en la <i>Artemia</i> y en alimento formulado para un tanque de 6 m ³ con larvas de <i>Lutjanus guttatus</i>	81

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Volumen total del sistema actual de producción de rotíferos.	4
Figura 2. Cronología de acuicultura masiva de <i>Lutjanus guttatus</i> en Costa Rica.....	16
Figura 3. Ejemplos de zooplancton utilizado en acuicultura como alimento vivo.	18
Figura 4. Características morfológicas generales de <i>Brachionus plicatilis</i>	20
Figura 5. Ciclo reproductivo de los rotíferos.	22
Figura 6. Ejemplos de especies de microalgas marinas.	24
Figura 7. Vista satelital del Parque Marino del Pacífico.	28
Figura 8. Instrumentos utilizados en el desarrollo del Trabajo Final de Graduación.....	29
Figura 9. Secciones básicas de los sistemas intensivos de producción de rotíferos.....	31
Figura 10. Secciones que contribuyen a la calidad del agua en ambos sistemas intensivos de producción de rotíferos.....	32
Figura 11. Sistema de alimentación para ambos cultivos intensivos de producción de rotíferos.	34
Figura 12. Imagen del Laboratorio de microalgas del Parque Marino del Pacífico.	35
Figura 13. Esquema del proceso de escalonamiento algal.	37
Figura 14. Longitud (L) y ancho (A) de la lórica de un rotífero.	40
Figura 15. Protocolo de alimentación de larvas de <i>Lutjanus guttatus</i> en el Parque Marino del Pacífico.	43
Figura 16. Etapas básicas del proceso integrado de producción de alevines de <i>Lutjanus guttatus</i> en el Parque Marino del Pacífico.	44
Figura 17. Comportamiento del DO (mg.l ⁻¹) (M+DS) a lo largo de los días de cultivo en ambos sistemas.	48

Figura 18. Temperaturas (M+DS) registradas durante el periodo de duración de cada sistema de producción de rotíferos.	50
Figura 19. Concentraciones de $\text{NH}_4^+ / \text{NH}_3$ (M+DS) registradas para cada sistema de producción de <i>Brachionus plicatilis</i>	53
Figura 20. Curva de crecimiento poblacional (ind. ml^{-1}) (M+DS) de los rotíferos en ambos sistemas de producción.	56
Figura 21. Producción de rotíferos en millones (M+DS) obtenidos en los cultivos de <i>Brachionus plicatilis</i>	56
Figura 22. Fecundidad (M+DS) (huevos. indiv^{-1}), obtenidos en los cultivos de <i>Brachionus plicatilis</i> , los datos cuentan con sus respectivas probabilidades provenientes del ANOVA.	59
Figura 23. Frecuencia (%) de la longitud de la lóricas en los rotíferos en el sistema con oxígeno.	65
Figura 24. Frecuencia (%) de la longitud de la lóricas en los rotíferos en el sistema con oxígeno.	66
Figura 25. Cantidad de protozoarios (ind. ml^{-1}) encontrados en ambos cultivos.	68
Figura 26. Géneros de protozoarios presentes en los cultivos de <i>Brachionus plicatilis</i>	69
Figura 27. Principales costos (\$) de producción de rotíferos para ambos sistemas.	72
Figura 28. Porcentaje del costo total (\$) de la alimentación requerida para un tanque de 6 m^3 , la cual incluye: el uso de rotíferos, <i>Artemia</i> , microalgas y alimento formulado.	78
Figura 29. Tanques de maduración utilizados en el Parque Marino del Pacífico.	83
Figura 30. Colector de huevos del Parque Marino del Pacífico.	84
Figura 31. Tanques de 6 y 12 m^3 utilizados en la etapa de larvicultura.	85

Figura 32. Alevines contados manualmente para ser vendidos a la empresa privada o donados a los pescadores.....	86
Figura 33. Esquema del proceso integrado de la producción de alevines <i>Lutjanus guttatus</i>	87
Figura 34. Filtro de 53 μm que permite realizar los recambios de agua diarios.	91
Figura 35. Curva de crecimiento poblacional del sistema con aireación asistido con recambios de agua diarios.	92

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. ANOVA de los valores de oxígeno disuelto (mg.l^{-1}) para el primer día de ambos sistemas de producción de rotíferos.....	107
Anexo 2. ANOVA de los valores de pH para ambos sistemas de producción de rotíferos.....	107
Anexo 3. ANOVA de los valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para el primer día de ambos sistemas de producción de rotíferos.....	108
Anexo 4. ANOVA de los valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para el segundo día de ambos sistemas de producción de rotíferos.....	108
Anexo 5. ANOVA de las máximas densidades (rot.ml^{-1}) registradas para ambos cultivos de rotíferos.	109
Anexo 6. ANOVA de las fecundidades del primer día (huevos.ind^{-1}) para ambos sistemas de rotíferos.	109
Anexo 7. ANOVA de los protozoarios (ind.ml^{-1}) presentes en los cultivos de rotíferos.....	110
Anexo 8. ANOVA de los millones de rotíferos producidos al mes en ambos sistemas de rotíferos.....	110
Anexo 9. ANOVA para el costo (\$) del millón de rotíferos en los cultivos de rotíferos.....	111
Anexo 10. ANOVA de la cantidad de larvas alimentadas con ambos cultivos de rotíferos al mes.	111

LISTA DE ABREVIATURAS

cél: Célula

cm: Centímetro

DDE: Días después de la eclosión

DS: Desviación estándar

F: Fecundidad

g: Gramos

gl: Grado de libertad

hrs: Horas

HUFA's: Ácidos grasos insaturados

IMAS: Instituto Mixto de Ayuda Social

INCOPECA: Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura

ind: Individuos

KWh: Kilowatt hora

l: Litro

M: Promedio

m³: Metro cúbico

mg: Miligramo

MINAET: Ministerio Nacional de Ambiente, Energía y Telecomunicaciones

ml: Mililitro

mm: Milímetro

°C: Grados Centígrados

OD: Oxígeno disuelto

p: Probabilidad

ppm: Partes por millón

pqts: Paquetes

PMP: Parque Marino del Pacífico

PUFAs: Ácidos grasos poli-insaturados

PVC: Policloruro de vinilo

R: Rendimiento del cultivo

Rot: Rotíferos

TC: Tasa instantánea de crecimiento

Td: Tiempo de duplicación

TFG: Trabajo Final de Graduación

UNA: Universidad Nacional de Costa Rica

UV: Ultra violeta

µm: Micrómetro

RESUMEN

Se realizó un estudio de factibilidad técnica y económica de dos sistemas intensivos de producción de rotíferos. Los cultivos contaron con un volumen de 500 litros donde se aplicó 2 tratamientos, con y sin adición de oxígeno. Los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) en cuanto a la tasa instantánea de crecimiento, rendimiento del cultivo, tiempo de duplicación, longitud de los rotíferos y máximas densidades alcanzadas. Referente a la fecundidad, a pesar de que se presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) durante los días en común entre ambos cultivos, no fue determinante para la decisión final ya que todos los valores de fecundidad hallados superaban los 0,15 huevos. Ind^{-1} , los cuales se consideran favorables para la producción de rotíferos. El parámetro físico que más influyó en el comportamiento de los cultivos correspondió al amonio pues alcanzó valores de hasta 8 mg.l^{-1} y lo que se recomienda es $0,8 \text{ mg.l}^{-1}$.

Con respecto al análisis económico el sistema sin oxígeno es 53% menos costoso que el sistema con adición de oxígeno. Además, un millón de rotíferos en el cultivo con adición de oxígeno podría costar hasta $\$1,03 \pm 0,17$ y en el sistema sin adición de oxígeno costaría $\$0,31 \pm 0,04$; estadísticamente existió diferencia significativa entre el precio del millón de rotíferos en ambos sistemas (5 gl, $p < 0,05$). Con respecto al costo de producción de una larva, si la larva es alimentada con rotíferos del sistema con adición de oxígeno ésta podría costar $\$0,35$ y si es alimentada con el sistema sin adición de oxígeno puro costaría $\$0,16$.

Palabras claves: rotíferos, oxígeno, crecimiento, fecundidad, rendimiento.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción al tema

El pargo manchado *Lutjanus guttatus*, es una de las especies del género *Lutjanus* con mayor potencial para el cultivo en varios países latinoamericanos (Chacón 2010). Se distribuye desde el Golfo de California hasta Perú (Fischer et al. 1995), siendo así un importante recurso pesquero con un alto valor comercial (Fajer et al. 2007, García-Ortega 2009, Abdo et al. 2010).

Las larvas del pargo, así como muchas otras larvas de peces marinos, son caracterizadas por su tamaño pequeño, lo cual las hace vulnerables tanto a las condiciones de cría como a la calidad y cantidad del alimento vivo que se le proporcione en el hatchery, es por ello que a las primeras etapas de la alimentación se le considera el cuello de botella de la industria del cultivo de peces (Aristizábal y Suárez 2006).

El alimento vivo es un recurso de gran valor nutricional para la acuicultura, debido a que contiene los elementos básicos de una dieta balanceada. Los organismos que pueden ser aprovechados como alimento natural pertenecen a muy diversos grupos taxonómicos o comunidades y van desde pequeños microorganismos unicelulares como bacterias, microalgas y levaduras, pasando por organismos del zooplancton como rotíferos (*Brachionus plicatilis*), hasta grandes organismos del bentos, sin embargo, generalmente las especies más utilizadas en acuicultura son parte del zooplancton y fitoplancton (Durán 2002). En este trabajo se tratará de evaluar y comparar dos cultivos de producción de rotíferos intensivos, con y sin adición de oxígeno puro, y concluir cuál puede ser el más factible técnica y económicamente para implementarlo en el Parque Marino del Pacífico, Puntarenas, Costa Rica.

1.2. Justificación

La disponibilidad de alevines en cantidades y de buena calidad, se considera un factor crítico para el éxito de la acuicultura intensiva, en la cual la alimentación y la nutrición han sido señaladas como los principales factores responsables de los frecuentes desaciertos en la larvicultura (Prieto y Atencio 2008).

El alimento vivo es esencial para el crecimiento y sobrevivencia de especies marinas y es indispensable que se dé a las larvas en el inicio de su alimentación exógena, posterior a la absorción del saco vitelino, ya que la larva debe aprender a capturar, engullir y asimilar el alimento; por lo que requiere en esta etapa de desarrollo una dieta especial de partículas pequeñas, de textura suave, fácilmente digerible, en forma constante, abundante y con alto valor nutritivo. Además, el incompleto desarrollo de su tracto digestivo limita su capacidad de aprovechar satisfactoriamente todos los nutrientes de la dieta por lo que utiliza las enzimas de las presas, constituidas principalmente por zooplancton en este caso *Brachionus plicatilis*, para facilitar el proceso de digestión y estimular la producción de las enzimas endógenas (Kolkovski 2001). La disponibilidad y precio del alimento vivo, han dado la pauta para el estudio de nuevas alternativas más económicas y eficientes dentro del propio alimento vivo (Luna et al. 2010) permitiendo así el continuo crecimiento de la acuicultura.

Específicamente, el Parque Marino del Pacífico, está conformado por cuatro módulos: turismo, educación ambiental, rescate animal y producción de peces marinos. El módulo de producción ha logrado desarrollar la tecnología de cultivo masivo de *Lutjanus guttatus* por medio de la combinación de factores controlados, como la maduración de reproductores, incubación, larvicultura,

alevinaje y la producción y aplicación de alimento vivo (microalgas, rotíferos y *Artemia*), empleando controles y mejoras en aspectos nutricionales, patológicos y genéticos. La producción de alimento vivo, específicamente el cultivo de rotíferos, se ha caracterizado por su baja eficiencia, debido a la utilización de un sistema extensivo caracterizado por la baja densidad de individuos (máximo $120 \text{ rotíferos.ml}^{-1}$) y por demandar un volumen total del sistema de hasta 32 m^3 (Figura 1), por lo que requiere de una alta inversión de tiempo para lograr cosechar los rotíferos necesarios para el laboratorio, retrasando así la respectiva alimentación de las larvas de pargo e inclusive en ocasiones no se ha logrado cumplir con los requerimientos protocolarios de alimentación para los levantes larvales. Cabe destacar, que las larvas de *Lutjanus guttatus* están preparadas el día 3 DDE para recibir durante las primeras horas de la mañana su primera alimentación exógena (rotíferos), ya que durante el día 2 la larva finaliza de consumir su saco vitelino y por ende abre su poro anal y boca (Abdo 2010).

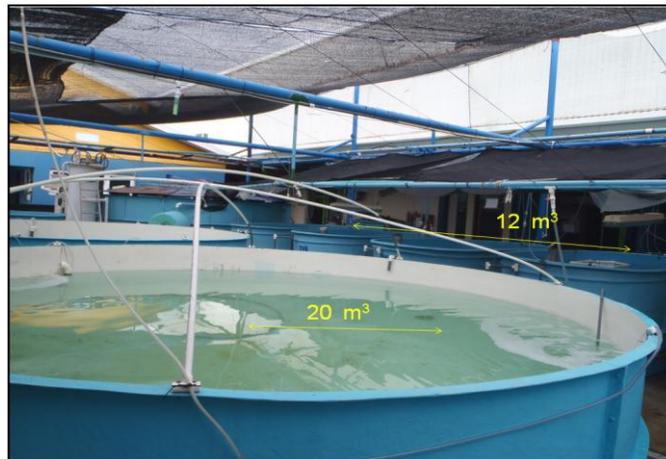


Figura 1. Volumen total del sistema actual de producción de rotíferos.

Fuente: Elaboración propia.

Además, este sistema ha traído otras desventajas técnicas relacionadas a la limpieza y alimentación del propio cultivo de rotíferos. Referido a la limpieza (sifoneos y recambios de agua); el volumen y cantidad de tanques ha impedido desarrollarla eficientemente, provocando acumulación de alimento en el fondo de los tanques; aumento del amonio y proliferación de bacterias dañinas (Yoshimura 2003). En cuanto a la alimentación no ha sido la idónea pues se basa en la cantidad de organismos y no toma en cuenta la variable volumen (para disminuir costos) y según Cabrera (2008) el crecimiento poblacional está directamente relacionado a la presencia de alimento, además se da manualmente al tanque (repartida en 3 veces al día) lo que provoca que parte del alimento no sea aprovechado pues se va al fondo del tanque y no es constante en la columna de agua durante el transcurso del día. Otras problemáticas relacionadas a este sistema es que al estar ubicado en el sector externo del laboratorio (protegido solamente por un sarán), su estabilidad ha dependido de la acción del ambiente y del entorno, así por ejemplo se dan constantes contaminaciones (polvo, quema de caña) o en periodos de lluvias extensas ha disminuido la salinidad drásticamente en los cultivos. Según Fielder et al. (2000), los rotíferos a pesar de que son osmótico-confortables y pueden tolerar salinidades entre 1% a 97%, los cambios bruscos los afecta, entre más baja sea la salinidad a la que se expongan más decrece su densidad, ya que perjudica tanto su capacidad de movilidad como su consumo de oxígeno.

Para resolver estos problemas en el Parque Marino, se requiere de un nuevo sistema de producción de rotíferos que sea intensivo, basado en aumentar la estabilidad del cultivo, mejorar la productividad, debe reducir la cantidad de mano de obra y por ende la inversión.

1.3. Objetivo general

Evaluar técnica y económicamente dos sistemas intensivos de producción de rotíferos (*Brachionus plicatilis*), para la alimentación de larvas de Pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) en el Parque Marino del Pacífico.

1.4. Objetivos específicos

- Definir las curvas de crecimiento poblacional de dos sistemas de producción intensiva de rotíferos, con y sin adición de oxígeno puro, utilizados en la alimentación de larvas de pargo manchado.
- Comparar los costos de producción de los rotíferos (*Brachionus plicatilis*) bajo los sistemas con y sin adición de oxígeno puro, para la alimentación de larvas de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*).
- Diseñar un esquema del proceso integrado de producción de alevines de pargo manchado en el Parque Marino del Pacífico.

1.5. Hipótesis

H₀: Resulta económicamente más eficiente el uso del sistema intensivo sin oxígeno contra el sistema intensivo con adición de oxígeno puro. Suponiendo similitudes técnicas entre ambos sistemas.

H_A: No existe diferencia económica en el uso del sistema intensivo sin oxígeno contra el sistema intensivo con adición de oxígeno puro. Suponiendo similitudes técnicas entre ambos sistemas.

1.6. Definición de términos (FAO 2008)

Abiótico: Factor físico que afecta el desarrollo y/o sobrevivencia de un organismo.

Acuicultura: Cultivo de organismos acuáticos en áreas continentales o costeras.

Agua con nutrientes: Agua marina natural a la cual se han agregado micro y macro nutrientes.

Alevín: Estado larval de peces desde la eclosión hasta el final de la dependencia del vitelo como fuente de nutrición.

Alga: Primitivos organismos acuáticos eucarióticos que contienen clorofila y no disponen de verdaderos tallos, raíces y hojas

Alimento vivo: Término común no específico usado para describir los organismos microscópicos usados para alimentar las larvas de algunos peces y moluscos antes de pasar a la alimentación con dietas artificiales.

Amonio: Término específico para el ion NH_4^+ , que es la forma ionizada del amoniaco.

Artemia: Micro crustáceo que en ciertos períodos del año, produce cistos, los cuales son utilizados en la industria.

Autótrofo: Organismo que puede producir su propio alimento, generalmente usando la luz solar.

Cultivo batch: Sistema de cría de organismos acuáticos que supone la cosecha total cada cierto tiempo después de haber sembrado. Si la instalación para el cultivo es drenable se vacía totalmente antes de volver a sembrar.

Cultivo continuo: Sistema de cultivo de organismos acuáticos que se basa en la operación continua de la unidad de crecimiento. No se drena completamente para cosechar ni tampoco se cosecha totalmente.

Cultivo masivo: Producción de especies a gran escala; a menudo usado para referirse a la producción de rotíferos y *Artemia*, los cuales se cultivan en forma continua, en grandes cantidades, para el cultivo de larvas de peces.

Cultivo semi continuo: Método que prolonga el uso de grandes tanques de cultivo a través de cosechas parciales y periódicas; inmediatamente después, se agrega agua hasta alcanzar el volumen original y se suministran elementos nutrientes para restablecer la riqueza del medio.

Cultivo: Cultivar peces, mariscos y otros organismos a través de los distintos estadios de desarrollo, en condiciones (en su mayor parte) controladas.

Daphnia: Género de importantes micro crustáceos de agua dulce, normalmente de 0,5 a 3 mm de longitud. Fuente de alimento frecuentemente usada en la larvicultura de agua dulce y en la industria de peces ornamentales.

Desove: Producir o depositar huevos, espermatozoides o juveniles. Comúnmente, aunque no siempre, aplicado a animales acuáticos o marinos.

Dewar: Es un recipiente diseñado para proporcionar aislamiento térmico, disminuir las pérdidas de calor por conducción, convección o radiación. Se utiliza para almacenar líquidos, fríos o calientes.

Difusor: Tubería porosa, u otros aparatos para producir burbujas de aire en el agua.

Eclosión: El proceso de romper el cascarón y salir del huevo.

Estadio de eclosión: Cuando se rompe el huevo del pez y aparece el embrión, rodeado por la membrana de eclosión o vitelina.

Eurihalino: Se usa para organismos que son capaces de osmorregulación en un rango de salinidad relativamente amplio.

Euritermo: Organismo que tolera grandes variaciones de temperatura.

Fitoplancton: Es el conjunto los organismos acuáticos autótrofos del plancton, que tienen capacidad fotosintética y que viven dispersos en el agua.

Hatchery: Es una instalación donde los huevos son incubados bajo condiciones artificiales, especialmente para los peces.

Incubación: Cuidado de los huevos durante la primera etapa de su desarrollo.

Maricultura: Cultivo, manejo y cosecha de organismos marinos en su hábitat natural o dentro de cercas especialmente construidas, por ejemplo estanques, jaulas, corrales, encerramientos o tanques.

Microalgas: Plantas microscópicas móviles o inmóviles que contienen clorofila.

Nutrientes: Se utiliza para promover el crecimiento de microalgas. En la mayoría de los casos el medio es esterilizado mediante autoclave o microfiltración para eliminar microorganismos contaminantes.

Oxígeno disuelto: La cantidad de oxígeno (mg.l^{-1}) en solución en el agua bajo la presión atmosférica existente, temperatura y salinidad. A veces representada como partes por millón (ppm) y a veces como porcentaje de nivel de saturación (%).

Sembrar: Práctica que consiste en liberar juveniles, cultivados en condiciones artificiales, en el mar, lagos o ríos.

Zooplancton: Se denomina zooplancton a la fracción del plancton constituida por seres que se alimentan, por ingestión, de materia orgánica ya elaborada.

1.7. Definición de variables

Tasa instantánea de crecimiento: describe la variación en el número de individuos de una población en función del tiempo (día⁻¹). La fórmula, proviene del modelo exponencial:

$$N_f = N_o e^{kt}$$


$$K = \frac{\ln N_f - \ln N_o}{t}$$

Donde: N_f = número final de ind \cdot ml⁻¹, N_o = número inicial de ind \cdot ml⁻¹, t = tiempo en días.

Tiempo de duplicación: Tiempo en el que una población logra duplicarse. La fórmula proviene de la siguiente expresión exponencial:

$$2 = e^{ktd}$$


$$td = \frac{\ln 2}{K}$$

Rendimiento del cultivo: Cantidad de individuos producidos diariamente durante un periodo determinado de tiempo (rot. ml⁻¹.día⁻¹).

Fecundidad: Se obtiene contabilizando la cantidad de huevos presentes en las hembras ovígeras y se divide entre el total de la población, se puede expresar como porcentaje también.

1.8. Delimitaciones

El tema de esta investigación se delimitó en la producción de rotíferos, específicamente el mejoramiento del sistema de producción de estos organismos en el Parque Marino del Pacífico. Dentro de este tema de estudio, se evaluarán dos sistemas de producción intensiva de rotíferos (con y sin adición de oxígeno), donde se tomaron en cuenta también otros aspectos de *Brachionus plicatilis* como: la alimentación (microalgas y levadura), calidad del agua utilizada en los cultivos, parámetros poblacionales, contaminación por ciliados y la rentabilidad económica de cada sistema de producción. Esto con la finalidad de seleccionar el sistema más apto tanto económico como técnicamente de acuerdo a las necesidades de la institución.

1.9. Limitaciones

Entre las limitaciones que se presentaron a la hora de desarrollar este trabajo correspondieron a:

- ✓ La escasa bibliografía de dos temas en específico:
 - a) Especies de protozoarios marinos en Costa Rica, por lo que fue necesario utilizar referencias de otros países como por ejemplo México y Cuba para elaborar la discusión de los resultados.

- b) La acuacultura de *Lutjanus guttatus* y otras especies marinas en Costa Rica, ya que la maricultura en general es una actividad incipiente que comenzó a tomar fuerza a partir del 2002 con la creación del Parque Marino del Pacífico.
- ✓ La escasez de equipos automáticos que permitieran un monitoreo de 24 horas sobre el sistema de producción intensiva de rotíferos.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Pargo la mancha (*Lutjanus guttatus*)

Los peces del género *Lutjanus* se encuentran distribuidos en las regiones cálidas y tropicales del Océano Pacífico. De las más de 200 especies de la familia *Lutjanidae* descritas, nueve se encuentran en la costa pacífica de Costa Rica.

Específicamente, el pargo manchado puede vivir en pequeños grupos o solitarios, pocas veces conformando grandes cardúmenes, se localizan en zonas costeras hasta 30 m de profundidad, son carnívoros y se alimentan principalmente de peces e invertebrados. Según Arellanos-Martínez et al. (2001) presentan actividad reproductiva todo el año aunque con dos períodos reproductivos principales (marzo-abril y agosto-noviembre). Se ha caracterizado como una especie altamente capturada por la flota artesanal en el Golfo de Nicoya, principalmente en la parte externa por lo que se le considera la especie que sostiene las pesquerías en esta zona. Además, a nivel nacional, mensualmente se le atribuyen ganancias superiores a 3 millones de dólares (Soto et al. 2009).

Debido a la sobreexplotación de la especie a partir de los años 90 se iniciaron varios proyectos de producción de semilla y cultivo del pargo la mancha, con un enfoque experimental que permitió conocer los aspectos tanto básicos de su comportamiento como el potencial para su reproducción (en cautiverio y cultivo masivo en jaulas flotantes), con el fin de ofrecer nuevas alternativas al sector pesquero de la zona (Herrera et al. 2009).

2.2. Cronología de la acuicultura masiva de *Lutjanus guttatus* en Costa Rica

La maricultura masiva en Costa Rica de *Lutjanus guttatus* es una actividad reciente, la siguiente figura resume la trayectoria que ha tenido el país:

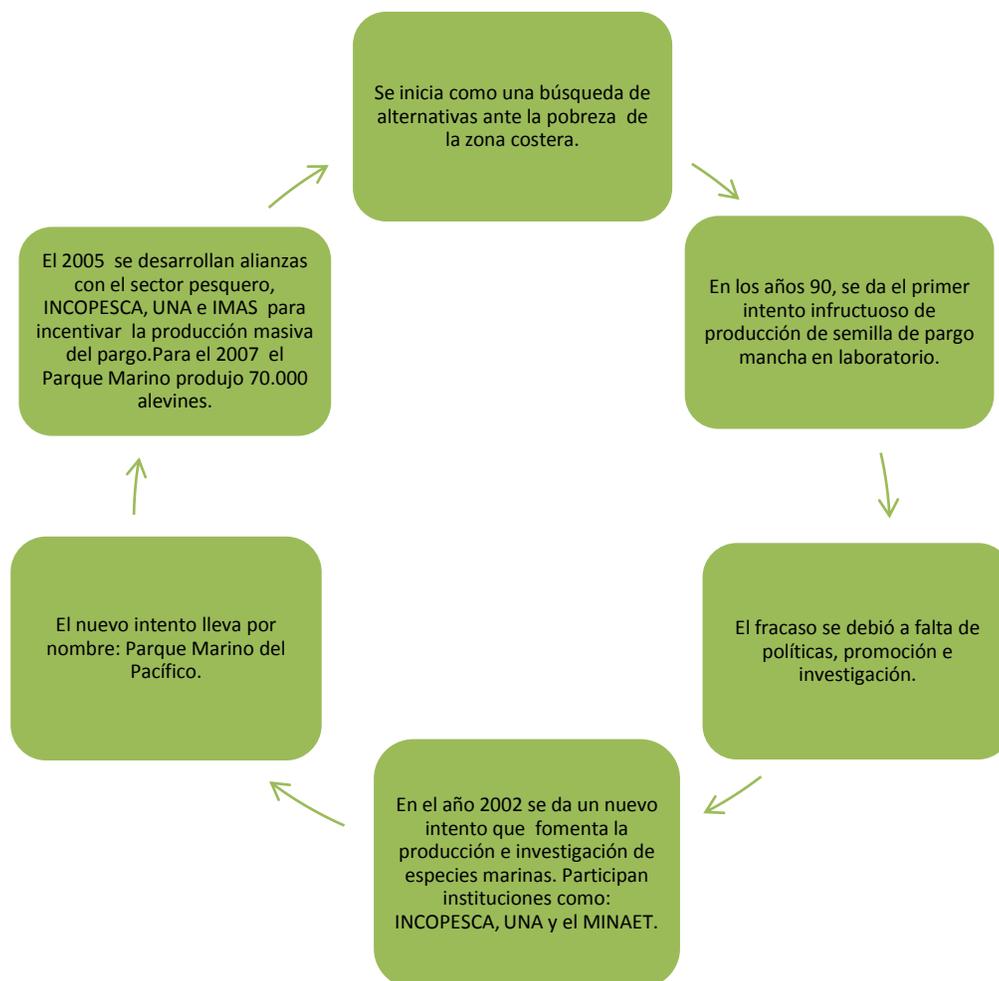


Figura 2. Cronología de acuicultura masiva de *Lutjanus guttatus* en Costa Rica.

Elaboración propia basada en Herrera et al. 2009

2.3. Importancia del alimento vivo en acuicultura

El alimento vivo es un recurso de gran valor nutricional para el cultivo de peces, debido a que constituye una cápsula nutritiva que contiene los elementos básicos de una dieta balanceada y no sólo es estimado por ser fisiológicamente una forma valiosa de nutrimento, sino también un factor conductual importante (Luna-Figueroa et al. 2010).

Los criaderos de peces y crustáceos marinos, necesitan cultivar zooplancton para adicionárselo a las larvas. Estas larvas no terminan de formar su sistema digestivo hasta unos días después de nacidas, y su capacidad de digestión es bastante limitada. Lo mismo ocurre con su agudeza visual, prestando atención (sobre todo en caso de los peces) solamente a objetos en movimiento. Debido a estas y otras razones, las larvas han de comenzar su alimentación en base a presas vivas, es decir, a zooplancton. En general, hasta que los peces no comienzan a realizar la metamorfosis, no son capaces de ingerir y digerir adecuadamente gránulos de alimento formulado. Las especies de zooplancton que mejor se adaptan a su cultivo intensivo, son el rotífero y la *Artemia*. También se han intentado cultivar otras especies como copépodos, ciliados y *Daphnia pulex* (Figura 3), pero los logros distan mucho de los conseguidos por los primeros anteriormente mencionados (Cisneros y De la Cruz 2007).

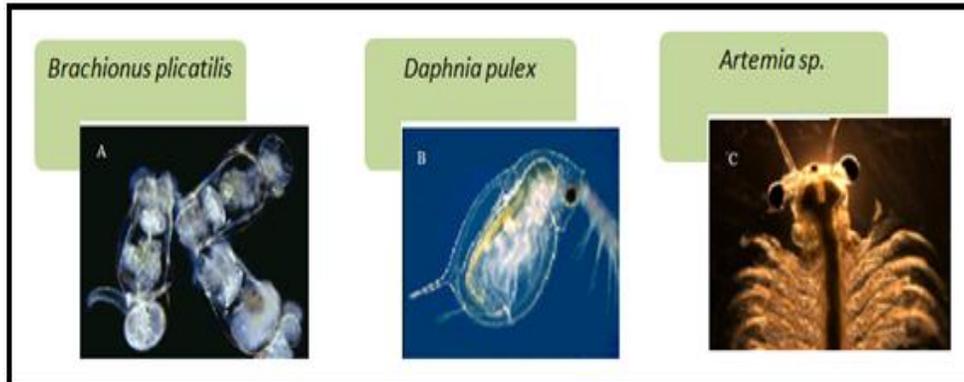


Figura 3. Ejemplos de zooplancton utilizado en acuicultura como alimento vivo.

Fuente: Castro et al. 2003.

El alimento vivo tiene cualidades que no tiene un alimento inerte, como lo es el movimiento, el cual estimula ser atrapado por el depredador; el color que es atractivo para su captura, además 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, que si no tiene buena flotabilidad (o sea que permanezca por un período considerable en la superficie) se irá al fondo, donde se descompone y afecta al medio, causando mortalidades en los estanques (Castro et al. 2003).

2.4. Rotíferos (*Brachionus plicatilis*)

De entre todos los rotíferos del orden *Monogonota*, quizás el mejor conocido sea *Brachionus plicatilis* (Cuadro 1), debido a la facilidad con que este organismo puede cultivarse en laboratorio y por sus corto tiempo de

generación, esta especie se ha utilizado frecuentemente como modelo de estudio en ecología (García 2006).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de *Brachionus plicatilis*.

Categoría taxonómica	Clasificación
Phylum	<i>Aschelminthes</i>
Clase	<i>Rotatoria</i>
Subclase	<i>Eurotatoria</i>
Orden	<i>Monogonota</i>
Sección	<i>Brachionida</i>
Familia	<i>Brachionidae</i>
Género	<i>Brachionus</i>
Especie	<i>plicatilis</i>

Fuente: Durán 2002

Existen algunas formas marinas y otras terrestres que viven sobre musgos húmedos. Generalmente son formas libres que integran el zooplancton. Su cuerpo es transparente, aunque a veces se ve coloreado en la región intestinal. Poseen la capacidad de filtrar pequeñas partículas de la columna del agua (bacterias o microalgas) por medio de la corona de cilios localizada en la región anterior del cuerpo (Figura 4) que además usan para la locomoción (Durán 2002).

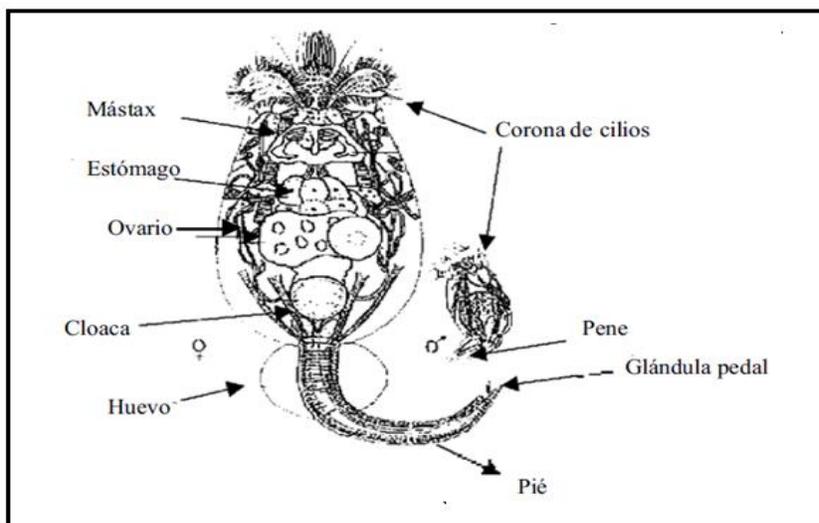


Figura 4. Características morfológicas generales de *Brachionus plicatilis*.

Fuente: Durán 2002.

Se han considerado en los últimos años como uno de los recursos alimenticios más importante en la acuicultura, por su tamaño (100 – 300 μm), carácter eurihalino, euritermo y calidad nutricional (Vallejo et al. 1993). Por esta razón se han realizado gran cantidad de investigaciones sobre las condiciones que optimizan el crecimiento de las poblaciones de este organismo así por ejemplo podemos mencionar la adición de oxígeno puro o dietas mejoradas (Kostopoulou et al. 2006, Papakostas et al. 2007, Sayegh et al. 2007, Kobayashi et al. 2008, Larsen et al. 2008, Yin y Zhao 2008, Cavalin y Weirich 2009, Mahmoudzadeh et al. 2009; Qi et al. 2009). Sin embargo, en los cultivos de rotíferos pueden desarrollarse microorganismos que afectan la población, entre los que se pueden mencionar: bacterias, hongos y protozoarios (Durán 2002). Los protozoarios son células eucarióticas simples con características del reino animal, ya que son móviles (por medio de cilios, pseudópodos o flagelos) y heterótrofas (nutrición variada). Además, poseen la capacidad de formar quistes o esporas y pueden ser de vida libre o parásitos (Álvarez 2006).

El ciclo reproductivo de los rotíferos (Figura 5), combina las ventajas de la reproducción partenogenética con las de la reproducción sexual. En el caso de la reproducción partenogenética las hembras asexuales son diploides, y se reproducen por partenogénesis ameiótica para dar lugar a hijas que son genéticamente idénticas a sus progenitoras. Durante esta fase de propagación clonal, en la que no hay machos y que suele comprender un número elevado de generaciones, las poblaciones de rotíferos presentan altas tasas de crecimiento poblacional lo que les permite colonizar rápidamente el hábitat. No obstante, como respuesta a determinadas condiciones ambientales (fotoperiodo, temperatura, dieta, o hacinamiento), se induce la fase sexual en la cual algunos huevos partenogenéticos diploides se desarrollan en hembras sexuales diploides que producirán huevos haploides. Si estos huevos no son fecundados, se desarrollarán en machos haploides. Pero si, una vez que haya machos en la población, son fecundados, producirán huevos diploides que entran en estado de diapausa hasta por 100 años (García 2006).

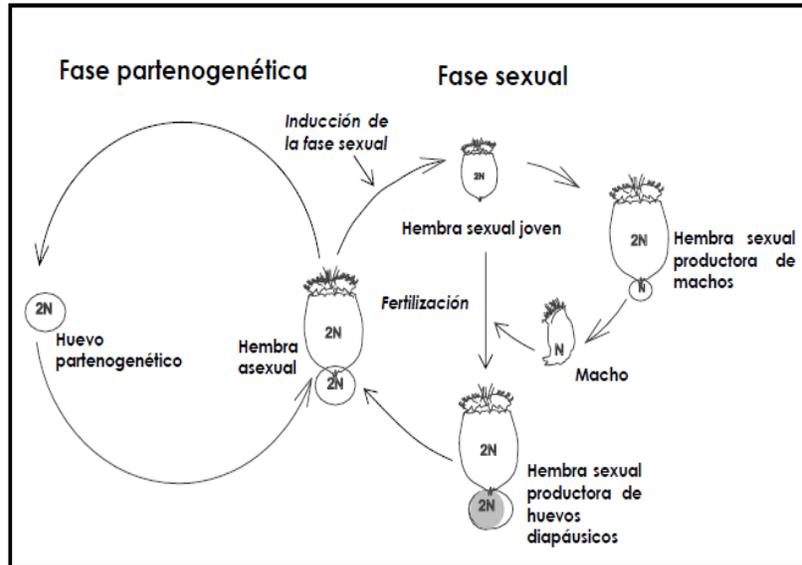


Figura 5. Ciclo reproductivo de los rotíferos.

Fuente: García 2006.

2.5. Tipos de cultivos de rotíferos

Técnicamente, a nivel mundial se han desarrollado distintos tipos de cultivos destinados a la producción masiva de rotíferos, entre los cuales se encuentran: el sistema continuo, semi-continuo y el batch. El sistema continuo se da cuando se cosecha un volumen específico del cultivo y se renueva el agua, manteniendo así la población en fase logarítmica mediante un control ya sea quimostático o turbidostático. El semi-continuo se caracteriza por tener recambios periódicos de agua de 25 a 70 % (Dhert et al. 2001) y pueden tener una duración de hasta 17 días (Hagiwara et al. 1997). El sistema batch, radica en mantener los cultivos por periodos cortos de tiempo se recomienda máximo 10 días (Hagiwara et al. 1997), seguidamente se cosecha en su totalidad y se procede tanto a la alimentación de las larvas como a la inoculación de un nuevo cultivo.

Ahora, de acuerdo a la densidad de siembra, los cultivos se pueden clasificar como: extensivos, semi-intensivos, intensivos y super intensivos. Los cultivos extensivos, se dan cuando las densidades oscilan entre 50 a 100 rot \cdot ml⁻¹ y se utilizan en volúmenes de más de 2 toneladas. El semi-intensivo puede tener densidades entre 100 y 500 rot \cdot ml⁻¹. Los sistemas intensivos se caracterizan por poseer densidades de 500 a 1000 rot \cdot ml⁻¹, el volumen de los tanques que se utilizan es de 1 a 2 toneladas (Durán 2002) y los cultivos son más controlados en cuanto a su alimentación y variables físico-químicas. Finalmente el sistema super- intensivo puede producir de 2000 a 20.000 rot \cdot ml⁻¹, es utilizado en países como Japón y se utilizan técnicas de recirculado de agua (Hagiwara et al. 2001).

Sin embargo, la constante necesidad que las industrias de maricultura poseen por aumentar las producciones de rotíferos ha provocado gastos continuos en nuevos espacios de trabajo, en personal, en alimento (levadura o microalgas); y que al final se refleja en el elevado costo de la larva. Es por ello que la técnica que se elija para el cultivo de rotíferos puede ser determinante para que esta actividad siga siendo rentable (Suantika et al. 2003).

2.6. Microalgas

El fitoplancton, es la parte de la fracción de los microorganismos del plancton que son autótrofos y tienen la capacidad de fotosintetizar (Figura 6). Constituyen una fuente directa de alimento de diferentes estados larvales y de numerosos grupos de animales filtradores como los son moluscos y crustáceos.

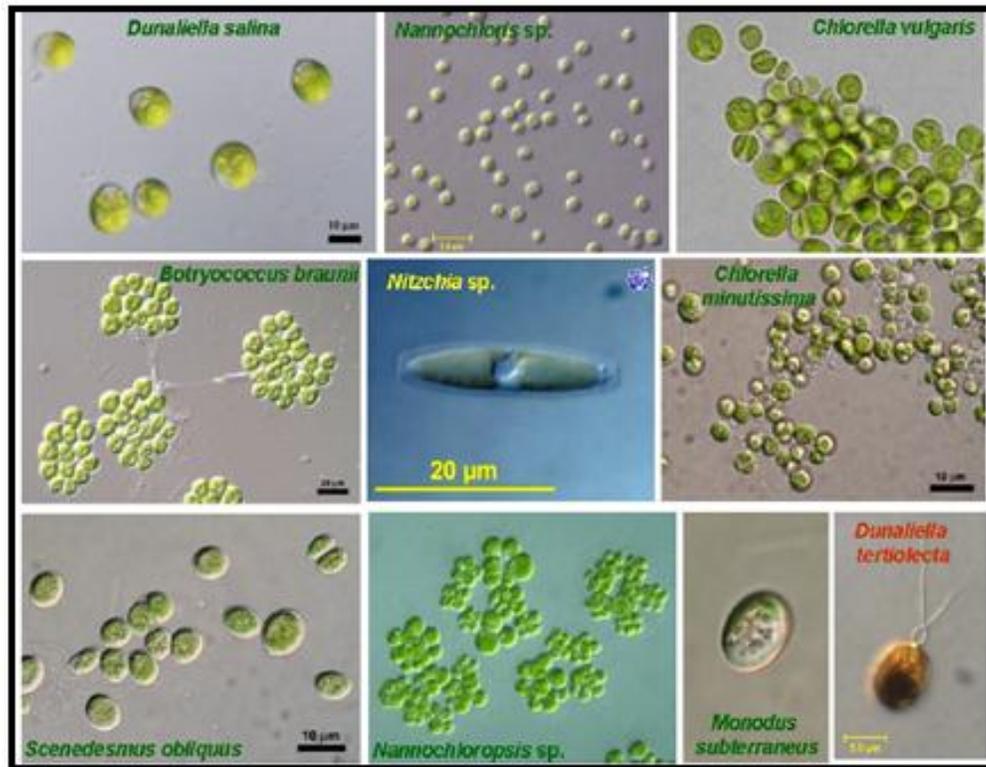


Figura 6. Ejemplos de especies de microalgas marinas.

Fuente: Loera-Quezada y Olguín 2010

También es fuente indirecta de alimento para las larvas de peces carnívoros sirviendo como base a la producción de zooplancton como por ejemplo los rotíferos (Cuadro 2). Las microalgas más utilizadas en la alimentación de especies marinas, por su aceptable composición bioquímica de altos contenidos de ácidos grasos poliinsaturados son: *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis oculata*, *Chaetoceros muelleri*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri* y *Rhodomonas* sp. (Dhert et al. 2001).

Cuadro 2. Porcentaje de componentes de los rotíferos sometidos a diferentes dietas.

Microalga	Carbohidratos	Proteínas	Lípidos
<i>Nannochloris</i> sp.	24,6	59,9	15,5
<i>Nannochloropsis</i> sp.	19,4	64,9	15,7
<i>Chlorella</i> sp	22,5	56,5	20,9
<i>Spirulina</i>	23,8	69,7	6,5

Fuente: Rueda 1996

La microalga *Nannochloropsis oculata* es una microalga muy importante en acuicultura debido a su valor nutricional. Esta microalga pertenece a la clase *Eustigmatophyceae*, que agrupa a las especies que contienen la mayor cantidad de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente ácido eicosapentaenoico, ácido araquidónico y docosahexaenoico, los cuales son de gran importancia en la nutrición de animales marinos. La microalga ha sido sugerida como un alimento preferible para el rotífero *Brachionus plicatilis*, el cual transfiere eficientemente los PUFAs algales a las larvas de peces marinos (Sánchez-Torres et al. 2008).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación correspondió a un estudio aplicado ya que busca solucionar un problema inmediato asociado a la eficiencia del cultivo de rotíferos en el Parque Marino del Pacífico. El fin fue sustituir el sistema extensivo actual de producción de *Brachionus plicatilis* por uno intensivo que resulte más rentable y técnicamente mejor, y poder contribuir así al mejoramiento y expansión de la maricultura de *Lutjanus guttatus*.

3.2. Método de investigación

El método de investigación correspondió a experimental, ya que se comprobó por medio de dos pruebas (con y sin adición de oxígeno puro) cuál sistema de rotíferos fue más eficiente (tanto productivo como económicamente), con el fin de buscar una mayor rentabilidad para la creciente industria de la maricultura que se desarrolla en Costa Rica, no solo para los grandes productores sino también para proyectos sociales que involucran personas de la zona costera.

3.3. Ubicación temporal y espacial

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Puntarenas, en el Parque Marino del Pacífico, cuya localización geográfica se encuentra a 9,97° de Latitud Norte y 84, 82° de Longitud Oeste (Figura 7). Se encuentra a una altitud de 0 metros.

La Delimitación temporal para la recolección de datos abarcó del 22 de junio al 5 de agosto del 2013, en este lapso de tiempo se incluyen los levantamientos

algales y la búsqueda de los costos para evaluar la factibilidad económica de cada sistema de producción de rotíferos.



Figura 7. Vista satelital del Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Google Earth.

3.2.1. Reseña del Parque Marino del Pacífico

El Parque Marino se fundó en el 2002, por medio de la Ley de República No. 8065. Surge como un proyecto socio ambiental en el marco del desarrollo sostenible, con el afán de colaborar con el mejoramiento humano y ambiental de la zona costera. El Ministerio Nacional de Ambiente y Energía es la institución líder, y los socios son, la comunidad de Puntarenas, la Universidad Nacional el Instituto Nacional de Aprendizaje y el Instituto Nacional de Biodiversidad.

Específicamente, el programa de producción marina se encarga de desarrollar nuevas tecnologías de producción de peces marinos para la implementación de cultivos sostenibles. El objetivo principal del programa es el mejoramiento de la calidad de vida de los pobladores de la zona costera promoviendo alternativas por medio de la investigación, el desarrollo y la innovación, en el campo de la producción marina. También fomenta la extensión de las tecnologías en empresas privadas, las cuales permiten un mayor aceleramiento de la piscicultura marina en el país, debido al aporte financiero, intercambio de conocimiento y aporte de mano de obra local.

3.3. Instrumentos utilizados para la ejecución del proyecto

En la siguiente figura se muestra los instrumentos que se requirieron para el desarrollo del Trabajo Final de Graduación.

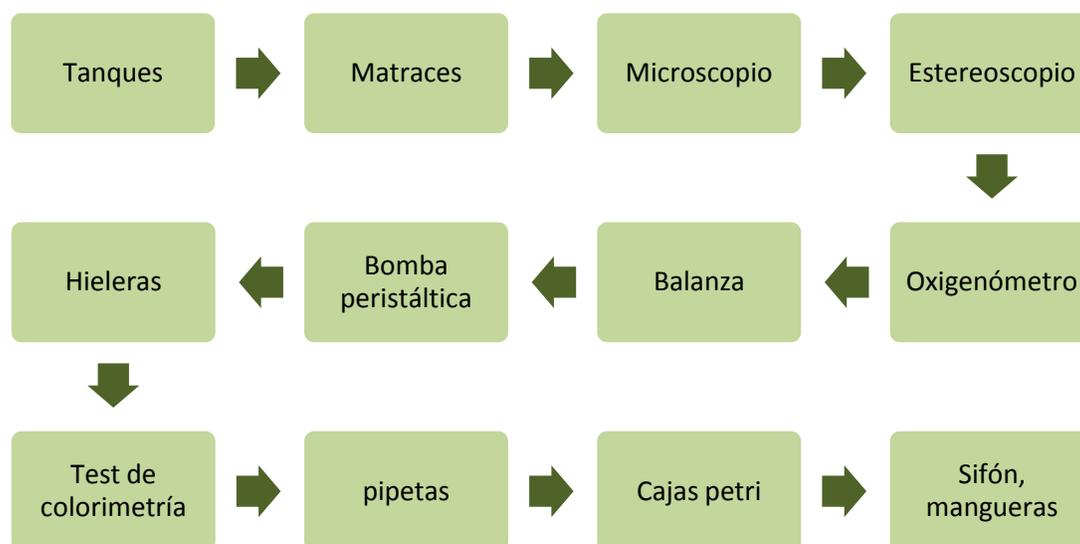


Figura 8. Instrumentos utilizados en el desarrollo del Trabajo Final de Graduación.

Fuente: Elaboración propia.

3.4. Procedimiento

3.4.1. Definición las curvas de crecimiento poblacional de dos sistemas de producción intensiva de rotíferos, con y sin adición de oxígeno puro, utilizados en la alimentación de larvas de pargo manchado.

Los cultivos de rotíferos fueron desarrollados para la producción de alevines de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) del Parque Marino del Pacífico. Se utilizó una cepa de rotíferos de la especie *Brachionus plicatilis* la cual forma parte del stock del Laboratorio.

El ensayo contó con tres repeticiones tanto para evaluar el sistema intensivo con oxígeno puro como el intensivo sin oxígeno, tuvieron una duración de ocho días máximo y el sistema utilizado fue el batch. Es importante recalcar que por motivos de faltante de tanques se realizó primero la curva del sistema con oxígeno y luego la del intensivo sin oxígeno.

Al sistema intensivo de producción de rotíferos con oxígeno se le agregó tanto oxígeno puro al 99% como aireación impulsada por blower y al sistema sin oxígeno solamente aireación impulsada por blower.

El oxígeno puro fue adicionado al tanque del cultivo de rotíferos por medio de una manguera de 3 mm de diámetro conectada al dewar de oxígeno y que contó con una piedra difusora dirigida al tanque con rotíferos. La aireación de ambos sistemas consistió en cuatro piedras difusoras colocadas en cuatro distintos puntos del cultivo. Ambos sistemas contaron con tanques transparentes de fibra de vidrio, con una salida central de 2" (Figura 9), contaban con un volumen de 1 m³ de capacidad y 1,3 m de diámetro;

ubicados bajo techo recubierto de láminas de policarbonato transparentes con una entrada de luz de 5000 lux. Los cultivos se desarrollaron a un volumen de 500 litros y se iniciaron con una densidad de 200 rotíferos $\cdot \text{ml}^{-1}$.

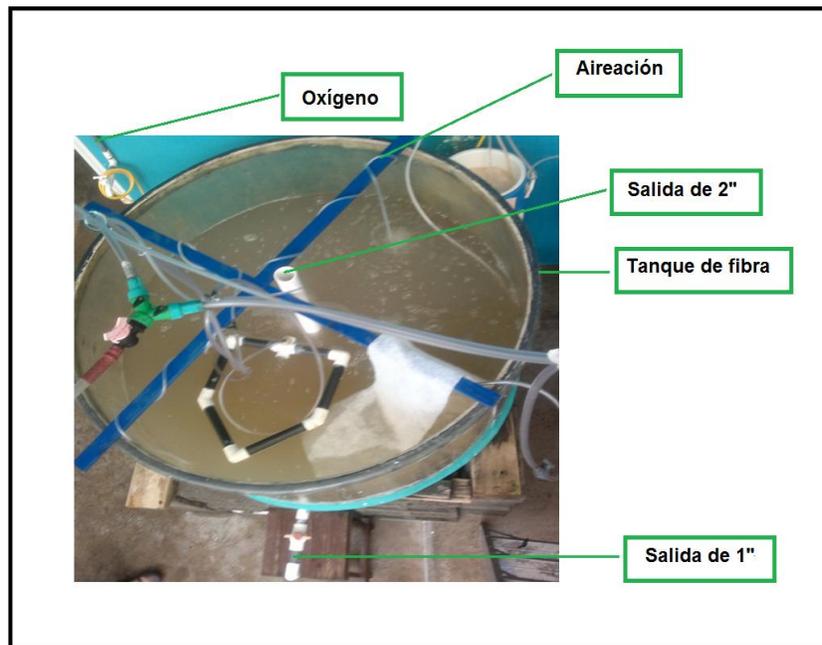


Figura 9. Secciones básicas de los sistemas intensivos de producción de rotíferos.

Fuente: Elaboración propia.

3.4.1.1. Calidad del agua para ambos sistemas

El agua de mar que se utilizó para todo la ejecución de este trabajo fue facilitada por medio del sistema de bombeo del Parque Marino del Pacífico, además fue filtrada a 1 mm e irradiada con un ultravioleta.

Se colocaron telas absorbentes (una tela por tanque de aproximadamente 2 metros de largo y 20 cm de ancho) suspendidas en los tanques para recolectar

el exceso de detritos, las cuales fueron lavadas con abundante agua todos los días del cultivo. También se instalaron skimmer para reducir los compuestos orgánicos, éstos fueron ser limpiados diariamente con toallas absorbentes (Figura 10).

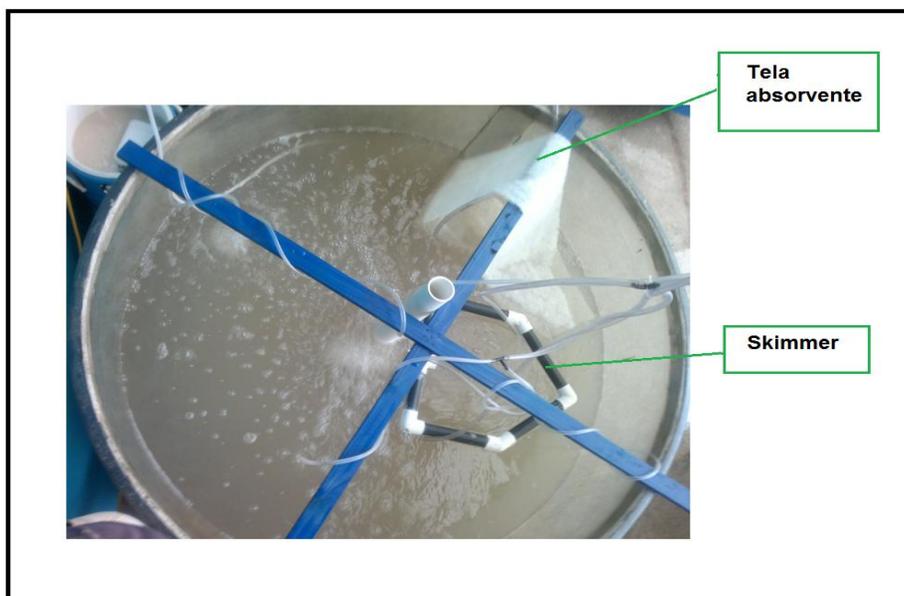


Figura 10. Secciones que contribuyen a la calidad del agua en ambos sistemas intensivos de producción de rotíferos.

Fuente: Elaboración propia.

Además, cuidadosamente se sifonearon de día por medio (iniciando el día 2) los fondos de los tanques con una manguera de $\frac{1}{2}$ " para mantener la limpieza del cultivo. Para no afectar la curva de crecimiento, los rotíferos que se sifonearon fueron recolectados en una malla de $55 \mu\text{m}$ para luego ser devueltos al tanque y el agua que se perdió se repuso para obtener de nuevo el volumen inicial de 500 litros. Diariamente, por cada 100 litros de agua se le añadió 0,75 g de probiótico Epicin ponds (Epicor Bionetworks Inc., Eastampton, NJ 08060) a los cultivos para reducir el impacto negativo bacteriano.

3.4.1.2. Alimentación en ambos sistemas

La alimentación diaria de mantenimiento se fundamentó en levadura seca (*Saccaromyces cerevisiae*) y la adición de la microalga *Nannochloropsis oculata*.

Alimentación con levadura

La cantidad que se empleó estuvo basada en la fórmula de Suantika et al. (2000), la cual corresponde a:

$$CHS = 0,035D^{0,415} V$$

Donde, CHS= peso del alimento (gramos), D= densidad de rotíferos $\cdot \text{ml}^{-1}$ y V= volumen (litros)

La alimentación en ambos sistemas se preparó en hieleras de 20 l con aireación, la temperatura se disminuyó con hielo hasta alcanzar 10 °C, se añadió 1,25 g de probiótico Epicin ponds, se pesó (utilizando una balanza semi analítica TScale) y se agregó la levadura correspondiente, finalmente, se entregó a los rotíferos por goteo continuo durante 24 horas utilizando una bomba peristáltica de marca Chem Feed ® (Blue-White Industries, Huntington Beach, California 92649) (Figura 11).

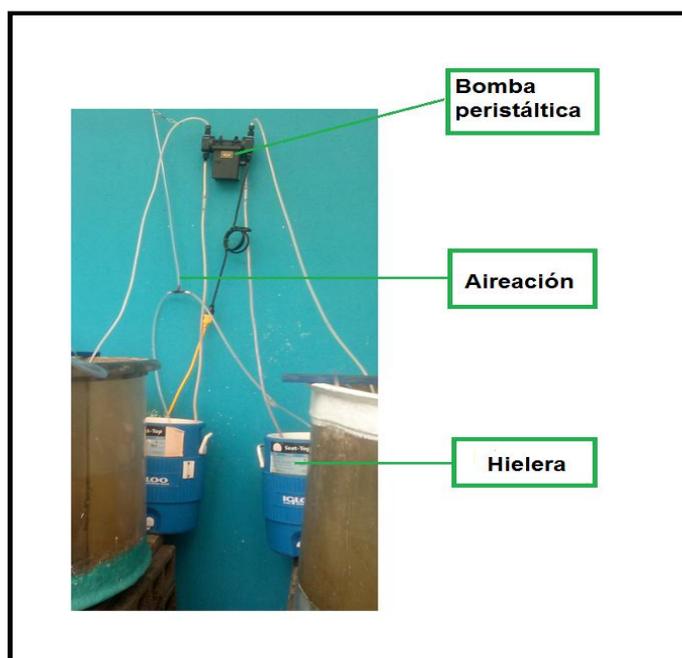


Figura 11. Sistema de alimentación para ambos cultivos intensivos de producción de rotíferos.

Fuente: Elaboración propia.

Alimentación con microalgas de la especie *Nannochloropsis oculata*.

En ambos sistemas se le adicionó diariamente a las 9:00 hrs microalgas de la especie *Nannochloropsis oculata*; logrando la densidad recomendada por Dhert et al. (2001) en el tanque con rotíferos de $2 \cdot 10^5$ células \cdot ml⁻¹. La cepa del alga fue tomada del stock propio del Parque Marino del Pacífico. Los cultivos algales se desarrollaron en condiciones controladas de 24 horas luz, con una intensidad lumínica de 2000 lux, una temperatura de 23 ± 1 °C y aire impulsado por blower, el cual fue incorporado a los recipientes por medio de mangueras transparentes de 1 mm de diámetro (Figura 12).

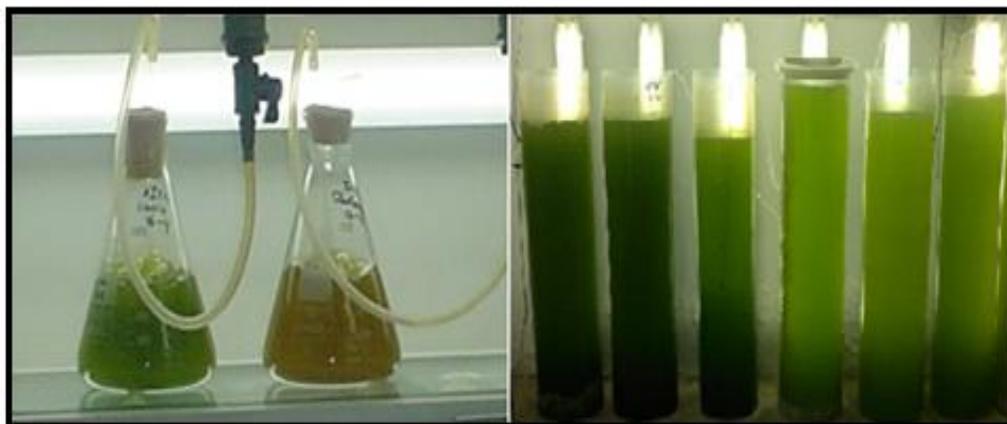


Figura 12. Imagen del Laboratorio de microalgas del Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Elaboración propia.

Se utilizó el medio de F/2 de Guillard y Rhyter (1962) para el mantenimiento de los cultivos (ver Cuadro 3), además se tomaron en cuenta las medidas básicas de bioseguridad establecidas por la FAO (2006) para manipular microalgas.

Cuadro 3. F/2 de Guillard y Rhyter, para preparar soluciones madre de un litro.

Clasificación	Compuesto	Cantidad (g)
Macronut.	NH ₄ Cl	27,5
	NaH ₂ PO ₄	5
	NaNO ₃	75
Metales traza	Na ₂ EDTA	4,36
	FeCl ₃ *6H ₂ O	3,15
	CuSO ₄ *5H ₂ O	0,01
	ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,022
	CoCl ₂ *6H ₂ O	0,01
	MnCl ₂ *4H ₂ O	0,18
	Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,006

Vitaminas	Cianocobalamina (B12)	0,5
	Tiamina (B1)	0,2
	Biotina	0,1

Fuente: Guillard y Rhyter 1962.

Para obtener la cantidad de microalgas suficiente para realizar los cultivos se siguió la secuencia clásica de escalonamiento, es decir, partiendo de volúmenes pequeños hasta volúmenes mayores. Se partió con la inoculación de dos matraces de 250 ml de cultivo microalgal con una densidad inicial de $2 \cdot 10^6 \text{ cél} \cdot \text{ml}^{-1}$, al llegar a la fase exponencial, la cual ocurre aproximadamente a los cuatro días, se tomó $\frac{3}{4}$ del volumen del cultivo (se debió recuperar el volumen inicial con medio nutritivo) y se inocularon en dos matraces limpios de un litro con F/2, de nuevo se esperó a que alcanzara la etapa exponencial y repitiendo el proceso anterior se inocularon dos matraces de cuatro litros y luego dos tanques de 30 l.

Nuevamente, estos cultivos se mantuvieron en sistemas con aireación constante y una vez que alcanzaron la máxima fase de crecimiento se utilizaron en su totalidad para inocular tanques de 100 l, los cuales fueron utilizados para la alimentación de los cultivos de rotíferos. Este proceso debió realizarse aproximadamente unos 30 días antes de iniciar las curvas y se debieron sembrar diariamente 2 tanques de 100 l durante 15 días (corresponde aproximadamente a la duración de las 2 curvas con sus respectivas repeticiones). En la siguiente figura se representa el proceso de escalonamiento:

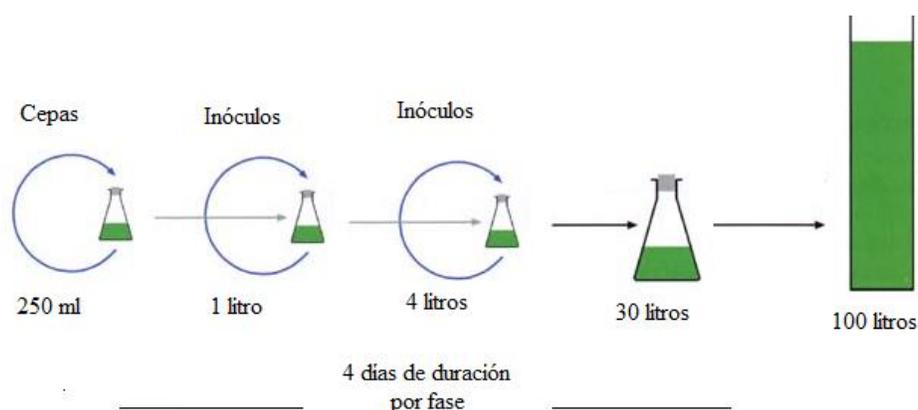


Figura 13. Esquema del proceso de escalonamiento algal.

Fuente: Modificado de FAO 2006.

Para el mantenimiento de los cultivos algales, el agua de mar se filtró a través de una serie de cartuchos de 10, 5 y 1 μm y se irradió con luz ultravioleta. En el caso de los matraces y del medio nutritivo utilizado, se esterilizaron en una autoclave a 121°C y a una presión de $1 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ durante 10 minutos. Para los cultivos en tanques de 30 y 100 l, el agua fue desinfectada empleando hipoclorito de sodio al 3,4% (blanqueador comercial) en el agua de mar (1 ml de Hipoclorito por cada 10 l de agua), dejando actuar al cloro durante 24 horas, para posteriormente neutralizarlo con Sulfito de sodio (0,75 g por cada ml de cloro).

Los conteos diarios de las células microalgales se realizaron en un microscopio de marca Optima modelo H-903, se utilizó una cámara Neubauer con profundidad de 0,01 mm marca Hausser Scientific y se utilizó lugol (el cual se prepara con 10 g de Yoduro de potasio y 5 g de Yodo por cada 100 ml de agua destilada) como colorante para las células microalgales.

3.4.1.3. Monitoreo de variables físico químicas del agua en ambos sistemas

Diariamente a las 7:00, 12:00 y 17:00 hrs se registró la temperatura y el oxígeno disuelto con un oxigenómetro de marca YSI modelo 550A. En el caso del sistema intensivo con oxígeno, el oxígeno se mantuvo a una concentración entre 5 y 6 mg · l⁻¹ y al sistema sin oxígeno puro no se le controló dicha variable, sin embargo, sí se midió y se graficó los valores obtenidos. Los cultivos se mantuvieron en un intervalo de salinidad entre 20 y 22 ppm. El pH se midió a las 8:00 hrs utilizando un test de colorimetría Aquarium Pharmaceuticals (Fishcare North América, Inc. Hamilton, California, PA 18914). Además a las 9:00 hrs se midió las concentraciones (mg · l⁻¹) de nitritos (NO₂⁻), nitratos (NO₃⁻) y amonio (NH₃ / NH₄⁺) utilizando un test de colorimetría también de Aquarium Pharmaceuticals y siguiendo las técnicas descritas en el manual del equipo.

Los compuestos nitrogenados son importantes medirlos pues altas concentraciones de éstos en los cultivos de rotíferos (o de cualquier otro cultivo) pueden provocar enfermedades, estrés, ralentizar los sistemas y la muerte.

3.4.1.4. Parámetros de producción para ambos sistemas

Diariamente en cada tanque se le realizaron diez conteos de rotíferos · ml⁻¹ cada hora iniciando a la 8:00 hrs, en dichos conteos se obtuvo la fecundidad (huevos.ind⁻¹) contabilizando la cantidad de huevos presentes en las hembras ovígeras y se consiguió la proporción de los huevos con respecto a la densidad total poblacional. El método de conteo consistió en tomar con una pipeta una sub muestra de 0,5 ml de los cultivos. Cada sub muestra se colocó

en una caja petri debidamente cuadrículada y se le añadió tres gotas de solución de lugol como tinción. Para realizar el respectivo conteo de los rotíferos se utilizó un contador manual y un estereoscopio de marca Óptima y modelo ZM-160 AT. El promedio entre los conteos diarios correspondió al dato real de cada día.

3.4.1.5. Comportamiento poblacional

Cuando los cultivos mostraron sus mayores valores de densidad poblacional se procedió a calcular la tasa instantánea de crecimiento, tiempo de duplicación y rendimiento del cultivo, las cuales están dadas por las siguientes fórmulas:

Tasa instantánea de crecimiento (Suantika et al. 2003)

$$K = \frac{\ln N_f - \ln N_o}{t}$$

Tiempo de duplicación (Vallejo et al. 1993)

$$td = \frac{\ln 2}{K}$$

Rendimiento del cultivo (Vallejo et al. 1993)

$$r = \frac{N_f - N_o}{t}$$

Donde: N_f = número final de ind \cdot ml $^{-1}$, N_o = número inicial de ind \cdot ml $^{-1}$, t = tiempo en días.

3.4.1.6. Longitud de rotíferos

Se tomaron 5 rotíferos diarios al azar por cada tanque y se midió al microscopio tanto la longitud como el ancho de la lórica (pared del cuerpo o integumento) (Figura 14). Para inmovilizarlos se utilizó la presión del cubreobjetos sin agregar otras sustancias químicas para evitar variaciones en los datos.

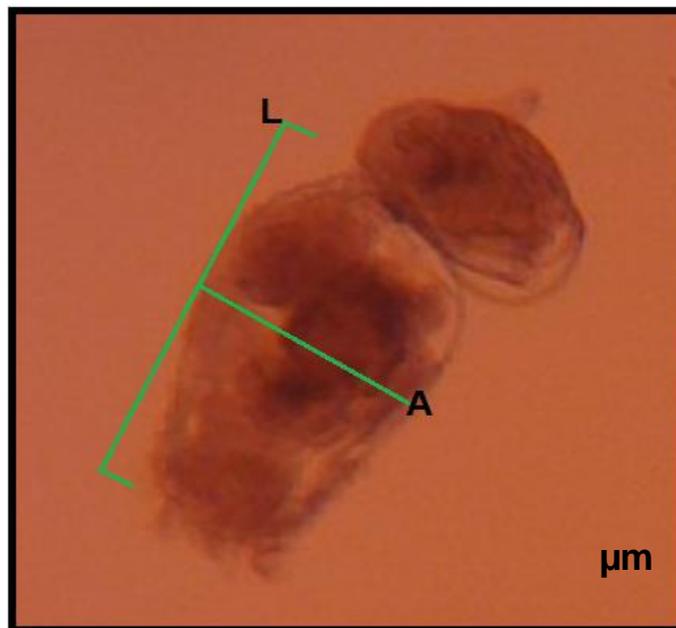


Figura 14. Longitud (L) y ancho (A) de la lórica de un rotífero.

Fuente: Elaboración propia.

3.4.1.7. Contaminación de los cultivos producto de protozoarios.

Se realizaron tres conteos diarios de los protozoarios mayores de 20 μm en ambos sistemas. Se tomaron con una pipeta 3 sub muestras de 0,5 ml del tanque del cultivo de rotíferos, seguidamente, se agregaron en cajas petri debidamente cuadrículadas, se inmovilizaron con solución de lugol, se contaron utilizando el estereoscopio y un contador manual, finalmente empleando el microscopio se identificaron a nivel de género utilizando la guías de Álvarez (2006) y Aladro Lubel et al. (1990). Los protozoarios compiten con los rotíferos por alimento y oxígeno por lo que altas densidades de estos microorganismos provocan pérdidas de cultivos.

3.4.1.8. Tratamiento de la información.

Con el fin de determinar la diferencia estadística entre los diferentes tratamientos, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar la información obtenida sobre la tasa instantánea de crecimiento poblacional, así como el tiempo de duplicación y rendimiento del cultivo. Es importante recalcar que a los datos se le realizaron pruebas de normalidad y homocedasticidad de la varianza. Se utilizó tanto el programa de Excel como el InfoStat.

3.4.2. Comparación de los costos de producción de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) bajo los sistemas con y sin adición de oxígeno puro, para la alimentación de larvas de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*).

Como primer paso se definieron los rubros que forman parte de los costos de producción para un tanque de rotíferos, siendo estos: el consumo eléctrico, el oxígeno, alimentos (levadura y microalgas), probiótico y mano de obra. En el caso de la producción de microalgas se tomó en cuenta: consumo eléctrico, los reactivos para la formulación del F/2 y mano de obra. Los egresos económicos que se necesitaron realizar en cada etapa del proceso se registraron en una hoja de cálculo y de esta manera se determinó qué porcentaje del costo total de producción de rotíferos correspondía a cada rubro, los costos correspondieron al mes de julio. Los gastos generados por un tanque de rotíferos se extrapolaron a un mes (de acuerdo a las densidades obtenidas en el presente TFG para ambos sistemas de producción de rotíferos con sus respectivas repeticiones), esto debido a que los tanques con larvas requieren 26 días de alimentación con rotíferos y resulta más enriquecedora la comparación que si se hiciera con solo un tanque.

Una vez hecha la anterior actividad se procedió a comparar el costo total de producción del sistema con y sin adición de oxígeno para conocer desde la perspectiva de producción de rotíferos, para la alimentación de larvas de pargo manchado cual de las dos generaba el menor costo.

Como actividad final, se calculó para un estanque de 6 m³ con alevines de *Lutjanus guttatus* el porcentaje del costo total de la alimentación que representa: el uso de rotíferos (producidos con y sin oxígeno), cistos de *Artemia*, microalgas y alimento formulado. En el caso de rotíferos y microalgas se utilizó los costos obtenidos en la actividad anterior (con algunas variantes

pues en las microalgas se agregó el costo del fertilizante masivo) y en la *Artemia* se tomó en cuenta el precio de los cistos, Sulfito de sodio, Bicarbonato de sodio y mano de obra. Para esta sección se aplicó el protocolo establecido por el Parque Marino del Pacífico para la alimentación de larvas de *Lutjanus guttatus* y que se muestra en la siguiente figura:

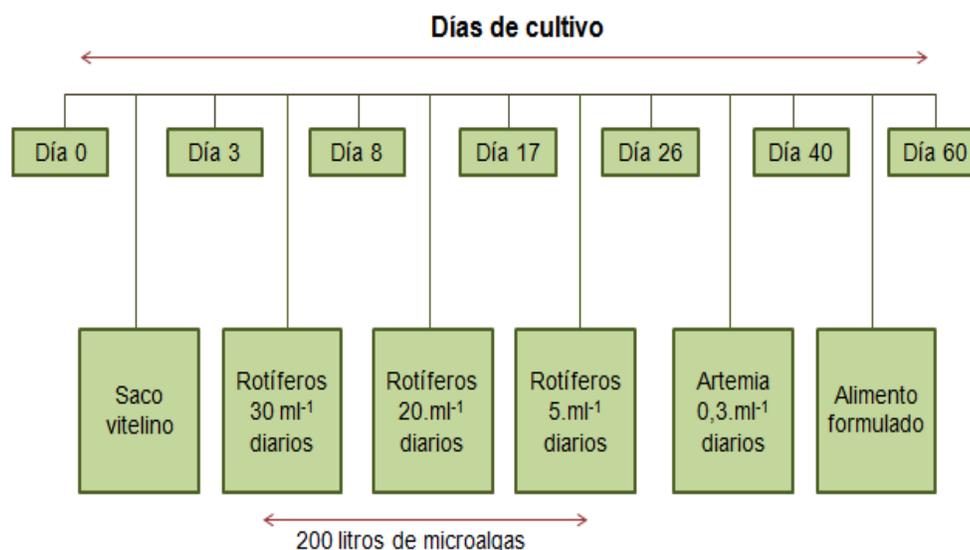


Figura 15. Protocolo de alimentación de larvas de *Lutjanus guttatus* en el Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Elaboración propia.

3.4.3. Diseño de un esquema del proceso integrado de producción de alevines de pargo en el Parque Marino del Pacífico.

Se diseñó un esquema del proceso integrado que conlleva la producción de alevines de pargo manchado en el Programa de Producción Marina del Parque Marino del Pacífico; así como todos los insumos requeridos para lograr el anterior cometido. Se utilizó la información recolectada en este Trabajo Final

de Graduación así como el protocolo general de producción de alevines de *Lutjanus guttatus* establecido por el PMP. Las etapas que se tomaron en cuenta para realizar el esquema se encuentran en la siguiente figura:

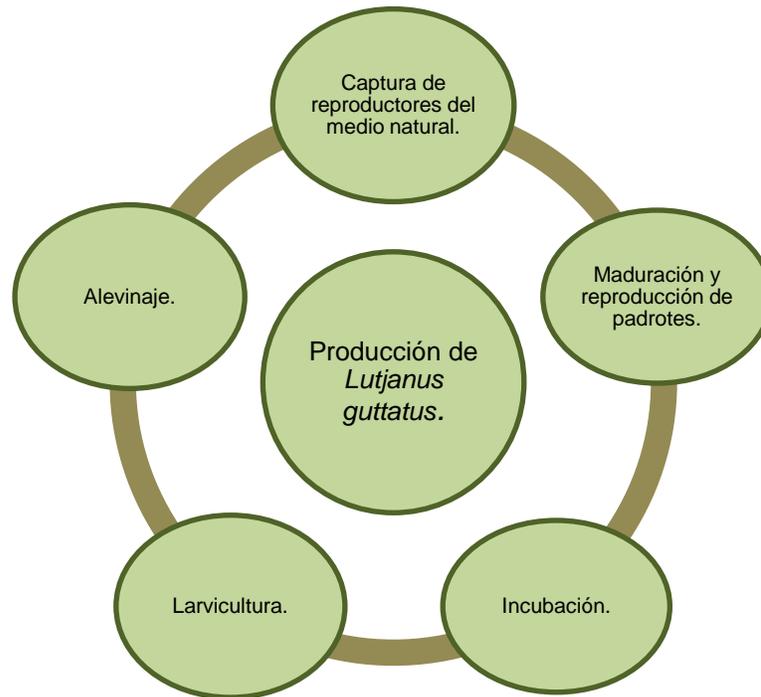


Figura 16. Etapas básicas del proceso integrado de producción de alevines de *Lutjanus guttatus* en el Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS

- ✓ A los datos utilizados en este trabajo se les aplicó la prueba de Shapiro-Wilks para verificar su normalidad $p > 0,05$. Además se analizaron los supuestos de la ANOVA (normalidad de los residuales y homocedasticidad de la varianza).

4.1. Definición de las curvas de crecimiento poblacional de dos sistemas de producción intensiva de rotíferos, con y sin adición de oxígeno puro, utilizados en la alimentación de larvas de pargo manchado.

4.1.1. Parámetros abióticos

La relación entre las distribuciones de las especies de organismos con los factores abióticos ha sido un aspecto que desde siempre ha interesado en estudios ecológicos. En el caso del plancton este interés es aun mayor dada la sencilla relación que existe entre las diferentes especies y el medio en el que se encuentran, además dichas especies por sus rápidas tasas de crecimiento pueden producir densas poblaciones de acuerdo con las variaciones de las variables ambientales (Esparcia et al. 2001).

4.1.1.1. Oxígeno (mg.l^{-1})

Uno de los factores que influye en el crecimiento poblacional de los rotíferos corresponde al oxígeno, es por ello que niveles bajos del DO pueden inhibir el crecimiento de estos organismos (Yoshimura et al. 2003).

En esta investigación se observó que el sistema con oxígeno, el DO se mantuvo en un rango promedio que osciló entre los $6,47 \pm 0,37 \text{ mg.l}^{-1}$ y $4,62 \pm 0,68 \text{ mg.l}^{-1}$

durante toda la duración del cultivo, el cual es un rango de oxígeno considerado idóneo pues se recomiendan valores superiores a 2 mg.l^{-1} (Durán 2002). Sin embargo, en el tratamiento sin oxígeno, los valores del DO se mantuvieron dentro de un rango de $5,52 \pm 0,88$ y $0,99 \pm 0,52$ (Figura 17). La caída del oxígeno disuelto en el sistema sin oxígeno pudo deberse a dos factores señalados por Rumí (2007), en primer lugar al aumento en la densidad de rotíferos. ml^{-1} por lo que Orhum y Benetti (2001) señala que cuando los cultivos presentan densidades mayores a 200 rot.ml^{-1} se recomienda añadir oxígeno puro para mantener la estabilidad del sistema. En segundo lugar correspondió a la gran cantidad de alimento disuelto en el agua, el cual se fue maximizando diariamente por la escasez de recambios de agua.

Estadísticamente, no existieron diferencias significativas (5 gl ; $p > 0,05$; Ver anexo 1) en los valores de DO reportados para ambos sistemas de producción de rotíferos en el primer día del cultivo, en donde el sistema con oxígeno contó con una media de $6,92 \pm 1,82$ y el sin oxígeno puro $5,76 \pm 1,05 \text{ mg.l}^{-1}$, sin embargo, a partir del día 2 los valores del oxígeno fueron significativamente mayores (17 gl , $p < 0,05$) en el cultivo con oxígeno puro.

Es importante, tomar en cuenta dos aspectos sobre la adición del oxígeno puro al cultivo de rotíferos en esta investigación, el primero correspondió a que no fue automatizado sino manual, por lo que el DO se mantuvo fluctuando a lo largo de la duración del cultivo; y el segundo consistió en que solamente se mantuvo el control de esta variable durante el día, lo que impidió conocer si durante la noche existieron caídas repentinas de oxígeno en el sistema y por ende afectar la densidad de rotíferos. ml^{-1} .

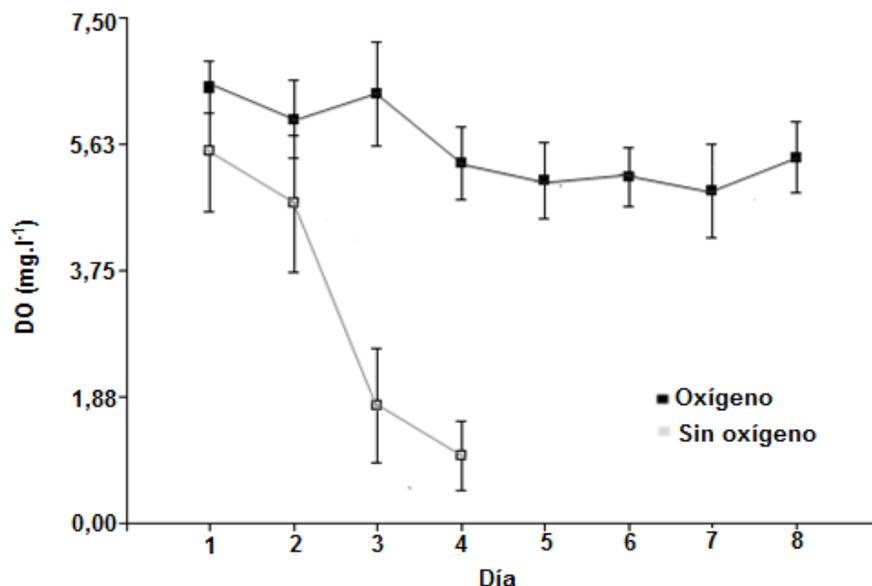


Figura 17. Comportamiento del DO (mg.l^{-1}) ($M \pm DS$) a lo largo de los días de cultivo en ambos sistemas.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.1.2. pH

Variaciones en el pH en comunidades de rotíferos pueden influenciar la composición, distribución, abundancias entre las especies así como la relación predador-presa. Estos organismos pueden sobrevivir dentro de amplios rangos de pH (Yin y Niu 2008). No obstante, Durán (2002) afirma que los mejores resultados en cultivos de rotíferos se han obtenido con valores de pH que se encuentran dentro de un intervalo de 6,6 a 8. Lo anterior coincide con los datos obtenidos en esta investigación, en el cual el pH se mantuvo constante sin grandes cambios a lo largo del lapso de duración de los cultivos, obteniendo para el sistema con oxígeno una media general de $7,46 \pm 0,10$ y para el cultivo sin oxígeno $7,5 \pm 0,20$. Además estadísticamente (11 gl; $p > 0,05$; Ver anexo 2) no existieron diferencias significativas entre ambas medias.

4.1.1.3. Temperatura (°C)

La figura 18, muestra como los promedios en las temperaturas en el sistema con oxígeno fluctuaron dentro de un rango de $26,58 \pm 0,63$ °C y $28,88 \pm 0,27$ °C mientras que en el cultivo sin oxígeno entre $27,86 \pm 0,69$ °C y $29,50 \pm 0,20$ °C. Ambos rangos de temperaturas se pueden considerar comunes para la zona pues la temperatura en el Pacífico Central puede oscilar dentro de un rango de $23,3$ °C y $31,8$ °C (IMN 2013) y además según Vega (2010) la temperatura media anual para el Golfo de Nicoya es de 28 °C.

Orhum y Benetti (2001) sugieren que las temperaturas en los cultivos de rotíferos no deben sobrepasar los 30 °C pues afecta en los niveles de DO en los cultivos y la capacidad reproductora. Además de que a temperaturas mayores de las recomendadas se requiere mayor cantidad de alimento, pues el metabolismo de los rotíferos también aumenta provocando disminución en la calidad del agua y por ende mayor gasto económico en alimento (Rumí 2007).

Se reportaron diferencias significativas (5 gl; $p < 0,05$; Ver anexo 3) en los valores de temperatura reportados para el primer y cuarto día del desarrollo de ambos cultivos; en el primer día el sistema con oxígeno obtuvo una media de $28,68 \pm 0,27$ °C y el sistema sin oxígeno obtuvo $29,50 \pm 0,2$ °C, siendo la mayor media para el sistema sin oxígeno, y en el cuarto día se obtuvo en el cultivo con oxígeno una media de $27,30 \pm 0,39$ °C y en el cultivo sin oxígeno $28,18 \pm 0,48$, siendo también la temperatura más alta en el sistema sin oxígeno puro. Esta diferencia en temperaturas, pudo estar relacionada a que como ambos sistemas no se realizaron en el mismo periodo de tiempo por la faltante de tanques las temperaturas pudieron haber variado por factores climatológicos. Mientras que para los días 2 y 3 no existieron diferencias estadísticas en las temperaturas de ambos cultivos (5gl; $p > 0,05$; Ver anexo 4), no obstante, de manera general

(aunque no significativamente para los días 2 y 3) las temperaturas fueron siempre más elevadas en el sistema sin oxígeno.

Los dos sistemas de rotíferos presentaron una caída cercana a $1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en el día 2, esto podría estar relacionado a que la tubería de agua marina está expuesta al ambiente provocando que el agua utilizada el primer día de cultivo aumente su temperatura con respecto a los siguientes días cuando el recambio fue mínimo. Finalmente, a partir del día 5 y hasta el 8, el sistema con oxígeno presentó una temperatura constante dentro de un rango de $27,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $27,3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

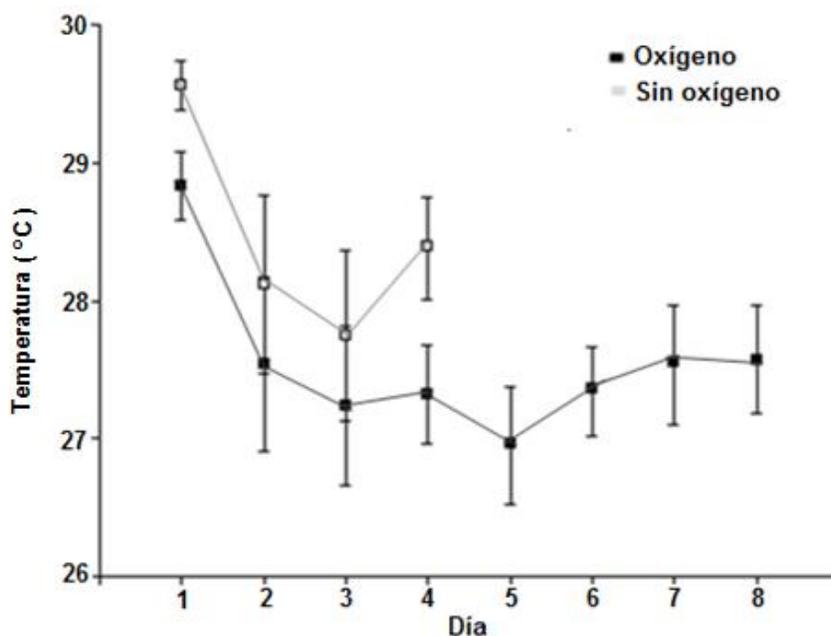


Figura 18. Temperaturas ($M \pm DS$) registradas durante el periodo de duración de cada sistema de producción de rotíferos.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.1.4. Nitrito (NO_2^{-1}), Nitrato (NO_3^{-1}) y Amonio ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$)

Las altas concentraciones de compuestos nitrogenados en los cultivos de rotíferos son producto de la descomposición del alimento no consumido (levadura en este caso), heces fecales (Campaña-Torres et al. 2009) y según Ashraf et al. (2010) también altas densidades de ciliados; el principal compuesto nitrogenado corresponde al amonio (Rombaut 2003) por su toxicidad y por ser el primer compuesto producto del catabolismo de la proteína.

En la figura 19 se muestra el comportamiento del amonio en ambos tratamientos. En el sistema sin oxígeno, el segundo día de cultivo presentó una concentración promedio de $4,20 \pm 0,25 \text{ mg.l}^{-1}$ y alcanzó los 8 mg.l^{-1} al día 3. En el tratamiento con oxígeno los valores de $\text{NH}_3 / \text{NH}_4^+$ aumentaron más lentamente pues alcanzó hasta el día 3 los $4 \pm 0,9 \text{ mg.l}^{-1}$ y al día 5 los 8 mg.l^{-1} . Ambos tratamientos presentaron valores de amonio muy elevados y tóxicos pues según Campaña-Torres et al. (2009) los niveles de amonio recomendados para el cultivo de la especie es de $0,8 \text{ mg.l}^{-1}$ por lo que ambos tratamientos lo excedieron en mayor medida. Un aspecto teórico importante, es que en el agua los niveles de amonio no ionizado (NH_3) están en equilibrio con el ionizado (NH_4^+) en una relación $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ que es afectada por la temperatura y el pH del agua (Durán 2002), no obstante es el amonio no ionizado el compuesto tóxico, por lo que Yoshimura et al. (2003) recomienda agregar HCL para disociarlo a NH_4^+ que se considera menos tóxico para los organismos acuáticos.

Altas concentraciones de amonio ocasionan colapsos de los cultivos de rotíferos (Yoshimura et al. 2003) por lo que se hace necesario controlarlo con recambio de agua (Orhum y Benetti 2001) o con sistemas de recirculación de agua (utilizando biofiltros y ozono) (Bentley 2008). Un aspecto importante en la

metodología utilizada para la medición de amonio correspondió a que el test medía un máximo de 8 mg.l^{-1} así que los valores de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ pudieron haber sido más elevados aún

En el caso del NO_2^{-1} , ambos tratamientos no presentaron incidencia de este compuesto intermedio de la nitrificación entre el amonio y el nitrato, sin embargo, la ausencia de nitrito en sistemas acuícolas no indica que no se haya manifestado en algún momento pues el nitrito tan pronto como se produce es convertido en nitrato. Pese a lo anterior, siempre es importante su medición ya que es un buen indicador del buen funcionamiento de filtros biológicos y no siempre es transformado rápidamente en nitrato, lo que puede ocasionar toxicidad (Merino y Sal 2007).

En el caso del NO_3^{-1} , solamente se presentó en el sistema con oxígeno puro, el cual se mantuvo constante en 5 mg.l^{-1} durante todas las repeticiones (excepto el primer día que presentó una concentración de 0 mg.l^{-1}); estos valores son considerados bajos por Suantika et al. (2001), quienes midieron compuestos nitrogenados en cultivos con y sin adición de ozono. La producción de NO_3^{-1} en el sistema con adición de oxígeno podría indicar que posiblemente en determinado momento también pudo producirse NO_2^{-1} , no obstante su oxidación a nitrato fue muy rápida (Merino y Sal 2007) y no se pudo registrar el dato.

Posiblemente, el NO_3^{-1} y el NO_2^{-1} no se produjeron en el sistema sin oxígeno pues el proceso de nitrificación requiere oxígeno suficiente (Merino y Sal 2007), provocando que el único compuesto nitrogenado que se desarrollara fuera el amonio por ello el rápido crecimiento en la concentración de este compuesto a diferencia del tratamiento con oxígeno puro quien sí pudo nitrificar el amonio en compuestos menos tóxicos.

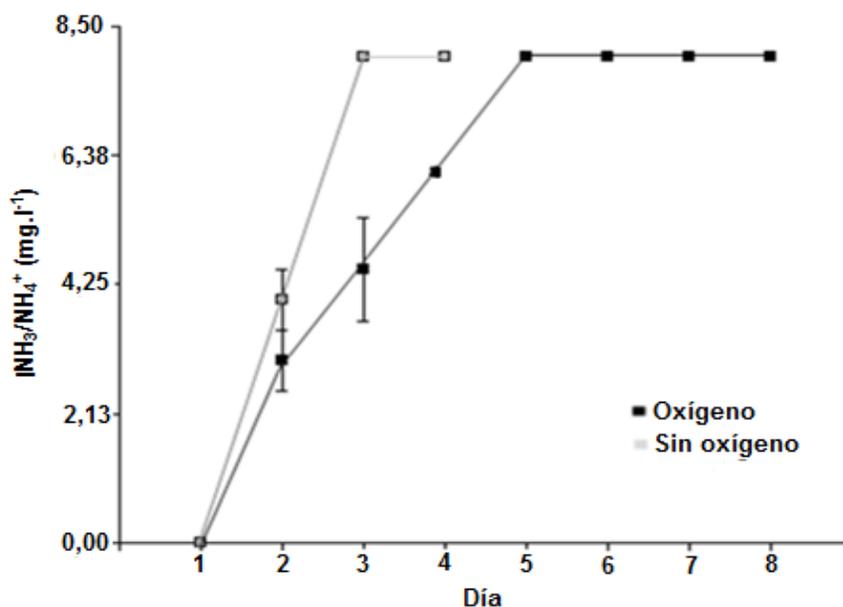


Figura 19. Concentraciones de $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ ($M \pm DS$) registradas para cada sistema de producción de *Brachionus plicatilis*.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.2. Curvas de crecimiento poblacional

Las figuras 20 y 21 ilustran el crecimiento en la densidad de los rotíferos en ambos tratamientos. El mayor crecimiento poblacional promedio en el cultivo con oxígeno se presentó en el día 7 con una densidad de $825,8 \pm 33 \text{ ind.ml}^{-1}$ y en millones correspondió a $417 \pm 7,68$. Estos valores sobrepasan los reportados por Dhert et al. (2001) para cultivos batch comunes con adición de oxígeno puro, estos autores reportan una densidad máxima de 600 ind.ml^{-1} , iniciando con una densidad entre 200 y 250 ind.ml^{-1} y utilizando una dieta artificial. En el sistema sin oxígeno la mayor densidad promedio se presentó al día 3, la cual correspondió a $745,3 \pm 60 \text{ ind.ml}^{-1}$ y en millones de rotíferos fue

de $364,67 \pm 29,54$. En la literatura no hay experiencias de casos similares a los realizados en esta investigación, sin embargo, es levemente comparable con los datos reportados por Kobayashi et al. (2008) para cultivos batch con aireación solamente y alimentados con *Nannochloropsis* sp., estos autores obtuvieron una densidad de 500 ind.ml^{-1} , aproximadamente al día 4 y su máxima densidad correspondió a 670 ind.ml^{-1} obtenida al 7 día, la cual no superó la obtenida en este Trabajo de Graduación. De acuerdo al análisis de varianza no existe diferencia estadística (5 gl; $p > 0,05$; Ver anexo 5) entre las mayores densidades registradas en ambos sistemas de producción de rotíferos realizados en este Trabajo Final de Graduación.

.Sin embargo, sí se reportan diferencias significativas en la duración de los cultivos en días (5gl, $p < 0,05$), el cultivo sin oxígeno puro presentó una fase de crecimiento del día 1 al 3 y el día 4 la población empezó a decaer, no mostró fase estacionaria. El tratamiento con oxígeno puro, contó con una fase de crecimiento del día 1 al 7, y para el día 8 el cultivo inicia la caída, igualmente no mostró fase estacionaria. Según Cabrera (2008), la fase estacionaria en cultivos de rotíferos es fácilmente observable cuando se alimenta solamente con altas densidades microalgales de lo contrario es muy difusa y difícil de detectar, además de que posiblemente los altos valores de amonio y/o bajo DO provocaron la caída anticipada de los cultivos.

Yoshimura (2003) afirma que los cultivos de rotíferos pueden ser más afectados por altos valores de amonio que por la escasez de oxígeno de hecho cultivos con bajos niveles tanto de oxígeno como de amonio pueden no solo sobrevivir si no que pueden poseer hasta buena condición de salud. Lo anterior explica la causa por la que el cultivo con oxígeno puro siempre decayó, a pesar de que poseía valores de DO superiores a 5 mg.l^{-1} (Ver sección 4.1.1.1), sin embargo, los valores de $\text{NH}_4^+ / \text{NH}_3$ alcanzaron 8 mg.l^{-1} (Ver sección 4.1.1.4).

El sistema sin oxígeno ejemplificó las dos máximas limitantes para el desarrollo del cultivo de rotíferos expuesta por Yoshimura (2003) que corresponden a la baja concentración de DO y los altos valores de amonio, por ello también su corta duración 4 ± 1 días.

El rápido crecimiento en la densidad que se desarrolló en el sistema sin oxígeno comparado con el otro sistema pudo deberse a las temperaturas ya que el rango en temperaturas (Ver sección 4.1.1.3) siempre fue mayor en el cultivo sin oxígeno y según Rumí (2007) a temperaturas mayores el tiempo entre desoves en rotíferos se hace cada vez menor y la tasa de reproductividad aumenta (Yin y Zhao 2008) lo que provoca crecimiento rápido en la densidad. Reafirmando lo anterior, Cisneros et al. (2001) en un experimento en el que analizó el crecimiento poblacional en cepas de *Brachionus* sp. expuestos a distintos alimentos obtuvo mejor crecimiento poblacional a temperaturas mayores de 25 °C.

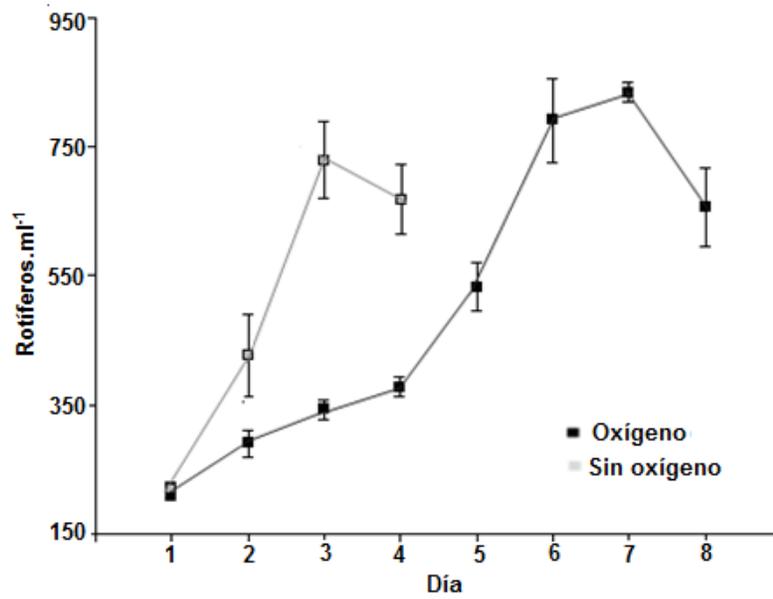


Figura 20. Curva de crecimiento poblacional (ind.ml⁻¹) (M_±DS) de los rotíferos en ambos sistemas de producción.

Fuente: Elaboración propia.

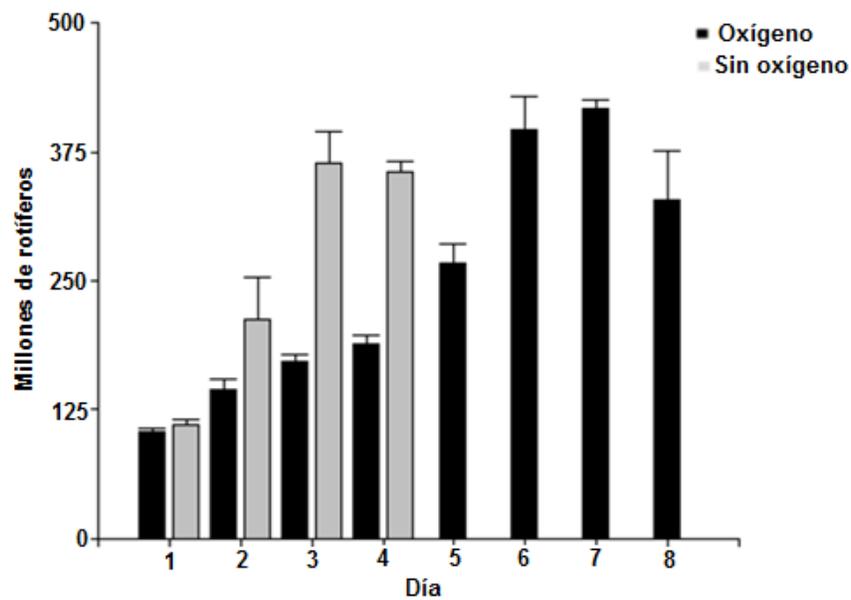


Figura 21. Producción de rotíferos en millones (M_±DS) obtenidos en los cultivos de *Brachionus plicatilis*.

Fuente: Elaboración

El aspecto más significativo que influye en el crecimiento poblacional en ambos cultivos de rotíferos corresponde a la alimentación proporcionada (Cabrera 2008), la microalga *N. oculata* es considerada al igual que *Isochrysis* sp., una de las mejores debido a su contenido de ácidos grasos esenciales importantes para la producción de altas tasas de crecimiento y estabilidad en los cultivos de rotíferos (Rojo-Cebrero et al. 2012). La microalga conforma un buen complemento con la levadura pues ésta última posee una pobre digestibilidad y deficiencia de nutrientes (Durán 2002). Además de acuerdo con Carvalho et al. (2008) la adición de microalgas y probiótico en los cultivos mejora el crecimiento poblacional de los rotíferos, ya que el probiótico es una fuente de nutrientes, beneficia la digestión enzimática, mejora el sistema inmunológico y la calidad del agua.

4.1.3. Parámetros de producción

4.1.3.1. Fecundidad

La fecundidad, es estimada a partir de la relación huevos/ hembra, su medición es importante ya que permite visualizar el estado fisiológico de la población de rotíferos en un momento dado (Guevara et al 2011) y es considerada por Orhum y Benetti (2001) el más importante parámetro poblacional pues permite la constante renovación de cultivos. En la figura 22, se muestra las fecundidades obtenidas para cada sistema de producción de rotíferos. Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$ y 59 gl; Ver anexo 6) en los F obtenidos del día 1 al 4 en ambos cultivos, presentándose en el sistema sin oxígeno la mayor media para el día 2, y en el cultivo con oxígeno se obtuvieron las mayores medias para los restantes días. De manera global, en esta investigación la mayor fecundidad obtenida fue la correspondiente al día 2 en el sistema sin oxígeno con una $F = 0,47 \pm 0,14$

huevos.indiv.⁻¹ esto debido a que aún en el día 2 el DO era elevado cercano a 4 mg.l⁻¹ (Ver sección 4.1.1.1) y presentaba temperaturas más altas que el sistema con oxígeno (Ver sección 4.1.1.3) y según Yin y Zhao (2008) a mayores temperaturas mayores fecundidades (Ver sección 4.1.1.3), esta F supera la fecundidad reportada por Hamre et al. (2008), en un experimento realizado con una cepa del género *Brachionus sp.*, especie no identificada, durante 4 días, utilizando 4 dietas a base de levadura con enriquecedores (microalga), estos autores encontraron valores de 0.40 ± 0.06 huevos.indiv.⁻¹ a los 2 días.

Las fecundidades obtenidas en los primeros 6 días en el sistema con oxígeno son consideradas por Orhum y Benetti (2001) como altas y aptas para iniciar un nuevo cultivo de rotíferos. Específicamente, las F obtenidas en el tercer y cuarto día, las cuales correspondieron a $0,24 \pm 0,04$ y $0,32 \pm 0,04$ respectivamente, fueron superiores a las obtenidas por Cisneros (2011) en un experimento sobre la fecundidad del rotífero *Brachionus sp.* cepa "Caymán" utilizando como alimento *Nannochloropsis oculata* (no especifica si utiliza oxígeno puro) en la cual obtuvo valores de $0,13 \pm 0,04$ y $0,11 \pm 0,02$ huevos.indiv.⁻¹ en el tercer y cuarto día también. La fecundidades más bajas fueron obtenidas en los días 7 y 8 con unas F equivalentes a $0,16 \pm 0,03$ y $0,18 \pm 0,02$, lo cual está relacionado con la disminución de calidad de agua (Orhum y Benetti 2001, Hagiwara et al 2007), sin embargo, los F que se encuentran entre un intervalo de 0,1 y 0,2 son consideradas buenas para mantener el cultivo estable, siempre y cuando exista buena calidad de agua.

En el sistema sin oxígeno, las F decayeron en el día 3 y 4 (con valores de $0,14 \pm 0,05$ y $0,17 \pm 0,023$), igualmente que en el sistema con oxígeno se debió al detrimento en la calidad de agua, al rápido aumento del amonio y a la disminución del oxígeno disuelto (Orhum y Benetti 2001, Hagiwara et al 2007). Al ser fecundidades mayores a 0,1 son consideradas buenas. En ambos

sistemas, el máximo de fecundidad se presentó en el día 2, esto según Prieto y Espitia (2001) indica que las hembras que se utilizaron para el desarrollo de esta investigación provenían de poblaciones en la mitad de la curva de crecimiento.

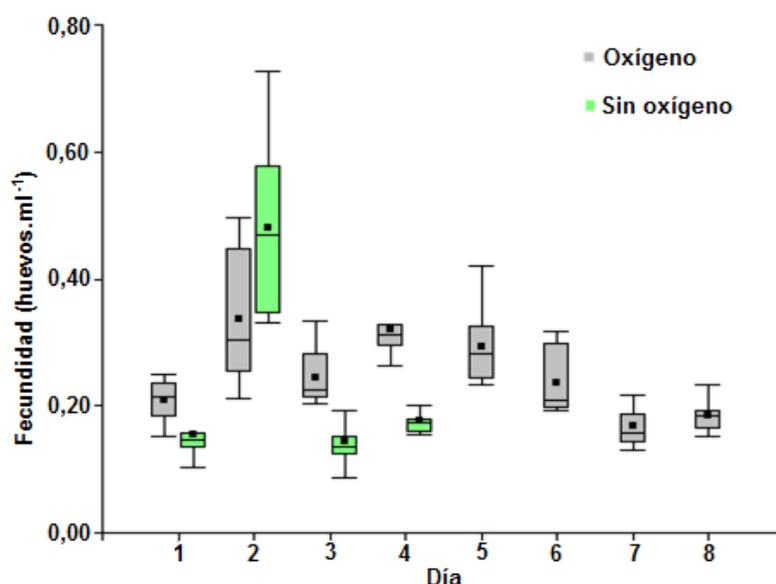


Figura 22. Fecundidad ($M \pm DS$) (huevos. indiv⁻¹), obtenidos en los cultivos de *Brachionus plicatilis*, los datos cuentan con sus respectivas probabilidades provenientes del ANOVA.

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la cantidad de huevos, no es un parámetro de gran relevancia por si solo pero resulta interesante compararlas en los primeros 4 días tomando en cuenta que las densidades en ambos sistemas fueron similares ($p > 0,05$). El cuadro 4 muestra que se presentaron diferencias estadísticas en la cantidad de huevos solamente en el día 2 (59 gl, $p < 0,05$), obteniéndose la mayor media en el sistema sin oxígeno.

Un aspecto importante es que las hembras ovadas observadas durante el desarrollo de este TFG presentó un número de huevos que varió de 0 a 3, la cantidad de huevos está relacionada con el tamaño de la cepa y calidad de agua, pues se ha reportado para *B. plicatilis* un máximo de siete huevos por hembra (Rosas et al. 1998).

Cuadro 4. Cantidad de huevos.ml⁻¹ (M_±DS) presentes en ambos sistemas de rotíferos y los respectivos *P* obtenidos por medio del ANOVA.

Día	Tratamiento		<i>P</i>
	Oxígeno	Sin oxígeno	
1	43 _± 8,55	33,6 _± 6,72	0,350
2	93 _± 20	195,13 _± 14,38	0,005
3	81 _± 16	108 _± 25	0,610
4	121,73 _± 62,19	126,5 _± 91,29	0,940

Fuente: Elaboración propia.

4.1.3.2. Dinámica poblacional

Los resultados obtenidos para los parámetros poblacionales se resumen en el cuadro 5. Específicamente, la tasa de crecimiento poblacional sintetiza todos los parámetros de las tablas de vida, ya que combina supervivencia, fecundidad, tiempo de desarrollo y reproducción (Cabrera 2008). Para el caso de los rotíferos, la tasa de crecimiento está estrechamente relacionada tanto con la calidad y cantidad del alimento como con la temperatura (Vallejo, 1993). Las TC obtenidas en este trabajo de investigación no presentaron diferencias estadísticas (2 gl, $p > 0,05$) significativas entre ambos sistemas de producción de rotíferos. Ambas TC son consideradas típicas por Tinh et al. (2006) para *B. plicatilis* alimentados con levadura, estos autores realizaron un experimento en

el que midieron el crecimiento poblacional de *Brachionus plicatilis* con tres tipos de alimento (levadura corriente, *Chlorella* sp. y levadura mutante), obteniendo con la levadura resultados que oscilaron entre $0,22\pm 0,02$ a $0,35\pm 0,07$ día⁻¹, los cuales coinciden con los obtenidos en este TFG ($0,212\pm 0,04$ y $0,35\pm 0,08$ día⁻¹).

En la literatura se reportan algunos valores de TC para cultivos de la especie *Brachionus* sp. , sin embargo, no se especifica si utilizaron o no oxígeno puro en sus metodologías, pero resulta interesante comparar los valores de TC obtenidos en esta investigación con algunos experimentos que presentan algunas semejanzas (Cuadro 6). Así se puede mencionar que las TC obtenidas en el presente estudio se encuentran cercanos al rango estipulado por Kostopolou et al. (2006), estos autores realizaron un experimento en el que midieron las tasas de crecimiento de *B. plicatilis* linaje “Nevada” alimentados tanto con microalgas como con alimentos artificiales y utilizando varias densidades de siembra (60 y 200 rot.ml⁻¹), obteniendo como resultados tasas entre 0,18 y 0,30 día⁻¹. Kostopolou y Vadstein (2007) reportaron TC muy superiores para *B. plicatilis* ss de $1,13\pm 0,04$ día⁻¹ en un experimento en el que utilizaron microalgas. Cabrera (2008), en su estudio del crecimiento de *B. rotundiformis* en un quimiostato de dos cámaras obtuvo un rango de TC entre 0,37 a 1 día⁻¹ . Finalmente Cisneros (2011) reporta TC de $0,09\pm 0,02$ día⁻¹ a $0,38 \pm 0,02$ día⁻¹ en su investigación sobre crecimiento poblacional de *Brachionus* sp. cepa “Caimán” y alimentado *Nannochloropsis oculata* y alimentos artificiales.

En cuanto al rendimiento del cultivo y tiempo de duplicación tampoco existieron diferencias estadísticas entre ambos sistemas de producción de rotíferos (2 gl, $p>0,05$). Igualmente que en la TC, difícilmente se encuentran en la literatura experiencias semejantes a la metodología de este TFG, no obstante, se pueden comparar con algunos estudios realizados. Los R en ambos cultivos de esta

investigación se consideran altos ($98140 \pm 25,96$ y $167850 \pm 36,85$) comparados con los reportados por Abu-Rezq y James (2005), quienes encontraron un R para *B. plicatilis* de 12130 ± 1.89 rot. $l^{-1} \cdot día^{-1}$ alimentados con levadura, microalgas y probiótico, así como 6640 ± 3.60 rot. $l^{-1} \cdot día^{-1}$ con la misma dieta pero sin probiótico. Según Cisneros (2011) el rendimiento de los cultivos de rotíferos mejoran entre más HUFA's y proteínas contengan sus alimentaciones, lo que puede indicar que la metodología de alimentación que se utilizó en esta investigación fue idónea para el mejoramiento de los rendimientos poblacionales. En cuanto al tiempo de duplicación (Cuadro 5), en la literatura se registra un dato para *B. plicatilis* con alguna semejanza a la metodología utilizada en este trabajo de graduación, el cual corresponde al estudio realizado por Vallejo et al. (1993), estos autores en su experimento sobre el crecimiento poblacional de *B. plicatilis* a diferentes salinidades obtuvieron valores de T_d entre un rango de 2 a 3,3 día⁻¹ aproximadamente, los cuales son semejantes a los obtenidos en este TFG ($3,35 \pm 0,73$ y $2,011 \pm 0,43$).

A pesar de que no existieron diferencias significativas en ningún parámetro poblacional, estos valores fueron más favorables en el sistema sin oxígeno, pero esto se debió a que la duración en días fue menor, su duplicación fue más rápida (como se mencionó anteriormente posiblemente por la diferencia de temperaturas) pero también el descenso poblacional fue más rápido comparado con el cultivo con oxígeno. La diferencia en días compensó las variaciones en las densidades iniciales y finales en ambos cultivos, provocando que al final no existieran diferencias significativas en estos parámetros poblacionales.

Cuadro 5. Estimados ($M \pm DS$) de la tasa instantánea de crecimiento (día^{-1}), tiempo de duplicación (día^{-1}), rendimiento del cultivo ($\text{rot.l}^{-1}.\text{día}^{-1}$) y los respectivos valores de P obtenidos por medio de la ANOVA.

Variable	Tratamiento		P
	Oxígeno	Sin oxígeno	
Tasa instantánea de crec.	0,212 \pm 0,04	0,35 \pm 0,08	0,056
Tiempo de duplicación	3,35 \pm 0,73	2,011 \pm 0,43	0,053
Rendimiento de cultivo	98140 \pm 25,96	167850 \pm 36,85	0,055

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 6. Comparación de tasas de crecimiento específicas entre *Brachionus plicatilis* (con y sin adición de oxígeno) y especies/biotipos del complejo *B. plicatilis*.

Especie/biotipo	TC (día^{-1})	Referencia
<i>Brachionus plicatilis</i> (oxígeno puro)	0,212 \pm 0,04	Presente trabajo
<i>Brachionus plicatilis</i> (sin oxígeno puro)	0,35 \pm 0,08	Presente trabajo
<i>Brachionus</i> sp. "Caimán"	0,09 a 0,38	Cisneros (2011)
<i>B. plicatilis</i>	0,22 \pm 0,02	Tinh et al. (2009)
<i>B. plicatilis</i>	0,33 \pm 0,09	Tinh et al. (2009)
<i>B. rotundiformis</i>	0,37 a 1	Cabrera (2008)
<i>B. plicatilis</i> s.s	1,13 \pm 0,04	Kostopolou y Vadstein (2007)
<i>B. plicatilis</i> "Nevada"	0,18 a 0,3	Kostopolou et al. (2006)

Fuente: Elaboración propia.

4.1.4. Tamaño de rotíferos

En el cuadro 7 se muestra los promedios de la longitud y el ancho (μm) de los rotíferos en ambos sistemas. De manera general, no existieron diferencias significativas (59 gl, $p > 0,05$) entre estas características morfométricas en

ambos sistemas, coincidiendo con lo estipulado por Rosas et al. (1998) al afirmar que el tamaño de los rotíferos, así como la longitud de los huevos son cualidades particulares para cada cepa y pueden depender de la ubicación geográfica, pero además Hagiwara et al. (2007) añade que también puede influenciar los cambios drásticos en temperatura, salinidad o diferentes alimentaciones, de acuerdo a las afirmaciones de estos autores y los resultados obtenidos en este TFG se podría decir que el oxígeno no influye en la talla de *B. plicatilis*. Las longitudes promedio de los rotíferos obtenidas en esta investigación clasifican a la cepa del Parque Marino como una cepa de talla media según Rosas et al. (1998).

Cuadro 7. Estimados ($M \pm DS$) de la longitud (μm) y ancho (μm) de los rotíferos en ambos tratamientos y los respectivos valores de P obtenidos en la ANOVA.

Variable	Tratamiento		P
	Oxígeno	Sin oxígeno	
Longitud	150,02 \pm 11,92	147,82 \pm 11,86	0,900
Ancho	114,10 \pm 15,23	111,3 \pm 11,18	0,830

Fuente: Elaboración propia

El tamaño del rotífero es indispensable para evitar fracasos en larvicultura ya que éstos deben presentar un tamaño acorde a la abertura bucal de las larvas que se estén cultivando. En el caso de larvas de *Lutjanus guttatus*, las tallas de los rotíferos obtenidas en ambos sistemas de producción están en el límite de lo recomendado por Boza et al. (2008) al indicar que para la producción de *Lutjanus guttatus* se debe utilizar zooplancton con una talla menor a 150 μm . En el sistema con oxígeno el intervalo de longitud se encontró entre 100,8 a 180

μm , 56% aproximadamente corresponden a rotíferos menores de 150 μm (Figura 23), y el ancho entre 72-144 μm . En el cultivo sin oxígeno la longitud osciló entre 96-192 μm , 60% aproximadamente corresponden a rotíferos menores de 150 μm (Figura 24), y el ancho entre 72-144 μm .

Las tallas de los rotíferos de ambos sistemas coinciden con los resultados obtenidos por Hagiwara (2001), este autor reporta que las tallas de la especie *Brachionus sp.* se encuentran entre un intervalo de 90 y 340 μm . Para obtener mejores resultados en la larvicultura del pargo manchado es recomendado tamizar y obtener así los rotíferos de menores tallas permitiendo así una mejor tasa de alimentación de las larvas.

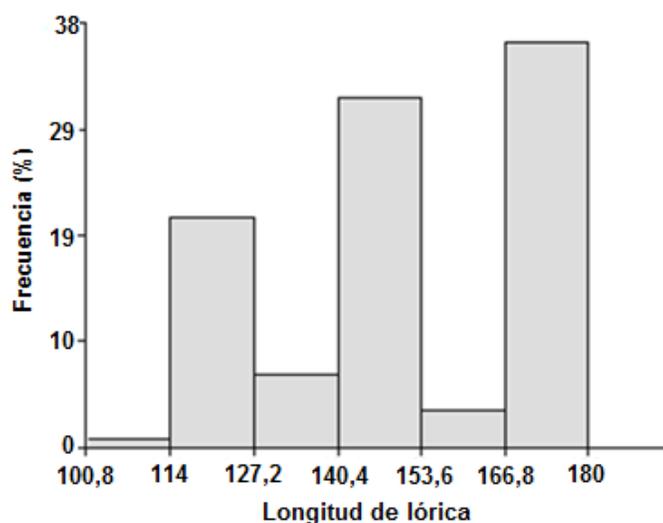


Figura 23. Frecuencia (%) de la longitud de la lóricas en los rotíferos en el sistema con oxígeno.

Fuente: Elaboración propia.

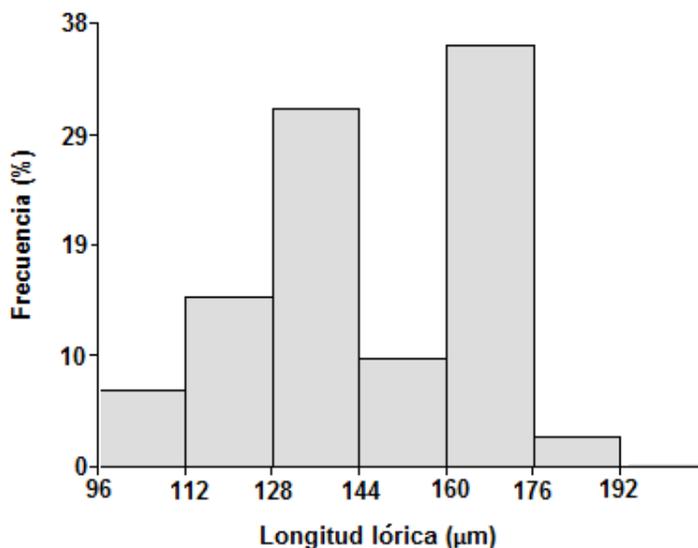


Figura 24. Frecuencia (%) de la longitud de la lórica en los rotíferos en el sistema con oxígeno.

Fuente: Elaboración propia.

4.1.5. Contaminación de los cultivos producto de los protozoarios

El análisis de varianza demostró que no hay diferencia estadística significativa (5 gl; $p > 0,05$; Ver anexo 7) entre las mayores densidades de protozoarios alcanzadas en ambos sistemas. Las altas densidades de protozoarios que se presentaron en los cultivos de rotíferos se debió a que el Pacífico de Costa Rica se caracteriza por la gran riqueza de estos organismos, se pueden encontrar hasta 68 géneros solo en la zona intermareal, los cuales son más diversos en la época lluviosa y presentan sus mayores densidades de enero a agosto (Rojas 1994). Es importante recalcar que estos protistas tienen la capacidad de formar quistes ante condiciones adversas, los cuales pueden ser llevados por el viento (López-Ochoterena y Serrano-Limón 2005) o por el sistema de aireación, por ello a pesar de que se tomen medidas de

bioseguridad con filtros y mecanismos de UV, siempre podrían existir contaminaciones.

La figura 25 ilustra con detenimiento el crecimiento poblacional de los protozoarios en los cultivos de rotíferos analizados. En el sistema con oxígeno, durante los primeros 4 días de cultivo, los protozoarios no superaron los 88 ind.ml⁻¹. El mayor crecimiento poblacional se observó al día 5 con un promedio de 281,66±25,33 ind.ml⁻¹, lo anterior coincidió con un aumento desmedido en los valores de amonio (NH₃/NH₄⁺) (Ver sección 4.1.1.4) y según Guillén et al. (2003) el aumento en la densidad de protozoarios está relacionado con la disminución de la calidad de agua por acumulación de materia orgánica, lo cual se reflejó en esta investigación con el aumento del amonio.

A partir del día 6 se observó una lenta disminución de la densidad de estos organismos, esto podría deberse que es a partir del día 6 cuando se presentó un gran aumento en la densidad de rotíferos (Ver sección 4.1.2) y por ende los protozoarios al encontrarse en un medio con escasez de alimento deben invertir gran cantidad de energía en su búsqueda lo que ocasiona su muerte o enquistamiento (López-Ochoterena y Serrano-Limón 2005).

En el caso del sistema sin oxígeno el mayor crecimiento poblacional de protozoarios (ind. ml⁻¹) se dio en el último día de cultivo que correspondió al día 4 con una densidad promedio de 230,55±33,67 ind. ml⁻¹. Lo anterior coincidió con la caída de la población de rotíferos debido a que los protozoarios compiten con los rotíferos tanto por el alimento como por el oxígeno provocando caídas inesperadas (Sananurak et al 2009) además de que algunos protozoarios son resistentes a condiciones de poco oxígeno (Guillén et al. 2003) mientras que los rotíferos requieren mínimo 2 mg.l⁻¹ (Durán, 2002) y para el día 4 la concentración de oxígeno disuelto del cultivo era menor a 1 mg.l⁻¹.

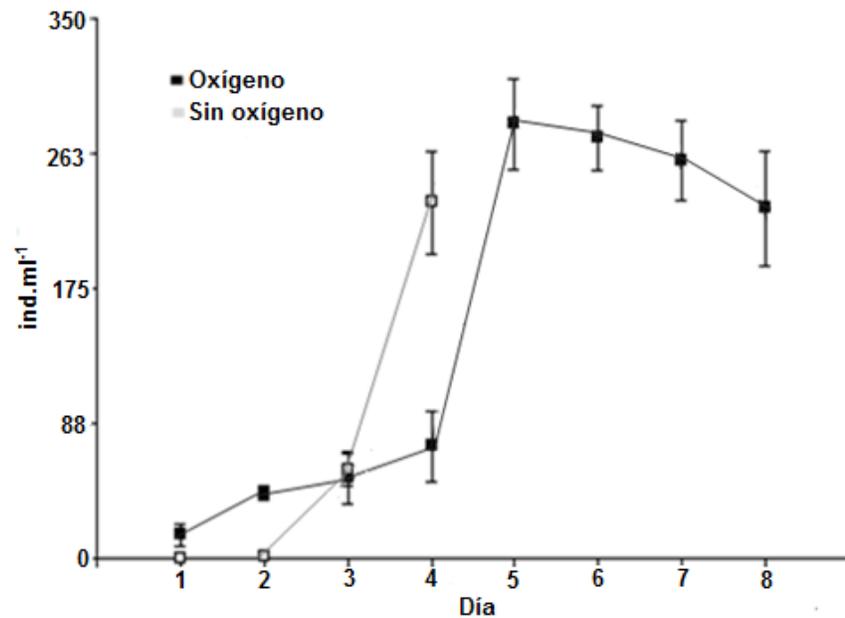


Figura 25. Cantidad de protozoarios (ind.ml⁻¹) encontrados en ambos cultivos.

Fuente: Elaboración propia.

Del total de protozoarios que se hallaron en el cultivo con adición de oxígeno, 80% pertenecieron al género *Euplotes* sp. y estuvieron presentes en todos los días de cultivo en ambos sistemas de producción (Figura 26). Según Durán (2002) el género *Euplotes* sp. es muy común en los cultivos de rotíferos pues es característico de ambientes con altas acumulaciones de materia orgánica. Otros géneros que se identificaron correspondieron a *Vorticella* sp. y *Uronema* sp.

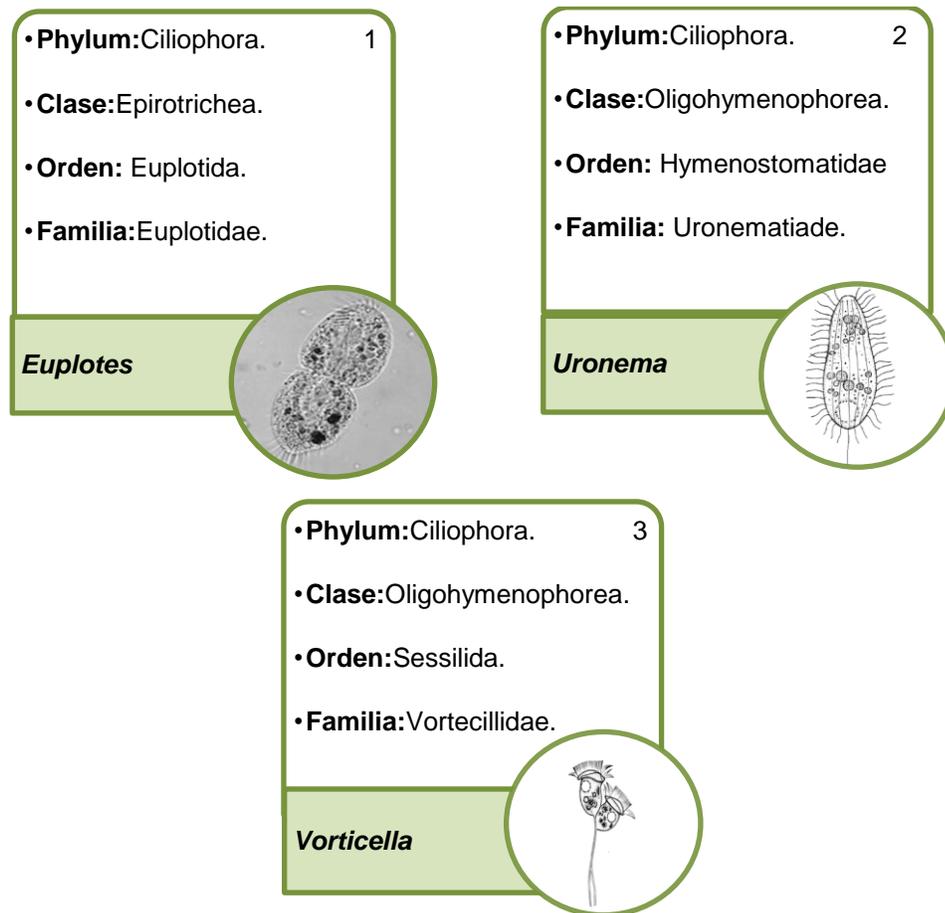


Figura 26. Géneros de protozoarios presentes en los cultivos de *Brachionus plicatilis*.

Fuente: 1.Freitas et al. 2013,2. Munday et al. 1997, 3.Sun et al. 2006

En el caso de *Vorticella* sp. sus densidades no representaron más del 12% pues en los cultivos se instalaron las telas absorbentes que impiden la proliferación de estos organismos, este género según Jung (2012) no son competidores de alimento con los rotíferos pues consumen bacterias pero en grandes densidades forman enredaderas donde los rotíferos son atrapados y afectan el cultivo. El restante 8% correspondió al género *Uronema* sp., que también según Durán (2002) es característico de ambientes muy contaminados

con altos contenidos de materia orgánica. El sistema sin oxígeno, del total de protozoarios presentes en el cultivo, 88% correspondió a *Euplotes* sp. y 12 % a *Uronema* sp. Un aspecto importante de los géneros *Euplotes* sp. y *Uronema* sp. es que son competidores por la levadura únicamente pues no consumen *Nannochloropsis oculata* (Jung et al. 1997).

Según Ashraf et al. (2010) en su investigación sobre el cultivo de *B. calicyflorus*, géneros de ciliados como *Euplotes* sp. y *Uronema* sp. no causan enfermedades dentro del cultivo de rotíferos pero si pueden afectar el cultivo de peces por ejemplo *Uronema marinum* podrían invadir y provocar daños en tejidos de peces además de debilitar el sistema inmunológico (Lee et al. 2003), por lo que es recomendado lavar muy bien con abundante agua los rotíferos que vayan a ser utilizados en la alimentación de las larvas para evitar infecciones.

La problemática de los protozoarios surge cuando su crecimiento poblacional es desmedido, no obstante, existen autores como Pierce y Turner (1992) que documentaron la importancia de los ciliados planctónicos marinos como consumidores dentro de un sistema de enlace tropical y como un vector del flujo de energía a través de los ecosistemas marinos pelágicos.

4.2. Comparación de los costos de producción de rotíferos (*Brachionus plicatilis*), bajo los sistemas, con y sin adición de oxígeno puro, para la alimentación de larvas de Pargo manchado (*Lutjanus guttatus*).

La rentabilidad económica de la producción de peces depende de la disponibilidad de alimento vivo de calidad. Mundialmente en el 2002 la producción de rotíferos sobre pasó la demanda de *Artemia* sp., así por ejemplo en Japón se utilizó hasta 20 billones de rotíferos diarios. Este incremento ha

provocado que los hatchery hayan tenido que contratar más personal e intensifican la producción, resultando un aumento en los costos (Suantika et al. 2003), es por ello que resulta importante experimentar y poner en práctica sistemas más eficientes de producción de rotíferos.

4.2.1. Impacto económico de la implementación de ambos sistemas de producción de rotíferos.

Los datos obtenidos (millones de rotíferos producidos) para cada sistema de producción de rotíferos en la presente investigación se extrapolaron a un mes (suponiendo que las densidades se comporten mensualmente semejante a lo obtenido en este TFG) , se obtendría que un tanque con oxígeno puro podría producir mensualmente hasta 2.085 ± 355 millones y un tanque con aireación impulsada por blower hasta 3.646 ± 530 millones (existe diferencia significativa entre ambas posibles cantidades de rotíferos producidos mensualmente; $p < 0,05$; Ver Anexo 8); la diferencia en las cantidades de rotíferos radica en que los ciclos del sistema con solamente aireación fueron más cortos (al mes se pueden ejecutar 10 cultivos) en comparación al cultivo con oxígeno (mensualmente se pueden realizar 7,5 cultivos). Partiendo de los datos anteriores, en la figura 27, se muestra los principales costos que conllevaría la producción de estas cantidades de rotíferos bajo su respectivo sistema de producción de rotíferos, durante un mes en el Parque Marino del Pacífico. En el sistema con oxígeno el mayor gasto sería abarcado por el oxígeno puro (47%) y en el sistema sin oxígeno correspondería a la mano de obra (57%). En ambos sistemas el menor gasto operativo sería tanto para la adquisición de probiótico como para el consumo eléctrico. En general el sistema sin oxígeno sería 53% menos costoso que el sistema con adición de oxígeno.

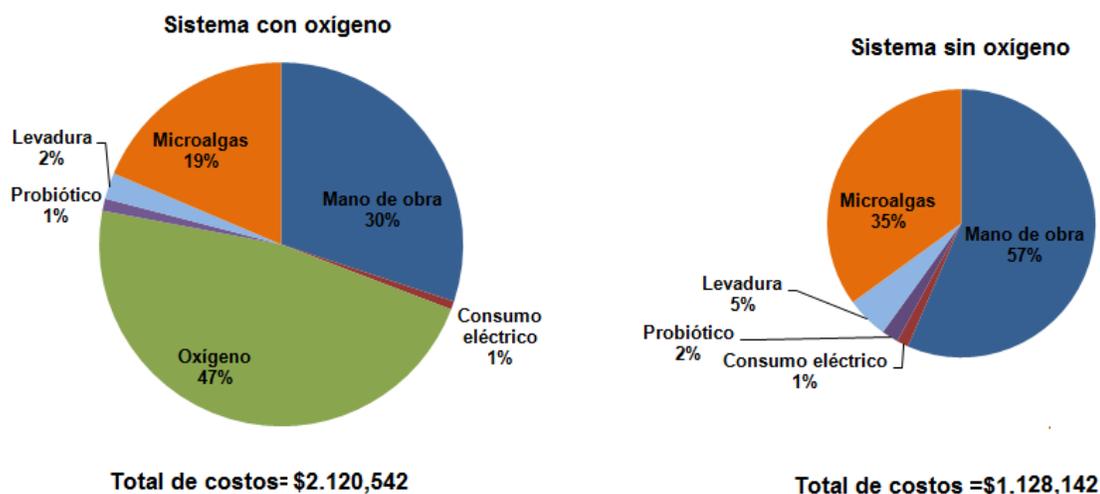


Figura 27. Principales costos (\$) de producción de rotíferos para ambos sistemas.

Fuente: Elaboración propia.

*Consumo eléctrico está referido solamente a la energía eléctrica utilizada en los sistemas de producción de rotíferos directamente, la energía eléctrica consumida en el laboratorio de microalgas está incorporada a la sección "microalgas".

Así mismo, un millón de rotíferos en el cultivo con adición de oxígeno tendría un costo aproximado de $\$1,03 \pm 0,17$ y en el sistema sin adición de oxígeno costaría $\$0,31 \pm 0,04$; estadísticamente existe diferencia significativa entre el precio del millón de rotíferos en ambos sistemas (5 gl; $p < 0,05$; Ver Anexo 9) obteniéndose en el sistema con oxígeno la mayor media, Suantika et al. (2003) en su estudio de factibilidad económica para sistemas de recirculación en rotíferos menciona costos de €0,40 y €0,05 por millón de rotíferos.

En el cuadro 8 se muestra el desglose detallado de los costos para ambos sistemas de producción de rotíferos. En el caso del cultivo con adición de oxígeno, la compra e instalación de oxígeno en el laboratorio es 36,4% más

costoso que la mano de obra utilizada. Anualmente al Parque Marino del Pacífico le costaría \$ 11.909,80 mantener el dewar de oxígeno funcionando, sin tomar en cuenta inversiones en mantenimiento que deban realizársele tanto al recinto de almacenamiento donde esté ubicado el cilindro como a la tubería de PVC que transporta el oxígeno al tanque. Con el dinero que el PMP podría utilizar en el abastecimiento de oxígeno, se lograría contratar al menos un trabajador más o adquirir hasta diez tanques de fibra de vidrio de dos toneladas que son necesarios tanto para el cultivo de rotíferos como el cultivo masivo de microalgas.

El único costo que resultó ser mayor en el cultivo con aireación correspondió a la levadura; siendo 13,33% más costoso en comparación al otro sistema, esto debido a que se produce más cantidad de millones de rotíferos. Sin embargo, los otros costos como consumo eléctrico, probiótico y mano de obra son prácticamente los mismos ya que en el caso del probiótico la dosis es de acuerdo al volumen del agua y no a la densidad de organismos; en cuanto al consumo eléctrico es referido al bombeo de agua, alimentadores y balanzas, las cuales son utilizadas en la misma proporción en ambos sistemas y finalmente la mano de obra que es la misma para ambos cultivos ya que son técnicamente iguales. Como aspecto importante, es que en el PMP siempre mantiene por contingencia más de un tanque de producción de rotíferos, al menos se requieren dos, por lo que estos costos podrían multiplicarse, por ello también nace la necesidad de hacer los sistemas más estables y depender de la menor cantidad posible de unidades de cultivo.

Cuadro 8. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de rotíferos de un mes para ambos sistemas.

Mismos costos para ambos sistemas de producción de rotíferos			
Salarios	Costo de hora (\$)	Cantidad (horas)	Total (\$)
Hora de Biólogo	6,00	72,00	432,00
Hora de asistente	3,51	12,00	42,12
Prestaciones obligatorias	Contribución del empleador (%)		Total (\$)
Prestaciones de salud y maternidad	9,25		43,86
Prestaciones de enfermedad	4,92		23,33
Asignaciones familiares	5,00		23,71
Instituto Nacional de Aprendizaje	1,50		7,11
Banco de ahorro obligatorio	0,50		2,37
Instituto Mixto de Ayuda Social	0,50		2,37
Fondo de capitalización de trabajo	3,00		14,22
Pensión complementaria obligatoria	1,50		7,11
Reservas obligatorias	8,33		39,49
TOTAL			637,69
Consumo eléctrico	Costo KWh (\$)	Energía (KWh)	Total (\$)
	0,16		
Balanza semi analítica		4,00	0,68
Blower		79,00	12,00
Bomba de agua marina		8,40	1,27
Bombas peristálticas		5,40	0,82
Estereoscopio		6,50	0,98
TOTAL			15,75
Otros Gastos específicos para cada sistema			
Sistema con oxígeno	Costo unitario (\$)	Cantidad	Total (\$)
Oxígeno	500,00	2 dewar	1.000,00
Probiótico	1,00	23 pastillas	23,00
Levadura	3,80	13 pqts	49,40
Sistema sin oxígeno			
Probiótico	1,00	23 pastillas	23,00
Levadura	3,80	15 pqts	57,00

Fuente: Elaboración propia.

En cuanto a la producción de microalgas, el mayor costo de la producción (Ver cuadro 9) correspondió a la mano de obra, esto debido a que las microalgas demandan una serie de pasos manuales para su producción, desde el lavado de la cristalería hasta el planeamiento para solventar los requerimientos de la producción de *Lutjanus guttatus*. El segundo mayor gasto correspondió al consumo eléctrico, pues el fitoplancton depende de varios insumos y aparatos eléctricos para su producción, como lo son: una iluminación promedio recomendado por Palanichamy y Rani (2004) de 2000 lux, esto para que la microalga sea capaz de realizar sus procesos normales de fotosíntesis ; además necesitan un sistema de aire acondicionado que permite mantener los cultivos dentro del rango de temperaturas recomendado por Campaña-Torres (2012) de 21 a 23 °C y finalmente el sistema de esterilización tanto de agua, cristalería y medio de cultivo es eléctrico. Aunque cabe recalcar, que en el PMP existen programas de ahorro energético, en el cual se ha reflejado en el laboratorio de microalgas con la adquisición de equipos de tipo “Inverter” que pueden consumir hasta 50% menos de energía eléctrica. El menor costo correspondió a los reactivos utilizados para realizar el F/2 de Guillard y Rhyter, esto debido a que el porcentaje de la producción de microalgas que se destina para los cultivos de rotíferos es 10%, de ahí su bajo costo en reactivos.

Cuadro 9. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de microalgas de un mes para ambos sistemas.

Microalgas			
Salarios	Costo de hora(\$)	Cantidad (horas)	Total (\$)
Hora de Biólogo	6,00	24,00	144,00
Hora de asistente	3,51	4,00	14,04
Contribución del empleador (%)			
Prestaciones obligatorias			
Cargas sociales	26,17		41,36
Reservas obligatorias	8,33		13,17
Reactivos	Costo por gramo (\$)	Cantidad (g)	Total (\$)
Cloruro de amonio	0,10	54,00	5,40
Cloruro férrico	0,06	8,24	0,54
EDTA	0,06	8,72	0,54
Fosfato de sodio	0,08	10,00	0,8
Nitrato de sodio	0,56	154,00	24,00
Vitaminas	0,40	2,00	0,80
Yodo	0,06	15,00	1,00
Yoduro de potasio	0,01	30,00	0,30
Consumo eléctrico	Costo KWh (\$)	Energía (KWh)	Total (\$)
	0.16		
Aire acondicionado		61,00	9,27
Autoclave		172,00	26,15
Balanza semi analítica		4,00	0,61
Blower		79,00	12,00
Bombas de agua marina		8,40	2,51
Incubadora de algas		332,00	50,47
Lámparas cepario de microalgas		99,00	15,04
Lámparas ultravioletas (UV)		202,00	30,70
Microscopio		6,50	0,988
Estereoscopio		7,00	1,064
TOTAL DE COSTOS (\$)			394,75

Fuente: Elaboración propia.

4.2.2. Impacto económico de la producción de rotíferos, bajo ambos sistemas, en el cultivo de *Lutjanus guttatus*.

La figura 28 muestra el porcentaje de costos que conlleva cada uno de los alimentos (tanto natural como artificial) proporcionados a un tanque con larvas de *Lutjanus guttatus*. Además, la figura ilustra dos panoramas que corresponden al costo de larvas alimentadas con rotíferos provenientes de cultivos con y sin adición de oxígeno puro (partiendo de la metodología establecida en este TFG y de que las larvas consumen aproximadamente solo un 50% del día 3 al 12, en general un tanque de larvas podría consumir 1200 millones de rotíferos). El valor del millón de rotíferos es con base al valor obtenido en la sección 4.2.1. Con cualquier sistema que se utilice para alimentar larvas, la producción de rotíferos siempre es la más costosa, de ahí la necesidad de hacer la producción más eficiente. Alimentar larvas utilizando rotíferos provenientes de un cultivo sin oxígeno puro es 46% menos costoso que un tanque con larvas alimentadas con rotíferos de un cultivo con oxígeno.

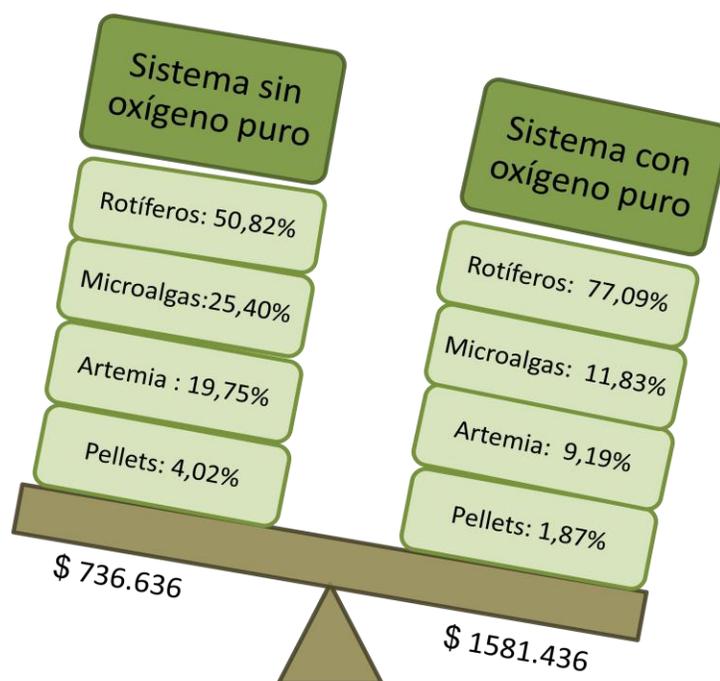


Figura 28. Porcentaje del costo total (\$) de la alimentación requerida para un tanque de 6 m³, la cual incluye: el uso de rotíferos, *Artemia*, microalgas y alimento formulado.

Fuente: Elaboración propia.

Por otro lado, utilizando la información generada de la figura 28, y partiendo de que en promedio se siembran por tanque (6 m³) 3×10^5 huevos de pargo con una sobrevivencia de 1,5% (Boza et al. 2008), al final del proceso se obtendría 4.500 alevines de *Lutjanus guttatus* por tanque. Con base a los datos anteriores, el costo de producción de un alevín alimentado con el sistema intensivo de producción de rotíferos sin oxígeno sería \$0,35 y un alevín alimentado con rotíferos provenientes de tanques solo con aireación sería \$0,16 (46% menos costoso). Como aspecto importante es que el costo del alevín reflejado en este TFG no toma en cuenta todos los procesos que rodean la producción de larvas de *Lutjanus guttatus* solamente los referidos a la

alimentación por lo que el PMP vende los alevines al sector privado de \$0,75 a \$1,00.

Ahora, la rentabilidad de utilizar un sistema con oxígeno sería que se produjeran más cantidad de rotíferos en un tanque, permitiendo así alimentar más larvas, sin embargo, como ya se mostró en la sección de análisis técnica, no hay diferencia significativa en la cantidad de rotíferos, por lo que no genera ningún beneficio ni a corto ni a largo plazo. De hecho mensualmente si las densidades de rotíferos se comportaran semejante a los datos obtenidos en este TFG, se podrían alimentar significativamente (5 gl; $p < 0,05$; Ver anexo 10) más larvas de *Lutjanus guttatus* en el sistema sin adición de oxígeno (aproximadamente 3 tanques, lo que equivale a 13.675 ± 2.041 alevines) que con el cultivo con oxígeno (aproximadamente 2 tanques, lo que equivale a 7.818 ± 1.320 alevines).

Con respecto al desglose de costos referidos a la alimentación de larvas, el cuadro 10 muestra los costos que conlleva la producción de microalgas para alimentar tanques con larvas, es semejante al cuadro 9 ya que el proceso es el mismo, la diferencia radica que en lugar de dar la microalga a los cultivos de rotíferos éstas son sembradas en el área de masivo (en tanques de 2 m^3) y el nutriente que se le agrega es solamente Nitrato de potasio industrial.

Cuadro 10. Desglose de costos (\$) utilizados en la producción de microalgas para un tanque de 6 m³ con larvas de *Lutjanus guttatus*.

Microalgas			
Salarios	Costo de hora(\$)	Cantidad (horas)	Total (\$)
Hora de Biólogo	6,00	24,00	144,00
Hora de asistente	3,51	4,00	14,04
Contribución del empleador			
Prestaciones obligatorias	(%)		
Cargas sociales	26.17		41,36
Reservas obligatorias	8.33		13,17
Reactivos	Costo por gramo (\$)	Cantidad (g)	Total (\$)
Cloruro de amonio	0,10	16,50	1,65
Cloruro férrico	0,06	2,47	0,16
EDTA	0,06	2,16	0,133
Fosfato de sodio	0,08	3,00	0,24
Nitrato de potasio	0,002	1000,00	2,00
Nitrato de sodio	0,16	46,20	7,20
Vitaminas	0,40	0,60	0,24
Yodo	0,06	15,00	1,00
Yoduro de potasio	0,01	30,00	0,30
Consumo eléctrico	Costo KWh (\$)	Energía (KWh)	
	0,16	970,00	148,79
TOTAL DE COSTOS (\$)			374,28

Fuente: Elaboración propia.

Con respecto a los gastos de producción de *Artemia*, 55% del total del costo operativo correspondió para la importación de los cistos de la *Artemia*, seguida por la mano de obra con un 33% (Cuadro 11). En la actualidad, la *Artemia* es el microcrustáceo más empleado para la alimentación de organismos zooplantófagos, al suministrarse a más del 85% de las especies cultivadas en todo el mundo, es utilizado como alimento natural vivo desde quistes decapsulados hasta la etapa adulta, y se distribuye en distintas presentaciones comerciales en forma de alimento congelado, liofilizado y seco en escamas

(Godínez et al. 2004). En cuanto al alimento formulado al igual que la *Artemia* es importada por ello su elevado costo así por ejemplo un kilogramo de los alimentos tipo C1, C2 y EP1 permite alimentar a lo sumo tres tanques con larvas, no obstante, solo representa menos del 3 % del total de costos generado en alimento para alevines, ya que los pellets no requieren mano de obra para su fabricación en el PMP.

Cuadro 11. Desglose de costos (\$) utilizados en la *Artemia* y en alimento formulado para un tanque de 6 m³ con larvas de *Lutjanus guttatus*.

Artemia			
Salarios	Costo de hora(\$)	Cantidad (horas)	Total (\$)
Hora de Biólogo	6,00	11,00	66,00
Hora de asistente	3,51	4,00	14,04
Contribución del empleador			
Prestaciones obligatorias	(%)		
Cargas sociales	26,17		20,94
Reservas obligatorias	8,33		6,66
Artemia	Costo por gramo (\$)	Cantidad (g)	
Cistos	0,20	900,00	180,00
Reactivos	Costo por gramo (\$)	Cantidad (g)	
Bicarbonato de sodio	0,03	1.000,00	30,00
Sulfito de sodio	0,002	2.000,00	4,00
Consumo eléctrico	Costo KWh (\$)	Energía (KWh)	
	0,16	25,00	3,80
TOTAL DE COSTOS (\$)			325,45
Alimento formulado			
Tipo de alimento	Cantidad (g)	Costo por Kg (\$)	Total (\$)
B1	60,00	36,00	2,16
B2	140,00	36,00	5,04
C1	300,00	28,00	8,40
C2	370,00	28,00	10,36
EP1	230,00	16,00	3,68
TOTAL (\$)			29,64

Fuente: Elaboración propia.

4.3. Diseño de un esquema del proceso integrado de producción de alevines de pargo en el Parque Marino del Pacífico.

La captura; desarrollo y mantenimiento de reproductores, el desove, larvicultura y alevinaje, son las actividades que se desarrollan en el módulo de producción del Parque Marino para generar la “semilla” de *Lutjanus guttatus*. A continuación se presentará una explicación técnica de cada una de las etapas del cultivo del pargo manchado y finalizando con un esquema resumen (Figura 33) que permiten comprender con mayor facilidad el proceso.

4.3.1. Captura de reproductores de *Lutjanus guttatus* en el mar

El primer paso que se realiza es seleccionar los puntos estratégicos del Golfo de Nicoya donde se haya percibido presencia de organismos de la especie, generalmente las personas que informan al PMP son los pescadores o también existe la posibilidad de que los mismos pescadores capturen los peces (utilizando artes de pesca como línea o palangre) y luego son trasladados al PMP. En dado caso que sean los biólogos del módulo productivo los encargados de traer los reproductores al laboratorio, una vez que conocen los puntos clave de captura, se adentran al Golfo de Nicoya en las noches y madrugadas, y utilizando la línea como arte de pesca los capturan e introducen a un tanque de transporte con suficiente aireación y oxígeno ubicado dentro del bote y finalmente son trasladados al PMP. Generalmente, los peces capturados, presentan tallas mayores a 1 kg esto debido a que según Boza et al. (2008) a partir de 605 g ya se muestran los primeros ovocitos vitelogénicos. Inmediatamente que los peces llegan al módulo productivo, se introducen en tanques de 1 tonelada, con clavo de olor como anestésico y se le realiza una

biopsia gonadal preliminar (canulación) y así determinar el grado de madurez de los organismos.

4.3.2. Maduración de reproductores

Los peces capturados son aclimatados en tanques de 50 m³ (Figura 29), estos tanques cuentan con un sistema recirculado de agua y su respectivo filtro biológico, asegurando así mejores condiciones sanitarias a los organismos. Diariamente a estos tanques se les mide la temperatura (°C) y oxígeno (mg.l⁻¹), además se le realizan sifoneos para eliminar todos aquellos desechos de alimento. Se mantienen en promedio 12 peces por tanque en una proporción 2 hembras por macho. La alimentación está basada en: camarones, poliquetos, sardina , atún y además se le agregan vitaminas. Estos peces son susceptibles a enfermedades, por ello se les aplica semestralmente tratamientos preventivos con Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) durante una hora.



Figura 29. Tanques de maduración utilizados en el Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Elaboración propia.

4.3.3. Desoves e incubación

Los peces en el Módulo de Producción tardan aproximadamente un año para iniciar los desoves, los cuales son constantes durante el año, con dos máximos reproductivos en marzo y setiembre (Soto et al. 2009). Una vez que se da un desove, los huevos son recolectados del colector (Figura 30) y trasladados al área de incubación donde se analiza y mide el tamaño del huevo (generalmente miden 700 μm). Seguidamente se introducen a baldes de 20 litros para realizarles un tratamiento de desinfección con formol. Al finalizar el tratamiento se siembran en tanques de 1,5 a 6 m^3 (dependiendo del tamaño del desove) con agua filtrada e irradiada por UV, además con aireación y recambio de agua constantes. La cantidad de huevos diarios puede variar de 200 a 600 mil.



Figura 30. Colector de huevos del Parque Marino del Pacífico.

Fuente: Elaboración propia.

4.3.4. Larvicultura

Al día siguiente, de que los huevos fueron sembrados en los tanques, la larva eclosiona y a partir del día 3 inicia con la alimentación exógena y finaliza el día 39. El desarrollo larval en pargos es la etapa más delicada del cultivo (Boza y Ramírez 2008), situación que dependerá de la calidad y forma de emplear el alimento vivo (rotíferos, microalgas y *Artemia*). Diariamente el encargado de suministrar el alimento vivo debe realizar conteos diarios de rot.ml⁻¹ en los tanques con larvas y así suministrar los rotíferos requeridos de acuerdo al protocolo, además de entregar el alga necesaria y cosechar la *Artemia*. En cuanto al proceso de producción de los rotíferos y microalgas se especificaron en la metodología del presente trabajo, en cuanto a la *Artemia*, ésta debe de hidratarse por 2 horas con cloro comercial, seguidamente se agrega a un tanque negro de 500 l por 24 horas con Bicarbonato de sodio (NaHCO₃) y al día siguiente se cosecha. En esta etapa de larvicultura, además se realizan sifoneos, recambios de agua diarios y los tanques utilizados presentan un volumen de 6 a 12 m³ (Figura 31).



Figura 31. Tanques de 6 y 12 m³ utilizados en la etapa de larvicultura.

Fuente: Elaboración propia.

4.3.5. Alevinaje

En esta etapa que inicia del día 40 hasta el día 60, se da el “destete” el cual consiste en que se le elimina de la dieta de las larvas el alimento vivo (en este caso *Artemia*) e inicia el alimento formulado. El alimento concentrado utilizado en el PMP, constan de varios micrajés dependiendo del tamaño de la larva, así por ejemplo se comienza con el B1 y se finaliza con el EP1. Los recambios son más frecuentes que en la anterior etapa, se realizan sifoneos y al final del proceso se cuentan manualmente los alevines (Figura 32) que serán vendidos a la empresa privada o donados a las asociaciones de pescadores. Generalmente los alevines para ser vendidos deben contar con un peso mayor de 1 gramo y no poseer más de 2% de deformidades.



Figura 32. Alevines contados manualmente para ser vendidos a la empresa privada o donados a los pescadores.

Fuente: Elaboración propia.

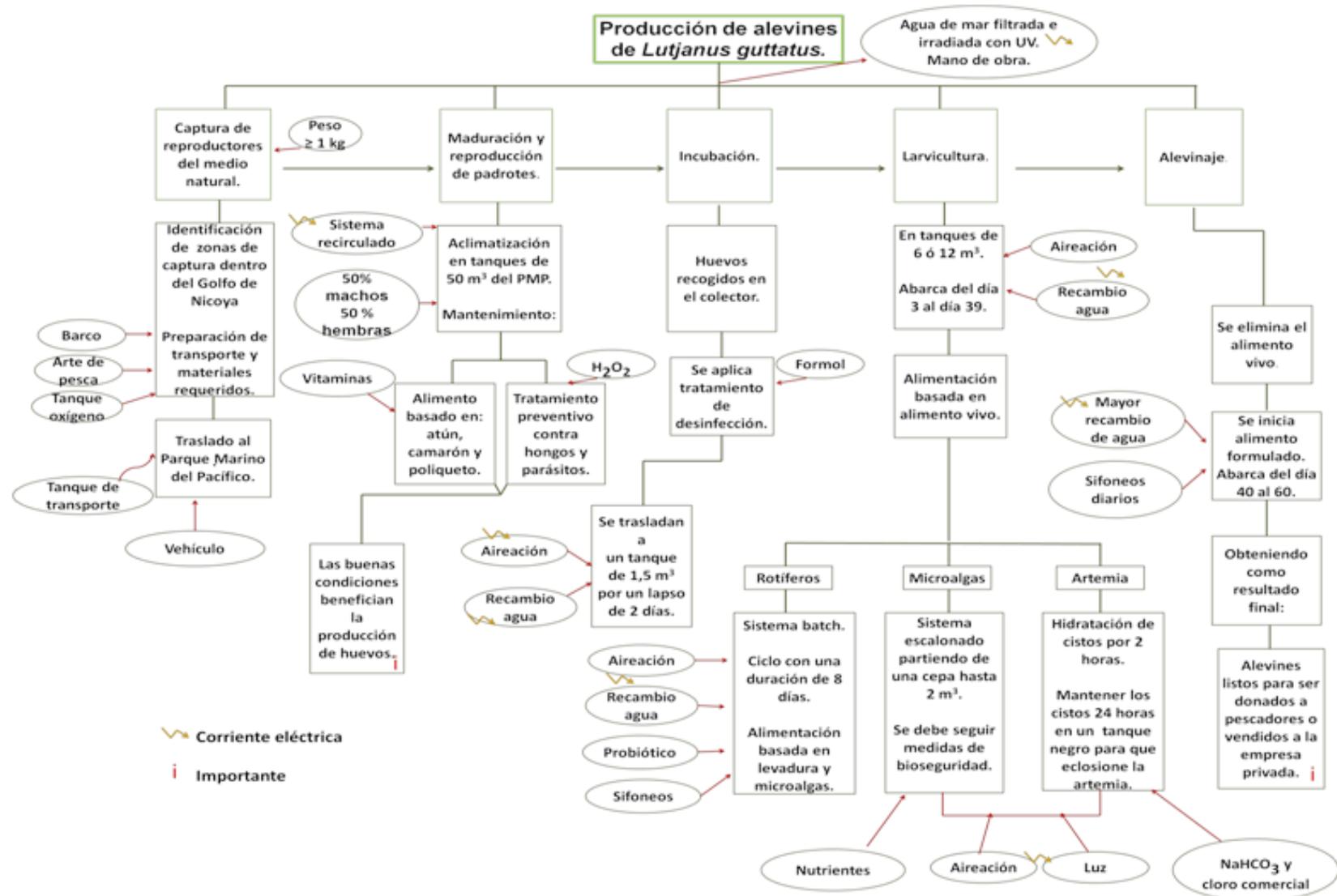


Figura 33. Esquema del proceso integrado de la producción de alevines *Lutjanus guttatus*.

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Los datos reflejaron que no hay diferencias técnicas en cuanto a cultivos que utilicen o no oxígeno puro en el Parque Marino del Pacífico, pues no presentaron diferencias significativas ni en las densidades de rotíferos ni en los parámetros poblacionales. Si bien es cierto, el oxígeno es utilizado en muchos laboratorios pues es un recurso de apoyo para la estabilidad de los cultivos, no obstante, en el PMP no resultó un acierto por dos factores específicos, en primer lugar el oxígeno disuelto solamente es controlado durante el día (no es mecanizado ni hay trabajadores que laboren horas nocturnas) lo que no permite un buen control de la variable, en segundo lugar, el amonio es más perjudicial en los cultivos de rotíferos que la faltante de oxígeno y ambos cultivos sobrepasaron en gran medida la concentración de amonio recomendada.
- El oxígeno, como aspecto positivo, permitió que el cultivo de rotíferos realizara el proceso de la nitrificación, impidiendo así que la concentración de amonio se elevara tan rápidamente como fue en el caso del sistema sin oxígeno, provocando que el cultivo durara más días, sin embargo, siempre decayó.
- La variable que intervino, en el rápido crecimiento poblacional de los rotíferos en el sistema sin adición de oxígeno correspondió a la temperatura, la cual siempre fue mayor, aunque estadísticamente significativa solo para el primero y cuarto día.

- El oxígeno no influyó en las características morfométricas de los rotíferos, pues no existieron diferencias significativas en la talla de estos organismos. En ambos cultivos más del 50% presentaron longitudes menores de 150 μm .
- De manera general, con respecto a la metodología, la alimentación brindada fue idónea para el mejoramiento de los rendimientos poblacionales en comparación con los encontrados en la literatura.
- Económicamente el oxígeno no genera ganancias ni a corto ni a largo plazo, más bien aumenta los costos de los rotíferos. Mantener durante un mes el sistema sin adición de oxígeno es 53% menos costoso que uno con oxígeno. En cuanto a las larvas producidas, una larva es 46% menos costosa si es alimentada con rotíferos sin adición de oxígeno que una larva producida con rotíferos provenientes de un sistema con adición de oxígeno.
- Es más factible económico y técnicamente la utilización del sistema sin adición de oxígeno, siempre y cuando se realicen mejoras a la metodología (Ver sección 5.2) por lo que no hay pruebas suficientes para rechazar la hipótesis nula, así que se concluye que resulta económicamente más eficiente el uso del sistema intensivo sin oxígeno contra el sistema intensivo con adición de oxígeno puro, suponiendo similitudes técnicas entre ambos sistemas.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda ya sea utilizar productos que neutralicen el amonio o realizar sifoneos diarios y recambios del 100% de agua diarios a los cultivos, este último no solo beneficia la disminución de amonio sino que permite aumentar los valores del DO (mg.l^{-1}). Además reduce la cantidad de protozoarios en el tanque con rotíferos.

Como prueba para verificar el enunciado anterior se realizaron unas variaciones a la metodología desarrollada en este TFG y así obtener un sistema más estable. Se sembró en 500 litros una densidad inicial de 200 ind.ml^{-1} (sin adición de oxígeno puro), diariamente se le realizaron recambios del 100% utilizando un tubo de PVC central de 4" recubierto con malla $53 \mu\text{m}$ (Ver Figura 34) , al día 4 se elevó el volumen a 1000 litros (la metodología restante fue igual a la de esta investigación).



Figura 34. Filtro de $53 \mu\text{m}$ que permite realizar los recambios de agua diarios.

Fuente: Elaboración propia

El resultado final correspondió a que el cultivo se mantuvo en crecimiento hasta el día 13 y luego se mantuvo oscilando en valores cercanos a los 1200 rot.ml⁻¹ por tres días más, al final el tanque fue cosechado (no sufrió caídas). En la presente investigación, el cultivo sin oxígeno tuvo una duración de 4 días alcanzando una máxima cantidad de rotíferos de 364 millones (a los 3 días) y con las mejoras a la metodología alcanzó a los 13 días 1200 millones de rotíferos (Ver Figura 35), a pesar de que se obtiene un 83% del total de rotíferos que se hubiera producido en 4 ciclos de cultivos con las mismas densidades obtenidas en este TFG, el sistema es más estable y requiere menos inversión de tiempo. El amonio disminuyó a 2 mg.l⁻¹, el DO permaneció constante en 5±0,5 mg.l⁻¹ y no se presentó incidencias de protozoarios.

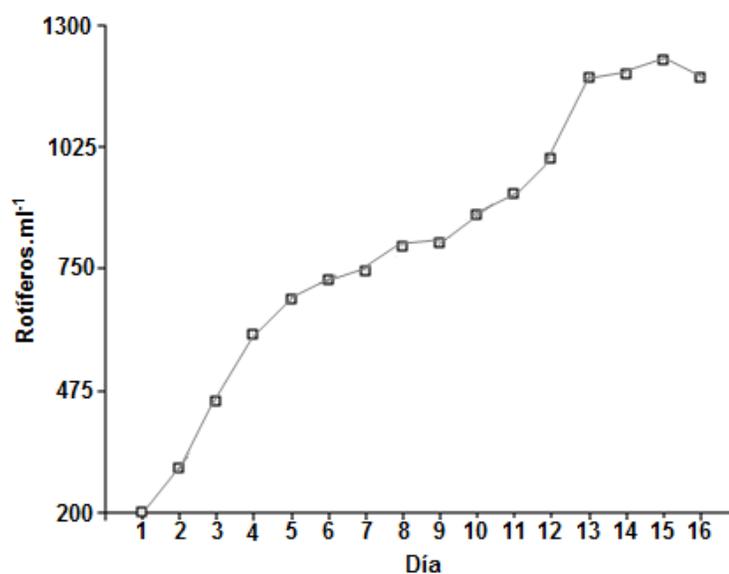


Figura 35. Curva de crecimiento poblacional del sistema con aireación asistido con recambios de agua diarios.

Fuente: Elaboración propia.

- Debido a la importancia de la temperatura en la dinámica poblacional, se recomienda evitar caídas de este parámetro (por ejemplo en épocas de invierno cuando la temperatura suele descender) colocando a los tanques de rotíferos un plástico, transparente preferiblemente, que los cubra en su totalidad, permitiendo así mantenerlos a una temperatura un poco mayor y más estable. Sin embargo, no debe sobrepasar los 30 °C.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS

6. REFERENCIAS

- Abdo de la Parra, I; Rodríguez, E; Campillo, F; Velasco, G; García, N; Álvarez, L; Voltolina, D. 2010. Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento y supervivencia larval del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus*. Revista de Biología Marina y Oceanografía 45(1): 141-146.
- Abu-Rezq, T; James, C. 2005. Application of probiotics in rotifer production systems for marine fish hatcheries. Marine finfish Aquaculture 10 (3): 27-29.
- Aladro Lubel, M; Martínez Murillo, M; Mayén Estrada, R. 1990. Manual de ciliados psamófilos marinos y salobres de México. México. UNAM. 174 p.
- Álvarez, A. 2006. Los protozoos. Características generales y su rol como agente patógeno. Ciencia Veterinaria 8(1): 60-70.
- Arellano-Martínez, M; Rojas-Herrera, A; García-Domínguez, F; Ceballos-Vázquez, B; Vallejo-Fuerte, M. 2001. Ciclo reproductivo del pargo lunarejo *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en las costas de Guerrero, México. Revista de Biología Marina y Oceanografía 36 (1):1-8.
- Aristizábal, E; Suarez, J.2006. Efficiency of co-feeding red porgy (*Pagrus pagrus* L.) larvae with live and compound diet. Revista de Biología Marina y Oceanografía 41(2): 203 – 208.

- Ashraf, M; Ullah, S; Rashid, T; Bhatti, E; Naqui, S; Javaid, L. 2010. Optimization of indoor production of fresh water rotifer, *Brachionus calicyflorus*, b: feeding studies. Pakistan Journal of Nutrition 9(6): 582-588.
- Bentley, C; Carrol, P; Watanabe, W. 2008. 2008. Intensive rotifer production in a pilot scale continuous culture recirculating system using non viable microalgae and a ammonia neutralizer. Journal of the World Aquaculture society 39 (5): 625-635.
- Boza, J; Calvo, E; Solís, N; Komen, L. 2008. Desove inducido y crecimiento larval del pargo manchado, *Lutjanus guttatus*, en la estación de Biología Marina de Puntarenas, Costa Rica. Ciencias Marinas 34 (2): 239-252.
- Boza, J; Ramírez, M. 2009. Potencial de cultivo del Pargo Manchado en Costa Rica. Ambientico (179): 15-17.
- Cabrera, F. 2008. Tasa de crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus rotundiformis* (Rotifera: Brachionidae) en un quimiostato de dos cámaras. Revista de Biología Tropical 56 (3):1149-1157.
- Campaña-Torres, A; Martínez- Córdova, L; Villarreal-Colmenares, H; Hernández-López, J; Ezquerro-Brauer, J; Cortés-Jacinto, E. 2009. Efecto de la adición de rotíferos *Brachionus rotundiformis* (Tschugunoff, 1921) sobre la calidad del agua y la producción en cultivos super-intensivos de camarón blanco del Pacífico *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Revista de Biología Marina y Oceanografía 44(2): 335-342.

- Carvalho, J; Oliveira, J; Costa, W; Nery, M; Soares, R; Galvez, A; Peixoto, R. 2008. Population growth of the rotifer *Brachionus plicatilis* fed on microalgae and probiotic. Rev. Bras. Eng. Pesca 3: 58-63.
- Castro, T; De Lara, R; Castro, G; Castro Mejía, J; Malpica Sánchez, A. 2003. Alimento vivo en Acuicultura. Contactos 48:27-33.
- Cavalin, F; Weirich, C. 2009. Larval performance of aquacultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed rotifers (*Brachionus plicatilis*) enriched with selected commercial diets. Aquaculture 292:67-73.
- Chacón-Guzmán, J. 2010. Efectos de la Tecnología de Cultivo del Pargo Manchado *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en Jaulas Flotantes en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. Heredia, CR, Universidad Nacional. 97 p.
- Cisneros, R; De la Cruz, M. 2007. Cultivo del rotífero *Brachionus* sp y copépodos nativos en ambiente controlados. Dirección general de investigación en acuicultura, gestión costera y aguas continentales. Perú. 27 p.
- Cisneros, R. 2011. Rendimiento poblacional del rotífero nativo *Brachionus* sp. "Cayman" utilizando diferentes enriquecedores. Ecología aplicada 10(2):99-105.
- Dhert, P; Rombaut, G; Suantika, G; Sorgeloos, P. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. Aquaculture 200:129-146.

- Durán, G. 2002. Evaluación de la producción y uso del rotífero *Brachionus plicatilis* en la larvicultura de *Litopenaeus vannamei*. Tesis Mg. Sc. Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Litoral. 72 p.
- Esparcia, A; Armengol, X; Miracle, M. 2001. Relación de la distribución de 10s rotíferos con la de 10s principales factores físicos y químicos en la laguna de la Cruz. *Limnetica* 20 (2): 305-320.
- Fajer-Ávila, E. 2007. Effectiveness of treatments against eggs, and adults of *Haliotrema* sp. and *Euryhaliotrema* sp. (*Monogenea: Ancyrocephalinae*) infecting red snapper, *Lutjanus guttatus* *Aquaculture*. 264: 66-72.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, It).2006. Cultivo de bivalvos en criaderos. Roma, Italia. 42 p.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, It). 2008. Glosario de acuicultura. Roma, Italia. 424 p.
- Fielder, D; Purser, G; Battlaglene, S. 2000. Effect of rapid changes in temperature and salinity on availability of the rotifers *Brachionus rotundiformis* and *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 189: 85-99.
- Fischer, W; Krupp, F; Schneider, W; Sommer, C; Carpenter, K.E; Niem, V.H. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca del Pacífico Centro-Oriental. Roma, FAO. V. 3, 1201-1813 p.

- Freitas, G ; Yumi, M; Costa; E. 2013. Monoculture of the ciliate protozoan *Euplotes* sp. (Ciliophora; Hypotrichia) fed with different diets. *Acta Scientiarum* 35 (1):15-19.
- García, E. 2006. Análisis demográfico de bancos de huevos diapáusicos de rotíferos. Tesis de doctorado. Valencia, España. Universitat de València, 209 p.
- García-Ortega, A. 2009. Nutrition and feeding research in the spotted rose snapper (*Lutjanus guttatus*) and bullseye puffer (*Sphoerides annulatus*), new species for marine aquaculture. *Fish Physiol Biochem* 35:69-80.
- Godínez, D; Gallo, M; Gelabert, R; Díaz, A; Gamboa, J; Godínez, E. 2004. Crecimiento larvario de *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906) alimentada con dos especies de microalgas vivas. *Zootecnia Tropical* 22(3):265-275.
- Guevara, M; Bastardo, L; Cortez; R; Arredondo-Vega; B; Romero, L; Gómez; P. Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Rev. Biol. Trop* 59 (4): 1503-1515.
- Guillard, R; Rhyter, J. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detanula confervacea* Cleve. *Canadian Journal of Microbiology* 8:229-239.

- Guillén, G; Morales, R; Severino, R. 2003. Adición de la fauna de protozoarios de los pantanos de Villa, Lima, Perú. Revista peruana de biología 10 (2) :175-182.
- Hagiwara, A; Balompapueng, C; Munuswamy, N; Hirawama, K. 1997. Mass production y preservation of the resting eggs of the euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis* and *B. rotundiformis*. Aquaculture 155: 223-230.
- Hagiwara, A; Gallardo, W; Assavaaree, M; Kotani, T; de Araujo, A. 2001. Live food production in Japan: recent progress and future aspects. Aquaculture 200: 111-127.
- Hagiwara, A; Suga; K; Akazawa, A; Sakakura, Y. 2007. Development of rotifer strains with useful traits for rearing fish larvae. Aquaculture 268: 44-52.
- Hamre, A; Srivastava, A; RØnnestad, I; Mangor-Jensen, A; Stoss, J. 2008. Several micronutrients in the rotifer *Brachionus* sp. may not fulfil the nutritional requirements of marine fish larvae. Aquaculture Nutrition 14: 51-60.
- Herrera-Ulloa, A; Chacón, J; Zúñiga-Calero, G; Fajardo, O; Jiménez-Montealegre, R. 2009. Acuicultura de pargo la mancha *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) en Costa Rica dentro de un enfoque ecosistémico. Rev. Mar. Cost. 1: 197-213.
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional, CR). 2013. Resumen meteorológico junio 2013 (en línea). Boletín Meteorológico Mensual.

San José, Costa Rica. Consultado el 18 de oct. 2013. Disponible en <http://www.imn.ac.cr>

- Jung, H; Hagiwara, A; Hirayama, K. 1997. Interspecific interaction in the marine rotifer microcosm. *Hydrobiología* 358:121-126.
- Jung, M. 2012. Biological application of two protozoan species *Euplotes* sp. And *Vorticella* sp., for the stable culture of the rotifer *Brachionus rotundiformis* in laboratory experiments inter and tripartite-specific relations. *Fisheries and Aquatic Sciences* 15(3):209-213.
- Kobayashi, T; Nagase, T; Hino, A; Takeuchi, T. 2008. Effect of combination feeding of *Nannochloropsis* and freshwater *Chlorella* on the fatty acid composition of rotifer *Brachionus plicatilis* in a continuous culture. *Fisheries Science* 74: 649-656.
- Kolkovski, S.2001. Digestive enzymes in fish larvae and juveniles-implications and applications to formulated diets. *Aquaculture* 2001; 200(1/2):181-201.
- Kostopoulou, V; Miliou, H; Katis, G; Verriopoulos, G.2006. Changes in the population structure of the lineage 'Nevada' belonging to the *Brachionus plicatilis* species complex, batch-cultured under different feeding regimes. *Aquacult Int* 14:451–466.
- Kostopoulou, V; Vadstein, O. 2007. Growth performance of the rotifers *Brachionus plicatilis*, *B.* 'Nevada' and *B.* 'Cayman' under different food concentrations. *Aquaculture* 273: 449 - 458.

- Larsen, P; Madsen, C; Ulrik Riisgard, H. 2008. Effect of temperature and viscosity on swimming velocity of the copepod *Acartia tonsa*, brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquatic Biology* 4:47-54.
- Lee, H; Kim; C; Cho, J; Jin, K; Kin, K. 2003. Measurement of protease activity of live *Uronema marinum* (Ciliata: *Scuticociliatida*) by fluorescence polarization. *Disease of aquatic organism* 54: 85-88.
- Loera-Quezada, M; Olguín, E. 2010. Las microalgas oleaginosas como fuente de biodiesel: retos y oportunidades. *Rev Latinoam Biotecnol Amb Algal* 1 (1):91-116.
- López-Ochoterena, E; Serrano-Limón, G. 2005. El maravilloso mundo de los protozoarios. *Rev. Soc. Mex. Hist. Na* 1:231-237.
- Luna-Figueroa, J; Vargas, Z; Figueroa, T.2010. Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de *Pterophyllum scalare* (Liechtenstein, 1823). *Avances en Investigación Agropecuaria* 14(3):62-76.
- Mahmoudzadeh, H; Ahmadi, H; Shamsaei, M, M. 2009. Comparison of rotifer *Brachionus plicatilis* as a choice of live feed dry feed in rearing *Coregonus lavaretus* fry. *Aquaculture Nutrition* 15:129-134.
- Merino, O; Sal, F. 2007. Sistema de recirculación y tratamiento de agua (en línea). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimento. Santa Ana, Argentina. Consultado el 18 de oct. 2013. Disponible en

http://www.minagri.gob.ar/SAGPyA/pesca/acuicultura/01=Cultivos/03-Otros_Sistemas/_archivos/000003Sistemas%20de%20recirculaci%C3%B3n%20y%20tratamiento%20de%20agua.pdf

- Munday, B; Odonoghe, P; Watts, M; Rough, K; Hawkesforf. 1997. Fatal encephalitis due to the scuticociliate *Uronema nigricans* in sea-caged, southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii*. Disease of aquatic organism. 30 (1): 17-25.
- Orhum, M; Benetti, D. 2001. Rotifer management in marine fish culture. GAA ADV 4(3):49-50.
- Papakostas, S; De Wolf, T; Triantafyllidis, A; Vasileiadou, K; Kanellis, D; Cecconi, P; Kappas, I; Abatzopoulos, T. 2007. Follow-up of hatchery rotifer cultures with regard to their genetic identity. Journal of Biological Research 7:41-49.
- Palanichamy, S; Rani, V. 2004. Observation on the long term preservation and culture of the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. J. biol .Ass. India 46 (1): 98-103.
- Pierce, R; Turner, J. 1992. Ecology of planktonic ciliates in marine food web. Rev Aquatic Sci 6: 139-181.
- Prieto, M; Espitia, G. 2001. Proporción óptima de alimento en el mantenimiento de la cepa de rotífero *Brachionus patulus* (Müller, 1786), bajo condiciones de laboratorio. MVZ- Córdoba 6(1):37-42.

- Prieto, M; Atencio, V. 2008. Zooplancton en larvicultura de peces neotropicales. Revista MVZ Córdoba 13: 1415-1425.
- Qi, Z; Dierckens, K; Defoirdt, T; Sorgeloos, P; Boom, N; Bao, Z; Bossier, P. 2009. Effects of feeding regime and probionts on the diverting microbial communities in rotifer *Brachionus culture*. Aquacult Int 17:303-315.
- Rojas, J. 1994. Variación temporal de la abundancia y diversidad de protozoarios (ciliados y flagelados) en una zona intermareal del estero de Puntarenas, Costa Rica. Tesis Mag. Sc. San José, CR, Universidad de Costa Rica. 86 p.
- Rojo- Cebrero, A; Román-Reyes, J; Rodríguez-Montes de Oca, G; Nieves-Soto, M; Piña-Valdez, P; Medina-Jasso; M. 2012. Balance energético del rotífero *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff 1921, alimentado con cuatro especies de microalgas. Universidad y Ciencia 28(3): 231-244.
- Rombaut, G; Grammen, R; Zizhong, Q; Vanhoof, V; Suantika, G; Dhert, P; Sorgeloos, P; Verstraete, W. 2003. Improved performance of an intensive rotifer culture system by using an nitrifying inoculum (ABIL). Aquaculture Research 34:165-174.
- Rosas, J; Cabrera, T; Millán. 1998. Efecto de la dieta en el crecimiento poblacional del rotífero *Brachionus plicatilis* M. 1768 Cepa US (en línea). 50th annual of the Gulf and Gulf Caribbean Fisheries Institute. Consultado el 22 de oct. 2013. Disponible en http://procs.gcfi.org/pdf/gcfi_50-42.pdf

- Rueda, R. 1996. Efecto nutricional de tres microalgas y una cianobacteria en el cultivo de rotíferos *Brachionus plicatilis*. *Ciencias Marinas* 22 (3):313-328.
- Rumí, A. 2007. Control system for rotifer production. Tesis Mag. Sc. Noruega, Norwegian University of Science and technology. 55 p.
- Sánchez-Torres, H; Juscamaita-Morales, J; Vargas-Cárdenas, J; Oliveros- Ramos, R. 2008. Producción de la microalga *Nannochloropsis oculata* (Droop) Hibberd en medios enriquecidos con ensilados biológicos de pescado. *Ecología Aplicada* 7(1,2):149-158.
- Sananurak, C; Lirdwitayaprasit, T; Menasveta, P. 2009. Development of a closed-recirculating, continuous culture system for microalga (*Tetraselmis suecica*) and rotifer (*Brachionus plicatilis*) production. *ScienceAsia* 35:118-124.
- Sayegh, F; Radi, N; Montagnes, D. 2007. Do strain differences in microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *Brachionus plicatilis*? *Aquacultur* 273: 665-678.
- Soto, R; Mejía, F; Palacios, J; Hiramatsu, K. 2009. Reproducción y crecimiento del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: *Lutjanidae*) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 57(1-2): 125-131.
- Suantika, G; Dhert, P; Murhudah M; Sorgeloos, P. 2000. High-density production of the rotifer *Brachionus plicatilis* in a recirculation system:

consideration of water quality, zootechnical and nutritional aspects. *Aquacultural engineering* 21 (3):201-214.

- Suantika, G; Dhert, P; Sweetman, E; O' Brien, E; Sorgeloos, P. 2003. Technical and economical feasibility of a rotifer recirculation system. *Aquaculture* 227:173-189.
- Sun, P; Song, W; Clamp, J; Al-Rasheid, K. 2006. Taxonomic Characterization of *Vorticella fusca* Precht, 1935 and *Vorticella parapulchella* n. sp., Two Marine Peritrichs (Ciliophora, Oligohymenophorea) from China. *Journal of Compiling* 53(5):348-357.
- Tinh, N; Phuoc, N; Dierckens, K; Sorgeloos, P; Bossier, P. 2006. Gnotobiotically grown rotifer *Brachionus plicatilis* sensu strictu as a tool for evaluation of microbial functions and nutritional value of different food types. *Aquaculture* 253: 421- 432.
- Vallejo, A; Newmark, F; Criales, M. 1993. Efecto de la salinidad sobre el crecimiento poblacional y rendimiento del rotífero *Brachionus plicatilis* (cepa Ciénaga Grande de Santa Marta). *Boletín de Investigaciones marinas y Costeras* 22:112-121.
- Vega, L. 2010. Evaluación poblacional del stock explotable del complejo *Ophistonema* (pisces: *Clupeidae*) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. *Rev. Mar. Cost* 2:83-94.
- Yin, W; Niu, J. 2008. Effect of pH on survival, reproduction, egg viability and growth rate of five closely related rotifer species. *Aquat Ecol* 42: 607-616.

- Yin, W; Zhao, W. 2008. Studies on life history characteristics of *Brachionus plicatilis* O. F. Müller (*Rotifera*) in relation to temperature, salinity and food algae. *Aquat Ecol* 42:165-176.
- Yoshimura, K; Tanaka, K; Yoshimatsu, T. 2003. A novel culture system for the ultra-high-density production of the rotifer, *Brachionus rotundiformis* a preliminary report. *Aquaculture* 227: 165-172.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7. ANEXOS

Anexo 1. ANOVA de los valores de oxígeno disuelto (mg.l^{-1}) para el primer día de ambos sistemas de producción de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
DO	6	0,62	0,53	8,76	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,02	1	2,02	6,55	0,0627
Tratamiento	2,02	1	2,02	6,55	0,0627
Error	1,24	4	0,31		
Total	3,26	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 2. ANOVA de los valores de pH para ambos sistemas de producción de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
pH	12	0,23	0,15	1,37	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,03	1	0,03	2,95	0,1167
Tratamiento	0,03	1	0,03	2,95	0,1167
Error	0,11	10	0,01		
Total	0,14	11			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 3. ANOVA de los valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para el primer día de ambos sistemas de producción de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Temperatura	6	0,95	0,94	0,39	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,07	1	1,07	82,51	0,0008
Tratamiento	1,07	1	1,07	82,51	0,0008
Error	0,05	4	0,01		
Total	1,12	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 4. ANOVA de los valores de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) para el segundo día de ambos sistemas de producción de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Temperatura	6	0,15	0,00	3,06	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,48	1	0,48	0,68	0,4554
Tratamiento	0,48	1	0,48	0,68	0,4554
Error	2,83	4	0,71		
Total	3,31	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 5. ANOVA de las máximas densidades (rot.ml⁻¹) registradas para ambos cultivos de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Densidad	6	0,13	0,00	13,78	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	11704,17	1	11704,17	0,57	0,4908
Tratamiento	11704,17	1	11704,17	0,57	0,4908
Error	81548,67	4	20387,17		
Total	93252,83	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 6. ANOVA de las fecundidades del primer día (huevos.ind⁻¹) para ambos sistemas de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Fecundidad	59	0,12	0,11	41,58	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	464,93	1	464,93	8,11	0,0061
Tratamiento	464,93	1	464,93	8,11	0,0061
Error	3268,81	57	57,35		
Total	3733,74	58			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 7. ANOVA de los protozoarios (ind.ml^{-1}) presentes en los cultivos de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Protozoarios	6	0,16	0,00	82,60	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	80736,00	1	80736,00	0,74	0,4390
Tratamiento	80736,00	1	80736,00	0,74	0,4390
Error	438159,33	4	109539,83		
Total	518895,33	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 8. ANOVA de los millones de rotíferos producidos al mes en ambos sistemas de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Millones	6	0,81	0,77	16,00	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3658204,17	1	3658204,17	17,41	0,0140
Tratamiento	3658204,17	1	3658204,17	17,41	0,0140
Error	840707,17	4	210176,79		
Total	4498911,33	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 9. ANOVA para el costo (\$) del millón de rotíferos en los cultivos de rotíferos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Costo	6	0,92	0,90	18,94	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,78	1	0,78	47,88	0,0023
Tratamiento	0,78	1	0,78	47,88	0,0023
Error	0,07	4	0,02		
Total	0,85	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

Anexo 10. ANOVA de la cantidad de larvas alimentadas con ambos cultivos de rotíferos al mes.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Larvas	6	0,81	0,77	16,00	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	51443496,09	1	51443496,09	17,41	0,0140
Tratamiento	51443496,09	1	51443496,09	17,41	0,0140
Error	11822444,53	4	2955611,13		
Total	63265940,63	5			

Fuente: InfoStat, análisis de varianza

