

# ACUICULTURA EXPERIMENTAL Y CALIDAD DE AGUA

## Prácticas

Fernando Vega Villasante  
Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta  
Rafael García de Quevedo Machain  
Olimpia Chong Carrillo  
Daniel Badillo Zapata

*Compiladores*

**Acuicultura Experimental  
y Calidad de Agua  
Prácticas**



# **Acuicultura Experimental y Calidad de Agua Prácticas**

## **Compiladores**

Fernando Vega Villasante  
Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta  
Rafael García de Quevedo Machain  
Olimpia Chong Carrillo  
Daniel Badillo Zapata

**Universidad de Guadalajara  
2017**



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

Itzcóatl Tonatiuh Bravo Padilla  
*Rector General*

Miguel Ángel Navarro Navarro  
*Vicerrector Ejecutivo*

José Alfredo Peña Ramos  
*Secretario General*

**CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA**

Marco Antonio Cortés Guardado  
*Rector*

Remberto Castro Castañeda  
*Secretario Académico*

Judith Araceli Saldade Márquez  
*Secretaria Administrativa*

Primera edición, 2017

D.R. ©2017 Universidad de Guadalajara  
Centro Universitario de la Costa  
Av. Universidad 203, Delegación Ixtapa  
48280 Puerto Vallarta, Jalisco

**ISBN: 978-607-742-975-3**

Impreso y hecho en México  
*Printed and made in Mexico*

# Contenido

Práctica I.	Anatomía externa de peces y crustáceos del laboratorio. . . . .	7
	Fernando Vega Villasante, Olimpia Chong Carrillo . . . . .	
Práctica II.	Manejo del equipo e instrumental para el registro de parámetros fisicoquímicos. Fernando Vega Villasante, Manuel Alejandro Vargas Ceballos, Daniel Badillo Zapata . . . . .	13
Práctica III.	Mantenimiento de reservorios y unidades experimentales. Fernando Vega Villasante, Olimpia Chong Carrillo, José de Jesús Ávalos Aguilar . . . . .	16
Práctica IV.	Elaboración de un biofiltro artesanal. Manuel Alejandro Vargas Ceballos . . . . .	23
Práctica V.	Fotografía y video de organismos en laboratorio. Roberto Enrique Valencia Martínez . . . . .	28
Práctica VI.	Alimentación de peces y crustáceos del stock del laboratorio. Fernando Vega Villasante, Daniel Badillo Zapata, Olimpia Chong Carrillo, Mao Ernesto Rafael Basto Rosales . . . . .	32
Práctica VII.	Fabricación de alimentos experimentales. Cynthia Eugenia Montoya Martínez . . . . .	36
Práctica VIII.	Evaluación de la atractabilidad de alimentos en langostinos. Cynthia Eugenia Montoya Martínez, Cristian Daniel Carrillo Pérez . . . . .	39
Práctica IX.	Producción de alimento vivo ( <i>Artemia franciscana</i> ). Fernando Vega Villasante, Itzel Manjarrez Alcívar, Valeria Sarahi Ocaranza Joya . . . . .	43
Práctica X.	Producción de alimento vivo: cultivo de infusorios para su uso en acuicultura. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	47
Práctica XI.	Bioensayo de la concentración letal media (CL50) sobre nauplios de <i>Artemia franciscana</i> . Luis Eduardo Ruiz González . . . . .	51
Práctica XII.	Anestesia en crustáceos. Martín Alonso Aréchiga Palomera . . . . .	57
Práctica XIII.	Anestesia en peces. Óscar Basilio Del Rio Zaragoza . . . . .	61
Práctica XIV.	Modelo de Matiz, Saturación y Brillantez (HSB), para el análisis de la pigmentación. Cynthia Eugenia Montoya Martínez, Martín Alonso Aréchiga Palomera, Gloria Lisbet Gil Ramos, Karen Noemi Nieves Rodríguez . . . . .	65
Práctica XV.	Efecto del color de fondo sobre la pigmentación de crustáceos. Martín Alonso Aréchiga Palomera, Fernando Vega Villasante . . . . .	70
Práctica XVI.	Pigmentación en peces teleosteos. Karen Noemi Nieves Rodríguez, Fernando Vega Villasante . . . . .	75
Práctica XVII.	Control biológico de larvas de mosquitos con especies acuáticas. Juan Diego Galaviz Parada, Fabio Germán Cupul Magaña, Manuel Alejandro Vargas Ceballos, Luis Eduardo Ruiz González, Fernando Vega Villasante . . . . .	79
Práctica XVIII.	Densidad de siembra y crecimiento en peces. Karla Genoveva Ríos González, Fernando Vega Villasante, Mao Ernesto Rafael Basto Rosales. . . . .	85

Práctica XIX.	Necropsia y carga parasitaria en peces. Óscar Basilio Del Rio Zaragoza . . . . .	89
Práctica XX.	Técnicas no letales en peces para el diagnóstico patológico: extracción de sangre, biopsia de piel y branquias. Óscar Basilio Del Rio Zaragoza . . . . .	97
Práctica XXI.	Determinación del grado de madurez gonádica, índice gonadosomático y fecundidad en crustáceos. Manuel Alejandro Vargas Ceballos, José de Jesús Ávalos Aguilar, Olimpia Chong Carrillo. . . . .	103
Práctica XXII.	Obtención de gametos de moluscos bivalvos y su fertilización. Karla Genoveva Ríos González . . . . .	110
Práctica XXIII.	Identificación de sexos y reproducción de tilapia <i>Oreochromis</i> sp. Fernando Vega Villasante, Mao Ernesto Rafael Basto Rosales . . . . .	115
Práctica XXIV.	Identificación de sexos y reproducción de la langosta australiana <i>Cherax quadricarinatus</i> . José de Jesús Avalos Aguilar, Fernando Vega Villasante, Olimpia Chong Carrillo . . . . .	119
Práctica XXV.	Reproducción de carpa koi <i>Cyprinus carpio</i> var. <i>haematopterus</i> . Gloria Lisbet Gil Ramos, Fernando Vega Villasante . . . . .	123
Práctica XXVI.	Reproducción del pez cebra <i>Danio rerio</i> . Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	128
Práctica XXVII.	Introducción al análisis de Calidad del agua para soporte de vida acuática. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	132
Práctica XXVIII.	Determinación de Oxígeno Disuelto por el método del electrodo con membrana selectiva. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	137
Práctica XXIX.	Determinación de oxígeno disuelto por el método de Winkler. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	142
Práctica XXX.	Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno a 5 días (DBO <sub>5</sub> ). Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	149
Práctica XXXI.	Evaluación de las variaciones diurnas de oxígeno disuelto para cálculo de producción de oxígeno por fotosíntesis y consumo por respiración del estanque. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	152
Práctica XXXII.	Determinación de Amonio. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	170
Práctica XXXIII.	Determinación de Nitrito. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	175
Práctica XXXIV.	Determinación de Nitrato. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	178
Práctica XXXV.	Determinación de Fosfatos. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	182
Práctica XXXVI.	Material Suspendido: sólidos totales y materia orgánica en el particulado. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	186
Práctica XXXVII.	Determinación de pigmentos fotosintéticos. Saúl Rogelio Guerrero Galván, Angélica Berenice Mejía Acosta . . . . .	191
Anexos	. . . . .	195
Índice de tablas	. . . . .	199
Índice de figuras	. . . . .	200

# Práctica I

## Anatomía externa de peces y crustáceos del laboratorio

*Fernando Vega Villasante  
Olimpia Chong Carrillo*

### Introducción

Los cangrejos pertenecen al orden Decápoda, orden de crustáceos que también incluye a las langostas y camarones. Todos los decápodos poseen un caparazón completo y cinco pares de patas caminadoras. Sus tres primeros pares de apéndices torácicos se modifican en maxilípedos o patas alimentadoras. En los cangrejos y langostas el primer par de apéndices caminadores sirven como garras para la defensa y para asir y manipular la comida. Los cangrejos verdaderos, un grupo que incluye las especies comerciales, se distinguen de otros decápodos por poseer los segmentos abdominales adelgazados, acortados y plegados bajo el cefalotórax. Esta característica da a los cangrejos verdaderos el nombre del suborden Brachyura, o cangrejos de «cola corta». (Vega-Villasante *et al.*, 2006). Una de las características distintiva de todos los miembros agrupados bajo el género *Callinectes*, es la capacidad natatoria aportada por la modificación, en forma de remo o pala, observada en su último par de patas. De hecho, el nombre genérico de *Callinectes* (del latín Calli = hermosa y nectes = nadador), resalta ésta particularidad.

Identificar los aspectos biológicos de la tilapia *Oreochromis niloticus* como las diferencias de sus partes internas y externas entre otras características permite organizar el manejo del cultivo en sus diferentes etapas de desarrollo (Vega-Villasante *et al.*, 2009).

Las características más notorias son:

- Presentan una aleta dorsal con 16 a 18 espinas.

- El macho presenta dos orificios bajo el vientre: el ano y el orificio urogenital.
- La hembra posee tres: el ano, el poro genital y el orificio urinario.

El género *Macrobrachium* se distingue de otros palemónidos por los siguientes rasgos: tiene el cuerpo dividido en tres secciones principales: la cabeza, el tórax y abdomen. La cabeza y el tórax se unen para formar un cefalotórax, que contiene el rostro, los ojos, las mandíbulas, flagelos, además de 5 pares de patas caminadoras (pereiópodos), donde el segundo par de pereiópodos se modifican en quelas. El abdomen tiene seis segmentos corporales, cinco de pares de patas nadadoras o pleópodos, dos pares de urópodos y un telson. Una característica definida de *Macrobrachium* es que el segundo par de pereiópodos (quelas) es más desarrollado que el resto de los apéndices torácicos. Si entre estos hay igualdad en el tamaño y la forma, se dice que la especie presenta «isoquelas» y cuando difieren significativamente se llaman «heteroquelas» (Vega-Villasante *et al.*, 2014). Un ejemplo de esto sería *M. tenellum* y *M. americanum*, que presenta isoquelas, por otra parte, *M. digueti* cuenta con una quela mucho más grande que otra (heteroquelas).

## Objetivo

Identificar las diferentes regiones anatómicas de peces teleósteos y crustáceos decápodos.

## Materiales

Tilapia: *Oreochromis sp.*

Langostino: *Macrobrachium tenellum*, *Macrobrachium americanum*

Langosta de agua dulce: *Cherax quadricarinatus*

Jaiba: *Callinectes sp.*

Ilustraciones de la anatomía de los diferentes organismos.

## Desarrollo

Capturar y sedar (ver práctica XIII Anestesia en peces en la página 39) las diferentes especies mencionadas en los materiales. Observar las ilustraciones y reconocer las regiones anatómicas.

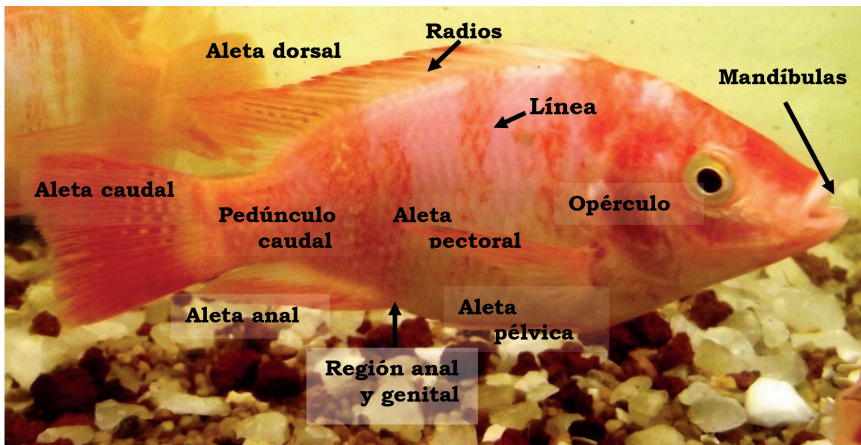


Fig. 1. Anatomía externa de *Oreochromis* sp.

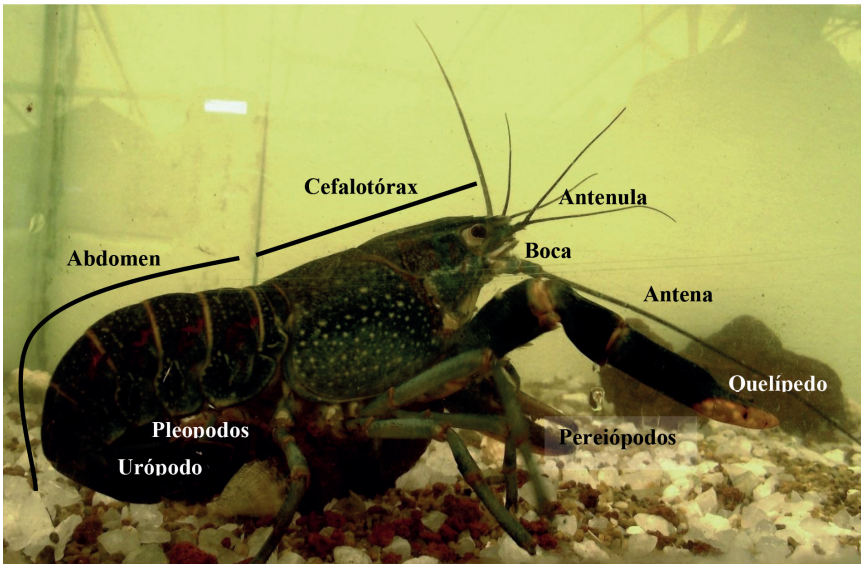
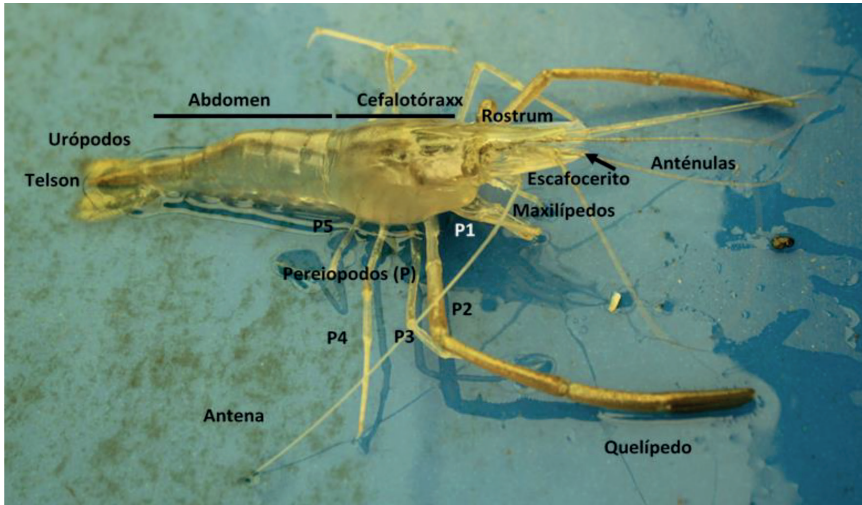
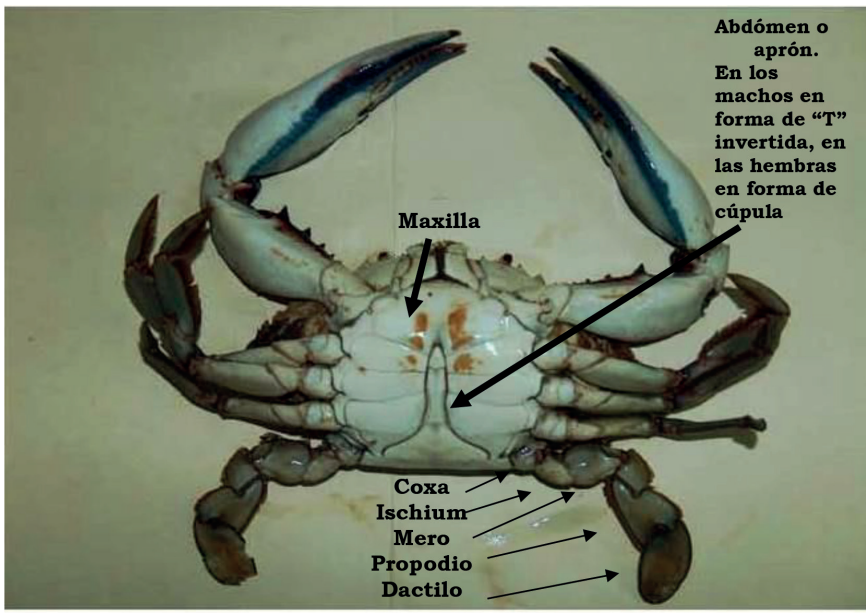
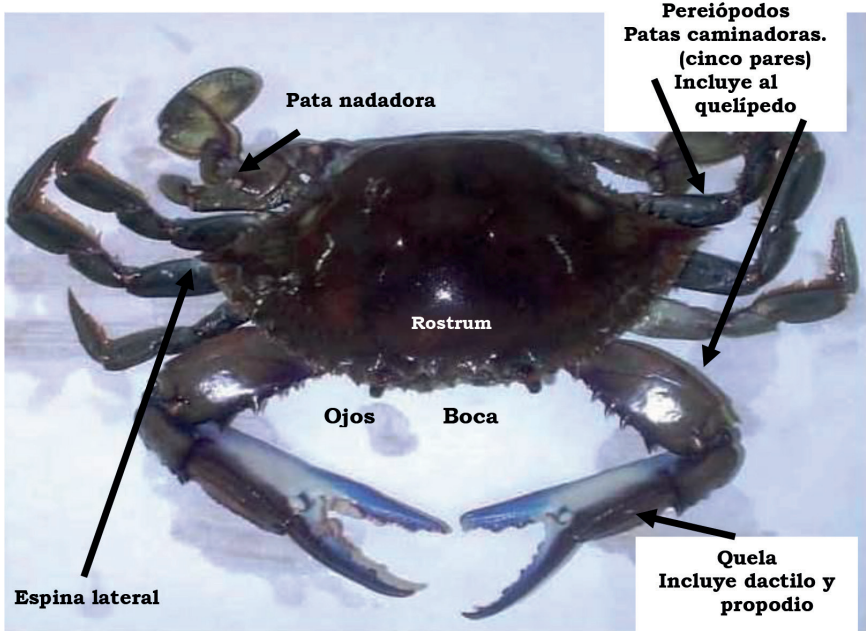


Fig. 2. Anatomía externa de *Cherax quadricarinatus*.



**Fig. 3.** Anatomía externa de camarón de río del género *Macrobrachium*





**Fig. 4.** Anatomía externa de un cangrejo macho Portunido del género *Callinectes*.



## Cuestionario

- ¿Por qué se les denomina “cangrejos verdaderos”?
- ¿Para qué sirve conocer la anatomía en la Tilapia?
- ¿Qué define al género *Macrobrachium*?
- Entregar un reporte que incluya fotografías de las especies utilizadas señalando la anatomía externa de cada especie, como se muestra en las figuras 1, 2, 3 y 4.

## Bibliografía citada

- Vega-Villasante, F., Cortés-Jacinto, E., Reyes-Juárez, A. y Cupul-Magaña, F. G. (2006) *Manual técnico para la producción de jaiba suave en el Pacífico mexicano*. Universidad de Guadalajara. 75 pp.
- Vega-Villasante, F., García-Guerrero, M. U., Cortés-Jacinto, E., Yamasaki-Granados, S., Montoya-Martínez, C. E., Vargas-Ceballos, M. A., Chong-Carrillo, O., Rubio-Padilla, M. A., Guzmán-Arroyo, M., Carrillo-Farnés, O. V., Espinosa-Chaurand, L. D. y Nolasco-Soria, H. G. (2014) *Los camarones de agua dulce del género Macrobrachium: biología, ecología y explotación*. En Cifuentes-Lemus, J. L. y Cupul-Magaña, F. G. (Ed.), *Temas sobre investigaciones costeras*. México: Universidad de Guadalajara. 373-315 pp.
- Vega-Villasante, F., Jaime-Ceballos, B., Cupul-Magaña, A. L., Galindo-López, J. y Cupul-Magaña, F. G. (2009) *Acuicultura de Tilapia a pequeña escala para autoconsumo de familias rurales y periurbanas de la Costa del Pacífico*. Universidad de Guadalajara y Centro de Investigaciones Pesqueras de Cuba. 87 pp.

## Bibliografía recomendada

- Vega-Villasante, F. y Chong-Carrillo, O. (Ed.) (2006) *El Dicamarón, diccionario de camaricultura*. Segunda Edición en papel. Universidad de La Habana y Universidad de Guadalajara. 123 pp.
- Vega-Villasante, F., Espinosa-Chaurand, L. D., Yamasaki-Granados, S., Cortés-Jacinto E., García-Guerrero, M., Cupul-Magaña, A. L., Nolasco-Soria, H. y Guzmán-Arroyo, M. (2011). *Acuicultura del langostino Macrobrachium tenellum: engorda en estanques semi rústicos*. Universidad de Guadalajara y COECYTJAL. 87 pp.

# Práctica II

## Manejo del equipo e instrumental para el registro de parámetros fisicoquímicos

*Fernando Vega Villasante  
Manuel Alejandro Vargas Ceballos  
Daniel Badillo Zapata*

### Introducción

El conocimiento de las condiciones del medio donde viven los organismos acuáticos es de gran importancia para la sanidad acuícola. Los gases tóxicos generados por la mala calidad del agua van provocando cierto grado de intoxicación llegando a causar la muerte de manera repentina de un número considerable de organismos del cultivo.

Esto puede ser provocado por la acumulación del alimento no consumido, las excretas y la mala manipulación del medio ambiente acuático. Por lo tanto, lo primero que debemos conocer en los reservorios de experimentación, mantenimiento y cultivo es la calidad del agua, para establecer el comportamiento de los parámetros fisicoquímicos (Boyd, 1990).

Para garantizar el correcto funcionamiento de un cultivo de organismos existe un intervalo óptimo de factores bióticos y abióticos. Algunos de los más importantes y que pueden llegar a afectar el crecimiento y la supervivencia son: la disponibilidad de alimento ya sea natural o artificial y los factores fisicoquímicos como, por ejemplo: temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, amoníaco tóxico ( $\text{NH}_3$ ), nitritos ( $\text{NO}_2$ ) entre otros. Por lo anterior es esencial conocer el funcionamiento de cada uno de los instrumentos analíticos para generar e implementar un sistema de monitoreo diario de la calidad del agua que permita anticipar y corregir el desarrollo de condiciones adversas con el fin de reestablecer condiciones óptimas en el sistema de cultivo (Chávez e Higuera, 2003).

## **Objetivo**

Conocer el manejo correcto de los equipos e instrumentos para el registro de las variables físicoquímicas del agua de cultivo de organismos acuáticos.

## **Materiales**

Oxímetro de campo

Potenciómetro de campo

Termómetro digital

Refractómetro

Conductímetro de campo para sólidos disueltos (dureza del agua)

Luxómetro

Disco Secchi

## **Desarrollo**

El técnico o investigador responsable del adiestramiento debe mostrar a los alumnos la forma correcta de utilizar los equipos, su funcionamiento, la toma de valores, su interpretación, los cuidados y mantenimiento de los mismos. Debido al alto costo de los aparatos de medición en ningún caso permitir a los alumnos el manejo sin la supervisión del responsable.

Una vez adiestrados en el manejo de los instrumentos, registrar las siguientes variables físicoquímicas:

- Oxígeno disuelto (mg/L)
- Potencial hidrógeno (unidades pH)
- Salinidad (unidades prácticas de salinidad UPS)
- Dureza (mg/L)
- Intensidad luminosa (lux)
- Transparencia o turbidez (cm)
- Temperatura (°C)
- Capturar en una hoja de cálculo los valores obtenidos y realizar una investigación bibliográfica para determinar si los valores registrados son los adecuados para las especies en cultivo.

## **Cuestionario**

Entregar un informe que contenga una tabla con los parámetros registrados.

Hacer una revisión bibliográfica y comparar con los valores adecuados para las especies en cultivo.

## **Bibliografía citada**

Boyd, C. E. (1990). *Water quality for pond aquaculture*. Alabama Agricultural Extension. Auburn University, Alabama. 462 pp.

Chávez, C. e Higuera, I. (2003). *Manual de buenas prácticas de producción acuícola de camarón para la inocuidad alimentaria*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. México. 92 pp.

## **Bibliografía recomendada**

Arredondo-Figueroa, J. L. y Ponce-Palafox, J. T. (1998). *Calidad del agua en Acuicultura: Conceptos y Aplicaciones*. AGT Editor, S.A, México, D. F. 222 pp.

# Práctica III

## Mantenimiento de reservorios y unidades experimentales

*Fernando Vega Villasante  
Olimpia Chong Carrillo  
José de Jesús Ávalos Aguilar*

### Introducción

El adecuado mantenimiento de los reservorios y unidades experimentales en un laboratorio dirigido al estudio de especies acuáticas es una de las labores esenciales que deben realizarse con periodicidad. Lo anterior garantiza la sanidad y por ende favorece las condiciones para el desarrollo adecuado de los organismos, ya sea en confinamiento o en experimentación.

La presencia constante de materia orgánica en los sistemas de cultivo puede propiciar factores desencadenantes de enfermedades de mayor o menor importancia. Entre estas las de origen bacteriano, parasitario o hasta virales. (Rioja, 1998). La imposibilidad de usar compuestos químicos desinfectantes que puedan afectar a los organismos acuáticos, exige implementar técnicas que involucran principalmente la remoción de los desechos orgánicos acumulados en los fondos y paredes de los reservorios (Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Morelos, 2010).

De igual manera se requiere el uso, limpieza y mantenimiento de filtros mecánicos y/o biológicos, bombas aireadoras y sumergibles, además de calentadores que permiten mantener la calidad del agua dentro de los rangos exigidos para las diferentes especies.

Las buenas prácticas de limpieza y mantenimiento de todos los espacios y equipos permiten asegurar la salud de los animales y evita el uso de tratamientos curativos (vgr. el uso de antibióticos) que pueden ocasionar efectos secundarios y a la postre ocasionar que los organis-

mos no puedan ser utilizados para el desarrollo de cultivos o experimentación.

## **Objetivo**

Conocer y practicar el mantenimiento de los reservorios de confinamiento, experimentación, equipos básicos de filtración, bombeo y mantenimiento de la calidad de agua, que se utilizan de manera rutinaria.

## **Materiales**

Tanques de 20 mil litros  
Tanques de 4 mil litros  
Unidades experimentales de material plástico (cajas)  
Unidades experimentales de cristal (acuarios)  
Bombas sumergibles  
Bombas aireadoras  
Filtros artesanales  
Filtros de cascada o caja  
Calentadores con termostato

## **Desarrollo**

De manera general el mantenimiento de los reservorios implica las siguientes actividades:

- Recambio de agua.
- Vaciado total del reservorio y transferencia de organismos durante las labores de limpieza.
- Limpieza del reservorio en vaciado total.
- Mantenimiento y uso de bombas sumergibles, bombas aireadoras y filtros de cascada o caja.
- Mantenimiento y uso de calentadores con termostato.

### *Recambio de agua*

En tanques de 20 mil litros (Fig. 5) realizar el recambio de agua cuando la transparencia del agua sea menor de 30 cm (registrar con el disco

Secchi). El recambio infiere la extracción de un cierto volumen (generalmente el 30% del total) con una bomba sumergible de trabajo pesado o con una manguera de dos pulgadas, o con ambas. Reponer el volumen extraído con agua fresca proveniente del sistema municipal.

En tanques de 4 mil litros (Fig. 6) el manejo es similar al descrito antes, sin embargo, el uso del disco Secchi no es necesario. Por inspección visual determinar la necesidad del recambio (generalmente el agua se torna de un tono amarillento, aunque no pierda la transparencia). En este caso el recambio es del 50% del volumen total mediante una bomba sumergible o con un sifón de manguera. Para evitar la succión de los organismos del reservorio cubrir la bomba o la entrada de la manguera (sifón) con una malla. La reposición es con agua declorada proveniente del tanque de almacenamiento.

Para las unidades experimentales tener cuidado especial para no estresar o dañar a los organismos en experimentación. El recambio (generalmente del 30 % del volumen total) es mediante un sifón, usando una manguera fina. La reposición es con agua única y exclusivamente del tanque de almacenamiento (declorada), vertiendo lentamente con una cubeta el agua en la unidad experimental.

### *Vaciado total*

En los tanques de 20 mil litros llevar el nivel del agua a un 10% de su volumen total y retirar los organismos con redes o atarrayas. Transferir los organismos a los reservorios de apoyo llenos con agua fresca y mantener aireación constante (bombas aireadoras).

En los tanques de 4 mil litros realizar el mismo procedimiento que el anterior, pero retirar los organismos con redes de cuchara.

Para unidades experimentales de cristal o plásticas sedar los organismos usando aceite de clavo (ver práctica XII Anestesia en crustáceos en la página 36) y posteriormente retirar con redes de mano.

### *Limpieza*

En ningún caso usar detergentes u otros agentes limpiadores.

Para los reservorios de 20 mil litros es necesario ingresar al mismo (con botas de hule) y frotar los bordes y fondo con una escoba destinada solo a esta actividad. Para el agua que no pueda extraerse con las bombas, utilizar cubetas. Terminada la limpieza proceder al llenado.

En reservorios de 4 mil litros, retirar la tapa de la pared del costado y vaciar totalmente. Con la escoba retirar la mayor cantidad de materia

orgánica adherida a las paredes internas. Una vez limpio colocar nuevamente la tapa de vaciado y restituir el nivel del agua.

En los acuarios de cristal (Fig. 7) usar un sifón hasta que la mayor parte del agua sea retirada, para el resto inclinar el acuario hasta quedar de costado. Para la limpieza utilizar fibras comerciales (del tipo que se usa para la cocina) que permitan retirar la materia orgánica adherida.

Las unidades plásticas (Fig. 8) pueden ser inclinadas para su total vaciado. La limpieza se lleva a cabo igual que para los acuarios de cristal.

### *Mantenimiento de bombas sumergibles, aireadoras y filtros de cascada*

Hay dos tipos de bombas sumergibles: i) las de uso rudo (Fig. 9) que sirven para el vaciado o el llenado de los diferentes reservorios y unidades experimentales y ii) aquellas que son usadas para realizar la recirculación del agua a través de los filtros artesanales (Fig. 10). Ambas deben llevar un mantenimiento que de manera general se resume en evitar su funcionamiento fuera del agua, limpiar los filtros o cedazos que poseen (quitar acumulación de materia orgánica y materiales que eviten la succión del agua). Realizar este mantenimiento una vez a la semana.

Revisar que las bombas aireadoras no funcionen con piedras difusoras tupidas. Para esto, quitar la piedra difusora y soplar por el pivote, el aire debe salir con facilidad por los poros de la misma. Si hay que hacer un esfuerzo extraordinario para que el aire pase por los poros, sustituir la piedra difusora por una nueva.

Limpiar los filtros de cascada (Fig. 11) al menos una vez cada quince días para acuarios que no estén en experimentación (acuarios de exhibición o para confinamiento de especies de particular importancia). Para filtros utilizados en el desarrollo de alguna investigación, limpiar al menos una vez por semana.

El filtro de cascada se compone de las siguientes partes: caja, tubo, motor, filtros.

Desconectar y desarmar el filtro por completo. Retirar el rotor del motor para limpiar partículas y suciedad. Limpiar la caja con una fibra para retirar la materia orgánica adherida. Para limpiar el tubo de succión utilizar una fibra para el lado externo y un escobillón fino para el interior, hasta donde sea posible. Enjuagar los filtros de esponja y de carbón activado con agua limpia hasta retirar toda la materia orgánica de su interior. Al finalizar la limpieza, armar, colocar, cebar y conectar el filtro en su lugar, revisar que el agua sea succionada por el tubo y se lleve a cabo el filtrado adecuado.



### *Calentadores con termostato*

El uso y mantenimiento de estos equipos es de extremo cuidado. Para utilizar el calentador, sumergir el tubo de cristal (Fig. 12) hasta donde el fabricante haya puesto la marca de nivel mínimo de agua (siempre existe y solo hay que revisar el tubo para detectarla). Una vez sumergido conectarlo. Un pequeño bombillo debe encenderse en el interior del tubo. Si no, hay que girar con suavidad la perilla superior en el sentido de las manecillas del reloj hasta que el bombillo encienda.

Ajustar la temperatura con las marcas grabadas en la parte superior y colocar el indicador de la perilla en la temperatura deseada. Permitir que el calentador funcione un par de horas para que la temperatura se ajuste. Con un termómetro sumergible determinar si la temperatura alcanzada es la deseada. Si la temperatura es superior, girar la perilla contra las manecillas del reloj, caso contrario a favor de estas.

Una vez que se ha terminado la utilización de estos equipos, habrá que desconectar, retirar del acuario, secar y empacarlos en su caja original.



**Fig. 5.** Piscinas o contenedores de 20 mil litros.



**Fig. 6.** Tanques o contenedores de 4 mil litros.



**Fig. 7.** Acuarios de 40 litros.



**Fig. 8.** Unidades plásticas de 60 litros.



**Fig. 9.** Bomba sumergible con flotador para labores de mantenimiento.



**Fig. 10.** Bomba sumergible para uso con filtros biológicos.



**Fig. 11.** Filtro de caja o cascada para acuarios y unidades plásticas.



**Fig. 12.** Calentador con termostato.

## Cuestionario

- ¿Qué tipo de compuestos desinfectantes pueden ser usados en la limpieza y saneamiento de los reservorios?
- ¿Qué tipo de bombas hay y cómo se eligen para cada tipo de reservorio?
- ¿Cómo se ajusta la temperatura del agua en un acuario?

## Bibliografía citada

- Comité Estatal de Sanidad Acuícola del Estado de Morelos. (2010). *Guía para la identificación de parásitos y enfermedades de los peces de ornato*. Segunda edición. Instituto Nacional de la Pesca y Universidad Autónoma de Nuevo León (eds.) 71 pp.
- Rioja, F. C. (1998) Bioagresores de los Peces de Acuario [versión electrónica]. *Revista AquaTIC*, (5).

## Bibliografía recomendada

- Balbuena R. (Ed.). (2010). *Manual básico de sanidad piscícola*. Ministerio de Agricultura y Ganadería de Paraguay. Oficial Principal de Acuicultura y Pesca para América Latina y el Caribe, FAO. 52 pp.

# Práctica IV

## Elaboración de un biofiltro artesanal

Manuel Alejandro Vargas Ceballos

### Introducción

El nitrógeno amoniacal proviene principalmente de la remoción del grupo amino,  $-NH_2$ , de aminoácidos del reservorio que inician su catabólisis. Un exceso de proteína digestible y/o un desbalance del perfil de aminoácidos de la proteína presente en el alimento, generan un aumento del reservorio de aminoácidos y estimulan un mayor catabolismo, y, por tanto, una mayor emisión de amoniaco. El nitrógeno resultante de la desaminación es liberado al medio (agua circundante) en la forma de amoniaco,  $NH_3$ , y pasa a formar parte del equilibrio  $NH_4^+ \rightarrow NH_3 + H^+$ , de manera que el nitrógeno amoniacal es una mezcla de  $NH_4^+$  y  $NH_3$ , que se denomina NAT, nitrógeno amoniacal total. El NAT normalmente se expresa en unidades de mg de N/L. El nivel máximo de NAT tolerado por los peces depende de la especie y del pH. A menores valores de pH, menor es la cantidad de NAT en la forma de  $NH_3$  que es la forma más tóxica del NAT. A pH=7,0 solo el 0,3% del NAT está en la forma de  $NH_3$ , y a pH=7,8 el 1,8% del NAT corresponde a  $NH_3$  (Arredondo-Figueroa y Ponce-Palafox, 1998).

En la actualidad existen varias formas para reducir o eliminar el amoniaco del agua. En un sistema acuícola de recirculación se sugieren tres posibles métodos: a) arrastre por aire, b) intercambio de iones y c) biofiltración (Lucchetti y Gray, 1988). La nitrificación que ocurre en sistemas de biofiltración es sin duda el método más popular para la remoción de amoniaco. Es utilizado para pequeños sistemas de recirculación debido principalmente a su eficiencia, bajo costo y fácil manejo (De la Mora *et al.*, 2003). El termino nitrificación, se refiere a la oxidación secuencial aeróbica del amonio a nitrito por bacterias *Nitrosomonas* sp y posteriormente las encargadas de transformarlo a nitrato son las *Nitrobacter* sp (Daims *et al.*, 1999).

El equipo en el que ocurre el proceso biológico de nitrificación es denominado “Biofiltro”. Los biofiltros son contenedores que entregan condiciones favorables para el establecimiento de bacterias nitrificantes. Como se menciona en el párrafo anterior existen dos géneros de bacteria involucrados. A través de estos procesos oxidativos, las *Nitrosomonas* y las *Nitrobacter*, obtienen la energía para crecer en lugar de obtenerlo por oxidación de carbono orgánico, como lo hacen las bacterias heterotróficas.

La utilización de biofiltros de nitrificación se justifica en el hecho que los peces toleran cientos de veces más  $\text{NO}_3^-$  que NAT, y decenas de miles de veces más que  $\text{NH}_3$ . Por esta razón, la conversión del NAT a  $\text{NO}_3^-$ , detoxifica el agua, y ésta puede retenerse en el sistema hasta acumular mayores niveles del Nitrógeno excretado (Avendaño-Villafraña, 2012).

Algunas de las condiciones necesarias para obtener un buen funcionamiento del biofiltro es:

- Proporcionar suficiente superficie para colonizar.
- Asegurar que el agua a tratar se distribuye homogéneamente en el relleno y no se generan canalizaciones.
- Seleccionar un buen sistema para la eliminación de sólidos suspendidos antes de pasar el agua por el biofiltro.
- Asegurar que no existan limitantes ambientales/nutricionales para el desarrollo de las bacterias nitrificantes.
- Eliminar los sólidos suspendidos y el alimento no ingerido lo más tempranamente posible minimizando la lixiviación de nutrientes orgánicos disueltos.
- Seleccionar un buen alimento, balanceado y que genere heces firmes.
- Minimizar las pérdidas de alimento.

## Objetivos

- Conocer los componentes y funciones principales de un biofiltro artesanal.
- Construir un biofiltro artesanal.

## Materiales

Recipiente plástico de 20L y 60L

Polyfill (material que se utiliza para rellenar los cojines de los muebles) o quata o estopa

Tezontle (se puede sustituir por carbón activado o grava)  
Tubo corrugado  
Taladro  
Broca de 1"  
Cople de PVC hembra y macho de 1"  
Manguera de ½"  
Bomba sumergible  
Solución de cloro al 10%

## Desarrollo

Tomar el recipiente plástico de 60L y hacer una perforación en la parte inferior a 2 cm del fondo. Insertar en la perforación los coples de PVC hembra y macho (Fig. 13), ajustar fuertemente para evitar fugas. Dentro del recipiente plástico colocar un tubo perforado con tapa para evitar el taponamiento del drenaje (Fig. 14).

Lavar con abundante agua todos los materiales filtrantes (Fig. 15) posteriormente remojar el tezontle en una cubeta de 20L con la solución de cloro al 10% durante cinco horas. Colocar en el interior del recipiente los materiales filtrantes en el siguiente orden a partir del fondo: tezontle o grava, tubo corrugado, polyfill o guata. Cubrir con los materiales no más de tres cuartas partes del recipiente (Fig. 16).

Con la ayuda de la bomba sumergible realizar pruebas de filtrado y verificar que no haya fugas.



**Fig. 13.** Cubeta perforada, con coples para drenaje.



**Fig. 14.** Interior de la cubeta. Tubo perforado para evitar taponamientos.





**Fig. 15.** Materiales filtrantes (de izquierda a derecha): tubo corrugado, tezontle, gravilla, guata y estopa.



**Fig. 16.** Biofiltro terminado y en funcionamiento (como contenedor se utilizó una caja plástica rectangular de 80 L).

### **Cuestionario**

- ¿Cuál es la diferencia entre un filtro mecánico o físico y un biofiltro?
- ¿Cuáles son los componentes de un biofiltro?

- ¿En qué consiste el proceso de nitrificación en la acuicultura?
- ¿Qué es el NAT?
- ¿Por qué es importante eliminar el NAT del agua de cultivo?

### **Bibliografía citada**

- Arredondo-Figueroa, J. L. y Ponce-Palafox, J. T. (1998). *Calidad del agua en Acuicultura: Conceptos y Aplicaciones*. AGT Editor, S.A, México, D. F. 222 pp.
- Avendaño-Villafranca, L. I. Z. (2012). *Estudio de la población de bacterias nitrificantes y su relación con los parámetros físico-químicos, biológicos y operacionales en una EDAR con sistema convencional de Fangos Activos*. Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia. 88pp.
- Daims, H., Brühl, A., Amann, R., Schleifer, K. H., y Wagner, M. (1999). The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Systematic and applied microbiology*, 22(3), 434-444.
- De la Mora, G., Villareal-Delgado, E. L., Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T. y Barriga-Sosa, I. D. L. A. (2003). Evaluación de algunos parámetros de calidad del agua en un sistema cerrado de recirculación para la acuicultura, sometido a diferentes cargas de biomasa de peces. *Hidrobiología*, 13(4), 247-253.
- Lucchetti, G. L., y Gray, G. A. (1988). Water reuse systems: a review of principal components. *The Progressive Fish-Culturist*, 50(1), 1-6.

### **Bibliografía recomendada**

- Timmons, M. B., Ebeling, J. M., Wheaton, F. W., Summerfelt, S. T., y Vinci, B. J. (2002). *Sistemas de recirculación para la acuicultura*. Santiago, Chile. Fundación Chile. 741 pp.
- Timmons, M. B. y Losordo, T. M. (1994) *Aquaculture water reuse systems: engineering design and management*. Amsterdam, Netherlands. Elsevier Science Publishers. 75-78.



# Práctica V

## Fotografía y video de organismos en laboratorio

*Roberto Enrique Valencia Martínez*

### **Introducción**

Los animales acuáticos presentan diferencias anatómicas y fisiológicas importantes. Diferencias que necesariamente debe conocer un estudiante de biología para que pueda identificar las especies con las que se trabaja además de conocer su anatomía y etología. La fotografía y el video son herramientas básicas útiles para poder realizar observaciones detalladas de los organismos en estudios de comportamiento, crecimiento, patología y pigmentación (Auger, 1987).

### **Objetivo**

Obtener la habilidad para tomar fotografías y videos de organismos dentro y fuera del agua, para identificación de especies, trabajos de laboratorio, documentos científicos y conferencias.

### **Materiales**

Cámara fotográfica (Réflex, digital o video)  
Trípode  
Papel secante  
Regla  
Lámpara de piso (recomendado de 40 watts en adelante)  
Fondos a color blanco o negro (cartulina, carpeta, negatoscopio)  
Acuario  
PC o laptop

## Desarrollo

### *Fotografía de organismos fuera del agua*

Elegir y capturar los organismos (ver prácticas XII Anestesia en crustáceos en la página 36 y XIII Anestesia en peces en la página 39) con redes de pesca, colocarlos en papel secante para quitar el exceso de agua y evitar la brillantez del organismo al usar el flash con la cámara.

Colocar los organismos sobre el fondo seleccionado (blanco o negro), y una regla debajo del organismo que coincida con su eje horizontal para tener una referencia de su tamaño.

Antes de tomar las fotografías colocar una lámpara de piso, arriba o de frente al organismo para evitar la aparición de sombras en el momento de la toma fotográfica.

En caso de utilizar un cajón de luz o negatoscopio no utilizar lámpara ya que la luz proveniente de abajo elimina las sombras.

Tomar las fotografías de vista lateral al organismo en ángulo de 90°. En el caso de otros organismos como crustáceos y/o anfibios hacer 3 tomas, una de vista frontal a 45° (Fig. 18), una de vista dorsal (Fig. 19 y Fig. 21) y otra de vista lateral, ambas a 90° (Fig. 20). En caso de tomar las fotos con cámara réflex se recomienda un objetivo 18-55 a 1/100. F7.1-9.0 ISO 200. Flash +2 si se utiliza una cámara digital que sea HD y de modo automático.

### *Fotografía de organismos dentro del agua*

Elegir los organismos, capturarlos con redes de pesca y colocarlos en un acuario. Es necesario que el cristal frontal este limpio, puede estar adornado con rocas y plantas o recubierto con un fondo negro.

Antes de tomar las fotografías colocar una lámpara sobre el acuario para minimizar el reflejo al utilizar el flash de la cámara.

Tomar las fotografías en ángulo de 10° a 45° de frente al acuario (Fig. 22-23) esto para minimizar el reflejo del flash y tener una mejor posición del pez o crustáceo. (En caso de tomar las fotos con cámara réflex se recomienda un objetivo 18-55 a 1/60. F7.1-9.0 ISO 400. Flash +1/3 y si utiliza una cámara digital HD en modo automático).

### *Video de organismos*

Los organismos deben estar dentro de un acuario con fondo negro, blanco o transparente. Utilizar un trípode para evitar el movimiento de

la cámara, éste puede ser colocado en ángulo de 90° o de vista frontal hacia el acuario.

Antes de empezar a grabar el video colocar una lámpara de frente o también en ángulo de 90° al acuario para aumentar la luminosidad y beneficiar la toma de video. Se recomienda grabar con una resolución alta HD 1920x1080 píxeles.



**Fig. 17.** Toma lateral *Oreochromis sp.* en ángulo de 90°.



**Fig. 18.** Toma frontal de *Cardisoma crassum* tomada a 45°.



**Fig. 19.** Toma dorsal de *Cardisoma crassum* tomada a 90°.



**Fig. 20.** Toma lateral de *Macrobrachium tenellum* tomada a 90°.



**Fig. 21.** Toma dorsal de *Macrobrachium tenellum* tomada a 90°.



**Fig. 22.** Vista lateral de *Eleotris picta* tomada a 15°.



**Fig. 23.** Vista lateral de *Cyprinus carpio* tomada a 10°.

## Cuestionario

Como parte de los resultados comparar las fotografías y describir las estructuras externas de los organismos.

## Bibliografía citada

Auger, D. (1987). Some basic photographic requirements for the study and application of biological science. *Journal of Audiovisual Media in Medicine*, 10(1), 15-21.

## Bibliografía recomendada

Monje-Arenas, L. (2015) *Introducción a la fotografía científica*. Recuperado de: <http://www.difo.uah.es/curso/>

# Práctica VI

## Alimentación de peces y crustáceos del stock del laboratorio

*Fernando Vega Villasante  
Daniel Badillo Zapata  
Olimpia Chong Carrillo  
Mao Ernesto Rafael Basto Rosales*

### Introducción

La alimentación de los organismos acuáticos es esencial para mantenerlos en las condiciones óptimas de salud y desarrollo. Por lo anterior es esencial determinar tanto la cantidad como la calidad y presentación del alimento de elección para cada una de las especies en confinamiento.

Para cada especie y etapa de desarrollo existen diferentes tipos de alimentos. Los alimentos para crustáceos en desarrollo deben tener la capacidad de caer al fondo pues estos organismos ocupan generalmente este espacio en cualquier reservorio en el que se alojen. Los alimentos para peces usualmente son de tipo flotante pues la mayoría de las especies comerciales tienen un comportamiento alimenticio que infiere la búsqueda del mismo en la superficie de la columna de agua. Con relación a las especies ornamentales, los alimentos dirigidos a estas son básicamente hojuelas cuyos ingredientes poseen elevados contenidos de compuestos pigmentantes para garantizar el mantenimiento del color de los mismos. La cantidad de alimento a ofrecer dependerá de la cantidad de organismos existentes en el reservorio y su etapa de crecimiento (Vega-Villasante, com. pers.; Tacon, 1989).

La concentración de proteína en el alimento es un factor esencial para el desarrollo óptimo de las diferentes especies. Sus concentraciones serán mayores en las primeras etapas de crecimiento para ir disminuyendo de acuerdo con el aumento de peso y talla de los organismos. De esta manera se han clasificado los alimentos en tres tipos para

peces y crustáceos en estanques de cultivo: de iniciación, para etapas tempranas de crecimiento (altos porcentajes de proteína que pueden ir hasta el 50%), de desarrollo (porcentajes medianos de proteína, entre 30 y 35%) y finalización o engorda (porcentajes bajos, 25% de proteína) (Guillaume, 2001).

## **Objetivo**

Aprender a identificar los diferentes tipos de alimentos y las técnicas de alimentación dentro del laboratorio.

## **Materiales**

Alimento comercial para peces  
Alimento comercial para crustáceos  
Alimento comercial en hojuelas  
Balanza digital  
Peces  
Crustáceos

## **Desarrollo**

En el Laboratorio de Acuicultura Experimental se manejan tres tipos de alimentos comerciales: alimento para peces (tilapia, trucha y bagre), alimento para crustáceos (camarón) y alimento en hojuelas (peces ornamentales a excepción de carpa koi). El alumno extraerá los alimentos de sus empaques originales, los tocará para percibir su consistencia y los olerá para percibir el olor normal (que debe ser a pescado no rancio).

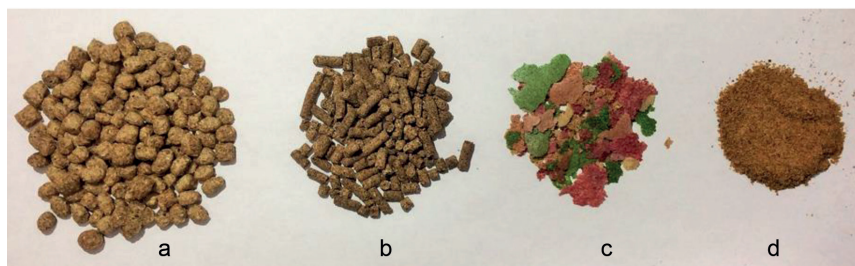
Para determinar el volumen de alimento que se debe agregar a los reservorios, primero determina el número de peces o crustáceos a través de una inspección visual (en caso de que esto sea posible) o consulta los registros del laboratorio. Una vez determinado el número de organismos en un reservorio o unidad experimental, procede a pesar en la balanza digital un número determinado de organismos (general-

mente el 20% de la población total). Calcula el promedio de los pesos registrados y multiplica por el número total de peces en el reservorio. Lo anterior dará un acercamiento a la biomasa total del estanque.

Para el cálculo del porcentaje de alimento total a agregar por día, determina el estadio de desarrollo de los organismos a alimentar (crías, juveniles, preadultos, adultos). Los estadios primarios (crías) deben ser alimentados con el 10% de la biomasa total. Los juveniles con el 7%, los preadultos el 5% y adultos 3%. Ejemplo: en un reservorio hay 100 juveniles con un peso promedio de 100 g. La biomasa total del reservorio es de 10 kg, por lo tanto, el porcentaje de alimento a agregar al reservorio será de 7%, o sea 700 g.

La cantidad de alimento puede ser fraccionada en varias tomas al día o llevarse a cabo en una sola toma. Generalmente los peces y crustáceos disminuyen su alimentación en épocas de invierno debido a que disminuye la temperatura del agua.

Si hay alimento que no es consumido (en el caso de los peces es muy evidente esto pues se observa el alimento en la superficie sin que los peces lo consuman) hay que reducir el aporte diario.



**Fig. 24.** Tipos de alimento comercial para peces y crustáceos. a) alimento para peces (flotante), b) alimento para crustáceos (sumergible), c) alimento en hojuelas (especies ornamentales) y d) alimento microparticulado (larvas).

## Cuestionario

Elaborar un reporte donde incluya para cada especie utilizada: número de organismos, tipo de alimento y por qué se eligió ese alimento. Adjunta los cálculos necesarios descritos en la práctica.

## **Bibliografía citada**

- Guillaume, J. (2001) *Nutrition and feeding of fish and crustaceans*. Springer Science & Business Media. Chichester, Reino Unido. 408 pp.
- Tacon, A. G. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación*. Documento de campo no. 4. Programa Cooperativo Gubernamental. Proyecto Aquila II. FAO-Italia. Recuperado el 17 de febrero de 2017, de <http://www.fao.org/3/content/60051bb9-bd0e-5631-b5e1-9b5ec8e51998/AB492S00.htm>

## **Bibliografía recomendada**

- García-Galano, T., Villarreal-Colmenares, H. y Fenucci, J. L. (2007). *Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos*. Subprograma II Acuicultura red temática II. C. Proyecto II-8, 264.



# Práctica VII

## Fabricación de alimentos experimentales

*Cynthia Eugenia Montoya Martínez*

### Introducción

La ciencia de la nutrición y alimentación acuícola se ha convertido en una de las áreas de investigación y desarrollo de mayor importancia en la acuicultura, ya que el alimento y los costos de alimentación, constituyen uno de los mayores costos de la operación en granjas acuícolas a nivel semiintensivo o intensivo (Tacon, 1989).

Los alimentos formulados son preparados con mezclas de ingredientes (productos y subproductos) de origen vegetal y animal, combinadas entre sí, según las necesidades específicas. Por lo que al formular alimentos y proceder a su elaboración, los ingredientes a incluir se seleccionarán según diversos factores: su valor biológico, precio y calidad, su disponibilidad, tipo de procesamiento (peletizado o extrusado), etc. (Luchini y Wicki, 2014).

Es el objetivo principal de la formulación y elaboración de alimentos balanceados realizar a partir de una serie de materias primas o ingredientes alimenticios, una combinación o mezcla que cubra los requerimientos nutricionales de la especie en cultivo (características fisiológicas, la fase de desarrollo correspondiente al ciclo de vida), al más bajo costo, con la finalidad de que el cultivo a realizar sea más rentable (Noel, 2003).

### Objetivos

- Obtener los conocimientos teóricos sobre la tecnología de fabricación de alimentos para organismos acuáticos.
- Elaborar un alimento experimental.

## **Materiales**

Estufa con ventilación  
Batidora  
Molino de carne  
Balanza digital  
Tamiz  
Cucharas  
Espátula  
Recipientes de plástico para mezclar  
Aceite de pescado  
Lecitina de soya

## **Desarrollo**

Verificar la fórmula y elaborar la hoja de fabricación del alimento (en función de lo antes descrito).

Seleccionar los ingredientes a utilizar, pasarlos a través de un tamiz de 250  $\mu\text{m}$  de luz de malla y pesar cada uno de los ingredientes. Mezclar los macroingredientes en el tazón de la batidora durante 5 minutos (premezcla 1). Mezclar los microingredientes y aditivos (secos) manualmente con una cuchara (premezcla 2).

En un recipiente plástico agregar un poco de la premezcla 1 y la totalidad de la premezcla 2; homogenizar con una cuchara. Agregar al resto de la premezcla 1 y agitar a velocidad baja por 5 minutos en la batidora.

Hacer una emulsión con el aceite de pescado y la lecitina de soya (premezcla lipídica) e integrarla a la mezcla de sólidos y agitar por 5 minutos a velocidad intermedia, observar que no queden grumos o residuos de la emulsión en las paletas y paredes del tazón de la batidora. Agregar agua a razón de 30 a 50% en base al peso de la masa de ingredientes (la cantidad adecuada varía dependiendo de la composición del alimento y otros factores). Mezclar por 2 ó 3 minutos a velocidad intermedia. Poner la masa en la charola de recepción del molino de carne.

Pasar la masa rápidamente a través del molino de carne, pasarla una segunda vez, pero lentamente para aumentar la densidad y conferirle la textura adecuada de “espagueti” (no pegajoso, liso y brillante).

Cortar los “espaguetis” con una espátula, a medida que van saliendo del molino de carne, a manera de obtener los pellets del tamaño deseado (0.5 a 1 cm.). Secar los pellets en una estufa con ventilación

a 40°C por 12 horas. Esto dependerá del tipo de alimento, de las condiciones de temperatura y humedad relativa al momento de hacer la práctica.

### **Cuestionario**

- Realizar un diagrama de flujo simplificado de la metodología utilizada para fabricar los alimentos.
- Describir brevemente cuáles son las principales “operaciones unitarias” empleadas en la elaboración del alimento y la importancia de cada una (apoyarse en bibliografía).
- Incluir la hoja de fabricación que se elaboró en la práctica, además de la composición en proteína, lípidos y ceniza de los macroingredientes y del alimento final.
- Describir las características de los alimentos obtenidos en la práctica, antes y después del secado.

### **Bibliografía citada**

- Luchini, L. y Wicki, G. (2014). *Consideraciones sobre insumos utilizados en los alimentos para organismos acuáticos bajo cultivo. Información básica*. Dirección de acuicultura. Ministerio de agricultura, ganadería y pesca, Presidencia de la Nación., 50pp
- Noel, G. W. (2003). *Formulación y elaboración de dietas para peces y crustáceos*. Facultad de Ingeniería Pesquera, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman. Perú. 70pp.
- Tacon, A. G. (1989). *Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados. Manual de capacitación*. Documento de campo no. 4. Programa Cooperativo Gubernamental. Proyecto Aquila II. FAO-Italia. 225pp.

### **Bibliografía recomendada**

- García-Galano, T., Villarreal-Colmenares, H. y Fenucci, J. L. (2007). *Manual de ingredientes proteicos y aditivos empleados en la formulación de alimentos balanceados para camarones peneidos*. Subprograma II Acuicultura red temática II. C. Proyecto II-8, 264.
- Guevara, W. N. (2003) *Formulación y elaboración de dietas para peces crustáceos*. Facultad de Ingeniería Pesquera, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman. Perú. 55 pp.

# Práctica VIII

## Evaluación de la atractabilidad de alimentos en langostinos

Cynthia Eugenia Montoya Martínez  
Cristian Daniel Carrillo Pérez

### Introducción

Para su alimentación, los langostinos se desplazan manteniendo las antenas en continuo movimiento, ya que tienen la capacidad de detectar a distancia (quimiorrecepción), buscar (atracción) y reconocer el alimento, a través de los quimiorreceptores de sus antenas y anténulas (Mendoza *et al.*, 1996).

Elaborar alimentos balanceados que sean atractantes, propiciaría que el langostino localice rápidamente el alimento, lo que permitiría minimizar el tiempo de búsqueda y maximizar la proporción de ingredientes ingeridos, con ello ayudando a reducir los costos, favorecer las tasas de conversión alimenticias, disminuyendo la lixiviación de los nutrientes y reduciendo el desperdicio de alimento, ya que la acumulación del alimento no consumido es causa de contaminación en el agua (Cruz-Suárez, 1996).

Siendo importante definir los niveles de atractabilidad de ingredientes o aditivos alimentarios, de tal forma que se tenga una dieta atractante y balanceada para cubrir las necesidades nutricionales de la especie, lo que contribuye a disminuir los costos de producción, evitando que parte del alimento ingerido no se destine a crecimiento, por su mala calidad y pase a ser desechado por el organismo (Vega-Villasante *et al.*, 2011).

### Objetivo

Conocer y practicar los conocimientos sobre la atractabilidad de alimentos para organismos acuáticos.

## **Materiales**

Acuario especial para evaluar atractabilidad  
Cámara de video  
Bombas de aireación  
Langostinos

## **Desarrollo**

### *Biometría, aclimatación y alimentación de los organismos*

Pesar y medir los organismos para seleccionar la talla con la que se trabajará. Durante quince días previos al inicio de los ensayos aclimatar los organismos con alimento balanceado comercial, en un horario y frecuencia de alimentación establecidos, retirar todos los días los restos de alimento no consumido.

### *Selección, y aclimatación de los organismos antes de los bioensayos*

Seleccionar los organismos en fase de intermuda y mantener en ayuno durante 24 horas a temperatura de 28°C.

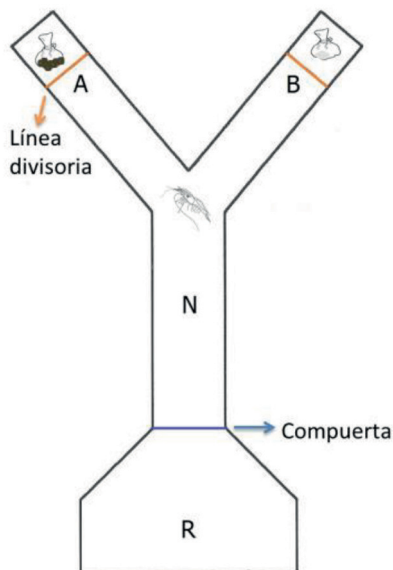
### *Experimentación*

El dispositivo consiste en un acuario especial en forma de “Y” (Fig. 25. Estanque en forma de “Y”). Instalar una cámara de video en la parte frontal del laberinto para registrar el movimiento de los organismos.

Una vez que el sistema de medición de atractabilidad está montado, colocar 10 langostinos en la región R del dispositivo para la aclimatación final, durante 40 minutos previos al inicio del experimento. Mantener los organismos con aireación, y colocar la compuerta para evitar que los organismos accedan a la zona N.

Para iniciar la prueba colocar en la posición de la región A el alimento a evaluar a razón del 4% de la biomasa de los langostinos y en la región B colocar gelatina como blanco, ambos dentro de una bolsita de tela y con aireación. Después de transcurridos 5 minutos quitar la aireación e iniciar la videograbación e inmediatamente después abrir la compuerta para permitir el acceso de los organismos (aclimatizados y en reposo) para su libre desplazamiento a la zona N y a las regiones

de prueba A y B durante 15 minutos. Realizar dos ensayos, uno con alimento comercial y otro con alimento a base de harina de soya.



**Fig. 25.** Estanque en forma de "Y".

### *Determinación de la atractabilidad*

Observar la videograbación y registrar los siguientes parámetros:

- Tiempo requerido para el ingreso del primer camarón a la región A y B.
- Número de camarones ingresados a los 5, 10 y 15 minutos, de acuerdo a la atractabilidad de los alimentos probados.

### **Cuestionario**

Entregar un informe con los resultados obtenidos.

### **Bibliografía citada**

Cruz-Suárez, L. E. (1996). *Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados*. Avances en Nutrición Acuícola III.

Memorias del 3er Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Nuevo León, 207-232.

Mendoza, R., Montemayor, J., Verde, J. y Aguilera, C. (1996). *Quimioatracción en crustáceos: papel de moléculas homólogas*. Avances en nutrición Acuícola III. Memorias del 3er. Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Monterrey, Nuevo León. 1-35 p.

Vega-Villasante, F., Espinosa-Chaurand, L. D., Yamasaki-Granados, S., Cortés-Jacinto, E., García-Guerrero, M., Cupul-Magaña, A., Nolasco, Soria, H. y Guzmán-Arroyo, M. (2011). *Acuicultura del langostino Macrobrachium tenellum*. Engorda en estanques semirrústicos. Editorial: Universidad de Guadalajara. 87 pp.

### **Bibliografía recomendada**

Nolasco, H. (2014). *Manual de atractabilidad de ingredientes y alimentos*. CIB-NOR, S.C. México. 31 pp.

# Práctica IX

## Producción de alimento vivo (*Artemia franciscana*)

Fernando Vega Villasate  
Itzel Manjarrez Alcívar  
Valeria Sarahi Ocaranza Joya

### Introducción

Por alimento vivo se conoce todo alimento conformado por organismos vivos (vgr. microalgas, rotíferos, copépodos, *Artemia franciscana*) (Vega-Villasante y Chong-Carrillo, 2006) que sea producido a través de técnicas de laboratorio y dirigido a la alimentación de los organismos acuáticos comerciales en sus etapas más tempranas o larvales (Lazo, 2000). Antes de comenzar la alimentación con alimentos balanceados artificiales, las larvas de la mayoría de las especies acuáticas comerciales deben ser nutridas con este tipo de alimento. Lo anterior debido a que sus sistemas digestivos y aparatos bucales no son aún aptos para la aprensión y digestión de los alimentos comerciales. Existen muchas especies de organismos dirigidos a estos fines, sin embargo, *Artemia franciscana* es la más popular y utilizada gracias a su particular característica de, cuando las condiciones ambientales no son propicias, genera quistes (embriones en diapausa) en lugar de larvas vivas (nauplios) (Dvorak, *et al.*, 2012). Los quistes pueden ser almacenados o empaquetados para su uso posterior, incluso años después de haber sido producidos (Soorgelos, *et al.*, 1978). Las condiciones de salinidad son un detalle importante para la eclosión de los embriones de *Artemia franciscana* a partir de los quistes (Soundarapandian y Saravanakumar, 2009).

### Objetivo

Aprender la técnica de producción de nauplios de *Artemia franciscana*.



## **Materiales**

0.1 g de quistes de *Artemia franciscana*

Sal marina artificial

Agua corriente

Alcohol

Eclosionador de quistes

Balanza digital

Conductímetro o refractómetro

Potenciómetro

Oxímetro

Termómetro

Bomba de acuario

Placas petri

Microscopio estéreo

## **Desarrollo**

El eclosionador de quistes de *Artemia franciscana* es un aparato que permite, gracias a su diseño, obtener nauplios de manera más eficiente que en un acuario convencional. La forma de pirámide invertida facilita la colecta de los nauplios recién eclosionados.

Para el funcionamiento del eclosionador y desarrollo de la práctica, llenar con agua reposada (15 litros) y llevar a una salinidad de 40 UPS agregando sales comerciales para elaborar agua de mar artificial y ajustar la salinidad con ayuda del refractómetro o conductímetro. Determinar el pH, oxígeno y temperatura.

Conectar el eclosionador a una bomba aireadora, utilizar una piedra difusora para garantizar una óptima oxigenación del agua. Colocar una lámpara de luz fría a un costado o arriba del eclosionador para favorecer la eclosión de los quistes. Si es necesario, colocar en el interior un calentador con termostato para mantener la temperatura del agua a 28°C. Una vez instalado todo el sistema determinar los mismos parámetros antes mencionados.

Pesar 0.1 g de quistes de *Artemia franciscana*, hidratarlos durante media hora y verterlos en el eclosionador. Pasadas 24 horas evaluar el porcentaje de eclosión a través del conteo de una muestra colectada con la ayuda de una lámpara. Los nauplios poseen fototropismo positivo por lo que son atraídos por la luz en el punto en que se coloque la fuente luminosa. Con una pipeta plástica desechable tomar 1 mL

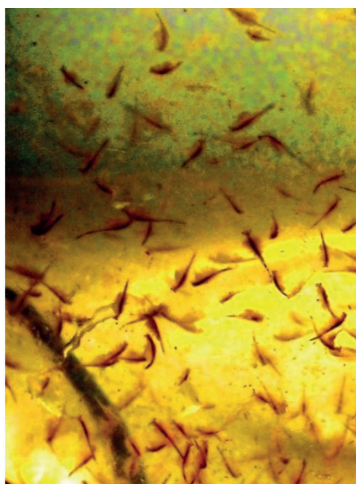
del cultivo y verterlo en una caja petri en la cual se ha agregado previamente 1 mL de etanol para inmovilizar a los nauplios y facilitar el conteo. Contar los nauplios en un microscopio estereo.



**Fig. 26.** Quistes de *Artemia franciscana* en proceso de hidratación.



**Fig. 27.** Eclosionador de quistes de *Artemia franciscana*.



**Fig. 28.** *Artemia franciscana* adulta dentro del eclosionador.

## Cuestionario

- ¿Para qué se hidratan los quistes?
- ¿Cuál fue el porcentaje de eclosión obtenido?
- ¿Cuáles son las alternativas de desarrollo del huevo?
- ¿Cuáles son los parámetros ambientales para la eclosión de quistes?

## **Bibliografía citada**

- Dvorak, P., Benova, K., y Vitek, J. (2012). Alternative biotest on *Artemia franciscana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51-74.
- Lazo, J. (2000). *Conocimiento actual y nuevas perspectivas en el desarrollo de dietas para larvas de peces marinos*. Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola, 19-22.
- Sorgeloos, P., Rémiche-Van Der Wielen, C., y Persoone, G. (1978). The use of *Artemia nauplii* for toxicity tests: a critical analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2(3-4), 249-255.
- Soundarapandian, P., y Saravanakumar, G. (2009). Effect of Different salinities on the survival and growth of *Artemia* spp. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 1(2), 20-22.
- Vega-Villasante, F. y Chong-Carrillo, O. (2006). *El Dicamaron. Diccionario de camaronicultura*. Universidad de Guadalajara y Universidad de La Habana. Segunda edición. 124 pp.

## **Bibliografía recomendada**

- Reeve, M. (1963). *Growth efficiency in Artemia under laboratory conditions*. *Biological Bulletin*, 124: 133-145.
- Sorgeloos, P. L., Leger, P., Tackaert, P. y Versichele, D. (1986). *Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura*. (No. F009. 105). FAO.

# Práctica X

## Producción de alimento vivo: cultivo de infusorios para su uso en acuicultura

Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta

### Introducción

El término “infusorios” se utiliza a menudo para incluir todas las formas de vida microscópica. Se estima que hay entre 2,000 y 3,000 especies diferentes en los infusorios, que incluyen, entre otros, los géneros *Paramecium*, *Bursaria*, *Blepharisma*, *Stylonychia*, *Spirostomum*, *Volvox*, *Stentor*, *Vorticella* y *Epistylis*.

El uso de infusorios es fundamental para la reproducción de algunas especies de peces ya que, por las dimensiones del alevín al eclosionar y consumir sus reservas en el saco vitelino, alrededor de 500  $\mu\text{m}$ , es necesario proveerle de alimento de alta calidad de dimensiones de entre 25 y 300  $\mu\text{m}$  que sea capaz de consumir, ya que en algunos casos el uso de los nauplios de *Artemia franciscana* no es el indicado porque resultan muy grandes (400 a 500 $\mu\text{m}$ ) (Das *et al.*, 2012).

Se presentan dos metodologías para la obtención del inóculo inicial, que podrá ser elegida en función de la disponibilidad de los materiales.

### Objetivo

Generar un infusorio para la alimentación de alevines.

### Materiales

Materiales comunes en las dos opciones  
Botellas de PET de dos litros

Botella de vidrio de cuello largo  
Microscopio óptico de alrededor de 20X  
Caja de plástico con tapa  
Trigo seco  
Levadura de cerveza para panadería en polvo  
Agua de la llave añejada o tratada con anticloro para acuario.  
Agua de la llave hervida  
Esponja para filtro de acuario

### *Opción 1*

Plantas acuáticas  
Corteza de árbol  
Estiércol de vaca  
Materia vegetal verde en descomposición

### *Opción 2*

Nabo deshidratado  
Esponja de filtro para pecera en uso (sucio)

## **Desarrollo**

### *Obtención del inóculo*

#### *Opción 1*

En una botella de PET de dos litros, colocar plantas acuáticas, corteza de árbol, estiércol de vaca y materia vegetal en descomposición. Rellenar con agua de la llave previamente declorada y dejar la botella en la penumbra por un lapso de 8 días.

#### *Opción 2*

Tomar la esponja del filtro de la pecera y la suciedad que esté contenida lavarla en aproximadamente un litro de agua sin cloro. Transferir el agua con la suciedad a una botella de 2 litros de PET, agregar de 2 a 3 g de nabo deshidratado y dejar en la botella por un lapso de 8 días en la penumbra.

Una vez transcurridos los 8 días, la botella de PET ya sea con la preparación de la opción 1 ó 2 deberá estar clarificada con materia orgánica asentada en el fondo y estar turbia de particulado. Al observar a contraluz la botella notar en ella partículas nadadoras, que son los protozoarios con tamaño de alrededor de 100µm.

Los infusorios obtenidos como se describe hasta aquí pueden ser utilizados para alimentar alevines; sin embargo, su calidad sanitaria puede ser dudosa ya que en el agua obtenida de la esponja del filtro de la pecera puede haber patógenos y más aún al agregar estiércol de vaca. Entonces el cultivo debe limpiarse.

### *Filtración del cultivo*

Colocar los infusorios obtenidos en el paso anterior en una botella de cuello largo y llenar hasta el inicio del cuello de la botella. Colocar un trozo de la esponja en el interior del cuello de la botella subsuperficialmente al agua de los infusorios, encima del filtro verter cuidadosamente el agua limpia hervida y reposar por un lapso de 1 a 2 horas. Los protozoarios ciliados, que son los nadadores más rápidos, principalmente los paramecios y los rotíferos nadarán a través de la esponja y llegarán al agua en el cuello de la botella buscando mejores condiciones del agua, principalmente mejores concentraciones de oxígeno disuelto. Colectar el agua del cuello de la botella y ésta constituye el inóculo para un cultivo semiestéril.

### *Medio de cultivo para infusorio de protozoarios*

Cocer 10 a 20 granos de trigo en dos litros de agua, enfriar y disolver bien aproximadamente 4 g de levadura (media cucharada).

Añadir el inóculo en la caja con el medio de cultivo, colocar la tapa de manera que permita el intercambio gaseoso con la atmósfera, y dejar crecer por cuatro días.

Para alimentar a los alevines, del cultivo semiestéril se toman 50 mL y limpiar con el mismo procedimiento que se obtuvo el inóculo.

Observar al microscopio tanto el cultivo inicial, el inóculo y los cultivos en estéril para corroborar la presencia de los protozoarios.

## **Cuestionario**

- ¿Qué tipos de protozoarios se distinguen en las observaciones en el microscopio?
- ¿Se encuentran rotíferos y paramecios, aproximadamente en qué proporción?
- ¿Se observan y se pudieron determinar otros tipos de protozoarios?
- ¿El cultivo semiestéril está enriquecido de paramecios y/o rotíferos?

## **Bibliografía citada**

Das, P., Mandal, S. C., Bhagabati, S. K., Akhtar, M. S., y Singh, S. K. (2012). *Important live food organisms and their role in aquaculture*. Frontiers in Aquaculture. Chapter: Important live food organisms and their role in aquaculture. Narendra Publishing House, New Delhi, 69-86.

## **Bibliografía recomendada**

Degani, G. (1990). Effect of diet, population density and temperature on growth of larvae and juveniles of *Trichogaster trichopterus* (Bloch & Schneider, 1801). *Journal of Aquaculture in the Tropics*, 5, 135.

Gupta, S. (2015). A note on feeding and reproductive biology of banded gourami, *Trichogaster fasciata* (Bloch & Schneider, 1801). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 5(4), 147-150.

# Práctica XI

## Bioensayo de la concentración letal media (CL50) sobre nauplios de *Artemia franciscana*

Luis Eduardo Ruiz González

### Introducción

No existe una línea clara para separar sustancias o productos que aportan efectos beneficiosos y los que son perjudiciales sobre un sistema biológico. En cambio, se puede decir que existen grados de nocividad y grados de inocuidad. En este sentido, Paracelso en el siglo XVI, mencionó que “Todas las cosas tienen veneno, y no hay nada que no lo tenga. Si una cosa es veneno o no, depende solamente de la dosis”.

En la búsqueda de conocer los diferentes grados de toxicidad, se realizan bioensayos que consisten en la exposición de un sistema biológico a un compuesto o sustancia y observar si tiene algún efecto sobre el mismo. Los datos se presentan en forma de una curva de dosis-respuesta en una gráfica. Esta gráfica presenta la dosis o concentración de la sustancia probada (variable independiente) en contraste el porcentaje de organismos que muestran la respuesta, que en toxicología suele ser la mortalidad (variable dependiente). Así mismo, la curva que se genera permite determinar la concentración de un compuesto que causa mortalidad del 50% en una población de organismos de prueba. Esto se llama Concentración letal media (CL50) (Finney, 1952; Randhawa, 2009).

En este tipo de estudios generalmente se utilizan organismos modelo, tales como el ratón de laboratorio *Mus musculus* (Linnaeus 1758), distintas especies de gusanos, larvas del mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), embriones de pollo *Gallus gallus domesticus* (Linnaeus 1758) y *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906), entre otras.

*Artemia franciscana* es un crustáceo branquiópodo de la familia *Artemiidae*, que se distribuye a lo largo del continente americano. Es un



filtrador no selectivo, por lo que se alimenta de partículas de materia orgánica disponibles en el medio. Es de reproducción ovovivípara, por lo que en condiciones normales las hembras depositan nauplios libres (estado larvario) y en condiciones no adecuadas para su desarrollo tiene la capacidad de producir en su lugar quistes (fase de latencia) (Sorgeloos *et al.*, 1986). Esta especie se desarrolla en agua de mar (34-55 UPS) (Soundarapandian y Saravanakumar, 2009).

Se ha sugerido el uso de *A. franciscana* como organismo modelo para pruebas de toxicidad (Michael *et al.*, 1956; Sorgeloos *et al.*, 1978). Se ha utilizado en la evaluación de la toxicidad de extractos de plantas (Fernández-Calienes *et al.*, 2009), detección de metabolitos fúngicos (Vega-Villasante *et al.*, 2013), citotoxicidad de productos naturales marinos y compuestos químicos como el dióxido de cloro en agua de mar (Carballo *et al.*, 2002; Puente *et al.*, 1992). La gran aplicación de *A. franciscana* es debida a su baja variabilidad genética, ciclo de vida corto, adaptabilidad a diferentes condiciones abióticas y fuentes nutricionales, y a la disponibilidad continua de quistes y organismos a bajo costo en comparación con otros organismos modelo (Nunes *et al.*, 2006).

## Objetivo

- Adquirir el conocimiento y las técnicas necesarias para:
- Determinar la CL50 para una amplia variedad de sustancias.
- Representar datos mediante el uso de gráficas.
- Leer y comprender una curva dosis-respuesta para determinar los niveles de toxicidad de diferentes sustancias.

## Materiales

Agua de mar (puede ser artificial)  
Nauplios de *A. franciscana*  
Pipetas automáticas  
Gradilla para tubos  
Tubos de ensayo  
Dicromato de potasio (DP)

## Desarrollo

### *Obtención de organismos*

Colocar quistes de *A. franciscana* (0.1 g) en 100 mL de agua de clorada para su hidratación durante 5 min. Trasladar los quistes a un recipiente con 1 L de agua de mar ajustada a 40 UPS, con aireación e iluminación constante. Después de 24 h cosechar los nauplios.



**Fig. 29.** Quistes de *Artemia franciscana* en proceso de eclosión.



**Fig. 30.** Nauplio de *Artemia franciscana*.

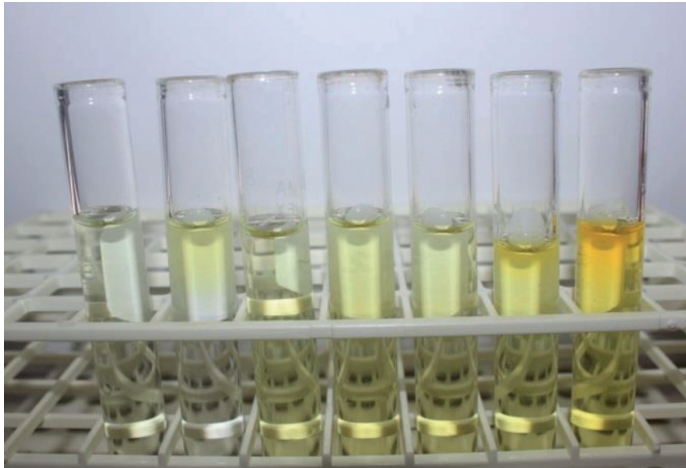
### *Concentraciones a evaluar*

De la solución madre del DP realizar diluciones en agua de mar ajustada a 40 UPS, con el fin de obtener concentraciones de 1000, 500, 250, 100, 50 y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Como testigo negativo solo utilizar agua de mar.

### *Bioensayo*

Introducir 10 organismos de *A. franciscana* por tubo de ensayo en un volumen de 5 mL de las diferentes concentraciones del DP, por triplicado.

Contar los organismos muertos al término de 24 h de exposición. Únicamente considerar “muertos” aquellos nauplios que no presentan movimiento de sus apéndices durante 10 segundos.



**Fig. 31.** Concentraciones a evaluar.

### *Análisis*

Calcular la concentración letal media (CL50) a través del análisis Probit (Finey, 1952), mediante los siguientes cuadros (Tomados de Randhawa, 2009):

Con los datos obtenidos del bioensayo transformar los porcentajes de mortalidad a números Probit (Tabla 1). Posteriormente con los números Probit realizar una gráfica de dispersión donde los números Probit son la variable dependiente y las concentraciones utilizadas (transformadas en logaritmo natural) son las variables independientes. Después, hacer un análisis de regresión lineal.

La CL50 corresponde al punto de intersección donde convergen el valor 5 de los números Probit y la pendiente resultante del análisis de regresión.

**Tabla 1.** Transformación del porcentaje de mortalidad a números Probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

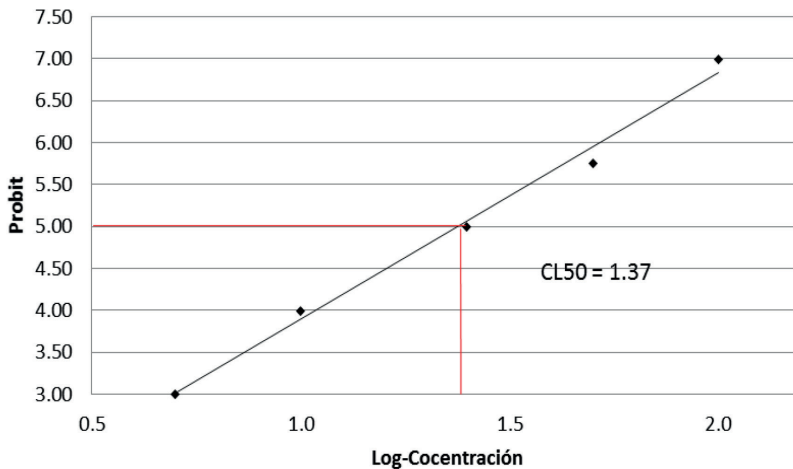


Fig. 32. Ejemplo de la obtención de la CL50 en una gráfica de dosis–respuesta.

### Cuestionario

- ¿Cuál es el significado de una CL50 con un valor alto y una con valor bajo?
- ¿Qué utilidad se encuentra a este tipo de ensayos?
- ¿Los resultados son extrapolables a cualquier organismo?
- ¿Qué otras sustancias puedes evaluar con este método?

### Bibliografía citada

- Carballo, J. L., Hernández-Inda, Z. L., Pérez, P. y García-Grávalos, M. D. (2002). A comparison between two brine shrimp assays to detect in vitro cytotoxicity in marine natural products. *BMC Biotechnology*, 2(1), 1.
- Fernández-Calienes Valdés, A., Mendiola-Martínez, J., Monzote Fidalgo, L., García Parra, M., Sariego Ramos, I., Acuña Rodríguez, D., Scull Lizama, R. y Gutiérrez Gaitén, Y. (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos

- de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254–258.
- Finney, D. J. (1952). Review of Probit Analysis. 2da Ed. *Journal of the Institute of Actuaries* (1886-1994), 78(3), 338-390.
- Michael, A. S., Thompson, C. G. y Abramovitz, M. (1956). *Artemia salina* as a Test Organism for Bioassay. *Science*, 123(3194), 464-464.
- Nunes, B. S., Carvalho, F. D., Guilhermino, L. M. y Van Stappen, G. (2006). Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. *Environmental Pollution*. 144(2), 453–462.
- Puente, M. E., Vega-Villasante, F., Holguín, G. y Bashan, Y. (1992). Susceptibility of the brine shrimp *Artemia* and its pathogen *Vibrio parahaemolyticus* to chlorine dioxide in contaminated sea-water. *Journal of Applied Bacteriology*, 73(6), 465–471.
- Randhawa, M. A. (2009). Calculation of LD50 values from the method of Miller and Tainter, 1944. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 21(3), 184–185.
- Sorgeloos, P., Rémiche-Van Der Wielen, C. y Persoone, G. (1978). The use of *Artemia* nauplii for toxicity test, a critical analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2(3-4), 249–255.
- Sorgeloos, P. L., Leger, P., Tackaert, P. y Versichele, D. (1986). *Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura*. (No. F009. 105). FAO.
- Soundarapandian, P., y Saravanakumar, G. (2009). Effect of Different salinities on the survival and growth of *Artemia* spp. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 1(2), 20-22.
- Vega-Villasante, F., Ruiz-González, L. E., Guerrero-Galván, S. R., Guzmán-Dávalos, L. (2013). Evaluación de la toxicidad de *Psilocybe cubensis* (Agaricales, Basidiomycota) sobre *Artemia franciscana* (Crustacea, Anostraca). *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 54–56.

## Bibliografía recomendada

- Libralato, G., Prato, E., Migliore, L., Cicero, A. M. y Manfra, L. (2016). A review of toxicity testing protocols and endpoints with *Artemia* spp. *Ecological Indicators*, 69,35–49.
- Manfra, L., Canepa, S., Piazza, V. y Faimali, M. (2016). Lethal and sublethal endpoints observed for *Artemia* exposed to two reference toxicants and an ecotoxicological concern organic compound. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 123, 60–64.

# Práctica XII

## Anestesia en crustáceos

*Martín Alonso Aréchiga Palomera*

### Introducción

Los investigadores que trabajaban con invertebrados realizaban procedimientos sin anestesia o solo usaban la hipotermia. Estas actividades probablemente no llevaban a una buena técnica experimental o a resultados científicos precisos (Cooper, 2011).

Por lo anterior, se han realizado trabajos relacionados a la aplicación de anestésicos para mitigar el estrés en las labores acuícolas y de investigación. En la acuicultura, los anestésicos son empleados en el transporte para prevenir el daño físico y reducir el metabolismo de los organismos. También son utilizados para inmovilizar a los organismos con la finalidad de que puedan ser manejados con mayor facilidad durante el muestreo (Coyle *et al.*, 2004).

Esto facilita la toma de muestras o permite un adecuado procedimiento que pueda ser estresante o doloroso (Cooper, 2011). Hay poco conocimiento sobre anestesia y analgesia en el grupo de los invertebrados, por lo que es necesaria la generación de conocimiento que proporcione una visión general sobre el uso de anestésicos en varias especies de invertebrados, enfatizando la importancia de desarrollar más investigación para elevar la comprensión y mejorar el uso de anestésicos y drogas en diferentes especies (Lewbart y Mosley, 2012).

La respuesta animal a los estímulos mecánicos, químicos y eléctricos se ha observado por comportamientos de escape. La respuesta de escape disminuye cuando un anestésico es empleado. Sin embargo, no está claro si la disminución de la respuesta se debe a la analgesia, la relajación muscular o la sedación.

Hasta que las preguntas sobre el dolor en invertebrados sean contestadas, un analgésico puede ser administrado para cualquier animal que esté expuesto a un procedimiento doloroso o estresante, si se considera que algunas de las drogas utilizadas para los invertebrados pue-

dan tener propiedades de relajación muscular y falta de eficacia anestésica (Lewbart y Mosley, 2012).

Por lo ya mencionado, es de suma importancia el estudio y la búsqueda de anestésicos que ayuden a reducir el estrés y las mortalidades durante el manejo de crustáceos como lo es el langostino de río *Macrobrachium tenellum*, una especie de importancia alimenticia en esta región.

## **Objetivo**

Conocer la importancia del uso de los anestésicos en la acuicultura de crustáceos.

## **Materiales**

Cronómetro

Pipeta 1 mL

Guantes

Vernier

Balanza digital

Acuario 40 L con aireadores y termostatos

Eugenol (aceite esencial de clavo)

Etanol al 70%

30 organismos de *Macrobrachium tenellum*

## **Desarrollo**

Realizar biometrías a todos los animales asegurándose de que todos los organismos tengan el peso y talla similar.

Diluir el eugenol (aceite de clavo) en proporción 1:2 en etanol al 70%. Para evaluar la anestesia en langostinos, utilizar tres concentraciones: 300, 600 y 900  $\mu\text{L}/\text{L}$  de eugenol en acuarios con 10 L de agua declorada. 10 langostinos por concentración. Todos los acuarios deberán estar con aireación constante y a una temperatura de 28°C.

Una vez colocados los organismos en los acuarios, registrar el comportamiento de cada animal, así como el tiempo y el nivel o estadio de anestesia en la que se encuentre cada uno. Los estadios anestésicos se detallan en la siguiente tabla:

**Tabla 2.** Estadios de inducción de la anestesia en langostinos del género *Macrobrachium*

Valor	Características
1	Respuesta al estímulo táctil
2	Pérdida Parcial del equilibrio y de la respuesta táctil
3	Pérdida del equilibrio y de la respuesta la estímulo táctil
4	Muerte

Tabla modificada de Coyle *et al.*, 2004.

Trasladar los organismos que presenten el estadio 3 de inducción de anestesia, a otros acuarios con aireación, libres de anestesia para su recuperación:

**Tabla 3.** Estadios de recuperación de la anestesia en los organismos del género *Macrobrachium*

Valor	Características
1	Pérdida del equilibrio y de la respuesta la estímulo táctil
2	Pérdida Parcial del equilibrio y de la respuesta táctil
3	Respuesta al estímulo táctil (recuperación Total)

Tabla modificada de Coyle *et al.*, 2004.

Registrar el comportamiento de cada animal, así como el tiempo y el estadio de recuperación en la que se encuentre cada uno. Promediar los tiempos de inducción y recuperación de anestesia y presentar en gráficas por tratamiento (concentración de anestesia).

### Cuestionario

- Respecto al trabajo realizado con anestesia en *Macrobrachium rosenbergii* por Coyle *et al.*, 2004, ¿qué resultados y cuáles no coinciden con los de la presente práctica?
- ¿Qué tipo de anestésico es el eugenol y cuál sería su mecanismo de acción en los langostinos?
- Referente al manejo y/o a los procedimientos quirúrgicos que se hacen en laboratorio en los organismos, ¿los crustáceos sienten dolor? Justifique su respuesta.



- Describir la importancia del uso de los anestésicos en la acuicultura y qué concentración, de las utilizadas en la presente práctica, utilizarían para anestésicar a peces y/o langostinos.

### **Bibliografía citada**

- Cooper, J. E. (2011). Anesthesia, analgesia, and euthanasia of invertebrates. *ILAR Journal*, 52(2), 196-204.
- Coyle, S. D., Durborow, R. M., y Tidwell, J. H. (2004). *Anesthetics in aquaculture* (No. 3900). Publication 3900, Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center. 6 pp.
- Lewbart, G. A. y Mosley, C. (2012). Clinical anesthesia and analgesia in invertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21 (1), 59-70.

### **Bibliografía recomendada**

- Coyle, S. D., Dasgupta, S., Tidwell, J. H., Beavers, T., Bright, L. A., y Yasharian, D. K. (2005). Comparative efficacy of anesthetics for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36(3), 282–290.

# Práctica XIII

## Anestesia en peces

*Óscar Basilio Del Rio Zaragoza*

### Introducción

La anestesia puede definirse como la acción de las sustancias para reducir temporalmente la sensibilidad y reflejos de los individuos y se utiliza en la acuicultura como una herramienta para la manipulación de peces en operaciones rutinarias como captura, transporte, clasificación, marcado, muestreos, obtención de muestras biológicas como la extracción de sangre y de gametos, cirugía, inducción hormonal de la puesta, ya que ayuda a inmovilizarlos, se reduce el estrés y las altas mortalidades en los peces. El MS-222 (metanosulfonato de triclaína, anestésico efectivo en peces) y el aceite de clavo son de los pocos anestésicos autorizados legalmente, para su uso en la acuicultura, ya que están aprobados por la FDA (Food and Drug Administration of USA) (Schnick *et al.*, 1986). Los efectos del MS-222 y el aceite de clavo son similares a los reportados en otros anestésicos; tales como; la benzocaína, 2-fenoxyetanol, tetracaína y lidocaína (Anderson *et al.*, 1997).

### Objetivo

Conocer la importancia del uso de los anestésicos en la acuicultura de peces.

### Materiales y Reactivos

Redes de cuchara o atarraya  
2 cubetas de 20 L  
Pipetas de 10 mL  
lctiómetro

12 cubetas de 5 L  
Balanza granataria  
Bombas portátiles y piedras de aireación  
Guantes de látex  
Cronómetro  
MS-222  
Aceite de clavo

## Desarrollo

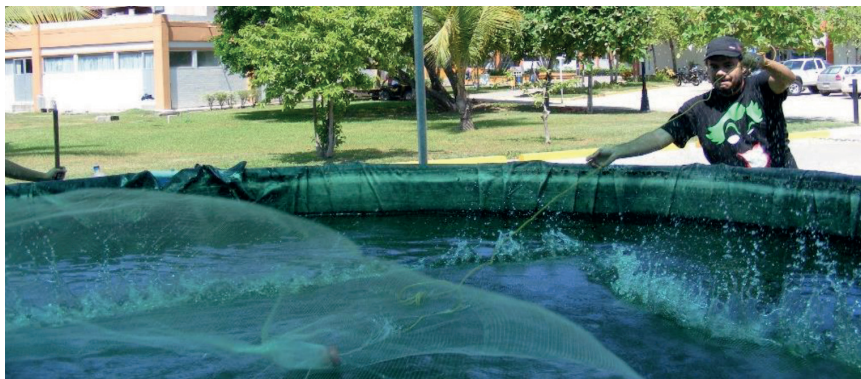
Preparar en los acuarios una solución con MS-222 y aceite de clavo a 50, 150 y 300 mg/L. Capturar los peces con ayuda de una red de cuchara o atarraya. Inmediatamente después de ser capturados los peces, colocar un organismo en cada una de las soluciones que contiene MS-222 y aceite de clavo (Fig. 33).

Registrar el tiempo de cuándo se presentan las fases de anestesia en el organismo.

Etapas de la anestesia: (Fig. 34)

- a) Hiperexcitabilidad (Aumento de actividad, nado errático e incremento de la respiración).
- b) Sedación (Nado lento y pérdida de reacción).
- c) Anestesia (Pérdida del equilibrio y respiración superficial).

Cuando el pez pierda el equilibrio, retirarlo del anestésico y colocarlo en otro recipiente libre de anestésico. Registrar el tiempo de recuperación del anestésico, que será cuando el pez recupere el equilibrio y nade de forma natural (Fig. 35).



**Fig. 33.** Captura de peces con atarraya.



**Fig. 34.** Etapas de la anestesia en peces: a) hiperexcitabilidad, b) sedación y c) anestesia.



**Fig. 35.** Peces que se han recuperado de la anestesia.

## Cuestionario

- Observar, anotar y graficar los tiempos de acuerdo al comportamiento de los peces que caracterizan las fases de la anestesia y de la recuperación.
- ¿Cuál considera el mejor anestésico, y en qué concentración lo utilizaría? Argumentar con base en el tiempo en que se desarrollan las etapas de la anestesia y la recuperación.
- Mencionar las características que debe tener un buen anestésico.
- ¿Qué factores ambientales y biológicos pueden alterar el efecto de un anestésico? Argumente su respuesta.
- ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de los anestésicos sintéticos y naturales?

## Bibliografía citada

- Anderson, W. G., McKinley, R. S., y Colavecchia, M. (1997). The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17(2), 301-307.
- Schnick, R. A., Meyer, F. P., y Walsh, D. F. (1986). Status of fishery chemicals in 1985. *The Progressive Fish-Culturist*, 48(1), 1-17.

## Bibliografía recomendada

- Neiffer, D. L. y Stamper, M. A. (2009). Fish sedation, anesthesia, analgesia and euthanasia: considerations, methods and types of drugs. *ILAR journal* 50(4): 343-360.
- Stoskopf, M. K. (1993). *Fish medicine*. W.B. Saunders Company. 79-91.

# Práctica XIV

## Modelo de Matiz, Saturación y Brillantez (HSB), para el análisis de la pigmentación

*Cynthia Eugenia Montoya Martínez  
Martín Alonso Aréchiga Palomera  
Gloria Lisbet Gil Ramos  
Karen Noemi Nieves Rodríguez*

### Introducción

Los pigmentos en los organismos tienen la función primaria de colorear, sin embargo, también tienen efectos sobre el estado de salud y desarrollo de los organismos, ya que cumplen funciones como antioxidantes, promueven la respuesta inmune, la reproducción, el crecimiento, la maduración, y la fotoprotección, así mismo mejoran la tolerancia en entornos con altos niveles de amoníaco y bajos niveles de oxígeno (Aréchiga *et al.*, 2015). Además, los cambios en el tono del color o el patrón son cruciales para la adaptación de los animales acuáticos a su entorno. Algunas especies de peces podrían camuflarse para evitar el ataque de los depredadores o el color llamativo podría utilizarlo para asustar a los depredadores.

Utilizando una cámara digital se tiene la posibilidad de procesar imágenes con ayuda de un ordenador, obteniendo estimaciones más objetivas de los colores con la ayuda de software. Existen muchos modelos de color diferentes, cada uno utiliza un sistema de coordenadas en 3D para identificar los colores individuales de forma única.

El modelo de color matiz-saturación-brillantez (HSB por sus siglas en inglés) es una representación matemática del color, de una forma similar a como el ojo humano percibe el color (Georgieva *et al.*, 2005). El modelo HSB (Fig. 35) fracciona el color en tres componentes:

*Matiz* es el color puro, reflejado o transmitido a través de un objeto y se cuantifica como una posición en la rueda de colores estándar y se expresa en grados, entre 0° y 360°.

*Saturación*, también denominada cromatismo, es la fuerza o pureza del color, la saturación representa la cantidad de gris que existe en proporción al tono y se mide como porcentaje comprendido entre 0% (gris) y 100% (saturación completa).

En la rueda de colores estándar, la saturación aumenta a medida que nos aproximamos al borde de la misma y disminuye a medida que nos acercamos al centro.

*Brillantez* es la luminosidad u oscuridad relativa del color y se suele medir como un porcentaje comprendido entre 0% (negro) y 100% (blanco).

## **Objetivo**

Aprender el manejo del software para la evaluación de la coloración de organismos acuáticos.

## **Materiales**

Cámara fotográfica  
Computadora  
Software Adobe PhotoShop®  
Organismos acuáticos

## **Desarrollo**

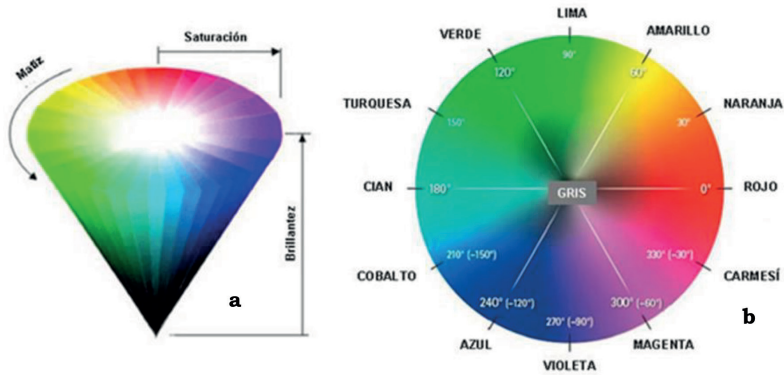
Tomar fotografías de los organismos en regiones específicas y bajo la misma intensidad de luz y color de fondo. Analizar las fotografías con el programa Adobe Photoshop® para determinar la intensidad de color de la siguiente forma.

Una vez abierto el programa Adobe Photoshop CS3® elegir la fotografía a evaluar con el comando Ctrl + O.

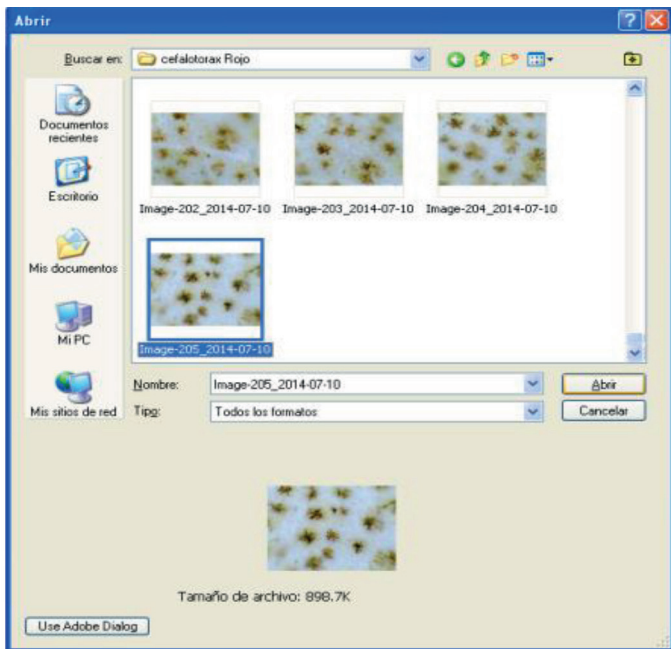
Cargada la imagen en el programa, seleccionar con la herramienta *cuentagotas* el número de píxeles que se quieren evaluar. Se recomienda utilizar el tamaño de muestra 11 x 11 píxeles, esto quiere decir que el *cuentagotas* arrojará como resultado el promedio del color de esos píxeles seleccionados.

Nota: con la herramienta de *pincel* se visualiza el área en píxeles que el *cuentagotas* toma de la imagen.

Una vez seleccionada el área para analizar, el programa mostrará un recuadro de los datos de color de donde se van a extraer los datos de H, S y B. Para analizar otra área de la fotografía, simplemente arrastrar el recuadro y seleccionar con la herramienta de *cuentagotas*.



**Fig. 36.** Modelo para ilustrar la relación de Matiz, Saturación y Brillantez (HSB), como un cono con vista lateral (a) y vista superior (b).



**Fig. 37.** Selección de imagen a evaluar.





Fig. 38. Imagen cargada en el programa.

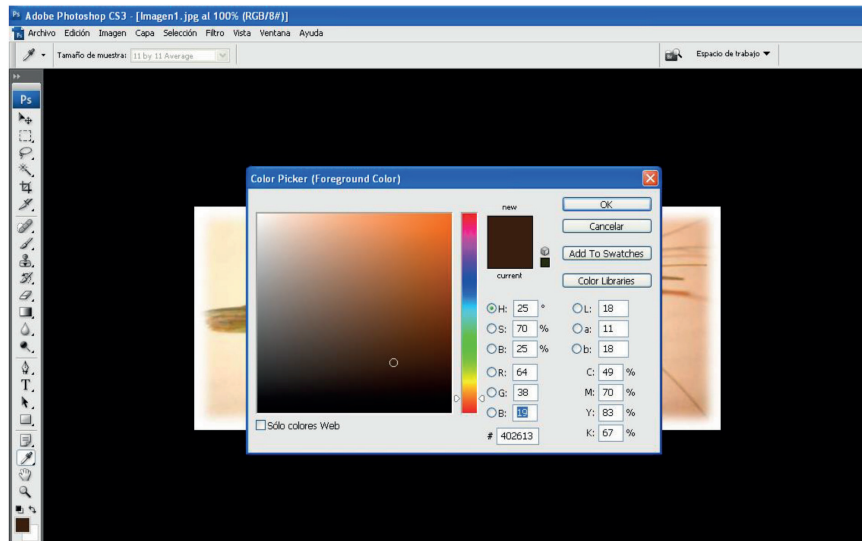


Fig. 39. Selección del área para analizar de la imagen.

## Cuestionario

- Realizar un reporte con la comparación de 5 imágenes del mismo organismo, con una diferencia de toma de una semana entre una fotografía y otra.

- Utilizando la alimentación experimental, registrar los valores obtenidos de HSB y argumentar los cambios observados.

### **Bibliografía citada**

- Aréchiga, P. M., Moreno, L. A., Gil, R. G., Montoya, M. C., Chong, C. O., Vargas, C. M. y Vega, V. F. (2015). Inclusión de *Hibiscus sabdariffa* en alimentos experimentales para *Macrobrachium tenellum*: efectos en la pigmentación, crecimiento y supervivencia. *e-Gnosis*, 13.
- Georgieva, L., Dimitrova, T., y Angelov, N. (2005). RGB and HSV colour models in colour identification of digital traumas images. *In International Conference on Computer Systems and Technologies*. (Vol. 12, No. 1). 25-45.

### **Bibliografía recomendada**

- Kouba, A., Sales, J., Sergejevová, M., Kozák, P., y Masojídek, J. (2013). Colour intensity in angelfish (*Pterophyllum scalare*) as influenced by dietary microalgae addition. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(1), 193-199.
- Urban, J., Štys, D., Sergejevová, M., y Masojídek, J. (2013). Expertomica Fishgui: comparison of fish skin colour. *Journal of Applied Ichthyology*, 29(1), 172-180.

# Práctica XV

## Efecto del color de fondo sobre la pigmentación de crustáceos

*Martín Alonso Aréchiga Palomera*  
*Fernando Vega Villasante*

### Introducción

Los cromatóforos de los crustáceos poseen las funciones de fotoprotección, cripsis y/o termoregulación. En la fotoprotección, los cromatóforos son utilizados como escudos para proteger a los órganos del animal contra la radiación (Auerwald *et al.* 2008). La cripsis es un tipo de camuflaje donde el organismo se mezcla en el color de fondo y reduce el riesgo de ser detectado por un depredador. Esto se logra haciendo coincidir el color del cuerpo al color de fondo o utilizando patrones de color ofensivos que rompen el contorno del cuerpo y crea falsas líneas (Merilaita, 1998).

La adaptación al color de fondo ha sido encontrada en varias especies de crustáceos y representa uno de los mecanismos más comunes de cripsis. Un ejemplo de cripsis se ve en el anfípodo *Apherusa glacialis*, que posee la adaptación a diferentes colores de fondo y puede prevenir la detección de depredadores visuales como el bacalao polar (*Boreogadus saida*), por lo que hace que la cripsis sea una ventaja razonable en el cambio de color en *Apherusa glacialis* (Fuhrmann *et al.*, 2011).

La colorimetría normalmente es utilizada para medir los colores de las pinturas y plásticos. También son utilizadas en la comida y en la industria ganadera para cuantificar los atributos de la calidad de la carne. La colorimetría proporciona medidas reales y objetivas del color. Las investigaciones que han utilizado colorimetría para cuantificar el color en camarones crudos y cocidos han encontrado que los camarones que han sido criados sobre sustrato blanco o negro, exhibieron una coloración diferente (Wade, 2013).

## Objetivo

Conocer la fisiología del color en crustáceos.

## Materiales

Acuarios de 30 L con aireación.  
Películas plásticas color blanco y negro.  
Microscopio óptico con cámara.  
12 langostinos (de talla y peso similar)

## Desarrollo

Distribuir al azar 6 langostinos, por separado, en acuarios de 30 L cubiertos por todos los lados con películas plásticas de color negro y 6 langostinos en acuarios con películas plásticas de color blanco. Mantener a los organismos en sus respectivos acuarios durante 14 días alimentándolos con el 10 % de su peso.

Cumplidos los 14 días, fotografiar a todos los organismos. El tiempo de fotografía (ver práctica V Fotografía y video de organismos en laboratorio en la página 17) no tiene que exceder los 3 minutos debido a la plasticidad de los cromatóforos.

Seleccionar 3 langostinos de fondo negro y 3 del fondo blanco, observar bajo el microscopio los cromatóforos del segundo segmento abdominal y/o urópodos. Se sugiere anestésiar a los langostinos con aceite de clavo para un mejor manejo (ver práctica XII Anestesia en crustáceos en la página 36) y para no ensuciar los objetivos del microscopio.

Tomar microfotografías de los cromatóforos, contar el número de cromatóforos del campo microscópico tomado de cada organismo e identificar el tipo de cromatóforo.

Los cromatóforos se nombran de acuerdo al pigmento presente en estos: cianóforos (azul), eritróforos (rojo), iridóforos (iridiscente), leucóforos (blanco), melanóforos (negro/marrón) y xantóforos (amarillo).

Además, analizar el desarrollo de los cromatóforos donde se le asigna un valor de 1 al pigmento máximo concentrado y 5 al pigmento máximo dispersado (índice de Hogben y Slome, 1931).

Para visualizar el efecto del color de fondo sobre la pigmentación de los organismos, realizar una evaluación cuantitativa del color con el programa Adobe Photoshop ® donde se toman datos de matiz, saturación y brillantez (ver práctica XIV Modelo de Matiz, Saturación y Brillantez (HSB), para el análisis de la pigmentación en la página 42).

Someter a un análisis estadístico los datos del número de cromatóforos, del índice de cromatóforos y de matiz, saturación y brillantez para probar diferencias entre tratamientos.



**Fig. 40.** Ejemplares de *Macrobrachium tenellum* mantenidos en fondo blanco (derecha) y fondo negro (izquierda).

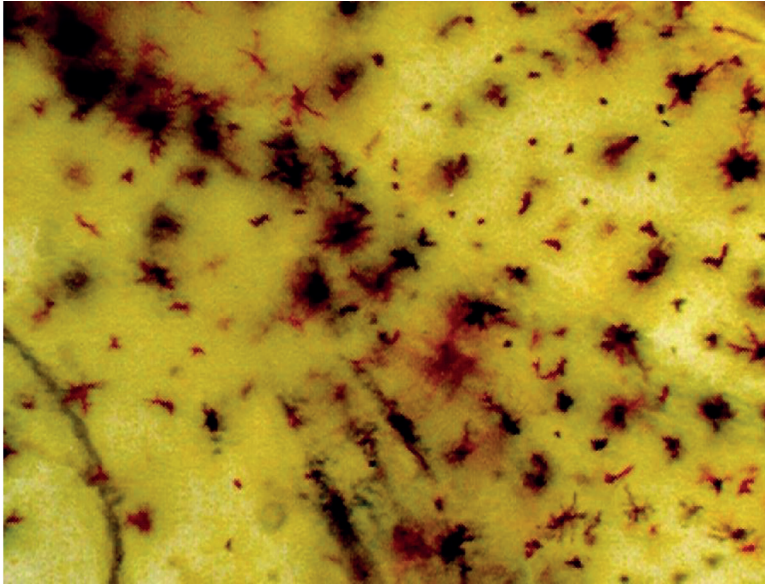


Fig. 41. Cromatóforos de *Macrobrachium tenellum* en diferentes estadios de desarrollo.

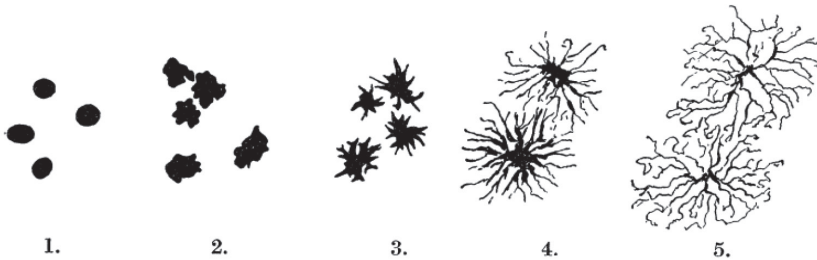


Fig. 42. Índice de cromatóforos (Hogben y Slome, 1931).

### Cuestionario

- Entregar un reporte que describa la importancia del color en organismos acuiculturales, detalle y discutir los resultados observados en el cambio de color (si los hay) bajo dos fondos distintos.
- Realizar conclusiones sobre cuál color de fondo se utilizaría para mantener el color silvestre en una producción de estos langostinos.

## Bibliografía citada

- Auerswald, L., Freier, U., Lopata, A. y Meyer, M. (2008). Physiological and morphological colour change in Antarctic krill, *Euphausia superba*: a field study in the Lazarev Sea. *Journal of Experimental Biology*, 211(24), 3850–3858.
- Fuhrmann, M. M., Nygard, H., Krapp, R. H., Berge, J., y Werner, I. (2011). The adaptive significance of chromatophores in the Arctic under-ice amphipod *Apherusa glacialis*. *Polar Biology*, 34(6), 823–832.
- Hogben, L. y Slome, D. (1931). The pigmentary effector system. VI. The dual character of endocrine coordination in amphibian colour change. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 108(755), 10–53.
- Merilaita, S. (1998). Crypsis through disruptive coloration in an isopod. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 265(1401), 1059–1064.
- Wade, M. N. (2013). Mechanisms of shrimp: coloration colorimeters evaluate shrimp raised on colored substrates. *Global aquaculture advocate*, January/February, 54-56.

## Bibliografía recomendada

- Parisenti, J., Beirao, L. H., Mouriño, J. L., Vieira, F., Buglione, C. C. y Maraschim, M. (2011). Effect of background color on shrimp pigmentation. *Boletim do Instituto de Pesca*, 37(2), 177-182.

# Práctica XVI

## Pigmentación en peces teleósteos

*Karen Noemi Nieves Rodríguez  
Fernando Vega Villasante*

### Introducción

Los mecanismos responsables de la manifestación de colores en peces son similares a los encontrados en organismos terrestres, es decir, los cambios de color en el tegumento de los organismos se producen por la activación o modificación de células especiales ubicadas en la dermis del animal denominadas cromatóforos (Lagler *et al.*, 1990; Fujii, 1993).

En los peces podemos encontrar al menos cinco tipos de cromatóforos: melanóforos (negro o marrón), xantóforos (ocre o amarillo), eritróforos (rojo), leucóforos (blanquecinos), y los iridóforos (metálico o iridiscente). Recientemente se ha descubierto que en peces también se pueden observar cromatóforos azules llamados cianóforos. La combinación de varios tipos de cromatóforos hace posible las diferentes tonalidades en ciertas regiones del tegumento permitiendo a los animales adaptarse a las condiciones ambientales para su supervivencia (Fujii, 2000).

Una de las técnicas utilizadas para medir con mayor precisión el estado de los cromatóforos es mediante la evaluación del índice de cromatóforos propuesto por Hogben y Slome (1931), en donde símbolos numéricos arbitrarios han sido aplicados a cinco etapas de la contracción y la expansión del pigmento en los cromatóforos (Fig. 42), en consecuencia, se le asigna un número a cada uno de los cromatóforos a evaluar, dependiendo de las ramificaciones que presente.

La fisiología de los peces puede ser afectada por el color de fondo de los cuerpos de agua en que viven, algunos efectos del color del medio ambiente sobre los peces han demostrado que pueden modular la alimentación, el crecimiento, la reproducción, la determinación del sexo, conducta, malformaciones de la mandíbula larval y la respuesta al estrés (Imanpoor y Abdollahi, 2011).



Otros estudios demuestran que algunos peces presentan una mayor pigmentación como respuesta al efecto del color de fondo que por el efecto de la luz del tanque (Mesa y Schreck, 1989).

## **Objetivo**

Identificar los diferentes tipos de cromatóforos, evaluar la expresión y el desarrollo de cromatóforos en peces (carpa koi).

## **Materiales**

Acuarios de 40 L con aireación.

Película plástica en color negro y blanco.

12 crías de carpa koi (de talla y peso similar).

Microscopio óptico con cámara.

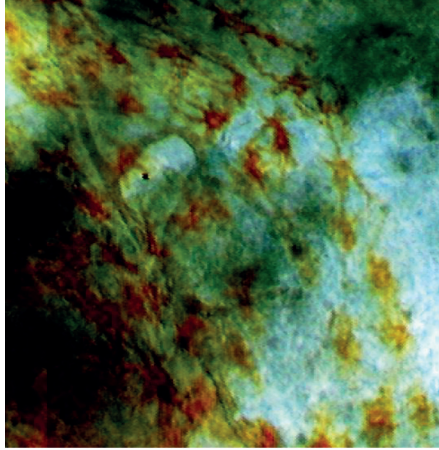
## **Desarrollo**

Modificar el fondo de los acuarios recubriéndolos con películas plásticas de color negro y blanco. Distribuir al azar 6 carpas en cada acuario y mantener a los organismos en sus respectivos acuarios durante 14 días alimentándolos al 10% de su peso.

Cumplidos los 14 días, seleccionar 3 peces del fondo negro y 3 del fondo blanco, anestésiar los organismos para ser observados bajo el microscopio (ver práctica XIII Anestesia en peces en la página 39).

Fotografiar la zona de la aleta caudal de cada organismo (ver práctica V Fotografía y video de organismos en laboratorio en la página 17), la toma de fotografías no debe exceder los 3 minutos. De cada fotografía tomada, identificar el tipo de cromatóforo presente en los organismos (melanóforos, xantóforos, eritróforos, iridóforos, leucóforos y cianóforos).

Contar el número de cromatóforos del campo microscópico tomado de cada organismo, y analizar el desarrollo de los cromatóforos asignándoles un valor, 1 al pigmento máximo concentrado y 5 al pigmento máximo dispersado.



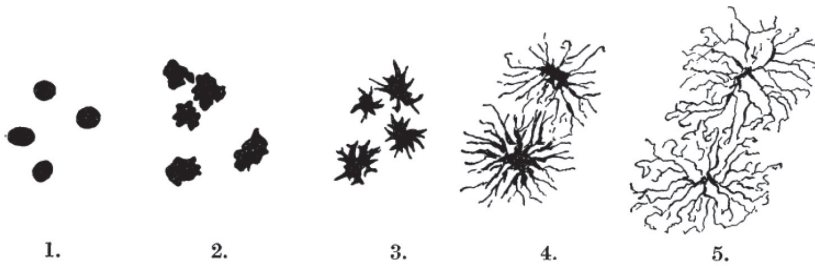
**Fig. 43.** Cromatóforos en la región cefálica de carpa koi.



**Fig. 44.** Cría de carpa mantenida en color de fondo blanco.



**Fig. 45.** Cría de carpa mantenida en color de fondo negro.



**Fig. 46.** Índice de cromatóforos (Hogben y Slome, 1931).

## Cuestionario

Presentar un reporte que describa la importancia del color en organismos acuiculturales, detalla y discutir los resultados observados en la expresión de cromatóforos (si los hay) bajo los distintos fondos.

Concluir sobre cuál color de fondo se utilizaría para mantener el color silvestre en una producción de peces con potencial ornamental.

## Bibliografía citada

- Fujii, R. (1993). *Coloration and chromatophores. The physiology of fishes*. Academic Press, New York. EUA. 535-562.
- Fujii, R. (2000). The Regulation of motile activity in fish chromatophores. *Pigment Cell Research*, 13(5), 300–319.
- Hogben, L. y Slome, D. (1931). The pigmentary effector system. VI. The dual character of endocrine coordination in amphibian colour change. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 108(755), 10–53.
- Imanpoor, M. R. y Abdollahi, M. (2011). Effects of tank color on growth, stress response and skin color of juvenile Caspian kutum *Rutilus frisii kutum*. *Global Veterinaria*, 6, 118-125.
- Lagler, K., Bardach, J., Millers, R. y Passino, D. M. (1990). *Ictiología*. AGT. México: 489 pp.
- Mesa, M. G. y Schreck, C. B. (1989). Electrofishing mark-recapture and depletion methodologies evoke behavioral and physiological changes in cutthroat trout. *Transactions of the American Fisheries Society*, 118(6), 644-658.

## Bibliografía recomendada

- Diler I. y Dilek K. (2002). Significance of pigmentation and use in aquaculture. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2(1), 97-99.

# Práctica XVII

## Control biológico de larvas de mosquitos con especies acuáticas

*Juan Diego Galaviz Parada  
Fabio Germán Cupul Magaña  
Manuel Alejandro Vargas Ceballos  
Luis Eduardo Ruiz González  
Fernando Vega Villasante*

### Introducción

Algunas especies de mosquitos participan como agentes vectores, causan enfermedades de gran importancia en salud pública. Tales como el dengue, la fiebre amarilla, el virus del Nilo, encefalitis, la malaria y el paludismo. Las cuales, son transmitidas por algunas especies de mosquitos como las del género *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* (Ibañez-Bernal y Martínez-Campos, 1994).

En la actualidad, se utilizan métodos biológicos para el control de las poblaciones de mosquitos, debido a que estos no contaminan el ambiente, son de bajo costo y reducen al máximo la generación de resistencia a insecticidas químicos (Fernández, 1999). Estos controles biológicos incluyen la utilización de depredadores naturales de larvas de mosquitos.

En la última década, se ha incrementado el interés en el uso de depredadores naturales, por lo que se han realizado investigaciones, tanto en el campo como en el laboratorio, de la capacidad larvívora de distintas especies de copépodos como *Mesocyclops aspericornis* y *Macrocyclus albidus* (Fimia-Duarte *et al.* 2008; Menéndez-Díaz *et al.*, 2004), peces como *Carassius auratus* y *Poecilia reticulata* (Valero *et al.*, 2006), coleópteros como *Acilus sulcatus* (Chandra *et al.* 2008) y decápodos como *Macrobrachium borellii* y *Palaemonetes argentinus* (Collins, 1998; Giri y Collins, 2003). Todas estas especies han dado resultados positivos en el control de larvas de mosquitos (Rojas-Sahagún *et al.* 2012).

## Objetivo

Determinar la capacidad predatoria máxima y mínima de especies de crustáceos y peces, sobre larvas de mosquitos.

## Materiales

Pipeta desechable de plástico de 10 mL  
2 L de agua de clorada  
300 larvas de mosquitos del ambiente natural  
Camarones de río de la especie *Macrobrachium tenellum*  
Peces de los géneros *Oreochromis*, *Cyprinus*, *Dormitator* y *Poecilia*  
Recipientes de plástico de capacidad de 1 L  
Jaulas entomológicas  
Vasos de plástico de 300 mL  
Almohadillas de algodón  
Alimento comercial para Tilapia  
Solución azucarada (agua/miel 1:2)

## Desarrollo

### *Obtención de larvas de mosquito*

Localizar contenedores artificiales o charcos con agua estancada con la finalidad de coleccionar larvas de mosquitos con ayuda de pipetas plásticas desechables.

Para la identificación de las larvas utilizar las guías de Darsie y Ward 2004, Ibañes-Bernal y Martínez-Campos, 1994. Trasladar las larvas de mosquitos a jaulas entomológicas, y colocarlas en vasos de 300 mL, aforados con 250 mL de agua de clorada. Diariamente suministrar 0.1 g de alimento comercial para tilapia.

Para alimentar los organismos machos adultos colocar 10 mL de solución azucarada (agua/miel 1:2). Para alimentar las hembras proporcionar cada tercer día sangre humana a través de exposición cutánea como recurso hematofágico.

Para evitar el riesgo de transmisión de enfermedades de las cuales los mosquitos son vectores, éstos deben ser coleccionados desde el estadio larval, mantenerse dentro de las jaulas entomológicas y la persona que los alimenta no haber padecido ninguna enfermedad relacionada

con éstos. Los mosquitos que se alimentan de sangre humana infectada la transmiten al picar a un ser humano sano y así sucesivamente se propaga.

En la jaula introducir contenedores plásticos con capacidad de 30 mL y colocar almohadillas de algodón que sirvan como sitios de ovoposición. Extraer todas las almohadillas que contengan huevos y almacenar en un lugar fresco y seco para su posterior utilización.

### *Bioensayos*

Para determinar la capacidad depredadora individual utilizar 12 organismos de la especie seleccionada y colocar individualmente en recipientes plásticos con una capacidad de 1 L, aforados a 700 mL.

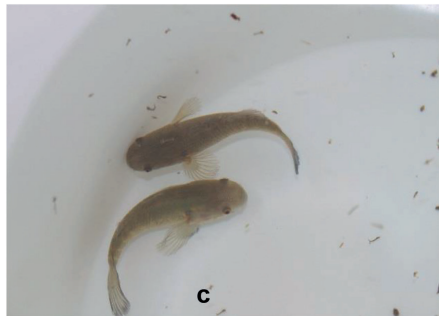
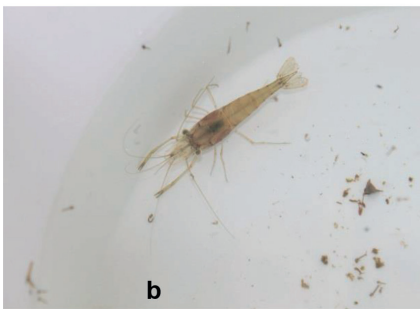
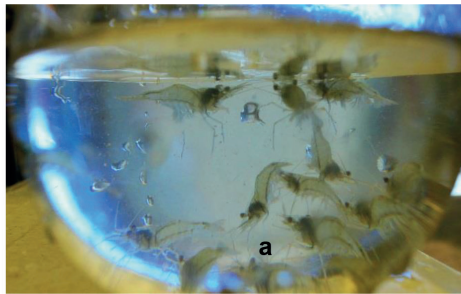
Evaluar 4 tratamientos (5, 10, 15 y 20 larvas) por triplicado. En el caso de que la totalidad de las larvas sean devoradas, incrementar su número e iniciar de nuevo el bioensayo. Revisar el número de larvas devoradas a las 2, 6 y 24 horas de exposición de las larvas.



**Fig. 47.** Identificación de larva.



**Fig. 48.** Jaula entomológica con recipientes con larvas de mosquitos y almohadillas húmedas.



**Fig. 49.** Organismos acuáticos usados para los bioensayos de predación de larvas.  
a) juveniles de *Macrobrachium tenellum*, b) preadulto de *Macrobrachium tenellum*  
y c) juveniles de *Dormitator latifrons*.

## Cuestionario

- ¿Qué organismo demostró mayor capacidad depredadora de larvas de mosquito?
- ¿Por qué es importante utilizar métodos alternativos para el control de larvas de mosquito?
- ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar un control biológico?
- ¿Qué alternativas naturales propondrías para el control de larvas de mosquito en tu colonia?

## Bibliografía citada

- Chandra, G., Mandal, S. K., Ghosh, A. K., Das, D., Banerjee, S. S., y Chakraborty, S. (2008). Biocontrol of larval mosquitoes by *Acilius sulcatus* (Coleoptera: Dytiscidae). *BMC infectious diseases*, 8(1), 138.
- Collins, A. P. (1998). Laboratory evaluation of the freshwater prawn, *Macrobrachium borellii*, as a predator of mosquito larvae. *Aquatic sciences*, 60(1), 22-27.
- Darsie, Jr., R. F. y Ward, R. A. (2004). *Identification and geographical distribution of the mosquitoes of the North America, North of Mexico*. University Press of Florida. 383.
- Fernández, S. I. (1999). *Biología y control de Aedes aegypti. Manual de Operaciones*. Editorial UANL. Monterrey, México. 80.
- Fimia-Duarte, R., Quiñones-Ramos, R., Menéndez-Díaz, Z., Corona-Santander, E. y Sánchez-Victores, L. (2008). Actividad depredadora de *Mesocyclops aspericornis* (Daday, 1906) sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 60(3), 1-5.
- Giri, F. y Collins, P. (2003). Evaluation of *Palaemonetes argentines* (Decapoda, Natantia) on the biological control of *Culex pipiens* larvae (Diptera, Culicidae) under laboratory conditions. *Iheringia. Série Zoologia*, 93(3), 237-242.
- Ibáñez-Bernal, S., Martínez-Campos, C. (1994). Clave para la identificación de larvas de mosquitos comunes en las áreas urbanas y suburbanas de la república Mexicana (Diptera: Culicidae). *Folia Entomol. Mex.* 92, 43-73.
- Menéndez-Díaz, Z., Suárez-Delgado, S., Rodríguez-Rodríguez, J., García-Ávila, I., Díaz-Pérez, M., y García-García, I. (2004). Evaluación de *Macrocyclus albidus* (J.) para el control larval de *Aedes aegypti* (L.) bajo condiciones de laboratorio en Cuba. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 56(3), 227-229.
- Rojas-Sahagún, C. C., Hernández-Sánchez, J. M., Vargas-Ceballos, M. A., Ruiz-González, L. E., Espinosa-Chaurand, L. D., Nolasco-Soria, H., y Ve-



- ga-Villasante, F. (2012). Capacidad depredadora del langostino *Macrobrachium tenellum* sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 64(3), 315-323.
- Valero, N., Meleán, E., Maldonado, M., Montiel, M., Larreal, Y. y Espina, L. M. (2006). Capacidad larvívora del Gold Fish (*Carassius auratus auratus*) y del Guppy Salvaje (*Poecilia reticulata*) sobre larvas de *Aedes aegypti* en condiciones de laboratorio. *Revista Científica*, 16(4), 414-9.

### **Bibliografía recomendada**

- Fimia Duarte, R., Castillo Cuenca, J. C., Cepero Rodríguez, O., Corona Santander, E., y González González, R. (2009). Eficacia del control de larvas de mosquitos (Díptera: Culicidae) con peces larvívoros. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(2), 25-37.
- Lima, E. P., Paiva, M. H. S., de Araújo, A. P., Da Silva, E. V., da Silva, U. M., de Oliveira, L. N., y Wilding, C. S. (2011). Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceará, Brazil. *Parasit & Vectors*, 4(1), 1.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). *Lucha Biológica Contra los Vectores de Enfermedades*. Sexto Informe del Comité de Expertos de la OMS en Biología de los Vectores y Lucha Antivectorial. (1982). Serie de Informes Técnicos No. 679; 39.
- Vargas, M. V., (1998). *El mosquito un enemigo peligroso: biología, control e importancia en la salud humana*. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 264 pp.

# Práctica XVIII

## Densidad de siembra y crecimiento en peces

*Karla Genoveva Ríos González  
Fernando Vega Villasante  
Mao Ernesto Rafael Basto Rosales*

### Introducción

La densidad de siembra un factor de gran importancia para desarrollo de los peces o cualquier otro organismo acuático sometido a cultivo. De manera general se entiende que una alta densidad de siembra (mayor número de organismos por  $m^3$ ) impactará el crecimiento de manera negativa, mientras que una baja densidad de siembra (pocos animales por  $m^3$ ) favorecerá tallas mayores. De igual manera una alta densidad de siembra infiere mayores cuidados en el mantenimiento de las condiciones óptimas del agua del cultivo ya que las excretas de los organismos y las grandes cantidades de alimento que deben ser agregados pueden modificar negativamente la calidad del agua provocando enfermedades o muertes. Sin embargo, densidades de siembra bajas no alcanzan los niveles de producción que se requieren para un cultivo con interés comercial. Un cultivo comercial pretende obtener los mayores rendimientos posibles por  $m^3$ , por lo tanto, los técnicos deben establecer densidades de siembra adecuada, que permitan el control de las condiciones ambientales sin mayores problemas, obtener altas supervivencias y por ende producciones económicamente viables. El número de organismos a sembrar varía dependiendo de la especie y sus características etológicas además del sistema de cultivo en los que serán confinados (Fraga *et al.*, 2012 y Vega-Villasante *et al.*, 2009).

## **Objetivo**

Determinar los efectos que tiene la densidad de siembra sobre el crecimiento de los peces.

## **Materiales**

6 acuarios de 40 L cada uno

6 filtros de cascada

45 peces de 5 gr c/u

Alimento

Balanza digital

Termómetro

Tarraya

## **Desarrollo**

La duración del experimento es de 25 días. Alimentar a los peces con el 10% de su biomasa inicial, por acuario, sin variar la cantidad durante todo el bioensayo.

### *Densidades de siembra*

Utilizar dos densidades de siembra:

5 peces por acuario de 40 L, por triplicado

10 peces por acuario de 40 L, por triplicado

### *Preparación de los acuarios*

Lavar y enjuagar los acuarios previamente a su utilización, llenar con agua dulce que haya pasado por un proceso de reposo para eliminar el cloro. Una vez llenas, colocar un filtro de cascada el cual tiene la función de mantener el movimiento del agua para facilitar la oxigenación, así como eliminar materia orgánica particulada y los productos de desecho.

Previo a la siembra de los organismos conocer la temperatura del reservorio y del acuario en el que serán sembrados, si difieren, igualar a fin de evitar la pérdida por estrés térmico. Ajustar la temperatura a 28°C en todos los acuarios.

## Manejo de los organismos

Extraer los organismos a utilizar del reservorio de reproductores y alevines mediante el uso de una tarraya; seleccionar las tallas requeridas y colocarlos en un estanque con agua del mismo reservorio. Posteriormente trasladarlos a los acuarios donde se llevará a cabo el experimento.

## Análisis de datos

Para la evaluación del crecimiento final de cada cultivo, utilizar los siguientes parámetros (Fraga *et al.*, 2012):

Peso Inicial (PI): pesar las crías de peces al iniciar el experimento.

Peso final (PF): pesar los peces de cada acuario al terminar el experimento.

Tasa de crecimiento diaria (TCD), calcular mediante la siguiente fórmula:

$TCD = \frac{PF - PI}{\text{tiempo de cultivo}}$

Factor de conversión del alimento (FCA), calcular a partir de la siguiente fórmula:

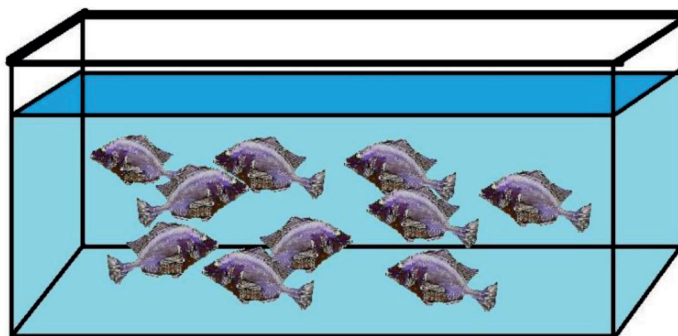
$FCA = \frac{\text{cantidad de alimento añadido}}{\text{ganancia en peso}}$

Biomasa final (BF), obtener a partir de la siguiente fórmula:

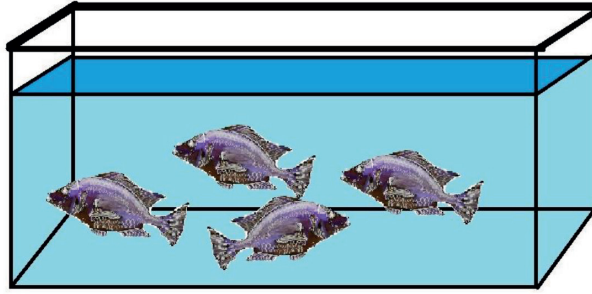
$BF = \text{número total de animales} \times PF$

Supervivencia (S), obtener mediante la siguiente fórmula:

$S = \left( \frac{\text{No. de peces al final}}{\text{No. de peces inicial}} \right) \times 100$



Alta densidad de siembra



Baja densidad de siembra

**Fig. 50.** Densidad de siembra de peces.

## Cuestionario

Analizar y comparar los resultados mediante las pruebas estadísticas pertinentes.

## Bibliografía citada

- Fraga, I., Flores, E. R., Reyes, R. y Llañez, Y. (2012). Efecto de diferentes densidades de siembra en el engorde de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. aureus*) en jaulas colocadas en la bahía de Casilda, Cuba. *Revista de Investigaciones Marinas*, 32 (1), 16-23.
- Vega-Villasante F., Jaime-Ceballos B., Cupul-Magaña, A. L., Galindo-López, J. y Cupul Magaña, F. G. (2009). *Manual de acuicultura de tilapia a pequeña escala para autoconsumo de familias rurales y periurbanas de la costa del Pacífico*. Universidad de Guadalajara y Centro de Investigaciones Pesqueras de Cuba. Guadalajara, Jalisco. 87 pp.

## Bibliografía recomendada

- El-Sayed, A.F. M. (2002). Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry. *Aquaculture Research*, 33(8), 621-626.
- Santinón, J. J., Hernández, D. R., Bechara, J. A. y Domitrovic, H. A. (2006). *Efectos de la densidad de siembra sobre el crecimiento y supervivencia de juveniles de bagre sudamericano en sistemas de cría semi-intensiva (Rhamdia quelen)*. [versión electrónica] Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

# Práctica XIX

## Necropsia y carga parasitaria en peces

*Óscar Basilio Del Rio Zaragoza*

### **Introducción**

La necropsia en los peces tiene como objetivo examinar mediante una disección sistematizada el aspecto de los órganos internos de los peces. Durante este proceso es posible hacer tomas de muestra en órganos como el riñón para aislar varias de las enfermedades virales y bacterianas. Así como también para el diagnóstico parasitológico (Ramos *et al.*, 2016). La necropsia puede proveer información sobre el estado nutricional de los peces. Como en el caso de peces sobrealimentados o alimentados con dietas no balanceadas es posible encontrar una acumulación de grasa en la cavidad peritoneal o bien el hígado puede observarse pálido amarillento debido a una lipidosis. También es común la acumulación de fluido en el abdomen ocasionado por agentes infecciosos y varias enfermedades inflamatorias crónicas que pueden afectar los órganos internos (Eslava, 2009). En el caso de los parásitos helmintos estos generalmente se encuentran localizados en el mesenterio y en las vísceras los cuales pueden llegar a causar serias enfermedades tanto a los peces como a humanos después de que estos han ingerido peces afectados.

### **Objetivo**

Conocer la técnica de necropsia (completa, ordenada y sistemática), aprender a tomar muestras y hacer un diagnóstico parasitológico en peces.

## **Materiales**

Equipo de disección (escalpelo, estilete, pinzas y tijera de punta roma recta)  
Porta objetos  
Cubreobjetos  
Cajas de petri  
Guantes de látex  
Papel secante  
Bandeja de disección  
Ictiómetro  
Balanza granataria  
Microscopio estereoscópico  
Microscopio compuesto  
Lupa  
Aceite de clavo  
Etanol 70%  
Formol 4%  
Agua de mar  
Resina  
Peces (carpas o tilapias)

## **Desarrollo**

En la Tabla 4 anotar los datos ambientales y clínicos del pez derivados de su captura y observación en el laboratorio.

### *Anestesia*

Preparar el baño con aceite de clavo a 100 mg/L y después de capturar los peces inmediatamente colocarlos en el anestésico.

### *Observación externa*

Una vez anestesiados mediante una punción cerebral proceder a darle muerte al pez. Con ayuda de una lupa observar detalladamente la anatomía externa del pez, en busca de lesiones y ectoparásitos macroscópicos (Fig. 51).

Con un escalpelo realizar un raspado de la superficie de la piel, iniciando desde la región anterior de la cabeza hasta la región caudal;

cortar las aletas y observar al microscopio. Tomar muestras de las fosas nasales y de la boca. Colocar el contenido de cada zona en un portaobjetos al que se le ha depositado previamente una gota de agua. Colocar un cubre objetos en la muestra obtenida y observar al microscopio en un aumento de 20X en búsqueda de protozoos, monogéneos y otros parásitos.

Contar todos los parásitos encontrados en un aumento de 100x en 25 campos.

Una vez tomadas las muestras registrar la longitud y el peso de los organismos. Para la toma de muestra en branquias, cortar el opérculo y extraer de un lado los cuatro arcos branquiales (Fig. 52), disectar cada uno y colocarlos en una caja de petri con un poco de agua (marina o dulce según sea el caso). Observar al microscopio estereoscópico en busca de parásitos.

Si se encuentran parásitos, realizar un raspado de las branquias tomando el arco branquial y con ayuda de un escalpelo depositar el contenido sobre la tapa de la caja de petri, sobre la cual se coloca la base de la placa (cuadrículada); presionar para oprimir el tejido y realizar el recuento de los parásitos. Para observar los parásitos al microscopio, tomar una muestra del raspado branquial y colocarlo en un portaobjetos, agregar una gota de agua y el cubre objetos. Realizar una ligera presión y observar la muestra a 100x.

### *Observación interna*

Realizar un corte en la región abdominal, con una tijera de punta roma recta abre la cavidad abdominal del pez desde el ano hasta la intersección branquial de forma semicircular, cortando cuidadosamente los extremos de tal forma que queden expuestos los órganos (Fig. 53).

Retirar el tracto digestivo completo, desde la región oral-branquial hasta el recto para observar en busca de lesiones, quistes o parásitos macroscópicos. Posteriormente, extraer los órganos, colocarlos en cajas de petri individualmente y mantenerlos húmedos (Fig. 54). De los órganos hematopoyéticos realizar improntas. Observar el peritoneo y músculos en busca de parásitos.

Posteriormente comprimir cada órgano entre dos placas y observar al microscopio estereoscópico y por disociación al microscopio.

Revisar el aparato digestivo desgarrándolo poco a poco con agujas de disección bajo microscopio estereoscópico (Fig. 55a). Hacia la luz intestinal podrán encontrarse helmintos adultos, como tremátodos, céstodos y nematodos; también, acantocéfalos (Fig. 55b).



Extirpar ambos ojos del pez y examinarlos. Se pueden encontrar metacercarias sobre el ojo, sobre el lente o en el humor acuoso del glóbulo ocular. Proceder a extraer el cerebro y obsérvalo por compresión. Con un bisturí hacer cortes finos de la musculatura parietal del pez, comprimir y examinar.

Finalmente coleccionar y fijar el material directamente con formol al 4% caliente. Desenquistar las metacercarias antes de agregar el fijador. Colocar los acantocéfalos en agua destilada y refrigerar de 12 a 24 horas hasta que la proboscis quede extendida, entonces proceder a fijarlos.

Conservar estas muestras en el mismo formol hasta por 3 meses, luego es recomendable cambiar a etanol 70% para preservar por más tiempo. Etiquetar los viales apropiadamente. Posteriormente realizar la tinción y el montaje en resina para identificar específicamente el parásito.



**Fig. 51.** a) Muerte de un pez mediante punción cerebral y b) observación externa del organismo.



**Fig. 52.** Disección del opérculo de un pez y los cuatro arcos branquiales.



**Fig. 53.** Disección de un pez donde se observan los órganos expuestos.



Fig. 54. Órganos del pez colocados individualmente en cajas de petri.

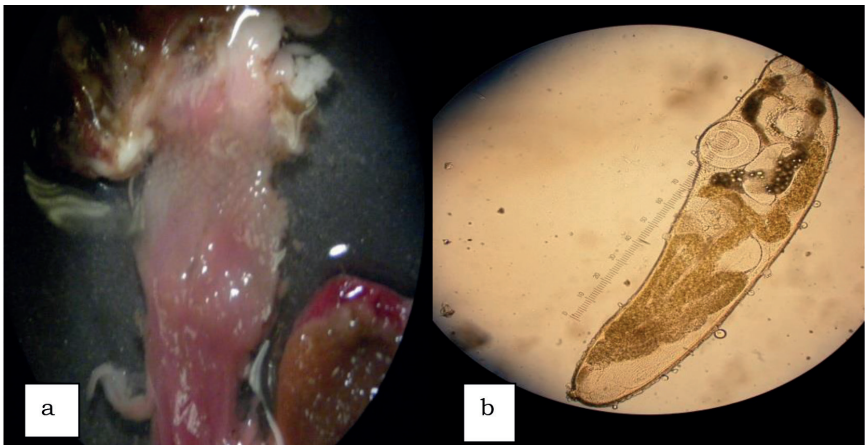


Fig. 55. a) Disección bajo microscopio estereoscópico del aparato digestivo de un pez y b) observación de un tremátodo.

**Tabla 4**  
Formato para registro de la historia clínica del organismo

HISTORIA CLÍNICA DEL ORGANISMO				
<i>localidad</i>		<i>fecha</i>		
ESPECIE MUESTRAS				CLAVE
VIROLOGIA SI ( ) NO ( )	BACTERIOLOGÍA SI ( ) NO ( )		PARASITOLOGÍA SI ( ) NO ( )	
HEMATOLOGÍA SI ( ) NO ( )	PESO (G)		TALLA (cm)	
<i>Datos Ambientales</i>				
TEMPERATURA		SALINIDAD		OXÍGENO
LESIONES			SEXO:	
PIEL:	Forúnculos	Úlceras	Despigmentación	Melanosis
Pérdida de escamas	Perdida de piel	Hemorragias	Petequias	Equimosis
Nodulaciones	Vesículas	Presencia de masas algodonosas	Erosiones	Parásitos
BRANQUIAS:	Anemia	Inflamación	Hemorragias	Mucosidad
	Necrosis	Parásitos		
ALETAS:	Erosiones	Deshilachamiento.	Pérdida parcial O Total	Atrofia
	Parásitos	Hemorragias		
OJOS	Exoftalmia	Panoftalmitis	Opacidad corneal	Hemorragias
	Pérdida de globo ocular	Parásitos		
BOCA	Hemorragias	necrosis	Parásitos	
ANO	Prolapsado	Hiperémico	Hemorrágico	
LESIONES INTERNAS	Inflamación	Congestión	Hemorragias	Parásitos
	Granulomas	Abscesos	Nodulaciones	
FOTOGRAFÍA	SI	NO	CLAVE DE LA FOTOGRAFÍA	
OBSERVACIONES				

## Cuestionario

- En relación a la carga parasitaria mencione:
- ¿Qué tipo de parásitos pudo observar y cuántos fueron?
- Mencionar a qué grupo taxonómico pertenecen y el lugar donde fueron encontrados.
- ¿Qué características morfológicas permiten reconocer en vivo a los monogéneos, digéneos, céstodos, nemátodos y acantocéfalos?
- ¿Cuáles son los métodos de fijación y tinción más utilizados para la identificación de los parásitos?
- Entregar la hoja de trabajo debidamente completada.

## Bibliografía citada

- Eslava, M. P. R. (2009). *Correlación de variables nutricionales y de calidad de agua con la presentación de problemas sanitarios, clínicos y subclínicos en sistemas de producción comercial de cachama blanca y tilapia roja*. Informe final de resultados técnicos. Instituto de Acuicultura. Universidad de los Llanos. 53 pp.
- Ramos, F., Sandoval, N., Morales, S., Contreras, G. y Manchego, A. (2016). Lesiones histopatológicas y aislamiento bacteriológico en gamitanas (*Colossoma macropomum*) aparentemente sanas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(1), 188-195.

## Bibliografía recomendada

- Fajer-Ávila, E. J., Del Río-Zaragoza, O. B. y Betancourt-Lozano, M. (2012). *Parasitic diseases in cultured marine fish in Northwest Mexico*. Health and Environment in Aquaculture, Dr. Edmir Carvalho (Ed.) InTech. Recuperado el 26 de Febrero de 2017 de <http://www.intechopen.com/books/health-and-environment-in-aquaculture/parasitic-diseases-in-cultured-marine-fish-in-northwest-mexico>
- Noga, E. J. (2011). *Fish disease: diagnosis and treatment*. John Wiley & Sons. 949 pp.
- Roberts, R. J. (2012) *Fish Pathology*. John Wiley & Sons. 592 pp.

# Práctica XX

## Técnicas no letales en peces para el diagnóstico patológico: extracción de sangre, biopsia de piel y branquias

*Óscar Basilio Del Rio Zaragoza*

### Introducción

Las técnicas no letales en peces para el diagnóstico patológico son muy útiles para quienes manejan peces de agua dulce, salobre o marinos, ya que pueden enfrentarse a problemas de peces enfermos y desconocer los posibles agentes causales de la enfermedad, para ello primero es necesario realizar una revisión no invasiva. Si con la biopsia no se encuentran resultados o un agente causal definido de la enfermedad, debe continuarse con la necropsia completa del organismo.

Entre las técnicas no letales, se puede realizar una extracción de sangre para evaluar parámetros hematológicos y de la química sanguínea que pueden ser utilizados en el diagnóstico de enfermedades en peces como por ejemplo la anemia que puede ser provocada por diversos agentes etiológicos. La determinación del hematocrito es uno de los métodos más utilizados y prácticos para determinar anemia en peces. Uno de los sitios menos traumáticos para extraer la sangre es de la vena caudal (Blaxhall, 1972).

Por otro lado, la biopsia de la piel y branquias son métodos sencillos y útiles para el diagnóstico patológico en peces, ya que la piel y las branquias son órganos blancos primarios para un gran número de agentes infecciosos y parásitos. Los métodos para obtener una biopsia de la piel son, el rapado epitelial y el corte de aletas. Así como el corte de algunos filamentos branquiales (Roberts, 2012).

## **Objetivo**

Conocer las técnicas de diagnóstico patológico no letales, empleadas en la acuicultura.

## **Materiales**

Equipo de disección (escalpelo, estilete, pinzas y tijera de punta roma recta)

Porta objetos

Cubreobjetos

Jeringas de 1 y 3 mL

Tubos Eppendorf

Tubos para microhematocrito

Ictiómetro

Bandeja de disección

Lupa

Vernier

Balanza granataria

Microscopio estereoscópico

Microscopio compuesto

Centrífuga para microhematocrito

Etanol 70%

Aceite de clavo

Agua de mar

Guantes de látex

Papel secante

Peces (carpas o tilapias)

## **Desarrollo**

En la Tabla 4 anotar los datos ambientales y clínicos del pez derivados de su captura y observación en el laboratorio.

### *Anestesia*

Preparar el baño con aceite de clavo a 100 mg/L y después de capturar los peces inmediatamente colocarlos en el anestésico.

### *Extracción de sangre*

Previo a la extracción de la sangre, los peces no alimentan durante 24 horas. Colocar el pez sobre una bandeja de plástico con la cabeza orientada hacia la izquierda y hacer la extracción de la muestra sanguínea. Ésta se lleva a cabo mediante una punción directa a la vena caudal (Fig. 56), con jeringas de 1 o 3 mL (dependiendo del tamaño del pez), de los peces previamente anestesiados. Colocar la sangre en un tubo. Para determinar algunos parámetros sanguíneos es necesario utilizar anticoagulantes como la Heparina o el EDTA.

Para determinar el hematocrito, utilizar un tubo capilar heparinado; tomar la muestra de sangre hasta completar 2/3 del tubo, tapar un extremo con plastilina y colocar en posición vertical (Fig. 57a). Posteriormente colocar el tubo en una centrifuga para microhematocrito por 10 minutos (Fig. 57b). Determinar el porcentaje del paquete celular con respecto al volumen total con ayuda de una lectora para microhematocrito o bien con ayuda de un calibrador vernier (Fig. 57c).

### *Biopsia de piel, aletas y branquias*

Una vez extraída la muestra de sangre, observar detalladamente con ayuda de una lupa la anatomía externa del pez en busca de lesiones, cambios de coloración y ectoparásitos macroscópicos (Fig. 58a). Realizar con un escalpelo o portaobjetos un raspado de la superficie de la piel, y aletas; iniciando desde la región anterior de la cabeza hasta la región caudal (Fig. 58b).

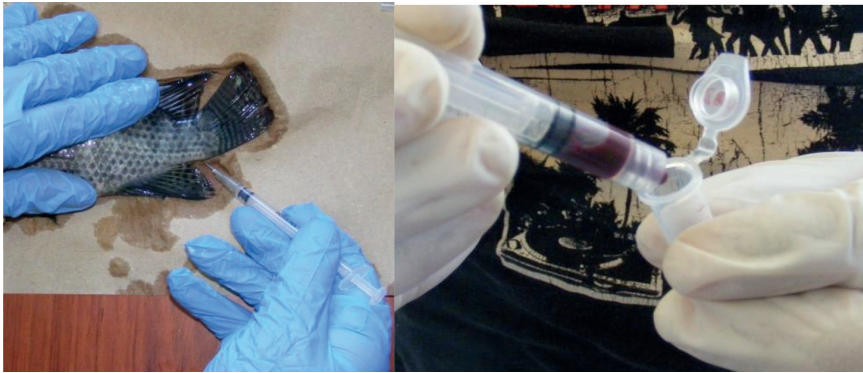
Colocar el contenido de cada zona en un portaobjetos al que se le ha depositado previamente una gota de agua. (en peces marinos se utiliza agua de mar; Fig. 58c).

Colocar un cubre objetos en la muestra obtenida y observar al microscopio en un aumento de 20X en búsqueda de protozoos, monogéneos y otros parásitos (Fig. 58d).

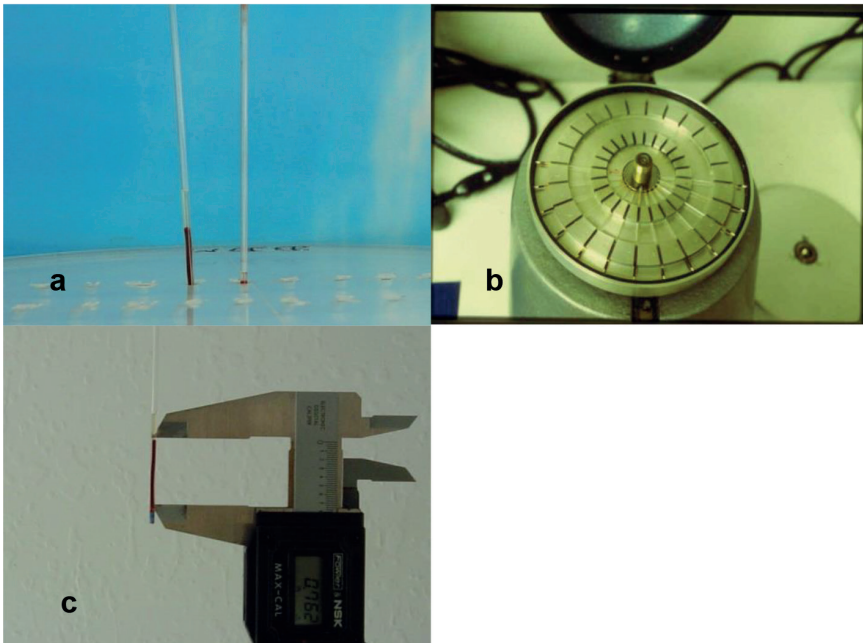
Para tomar la muestra en branquias utilizar una pinza para levantar el opérculo y hacer un raspado o bien cortar una porción de las branquias (Fig. 59a). Colocar la muestra sobre un portaobjetos al que se le ha puesto una gota de agua previamente; colocar un cubre objetos y presionar ligeramente hasta lograr una capa fina observar al microscopio (Fig. 59b).

Una vez tomadas las muestras, registrar la longitud y el peso de los organismos.

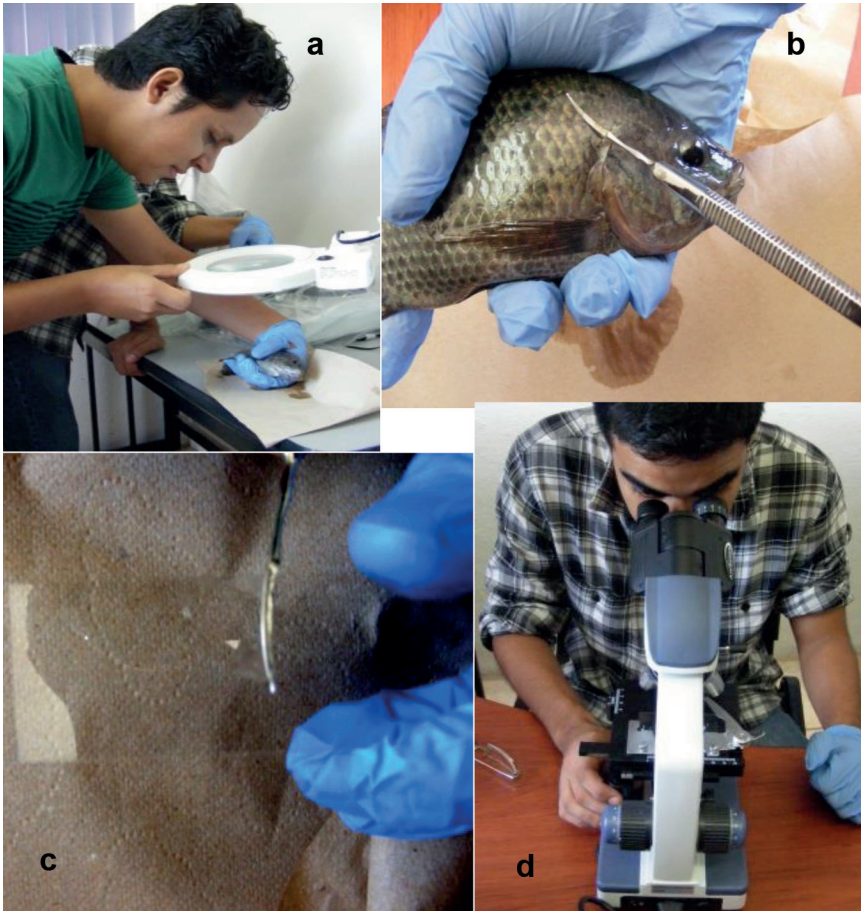




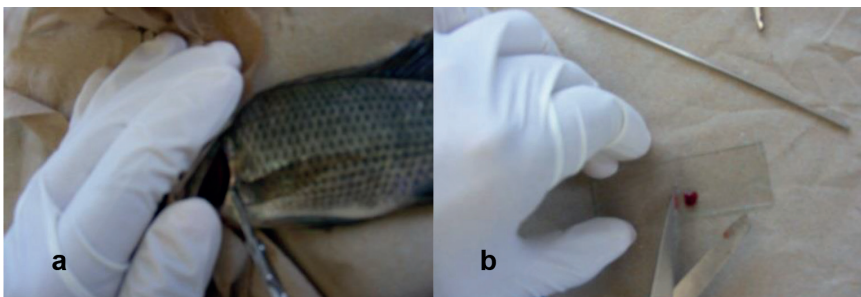
**Fig. 56.** Extracción de sangre de un pez vía punción en vena caudal.



**Fig. 57.** Método para determinar el hematocrito en peces. a) Tubo capilar heparinizado, b) centrífuga para microhematocrito y c) calibrador Vernier.



**Fig. 58.** Procedimiento para realizar biopsia de piel en peces. a) observación de la anatomía externa, b) raspado de la superficie de la piel, c) colocación de la muestra sobre un portaobjetos y d) observación de la muestra al microscopio.



**Fig. 59.** Biopsia de branquias en peces. a) corte de una porción de las branquias y b) colocación de la muestra sobre portaobjetos para su observación en el microscopio.

## Cuestionario

- De acuerdo a la muestra de sangre, determinar ¿cuál es el porcentaje del microhematocrito?
- En relación a la carga parasitaria ¿cuántos y de qué tipo de parásitos pudo observar?
- Mencionar a qué grupo taxonómico pertenecen y el lugar donde los parásitos fueron encontrados.
- Con base en la bibliografía recomendada y sus resultados, comparar, discutir e inferir ¿cuál es el estado de salud del organismo?

## Bibliografía citada

- Blaxhall, P. C. (1972). The haematological assessment of the health of freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 4(4), 593-604.
- Roberts, R. J. (2012). *Fish pathology*. John Wiley & Sons. 952 pp.

## Bibliografía recomendada

- Zaragoza, O. D. R., Rodríguez, M. H. y Bückle-Ramírez, L. F. (2008). Thermal stress effect on tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) blood parameters. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 41(2), 79-89.
- Fajer-Ávila, E. J., Del Río-Zaragoza, O. B. y Betancourt-Lozano, M. (2012). *Parasitic diseases in cultured marine fish in Northwest Mexico*. Health and Environment in Aquaculture, Dr. Edmir Carvalho (Ed.) InTech. Recuperado el 26 de Febrero de 2017 de <http://www.intechopen.com/books/health-and-environment-in-aquaculture/parasitic-diseases-in-cultured-marine-fish-in-northwest-mexico>
- Noga, E. J. (2011). *Fish disease: diagnosis and treatment*. John Wiley & Sons. 949 pp.

# Práctica XXI

## Determinación del grado de madurez gonádica, índice gonadosomático y fecundidad en crustáceos

*Manuel Alejandro Vargas Ceballos  
José de Jesús Ávalos Aguilar  
Olimpia Chong Carrillo*

### Introducción

En acuicultura el desarrollo del aparato reproductor en los individuos de una especie interesa principalmente para la determinación del sexo, la talla o edad de primera maduración, época de desove, lugar de puesta y para estimar la fecundidad.

En los crustáceos la fecundidad permite estimar el estado reproductivo en que se encuentra la población y generalmente, se ha definido como el número de huevos liberados por una hembra en un solo proceso de desove o durante un período determinado de su ciclo de vida o como el número de huevos contenidos bajo el abdomen de las hembras. Existen varios métodos para determinar la fecundidad, pero los más comunes son el método gravimétrico y el método volumétrico (en algunos casos en los que la especie cuenta con una cantidad baja de huevos es recomendable realizar el conteo total de los mismos).

El método gravimétrico consiste en pesar los huevos. Una vez que los huevos han sido desprendidos de la cámara incubadora, se pesa la totalidad de la masa ovígera, posteriormente se toman tres submuestras del mismo peso. Se cuenta el número total de huevos en cada submuestra. Para éste método, el número de huevos totales se obtiene mediante la fórmula:

$$F = \frac{nG}{g}$$

Donde:

F = fecundidad

n = número de huevos en la submuestra

G = peso total de la masa ovígera

g = peso de la submuestra en las mismas unidades

El método volumétrico es muy parecido. Para este método se debe colocar la masa ovígera en una solución de hipoclorito de sodio al 0.05% agitar suavemente hasta separar todos los huevos. Posteriormente los huevos se colocan en un cilindro graduado y se adiciona agua a volumen conocido. Se agita el cilindro delicadamente hasta que todos los huevos están uniformemente distribuidos en el agua. Con una pipeta de 5 mL se obtiene una submuestra de volumen conocido y se cuentan los huevos. Para éste método, el número de huevos totales se obtiene mediante la fórmula:

$$F = \frac{nv}{V}$$

Donde:

F= número de huevos totales

n = número de huevos en la submuestra

V = volumen al que se ha constituido el número total de huevos

v = volumen de la submuestra

El estudio de la fecundidad debe hacerse por clase de tallas, que pueden ser más amplias que las usadas para el análisis de la composición demográfica de la población; y también la fecundidad se debe relacionar con la variación del peso y talla total.

Así mismo, el índice gonadosomático (IGS) resulta práctico para determinar la época de puesta de una especie y se calcula con la siguiente fórmula:

$$IGS = \frac{\text{Peso de la gónada}}{\text{Peso eviscerado}} \times 100$$

El estado de madurez gonádica se puede determinar de acuerdo a la escala de Moreno *et al.* (2012) como se muestra en la Tabla 5.

## Objetivo

Conocer la técnica para determinar el grado de madurez gonadal, índice gonadosomático y la fecundidad en crustáceos decápodos.

## Materiales

Equipo de disección (escalpelo, estilete, pinzas y tijera de punta roma recta)

Cajas de petri

Vaso de precipitados 50 mL

Pipetas de 5 mL

Vernier

Contador manual

Balanza electrónica

Bandejas de disección

Microscopio estereoscópico

Solución de hipoclorito de sodio al 0.05% y 10%

Ejemplares hembras maduras y ovígeras de langostino *Macrobrachium tenellum*

## Desarrollo

Colocar en la charola el ejemplar y observar sus características morfológicas externas tales como tamaño, color, gónada, poros urogenitales, cavidad abdominal, entre otros.

Tomar el ejemplar y determinar los parámetros de medición básicos tales como longitud total y peso total, con ayuda de un Vernier y la balanza electrónica.

Retirar la masa ovígera de la hembra (Fig. 60) y sumergirla en una solución de hipoclorito de sodio al 0.05% durante tres minutos (Fig. 61); posteriormente drenar y enjuagar con agua. Colocar los huevos en una caja de petri con divisiones cada 5 mm; utilizar un contador manual y el microscopio estereoscópico para registrar el total de huevos (Fig. 62), si la especie es muy fecunda, utilizar cualquier método descrito anteriormente.

Observar la morfología (tamaño, forma y color) de los huevos al microscopio estereoscópico. Con el estuche de disección realizar un corte en la parte dorsal del cefalotórax (Fig. 63) y retirar cuidadosa-



mente las gónadas (Fig. 64). Determinar el estadio de madurez (Fig. 65) utilizando la escala de madurez (Tabla 5).

Observar y pesar las gónadas, anotar las observaciones. De acuerdo con las fórmulas mencionadas en la introducción determinar el índice gonádico. Anotar los resultados.

Con la solución de cloro al 10% limpiar cuidadosamente el área de trabajo.



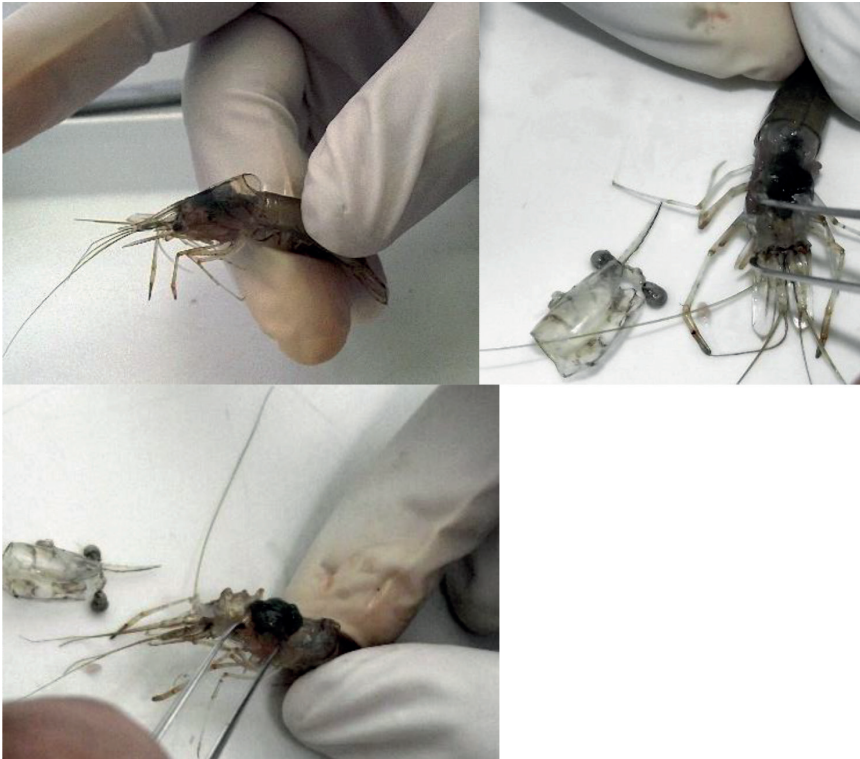
**Fig. 60.** Extracción de la masa ovígera de *Macrobrachium tenellum* con unas pinzas de disección.



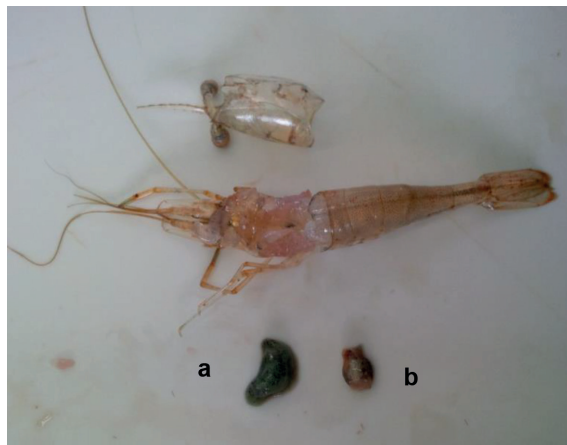
**Fig. 61.** Huevos de *Macrobrachium tenellum* sumergidos en solución de hipoclorito de sodio al 0.05% (separación de la masa ovígera).



**Fig. 62.** Conteo de huevos de *Macrobrachium tenellum* con ayuda de un microscopio estereoscópico y contador manual.

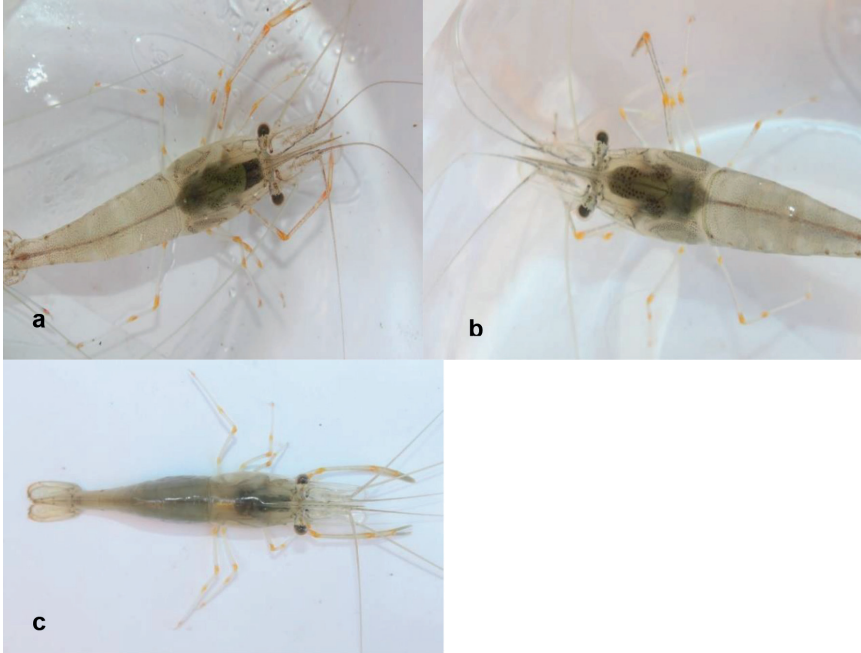


**Fig. 63.** Exposición de la zona cefalotorácica para extracción de la gónada y hepatopáncreas en *Macrobrachium tenellum*.



**Fig. 64.** a) Extracción de gónada y b) hepatopáncreas en *Macrobrachium tenellum*.





**Fig. 65.** Hembras de langostino *Macrobrachium tenellum* en diferentes estadios de madurez gonadal. a) Estadio III (vitelogénesis intermedia), b) estadio IV y c) estadio V (desovado).

**Tabla 5**  
Características de los estadios gonadales

Estadio	Características
Estado de previtelogénesis (I)	Externamente la gónada puede presentar coloración transparente. Los lóbulos recuperan su firmeza y empiezan a hacerse visibles a través del caparazón, sobresaliendo algunas veces unos pocos milímetros por delante del corazón.
Estado de vitelogénesis temprana (II):	Los lóbulos se aprecian ligeramente engrosados y son fácilmente diferenciados al interior del cefalotórax.
Estado de vitelogénesis intermedia (III):	Externamente la gónada se torna de color verde olivo intenso y presenta lóbulos bastante engrosados. La porción anterior del ovario sobrepasa por mucho el corazón, llegando a ocupar casi la mitad del espacio existente entre su borde anterior y la primera espina rostral.

Estadio	Características
Estado de madurez avanzada (IV):	Externamente el ovario presenta una coloración verde olivo. Los lóbulos en su parte posterior se encuentran completamente engrosados extendiéndose hasta el primer segmento abdominal, mientras que en la parte anterior alcanzan la base de la primera espina rostral, ocupando casi en su totalidad la porción del cefalotórax.
Estado desovado (V): entre las 24 y 48 h post-desove	Externamente la gónada se aprecia translúcida, lo que hace posible en algunos casos identificar ovocitos maduros residuales en su interior. Adicionalmente, a simple vista los lóbulos se ven flácidos y retraídos, dificultando su diferenciación en la mayoría de los casos.

Moreno *et al.*, 2012.

## Cuestionario

- ¿Cuál fue el índice gonádico del ejemplar utilizado?
- En base a las observaciones, ¿cuál es la importancia de determinar estos parámetros (IGS y fecundidad) en la acuicultura?

## Bibliografía citada

Moreno, C. A., Graziani, C. A., Barrios, A. J., Villarroel, E. J. y Marcano, N. J. (2012). Estructura poblacional del camarón exótico *Macrobrachium rosenbergii* de Man, 1879 (Crustacea: Palaemonidae) en el río Morocoto, estado Sucre, Venezuela. *Zootecnia Tropical*, 30(3), 237-250.

## Bibliografía recomendada

Boschi, E. E. y Angelescu, V. A. (1962). *Descripción de la morfología externa e interna del langostino con algunas aplicaciones de índole taxonómica y biológica*. Boletín del Instituto de Biología Marina, (1), 1- 72 pp.

Hendrickx, M. E. (2004). *Contributions to the study of east Pacific crustaceans*. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Mazatlán. 245 pp.

# Práctica XXII

## Obtención de gametos de moluscos bivalvos y su fertilización

Karla Genoveva Ríos González

### Introducción

Los moluscos bivalvos (ostras, mejillones, almejas y vieiras) conforman uno de los grupos con la mayor producción pesquera mundial por lo que los bivalvos son organismos ideales para la acuicultura, además de que por sus hábitos alimenticios requieren de poco manejo y solo necesitan a las microalgas que se presentan naturalmente en el agua de mar para su crecimiento (Fischer *et al.*, 1995).

En la actualidad el cultivo de estos organismos está sustentado por la captación de semilla del medio, la cual se realiza por medio de la telecaptación o se recolecta de bancos naturales y se traslada a zonas de engorda, como es el caso del cultivo de *Crassostrea corteziensis* en Boca de Camichin, Nayarit. El contar con criaderos de semilla permite mantener un suministro continuo y de buena calidad, así como fomenta la conservación de las zonas de reproducción (Fischer *et al.*, 1995).

Para la producción de semillas en criaderos se emplean diferentes técnicas para inducir la liberación de óvulos y espermatozoides (desove y eyaculación) estas pueden ser mecánicas, físicas o químicas (Maeda-Martínez, 2002).

Entre las mecánicas el Stripping es un método para obtener los gametos directamente de las gónadas a través de una disección. Es un método destructivo que implica sacrificar el organismo cuando no logra desovar por otros métodos.

## Objetivos

- Aprender la técnica para obtención de gametos y su fertilización en moluscos bivalvos.
- Aprender la técnica de fertilización.
- Determinar la tasa de fertilización.

## Materiales

6 ostiones  
1 piseta  
6 vasos de precipitados de 500 mL  
Tamices de 100  $\mu$  y 30  $\mu$   
1 cámara de conteo de células  
Microscopio compuesto  
Balanza analítica  
Vernier  
Agua de Mar  
Pipeta Pasteur  
Cuhillo y/o navaja  
Bisturí  
Jeringa de 5 mL  
Reloj  
Portaobjetos  
Cubreobjetos

## Desarrollo

### *Técnica de stripping*

Limpiar los organismos de incrustaciones o material no deseado y en seguida tomar las biometrías de ancho, alto, espesor y peso total (Fig. 66).

Abrir los organismos cuidando no romper tejidos, separar la masa visceral, pesarla y colocarla en la valva; localizar la gónada (Fig. 67). Con una jeringa tomar una muestra y colocarla sobre un portaobjetos para observar al microscopio. Con este procedimiento determinar el sexo es preciso. Separar hembras y machos.

Para la obtener los gametos, aplicar la técnica de stripping en las hembras. Tomar un organismo, localizar la gónada y con un bisturí

hacer cortes longitudinales. Cuidar que el contenido no se tire de la concha, verterlo en un vaso de precipitados y enjuagar el organismo con agua de mar. Cortar y enjuagar hasta ya no observar contenido gonádico.

Pasar el contenido del vaso de precipitados a través de un tamiz de 100 micras para eliminar tejidos y elementos no deseados. Recuperar los ovocitos en otro vaso de precipitados y para enjuagarlos se tamizarán nuevamente, a través de 30 micras.

Colocar los ovocitos limpios en un vaso de precipitados y agregar agua de mar a un volumen conocido 500mL. Mezclar hasta homogeneizar y tomar una muestra de 0.5 mL conteniendo ovocitos. Colocar la muestra en la cámara de conteo de células (o microalgas), para conocer el número de ovocitos.

Repetir este procedimiento al menos dos veces más. Realizar un promedio de los valores y extrapolar para conocer el número total de ovocitos; con el peso húmedo de la masa visceral obtenida al principio relacionar el número de ovocitos por gramo de peso de ostión. Realizar estos pasos con todas las hembras encontradas.

A continuación, seleccionar un organismo macho, localizar la gónada y con un bisturí hacer cortes longitudinales. Enjuagar con la piseta y recuperar el contenido en un vaso de precipitados con un poco de agua de mar. Pasar el contenido a través del tamiz de 100 micras y recuperar en otro vaso. Realizar este procedimiento con todos los machos, los contenidos de todos los machos se pueden colocar en un solo vaso de precipitados.

### *Técnica de Fertilización*

Homogenizar los contenidos de los vasos de precipitados, tanto ovocitos como espermatozoides. Del vaso de los machos tomar 1 mL de la mezcla y colocarla en el vaso de los ovocitos homogenizados. Checar el tiempo, mezclar cada 5 minutos y, aproximadamente 45 minutos después tomar una muestra de 0.5 mL. Colocarla en la cámara de conteo para observar al microscopio. Buscar la presencia del corpúsculo polar en los ovocitos fertilizados; en caso de no observarlos, esperar 10-15 minutos, tomar otra muestra y observar una vez más. Una vez que aparezcan se puede determinar la tasa de fertilización, colocar una muestra en la cámara de conteo, contar 100 ovocitos y determinar en cuántos de éstos se observa corpúsculo. Repetir este procedimiento al menos dos veces más y obtener el promedio de los resultados.

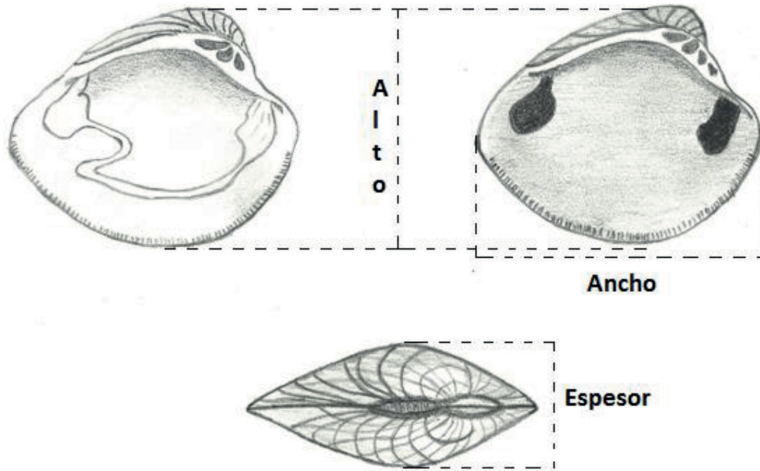


Fig. 66. Biometrías para moluscos bivalvos.

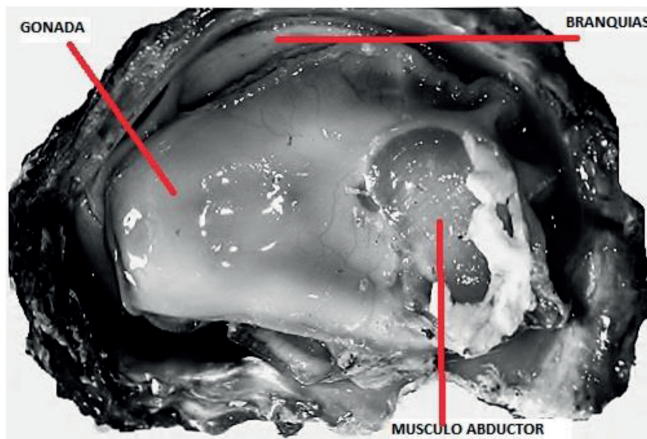


Fig. 67. Anatomía del ostión de roca.

### Cuestionario

- Anotar los resultados de las observaciones.
- Dibujar las observaciones.
- ¿Cuáles son las diferencias entre los moluscos bivalvos dioicos y monoicos?
- ¿Qué son los cuerpos polares?
- ¿Qué tipo de larva es característica de los moluscos?

## **Bibliografía citada**

- Fischer, W. K., Schneider, F., Sommer, W., Carpenter, C., y KE Niem, V. H. (Eds.) (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca: pacífico centro-oriental. (No. R SH138 F52). 606 pp.
- Maeda-Martínez, A. N. (Ed.) (2002). *Los moluscos pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y acuicultura*. Editorial Limusa. 501 pp.

## **Bibliografía recomendada**

- Helm, M. M., Bourne, N., y Lovatelli, A. (2004). *Hatchery culture of bivalves: a practical manual*. Food and agriculture organization of the United Nations. 25 pp.
- O'Connor, W. A., y Heasman, M. P. (1995). Spawning induction and fertilisation in the doughboy scallop *Chlamys (Mimachlamys) asperrima*. *Aquaculture*, 136(1), 117-129.

# Práctica XXIII

## Identificación de sexos y reproducción de tilapia *Oreochromis* sp

*Fernando Vega Villasante*  
*Mao Ernesto Rafael Basto Rosales*

### Introducción

La tilapia es un pez con alta capacidad reproductiva aún a edades tempranas. Dado que es un pez tropical su período reproductivo es temperaturas que van desde los 20 a los 25°C, comenzando frecuentemente a partir de los dos meses (Hsieng-Tsang y Quintanilla, 2008).

Los reproductores se seleccionan de una edad aproximada de entre 3 y 6 meses (las hembras maduran en menos tiempo) y que corresponde a un peso de 200 a 400 g. Los individuos sexualmente maduros presentan: i) hembras papila genital prominente y rojiza, ii) macho; coloración rojiza en el borde de la aleta caudal y dorsal (Saavedra-Martínez, 2006).

La tilapia hembra cuida de las crías por incubación bucal (en algunas especies el macho comparte esta tarea). La cantidad de huevos desovados puede variar de 100 a 500, dependiendo del tamaño de la hembra. Una vez desovados el macho los fertiliza con su esperma y posteriormente la hembra los aloja en su cavidad oral.

Dependiendo de la temperatura del agua los huevos eclosionarán en un periodo de 3 a 5 días (Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, 1997).

### Objetivo

Conocer y practicar las técnicas para la reproducción de tilapia.



## **Materiales**

Eclosionador de jarra tipo McDonald  
Bomba sumergible para acuario  
Manguera  
Caja plástica de 40 L  
Red de cuchara  
Aceite de clavo  
Tilapias *Oreochromis* sp. (machos y hembras)

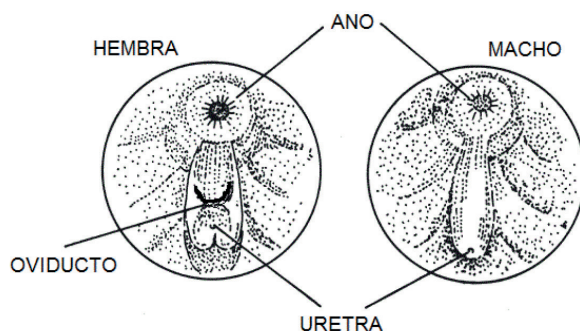
## **Desarrollo**

El primero paso es determinar el sexo en las tilapias. Para esto, pescar con atarraya machos y hembras del tanque de 20 mil L y transferir a un contenedor con agua fresca que contenga aceite de clavo (ver práctica XIII Anestesia en peces en la página 39) para su correcta manipulación. Una vez sedados, revisar los organismos para determinar su sexo (Fig. 68 y Fig. 69), y para comprobar si albergan huevos en su cavidad bucal (es posible que con la sedación los huevos sean liberados al medio). En caso que ningún organismo porte huevos, pescar otros hasta encontrar al menos uno (puede ser macho o hembra pues el comportamiento parental se comparte en esta especie). Para la extracción de los huevos de la cavidad bucal, abrir la boca del pez y sumergirle la cabeza en el agua, agitarla con suavidad para que los huevos salgan.

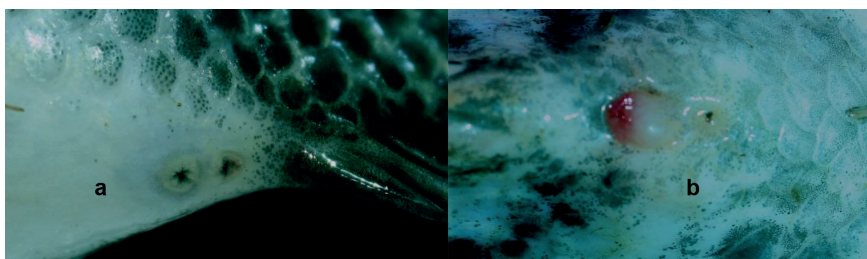
Recuperados los huevos transferirlos al eclosionador de jarra tipo McDonald (Fig. 70) para la incubación artificial.

Para instalar el eclosionador, llenar una caja plástica de 20 L con agua de clorada hasta la mitad de su capacidad y en su interior colocar el eclosionador de jarra tipo Mc Donald. En uno de los costados de la caja plástica, sumergida en el agua colocar una bomba de succión para acuario, (cubrir la bomba con malla de mosquitero para evitar la succión de los alevines). La bomba dirige el agua al eclosionador a través de una manguera que se introduce en el tubo central de la misma. De esta manera se tiene un sistema de recirculación. Una vez hecho esto, introducir los huevos colectados previamente dentro del eclosionador, observar que el flujo de agua provisto por la bomba los mantenga en suave agitación en el fondo. Mantener estas condiciones durante el tiempo que demoren en eclosionar que es de cuatro a cinco días dependiendo de la temperatura del agua (la temperatura no debe estar debajo de 23°C).

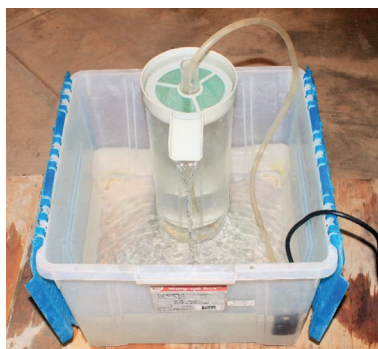
Eclosionados los huevos, las larvas o alevines descargarlos por el drenaje del eclosionador hacia la caja plástica, retirarlos y confinarlos en otros reservorios de desarrollo.



**Fig. 68.** Diferencias genitales entre macho y hembra de tilapia. La hembra presenta tres orificios (ano, oviducto y uretra) mientras que el macho solo dos (ano y uretra). La uretra en ambos casos es casi imperceptible. El oviducto de la hembra presenta forma de media luna. En el macho el aparato genital externo se observa como una papila. Esquema tomado de FAO, 1976.



**Fig. 69.** a) Genitales de tilapia hembra y b) genitales de tilapia macho.



**Fig. 70.** Sistema de recirculación para eclosión de huevos de tilapia, con eclosionador tipo jarra McDonald.

## **Cuestionario**

- ¿Cuáles diferencias sexuales fenotípicas existen entre macho y hembra de tilapia?
- ¿Cuáles diferencias genitales fenotípicas existen entre macho y hembra de tilapia?

## **Bibliografía citada**

- Bureau of Fisheries and Aquatic Resources. (1997). *Tilapia Hatchery and Nursery Management*. Eastern Visayas Integrated Fisheries Research and Development Center (EVIFRDC). BFAR Regional Office No. 8. 10 pp.
- FAO. (1976). Symposium on Aquaculture in Africa. CIFA Technical Paper No. 4 (Supplement 1). 36 pp.
- Hsien-Tsang, S. y Quintanilla, M. (2008). *Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia*. Centro de desarrollo de la pesca y la acuicultura (CENDEPES-CA) El Salvador. 68 pp.
- Saavedra-Martínez, M. A. (2006). *Manejo del cultivo de tilapia*. Coastal Resources Center. University of Rhode Island, Instituto de Capacitación, Investigación y Desarrollo Ambiental (CIDEA), United States Agency for International Development (USAID). Managua, 24 pp.

## **Bibliografía recomendada**

- Popma T. y Masser, M. (1999). *Tilapia, life history and biology*. Southern Regional Aquaculture Center (SRAC) Publication No. 283.

# Práctica XXIV

## Identificación de sexos y reproducción de la langosta australiana *Cherax quadricarinatus*

José de Jesús Avalos Aguilar  
Fernando Vega Villasante  
Olimpia Chong Carrillo

### Introducción

La langosta australiana de quelas rojas *Cherax quadricarinatus* es un crustáceo nativo de ríos del norte de Australia y Papua Nueva Guinea (Holdich, 2002). La especie *C. quadricarinatus* es apta para la acuicultura comercial por sus favorables características de cultivo (Arredondo *et al.*, 1994), su alimentación es variada omnívora o detritívora, y soporta un amplio rango de parámetros físicoquímicos.

Debido a que no presenta etapas larvarias libre, alcanza su madurez sexual en aproximadamente 6 meses y puede desovar varias veces por año. Puede desovar de 100 a 1000 huevecillos dependiendo de su peso. La etapa de juvenil se alcanza en 4 a 8 semanas (Sammy, 1988). El desarrollo de los huevos depende de la temperatura y calidad del agua. Éstos pasan por una serie de cambios de color (verde olivo, ocre, rojo):

Estadio I: color levemente cremoso (día 1-3)

Estadio II: marrón oscuro (día 12 a 14)

Estadio III: presencia de los puntos correspondientes a los ojos (día 20-23)

Estadio IV: eclosión, color anaranjado-rojizo (día 28-35)

Estadio V: desprendimiento (35-40 días)

## Objetivos

- Obtener la capacidad de identificar las hembras ovígeras y el estadio de desarrollo de los embriones.
- Aprender a proporcionar las condiciones óptimas para la eclosión de los huevos.

## Materiales

Hembras de langosta (*C. quadricarinatus*)

Filtro de cascada

Unidades plásticas de 60 L

Red de cuchara

Tubos de PVC (20 cm)

Alimento comercial (camaronina) o nauplios de artemias

Calentadores con termostato

## Desarrollo

Obtener organismos del stock de *C. quadricarinatus* del Laboratorio de Acuicultura Experimental. Identificar machos o hembras bajo el siguiente criterio: los machos presentan manchas naranjas-rojas en el exterior de las quelas, mientras que las hembras no las poseen (Fig. 71). En el caso de que los organismos no posean quelas (debido a combates o por canibalismo en la muda) determinar el sexo con base en que, las hembras presentan dos poros genitales en la base del tercer par de patas caminadoras pereiópodos; y los machos presentan dos papilas genitales en la base del quinto par de patas caminadoras o pereiópodos.

Identificar las hembras ovígeras por la presencia de embriones en sus diferentes etapas de desarrollo. Seleccionar dos hembras ovígeras con el mismo estadio de desarrollo embrionario, y confinarlas en unidades experimentales plásticas de 60L, acondicionadas con filtro de cascada, refugios (tubo PVC) y calentador con termostato y con un nivel de 30L de agua de clorada proveniente del tanque de agua reposada (una hembra en cada unidad).

Ajustar la temperatura del agua de las unidades experimentales a 23 °C y a 28 °C.

Trasladar las hembras maduras a las unidades con extremo cuidado para evitar el estrés que puede ocasionar que la hembra agite bruscamente el abdomen y pierda los huevos adheridos a este (Fig. 72).

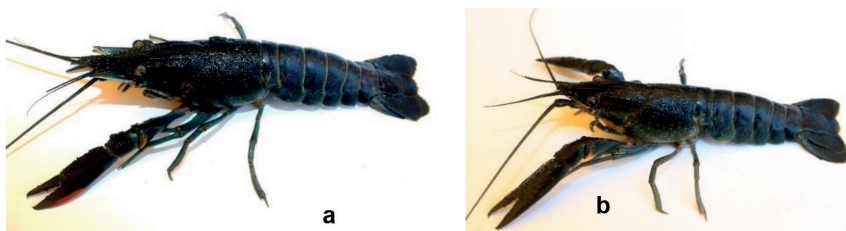
Proporcionar alimento para camarón marino (35% proteína) a las hembras ya instaladas en las unidades.

De acuerdo con el estadio de desarrollo embrionario revisar periódicamente a las hembras para observar las etapas subsecuentes de desarrollo hasta la eclosión.

Determinar el tiempo (días) en que los huevos eclosionan, tomando como base la temperatura a la que se mantuvo el agua de la unidad experimental.

Al nacer las crías permanecerán adheridos al abdomen y pleópodos de la madre de 7 a 10 días. Evaluar si este periodo se alarga o acorta de acuerdo con la temperatura del agua.

Una vez desprendidas las crías, extraer a las hembras de las unidades experimentales para evitar el canibalismo. Para las pequeñas langostas, proporcionar alimento para camarón marino (45% proteína) y *Artemia* adulta hasta una talla de 2 cm aproximadamente. Posteriormente incorporar al stock del laboratorio.



**Fig. 71.** Langosta australiana adulta: a) macho y b) hembra.



Fig. 72. Hembra adulta de langosta australiana con embriones en abdomen.

### **Cuestionario**

- ¿Cuál de las dos temperaturas favorece una eclosión más rápida?  
¿Por qué?
- ¿Por qué las crías deben ser alimentadas con porcentajes más altos de proteína?
- ¿Qué ventajas confiere a esta especie el comportamiento parental?

### **Bibliografía citada**

- Arredondo, T. H., Inclan, S. A., Palafox, T. J., y Campos, V. R. (1994). *Desarrollo científico y tecnológico del cultivo de la langosta de agua dulce (C. quaricarinatus)*, UAM Iztapalapa. México, DF. 92 pp.
- Holdich, D. M. (Ed.) (2002). *Biology of freshwater crayfish*. Oxford: Blackwell Science. 702 pp.
- Sammy, N. (1988). Breeding biology of *Cherax quadricarinatus* in the Northern Territory in: *Proceedings of the first Australian Shellfish Aquaculture Conference*. Curtin University Press. 79-88 pp.

### **Bibliografía recomendada**

- Salinas, M. B., Cartes, F. M., Cartes y Le-Bert Cía. (2009). *Cultivo de Langosta*. Chile: Ograma Ltda. 38 pp.

# Práctica XXV

## Reproducción de carpa koi *Cyprinus carpio* var. *haematopterus*

Gloria Lisbet Gil Ramos  
Fernando Vega Villasante

### Introducción

Los ciprínidos han sido cultivados desde tiempos remotos y hoy en día son sin duda la familia de teleósteos más importante a nivel global. A la fecha, las carpas ornamentales o mejor conocidas como carpas koi (*Cyprinus carpio* var. *haematopterus*), representan probablemente el mercado más caro y famoso dentro de los peces ornamentales de agua dulce dados sus colores brillantes; son consideradas buenas candidatas dada su facilidad de cuidado, longevidad, tolerancia a factores físico-químicos y alta proliferación (Sun *et al.*, 2012; Blasiola, 2005).

Las carpas koi son reproductores ovíparos, generalmente las técnicas que se usan para su reproducción a gran escala es de manera artificial en los criaderos. Los peces reproductores se separan por sexo en tanques con agua saturada de oxígeno a 20-22°C. Para inducir la sincronización de la liberación de gametos los peces reciben una inyección de gonadotropina (Flajšhans y Hulata, 2009). Sin embargo, el método natural produce más aún más crías que son económicamente manejables.

Aproximadamente 300,000 crías pueden esperarse de una sola hembra (Hickling *et al.*, 2007).

### Objetivo

Conocer y aplicar las principales técnicas de reproducción de la carpa koi.



## **Materiales**

Ejemplares machos y hembras de carpas koi sexualmente maduros  
Contenedores plásticos de 1000 L de capacidad  
Bombas de inyección de aire  
Rafia  
Cámara fotográfica  
*Artemia franciscana*

## **Desarrollo**

### *Preparación de los estanques de reproducción*

Llenar los contenedores de reproducción a un 75-80% de su capacidad, con agua previamente reposada (para la eliminación de cloro). Colocar inyectores de aire para mantener las condiciones de oxígeno (~4 mg/L) y temperaturas necesarias (~23-25°C) para que los organismos lleven a cabo un desove exitoso. Posteriormente, colocar en ellos algas y/o césped artificial (fabricadas con fibras de rafia), en el fondo y la parte superior del contenedor, para mejorar el ambiente de desove (Hickling *et al.*, 2007).

### *Selección de los reproductores*

Generalmente, hembras y machos maduros (~25 cm o más) se utilizan para la reproducción, ya que las hembras jóvenes pueden no producir los suficientes huevos y los machos jóvenes no producen el suficiente esperma para fertilizar todos los huevos. Para un desove exitoso, previamente debe llevarse a cabo un sexado de los organismos (Fig. 73). Generalmente, las hembras son de abdomen más redondo que los machos y éstos presentan una forma de torpedo y aletas pectorales más grandes que las hembras (Hickling *et al.*, 2007; Hannifa *et al.*, 2007). Posteriormente hacer una estimulación mecánica (con el tacto) a los machos para determinar la presencia de esperma, así como en las hembras la presencia de huevos; este procedimiento debe ser de manera sutil, considerar que son organismos acuáticos, y que no pueden estar fuera del agua por periodos prolongados, para evitar de tal manera el estrés de los peces.

## *Desove*

Una vez seleccionados los organismos del stock con madurez gonádica, colocar una hembra con dos machos en los contenedores de reproducción para conseguir una reproducción natural. Generalmente el desove ocurre a los dos días de colocar los peces en los contenedores, dependiendo de la temperatura del agua. El aspecto del agua se torna espumoso con el desove. En caso de que no se lleve a cabo el desove, deben cambiarse los reproductores.

Una vez liberados los gametos, trasladar inmediato los reproductores de regreso al stock para su recuperación y prevenir que depreden sus crías.

Monitorear el estanque constantemente para verificar que la aireación se mantenga en todo momento, ya que se requieren altos niveles de oxígeno.

## *Eclosión y mantenimiento de las crías*

Dependiendo de la temperatura del agua, los huevos eclosionan de tres a cinco o incluso siete días después del desove. Una vez eclosionadas, las crías se alimentan de su saco vitelino por dos o tres días, y después de se les debe suministrar alimento constantemente por lo menos dos veces al día, ya sea con alimento micropulverizado (Fig. 74a), microalgas o bien con *Artemia franciscana*.

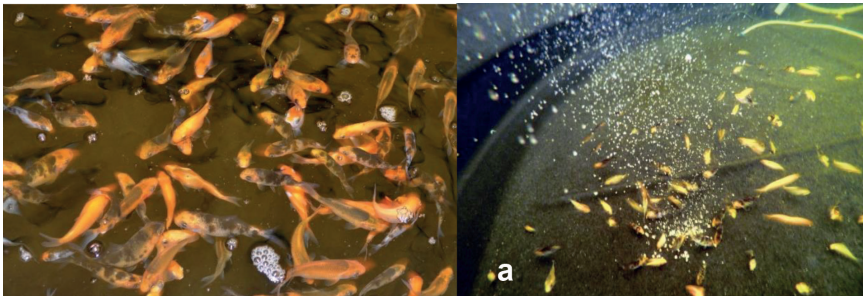
El agua debe mantener constante aireación, no debe ser excesiva ya que puede dañar a las crías. Para prevenir niveles tóxicos de amonio y nitrito en el tanque, mantener una filtración constante del agua, con precaución de no lastimar o succionar las crías en este proceso.

Revisar el estanque de las crías periódicamente ya que las crías más grandes que las promedio pueden comerse a las más pequeñas (Fig. 74); para evitar el canibalismo, retirar las crías más grandes a otro estanque. Cuando la densidad de las crías en el estanque sea alta, hacer un desdoble a las 3 o 4 semanas, esto es, mover un porcentaje de las crías hacia otro (s) estanque (s).

Una vez que las crías alcanzan los 5 cm, proporcionar alimento seco en forma de mini pellets u hojuelas.



**Fig. 73.** Reproductores de carpa koi. Macho en color blanco, hembra en color naranja.



**Fig. 74.** Crías de carpa koi. a) alimentándose con alimento particulado.

### **Cuestionario**

- ¿Qué técnica se lleva a cabo en la selección de reproductores de carpa koi?
- Indicar qué precauciones se consideran al hacer la estimulación mecánica de los organismos.
- Mencionar en qué consiste el acondicionamiento del estanque de reproducción.
- ¿Qué criterios considerar para seleccionar a reproductores de carpa koi?

- ¿Cuántos machos se colocan por hembra en la reproducción de carpas koi?
- ¿Qué hacer una vez que los peces liberan los gametos en el agua?
- Si la población de crías disminuye, ¿cuál es el problema y cómo se soluciona?

### **Bibliografía citada**

- Blasiola, G. C. (2005). *Koi: A complete owner's manual*. Barrons. 96 pp.
- Hanniffa, M. A., Benziger, P. A., Arockiaraj, A. J., Nagarajan, M. y Siby, P. (2007). Breeding behaviour and embryonic development of koi carp (*Cyprinus carpio*) *Taiwania taipei*. 52 (1), 93-99.
- Hickling, S., Martin, M. T. y Brewster, B. (2007). *The essential book of koi: a complete guide to keeping and care*. T.F.H. Publications. Neptune City, NJ. Inc. 256 pp.
- Flajšhans M. y Hulata, G. (2009). *Common carp Cyprinus carpio*. University of Alaska Fairbanks School of Fisheries and Ocean Sciences. 5 p.
- Sun, X., Chang, Y., Ye, Y., Ma, Z., Liang, Y., Li, T., Jiang, W., Xing y Luo, L. (2012). The effect of dietary pigments on the coloration of japanese ornamental carp koi (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*. 342, 62-68.

### **Bibliografía recomendada**

- Kucharczyk, D., Targońska, K., Hliwa, P., Gomułka, P., Kwiatkowski, M., Krejzseff, S. y Perkowski, J. (2008). Reproductive parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L) spawners during natural season and out-of-season spawning. *Reproductive biology. Volumen 8(3)*, 285-289 pp.

# Práctica XXVI

## Reproducción del pez cebra *Danio rerio*

Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta

### Introducción

El pez de acuario comúnmente llamado “cebra” (*Danio rerio*) se utiliza ampliamente para la investigación en muchos campos de la biología y la medicina que incluyen, por mencionar algunos, biología molecular, ingeniería genética (Feng *et al.*, 2015), embriología y cáncer (Paquette *et al.*, 2015). Su cultivo es relativamente fácil, su ciclo reproductivo se inicia a los tres meses de nacido y su capacidad para desarrollarse en agua con amplios intervalos de dureza y temperatura. Adicionalmente, su comportamiento reproductivo se puede inducir y obtener grandes cantidades de huevos a partir de pocos especímenes. Los huevos no son pegajosos, y se precipitan rápidamente al fondo del acuario se les separa rápidamente de sus padres, evitando que se los coman (Westerfield, 2000).

### Objetivo

Lograr la reproducción de *Danio rerio*, organismo que por su facilidad de cultivo es ampliamente utilizado en muchos campos de la Biología.

### Materiales

*Danio rerio* machos y hembras maduras sexualmente  
Acuarios de vidrio de 3 a 4 litros de capacidad de fondo plano  
Canicas de vidrio  
Vasos de precipitados  
Tubo de vidrio

Manguera de taygon de conducción de aire para peceras  
Agua libre de cloro (agua de la llave tratada con anticloro para pecera)  
Infusorios de ciliados (ver práctica X Producción de alimento vivo: cultivo de infusorios para su uso en acuicultura en la página 29)  
Nauplios de *Artemia franciscana*  
Alimento comercial en hojuelas para peces

## Desarrollo

Para seleccionar los reproductores; las hembras deben ser grandes y estar con el abdomen muy abultado, que señala la presencia de los huevos; los machos son alargados y deben ser grandes (Fig. 75). Una semana antes del desove, colocar hembras separadas de los machos para una mayor acumulación de huevos y evitar desove; ya que de manera cotidiana se aparean, desovan en el acuario y los huevos son devorados.

Lavar todo el material de vidrio solamente con abundante agua. Colocar las canicas en el fondo del acuario de manera que quede cubierto (para que los huevos caigan entre ellas y queden lejos del alcance de los padres) pero sin que se encimen unas con otras. Llenar el acuario con agua de la llave, libre de cloro. Colocar una o dos hembras en el acuario con las canicas y dejarlas un lapso de 1 o 2 días, la noche previa al día del desove colocar 1 a 3 machos en el acuario. Alimentar los peces con la misma frecuencia y cantidad que en condiciones normales.

El desove ocurre a la mañana siguiente o máximo en un periodo de tres días, si el desove no ocurre, pasar un sifón por el fondo del acuario al menos una vez al día para retirar el alimento no consumido y las heces de los peces entre las canicas; si después de 4 ó 5 días no ha ocurrido el desove, lo más probable es que este no sucederá.

Al realizar el desove el abdomen de las hembras pierde volumen de manera muy distintiva, y los huevos son observables en el fondo del acuario entre los intersticios formados por las canicas. Para recuperar los huevos (sin retirar a los reproductores porque esto agitaría demasiado el agua provocando que los huevos salgan a la superficie y sean devorados por los peces o bien puede mover las canicas provocando que se destruyan los huevos) pasar un sifón por el fondo del acuario entre las canicas, con el tubo de vidrio unido a la manguera de acuario.

Colocar los huevos en un vaso de precipitados esperar a que se asienten en el fondo del mismo y regresar la mayor parte del agua al acuario. Repetir la operación hasta que ya no salen huevos de entre las canicas. Los reproductores se regresan al acuario.

Los huevos obtenidos se colocan en otro acuario que debe tener sustrato, aireación y filtro de fondo. Después de 48 horas empiezan a eclosionar los huevos y los alevines se pegan a las paredes del acuario, en esta etapa no requieren de alimento, a los 5 días del desove los alevines habrán consumido todo su vitelo y será necesario alimentarlos. Un alimento ideal son los infusorios de protozoarios, ya que no consumen alimento seco y los nauplios de *Artemia franciscana* son demasiado grandes y no los pueden consumir.

A las tres semanas de crecimiento, alimentar con nauplios de *Artemia franciscana* y a partir de la sexta semana ya son capaces de consumir alimento seco finamente molido (polvo de hojuelas de alimento comercial).

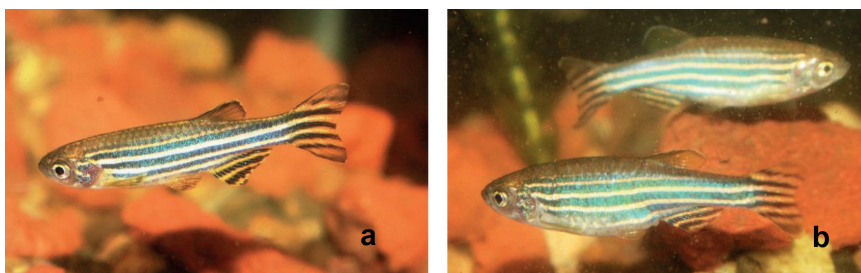


Fig. 75. Pez cebra *Danio rerio*: a) macho y b) hembras.

## Cuestionario

- ¿Cuál fue el tiempo de eclosión de los huevos?
- ¿Por qué es importante separar a las hembras de los machos una semana antes del desove?
- ¿Por qué no se pueden alimentar los alevines desde que consumen su vitelo con *Artemia franciscana* o alimento seco?

## Bibliografía citada

- Feng, C., Nita-Lazar, M., González-Montalbán, N., Wang, J., Mancini, J., Ravindran, C. y Vasta, G. R. (2015). *Manipulating galectin expression in zebrafish (Danio rerio)*. *Galectins: Methods and Protocols*, 327-341.
- Paquette, C. E., Kent, M. L., Peterson, T. S., Wang, R., Dashwood, R. H., y Löhr, C. V. (2015). Immunohistochemical characterization of intestinal neoplasia in zebrafish (*Danio rerio*) indicates epithelial origin. *Diseases of aquatic organisms*, 116(3), 191.

Westerfield, M. (2000). *The zebrafish book. A guide for the laboratory use of zebrafish (Danio rerio)*. [versión electrónica] 4th ed., Univ. of Oregon Press, Eugene.

### **Bibliografía recomendada**

Lawrence, C. (2007). The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): a review. *Aquaculture*, 269(1), 1-20.

Lawrence, C., James, A., y Mobley, S. (2015). Successful replacement of *Artemia salina* nauplii with marine rotifers (*Brachionus plicatilis*) in the diet of preadult zebrafish (*Danio rerio*). *Zebrafish*, 12(5), 366-371.



# Práctica XXVII

## Introducción al análisis de Calidad del agua para soporte de vida acuática

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

La capacidad de carga es la posibilidad que tiene un sistema de proveer un trabajo; en los cuerpos de agua naturales y en la acuicultura se refiere a la capacidad que tiene el agua y, en su caso, los sedimentos para soportar rentablemente el crecimiento de una comunidad biológica o cultivo, respectivamente. Por esto, es fundamental determinar la capacidad de carga del agua en estanques rústicos, cuerpos de agua naturales, acuarios, etc. donde se realizará el cultivo y de la fuente de suministro de agua para evitar enfermedades y/o bajas tasas de crecimiento (McKindsey *et al.*, 2006).

Hay dos grandes grupos de variables en la calidad del agua 1) las variables que se pueden modificar sin recambio y 2) las que requieren recambio del agua, en el primer grupo se encuentra, por ejemplo, el oxígeno disuelto en el agua y en el segundo se encuentran, por ejemplo, los niveles de concentración de amonio y nitrito. Por esto, cuando se enfrentan los problemas de calidad de agua, es necesario conocer, qué tipo de variable es la que está determinando la mala calidad, y de esta manera plantear la solución.

### *Oxígeno disuelto*

La concentración de oxígeno disuelto es fundamental porque la carencia absoluta de oxígeno (anoxia) al ser persistente causa la muerte, en bajas concentraciones (hipoxia) reduce las tasas de crecimiento y mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas y en altas concentraciones de oxígeno, muy por encima del porcentaje de saturación (>150

% de la saturación) por periodos de 4 a 6 horas y a lo largo de todo el estanque causan estrés a los organismos; sin embargo, esto es poco frecuente.

La mínima concentración de oxígeno disuelto que los peces pueden tolerar depende de la temperatura y de la especie, las especies que crecen en aguas frías son más susceptibles a condiciones de hipoxia que las que crecen en aguas más calientes.

En los estanques la concentración de oxígeno varía a lo largo del día, durante la insolación la fotosíntesis produce oxígeno y en la noche es la respiración la que lo consume, así las concentraciones más altas se encuentran durante la tarde y las más bajas antes del amanecer; la nubosidad durante el día provoca niveles de oxígeno más bajos a lo largo de todo el ciclo diurno.

Los peces en bajas concentraciones de oxígeno disuelto, son susceptibles a enfermedades particularmente infecciones por parásitos externos, los más comunes, son el "itch" (punto blanco) producido por un protozoo ciliado y, junto a *Trichodina* sp. Ambos causan problemas en larvas y juveniles; actuando el primero a temperaturas de 24°C y el segundo a más bajas temperaturas. Otros parásitos comunes asociados a bajas concentraciones de oxígeno son el *Argulus* sp y *Laernea elegans* que pueden causar serias pérdidas. Asimismo, las bajas concentraciones de oxígeno presentan efectos sinérgicos con el amoníaco ya que aumenta la toxicidad a concentraciones tan bajas como 0.08 mg/l, disminuyendo el apetito y el crecimiento en los peces.

En camarón las bajas concentraciones de oxígeno disuelto en el agua hacen que tenga mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas como infestaciones de *Zoothamnium* spp., que es un ciliado ectocomensal que no lo daña en condiciones normales.

En general en la literatura para langostino, tilapia y bagre se establecen los siguientes valores de oxígeno disuelto en relación al cultivo (Tabla VI).

**Tabla 6**  
Valores de oxígeno disuelto establecidos para peces

Concentración de oxígeno (mg/l)	Efectos
0 - 0.3	Los peces pequeños sobreviven en cortos periodos.
0.3 - 2.0	Letal a exposiciones prolongadas.
3.0 - 4.0	Los peces sobreviven pero crecen lentamente.
> 4.5	Rango deseable para el crecimiento del pez.

Wellborn, 1987.

**Tabla 7**

Valores de oxígeno disuelto establecidos para camarón

Concentración de oxígeno (mg/l)	Efectos
< 1	Letal si la exposición dura unas horas
1 a 5	Crecimiento es lento si es persiste la concentración
>5 a saturación	Óptimo para el crecimiento.
>> saturación	Dañino si la condición es persistente.

Boyd, 1989.

Por todo esto, para determinar la capacidad de carga, como para el manejo adecuado de un sistema acuícola se proponen las siguientes prácticas y cómo aplicarlas para calcular la capacidad de carga.

### **Nutrientes**

Se definen como nutrientes a los elementos químicos que son esenciales para el desarrollo de los seres vivos, cuya carencia en el medio limita en mayor o menor escala el desarrollo de la biota. Estos son principalmente: carbono, hidrógeno, nitrógeno, fósforo, azufre y silicio. Aunque esta lista puede contener más elementos, todos ellos con requerimientos muy bajos.

En aguas marinas naturales, particularmente costeras, debido a la influencia humana, ocurre un incremento en la concentración de uno o varios de estos elementos, que provoca cambios en la composición biótica y abiótica del agua. A este fenómeno se le denomina eutrofización que puede ser definido como una “alimentación aumentada”.

Cabe señalar que la eutrofización de aguas naturales, siempre tiene consecuencias, aunque en algunos casos no sean necesariamente indeseables. La mayoría de las veces la magnitud de estas consecuencias depende del aporte de nutrimentos y muy importantemente de la naturaleza del cuerpo de agua que los recibe. Así, en ambientes someros los nutrimentos se incorporan a un ciclo de consumo y autogeneración de los mismos y rápidamente se transforman en biomasa que es degradada provocando que los nutrimentos se integren a la columna de agua o a la interfase agua-sedimento. Por esto el impacto que tiene el aporte de nutrientes de este tipo de cuerpos de agua dependerá en

gran medida del tiempo de residencia del nutriente en el sistema (Allen y Kramen, 1972).

## Nitrógeno

El nitrógeno es un elemento esencial para los seres vivos, ya que es indispensable para llevar a cabo las funciones de crecimiento y el mantenimiento de sus funciones vitales. Puede ser tomado del medio ambiente por los organismos, de diferentes moléculas. Las plantas, en general, utilizan las sales de nitrógeno (nitrato y nitrito) como fuente del mismo. Los microorganismos pueden, en cambio, utilizar desde compuestos orgánicos complejos como la urea y los aminoácidos, hasta sales de nitrógeno, nitrito, nitrato y amonio.

El  $\text{NO}_2^-$  se encuentra en aguas naturales como intermediario en los procesos de nitrificación bacteriana del amonio a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) y la desnitrificación del nitrato a nitrógeno elemental ( $\text{N}_2$ ). Solo en condiciones muy particulares se pueden alcanzar niveles de concentración elevadas de nitrito. Una de ellas ocurre en ausencia de una comunidad fitoplanctónica suficiente para consumir el amonio, lo que provoca que las bacterias nitrificantes utilicen el amonio como aceptor de electrones en sus cadenas respiratorias y lo oxiden, inicialmente a nitrito y subsecuentemente a nitrato.

## Fósforo

El fósforo (P) es un elemento esencial para todas las formas de vida. Es un nutriente mineral. Ortofosfato es la única forma de que los autótrofos pueden asimilar. Enzimas extracelulares hidrolizan formas orgánicas de fósforo a fosfato. Es componente fundamental de DNA, los RNA y de los nucleótidos trifosfatados que son la forma de manejo energético en la célula. La ausencia de fósforo conlleva a la limitación de la productividad primaria de todos los ecosistemas, su exceso conlleva a la eutrofización.

La eutrofización es el enriquecimiento excesivo de las aguas receptoras de nutrientes minerales. Los resultados son la producción excesiva de autótrofos, especialmente algas y cianobacterias. Esta alta productividad conduce a las poblaciones de bacterias y altas tasas de respiración, lo que lleva a la hipoxia o anoxia en las aguas profundas y por la noche en las aguas superficiales durante la calma, las condiciones

cálidas. El oxígeno disuelto bajo provoca la pérdida de animales acuáticos y liberación de muchos materiales normalmente unidos a los sedimentos del fondo, incluyendo varias formas de fósforo. Esto refuerza la eutrofización. Las concentraciones excesivas de fósforo es la causa más común de la eutrofización en lagos de agua dulce, embalses, arroyos y cabeceras de sistemas de estuarios. En el océano, es el Nitrógeno el nutriente clave que controla la producción primaria.

Estuarios y aguas de la plataforma continental son una zona de transición, donde el exceso de ambos fósforo y nitrógeno crean problemas (Correll, 1998).

### **Bibliografía Citada**

- Allen, H. E., y Kramer, J. R. (1972). *Nutrients in natural waters*. Information Systems Division, National Agricultural Library. 457 pp.
- Boyd, C. E. (1989). *Water quality management and aeration in shrimp farming*. Alabama Agricultural Experiment Station (AAES) Reports.
- Correll, D. L. (1998). The role of phosphorus in the eutrophication of receiving waters: A review. *Journal of Environmental Quality*, 27(2), 261-266.
- McKindsey, C. W., Thetmeyer, H., Landry, T., y Silvert, W. (2006). Review of recent carrying capacity models for bivalve culture and recommendations for research and management. *Aquaculture*, 261(2), 451-462.
- Wellborn, T. L. (1987). *Catfish farmer's handbook*. Publication-Mississippi State University. Cooperative Extension Service (USA). 35 pp.

### **Bibliografía Recomendada**

- Boyd, C. E., y Tucker, C. S. (2012). *Pond aquaculture water quality management*. Springer Science & Business Media. 700 pp.
- Mee, L. (2006). Reviving dead zones. *Scientific American*, 295(5), 78-85.

# Práctica XXVIII

## Determinación de Oxígeno Disuelto por el método del electrodo con membrana selectiva

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

La determinación de oxígeno disuelto con sensores por membrana es la manera más fácil y económica. Los electrodos con membranas selectivas a oxígeno son polarográficos o galvánicos, ambos están compuestos por dos electrodos metálicos en contacto con una solución electrolítica que están separados del agua a analizar por una membrana selectiva. La diferencia fundamental entre estos dos tipos de electrodos es que la reacción en los electrodos galvánicos es espontánea mientras que en los polarográficos se necesita una fuente de voltaje externa para polarizar el electrodo. Las membranas están compuestas normalmente por polietileno y fluorocarbonos que son permeables al oxígeno (APHA, 1998).

Los electrodos de membrana para la determinación de oxígeno (oxímetro) son disponibles de manera comercial, en estos equipos la corriente de difusión es linealmente proporcional a la concentración de oxígeno disuelto en la muestra y se transforma a unidades de concentración, se debe considerar que los electrodos de membrana son sensibles a la temperatura del agua que se mide ya que la permeabilidad de la membrana al oxígeno presenta variaciones de manera lineal con relación a la temperatura. Asimismo, la salinidad de la muestra afecta la sensibilidad de la membrana y por lo tanto la determinación de oxígeno disuelto. La compensación por la temperatura y la salinidad deben considerarse al elegir un oxímetro. De esta manera un equipo con un termistor y conductímetro darán los resultados más precisos; aunque

en el mercado existen algunos equipos a los que se les puede programar la salinidad y la temperatura de la muestra previa a la medición.

Asimismo, la respuesta del electrodo es función del movimiento del agua en la muestra.

## **Objetivos**

- Utilizar adecuadamente un oxímetro.
- Identificar las características deseables (parámetros de medición: ph, temperatura, oxígeno disuelto, entre otros) en un oxímetro de acuerdo a las variables que se pretende medir.

## **Materiales**

Oxímetro (del que se tenga a disposición)

Manual de operación del Oxímetro

Agua de la llave

Agua de un cuerpo de agua

Agua destilada

## **Desarrollo**

Leer el manual de operación del oxímetro a disposición y en base a él, realizar la colocación de las baterías, encendido, cuidado, mantenimiento, almacenamiento de la información y en su caso, calibración del equipo.

### *Calibración*

En general todos los equipos de medición de oxígeno disuelto tienen la calibración contra una atmósfera saturada de humedad, para ello acceder al menú de calibración y colocar el sensor en una cámara que incluye el equipo en la que se obtiene la atmósfera saturada de humedad. En general los equipos solicitan la presión atmosférica o bien la altura sobre el nivel del mar a la que se está realizando la calibración. Algunos equipos tienen integrado su propio barómetro y no solicitan la presión ni la altura sobre el nivel del mar.

Algunos equipos tienen también la calibración contra soluciones de concentración de oxígeno conocida, obtenida por otro método, por ejemplo, el método químico de Winkler, en este caso se coloca el valor en el equipo mientras el sensor está en la muestra.

### *Medición de la concentración de oxígeno disuelto*

Enjuagar el sensor del equipo, previo a la medición con agua destilada. Sumergir el sensor en el agua donde se realizará la medición. Si se realiza en cuerpos de agua con cierto movimiento del agua o bien desde una embarcación no será necesario hacer algo; sin embargo, en submuestras en contenedores o en cuerpos de agua muy quietos deberá moverse el sensor o bien agitar (sin formar burbujas ya que modificarían el valor de oxígeno disuelto) la muestra para que la respuesta del electrodo sea la adecuada.

Registrar los datos que proporcione el equipo: oxígeno disuelto, salinidad, conductividad, conductancia, temperatura, entre otros.

Las muestras a medir serán:

Agua de un cuerpo natural o artificial.

Agua de un cuerpo natural o artificial agitada vigorosamente.

Agua de la llave.

Agua de la llave después de agitarla vigorosamente.

Agua destilada.

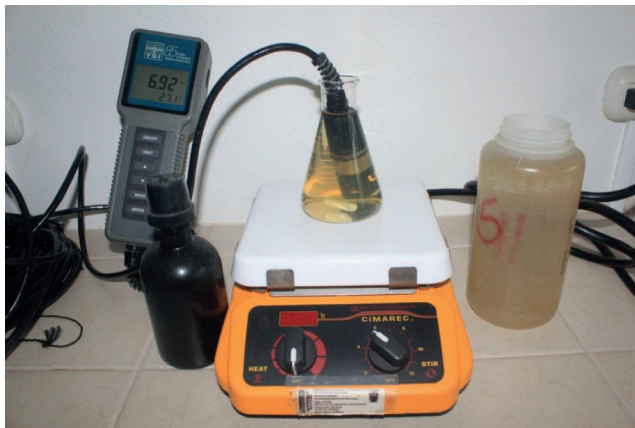
Agua destilada después de agitarla vigorosamente.

Al terminar la práctica enjuagar el sensor con agua destilada y almacenar el equipo como lo indique el manual de operación.





**Fig. 76.** Oxímetro YSI 85 para medir oxígeno, conductividad, salinidad y temperatura.



**Fig. 77.** Medición de oxígeno disuelto con agitación para funcionamiento del sensor.

## Cuestionario

- Indicar marca y modelo del equipo utilizado para la práctica.
- ¿Qué sensores tiene?
- De acuerdo con el manual de operación ¿cómo se realiza la calibración de oxígeno disuelto del equipo?
- Registrar las mediciones de oxígeno (Tabla VIII), incluir las unidades en las que están los resultados del equipo.
- Hacer una tabla similar para cada una de las variables adicionales que mida el equipo disponible.

**Tabla 8**

Registro de las mediciones de oxígeno y otros parámetros que mida el oxímetro disponible

	Agua de cuerpo natural	Agua de la llave	Agua destilada
Sin agitar			
Agitada			

Las muestras a medir serán como lo indica la tabla.

## Bibliografía citada

American Public Health Association (APHA) y American Water Works Association. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20 Edition. American Public Health Association. Washington DC. 1368 pp.

## Bibliografía recomendada

Hanson, P. C., Carpenter, S. R., Kimura, N., Wu, C., Cornelius, S. P., y Kratz, T. K. (2008). Evaluation of metabolism models for free-water dissolved oxygen methods in lakes. *Limnology and Oceanography: Methods*, 6(9), 454-465.

# Práctica XXIX

## Determinación de oxígeno disuelto por el método de Winkler

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

El método químico más utilizado para la determinación de Oxígeno disuelto en el agua es el de Winkler, consiste en que a una cantidad conocida de agua se le añade una solución de sulfato manganoso e inmediatamente una solución de hidróxido de sodio-yoduro sodio. El hidróxido de manganeso se precipita y reacciona con el oxígeno disuelto en el agua con la formación de un óxido tetravalente hidratado de manganeso. Se acidifica el medio con ácido sulfúrico y después de la acidificación, los hidróxidos de manganeso se disuelven. En la solución de ácido, el manganeso tetravalente en  $MnO(OH)_2$  actúa como un agente oxidante y libera yodo libre a partir de los iones yoduro.

El yodo liberado, equivalente al oxígeno disuelto presente en el agua, se valora luego con una solución de tiosulfato de sodio estandarizado y el oxígeno disuelto presente en la muestra se calcula.

Exactitud del Método: 0.1%

Interferencias del método: los agentes oxidantes y reductores producen resultados elevados al oxidar el yoduro a yodo, entre los agentes oxidantes que interfieren el más importante es el ion nitrito, esto se puede eliminar agregando azida de sodio en el reactivo alcalino, el ion férrico causa errores positivos y su efecto puede prevenirse por la adición de ácido fosfórico, el cual forma un complejo con el fierro y baja su potencial redox. Los agentes reductores más importantes son: el ion ferroso, el ácido sulfhídrico y la materia orgánica, su interferencia puede prevenirse efectuando una oxidación preliminar con bromo o permanganato en medio ácido (APHA, 1998).

## Objetivos

- Realizar la determinación química de oxígeno disuelto en el agua por el método de Winkler.
- Aprender a coleccionar muestras de agua para la determinación de gases disueltos en el agua.
- Realizar titulaciones iodométricas.
- Utilizar materiales peligrosos con las debidas normas de seguridad.

## Materiales

### *Reactivos*

- 1) Sulfato Manganoso: disolver 365 g de sulfato manganoso monohidratado ( $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en 300 mL de agua destilada, y llevar a un volumen final de un litro. Guardar la solución en frasco ámbar.
- 2) Yoduro Alcalino: disolver 500 g de hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ) en 500 mL de agua destilada. Disolver 300 g de yoduro de potasio ( $\text{KI}$ ) en 450 mL de agua destilada y mezclar las dos soluciones, aforar a un litro. Guardar la solución en frasco ámbar.
- 3) Tiosulfato de Sodio (aproximadamente 0.01N): disolver 2.5 g de tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) y 0.1 g de carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) en 1 litro de agua destilada. Agregar una gota de bisulfuro de carbono ( $\text{CS}_2$ ) por litro, como conservador. Guardar la solución en un frasco ámbar a una temperatura menor de  $25^\circ\text{C}$  y valorar.

### *Valoración del Tiosulfato de Sodio*

- a) Medir por triplicado 25 mL de agua de salinidad similar al de la muestra en matraces Erlenmeyer.
- b) Agregar 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y mezclar.
- c) Agregar 1 mL de yoduro alcalino y mezclar.
- d) Agregar 1 mL de sulfato manganoso y mezclar.
- e) Agregar 2 mL de yodato de potasio ( $\text{KIO}_3$ ) 0.01N, agitar suavemente, tapar y dejar reposar 10 minutos en la oscuridad (para evitar producción fotoquímica de yodo).
- f) Titular con tiosulfato de sodio y usar almidón como indicador.

Blanco de reactivos:

Hacer 3 determinaciones repitiendo los pasos anteriores, pero sin agregar el yodato de potasio; si se requieren más de 0.1 mL de tiosulfato preparar nuevos reactivos, si no se pueden preparar nuevos reactivos, promediar los mililitros usados en las tres determinaciones y restar este volumen al gastado en cada muestra y en el estándar.

#### *Cálculos de la Valoración del $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$*

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$V_1$  = Volumen de Tiosulfato de Sodio gastados

$N_1$  = Normalidad del Tiosulfato de Sodio

$V_2$  = Volumen del Yodato de Potasio (Alícuota)

$N_2$  = Normalidad del Yodato de Potasio

- 4) Ácido Sulfúrico: ácido sulfúrico concentrado (Grado reactivo) [ $\sim 36\text{N}$ ]
- 5) Almidón como indicador: preparar diariamente una solución al 0.1% de almidón para yodometría. Calentar 50 mL de agua destilada con agitación a ebullición, en una pequeña cantidad de agua destilada suspender 0.1 g de almidón soluble esperar por aproximadamente 5 minutos a que se disuelva, retirar de calentamiento y aforar a 100 mL.
- 6) Yodato de Potasio (0.01): Secar el yodato de potasio ( $\text{KIO}_3$ ) (para valorar la solución de Tiosulfato de sodio) a  $105^\circ\text{C}$  por una hora. Enfriar en el desecador y pesar 0.3567 g de yodato de potasio disolver en agua destilada y aforar a 1 litro.

#### *Cristalería*

Botellas de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) de 300 mL 2 por cada muestra a analizar.

Pipetas graduadas de vidrio de 5 y 10 mL.

Propipetas

Matraces Erlenmeyer 25 mL (2 por cada muestra a analizar).

Matraces aforados 4 de un litro.

Vasos de precipitados 4 de 500 mL.

Bureta (electrónica o de vidrio).

Equipo de seguridad guantes de hule para trabajo con ácido sulfúrico, bata, gafas de seguridad y campana de extracción.

## Desarrollo

Enjuagar el frasco de Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) de 300 mL con tapón esmerilado, con agua de la muestra, al menos dos veces. Para tomar la muestra llenar el frasco DBO hasta rebasar el borde evitando la formación de burbujas al interior del frasco.

Adicionar 1 mL de sulfato manganoso introduciendo la pipeta un poco en el menisco de la muestra. Adicionar 1 mL de yoduro alcalino introduciendo la pipeta un poco en el menisco de la muestra con el fin de prevenir la oxidación del aire. Tapar rápidamente teniendo cuidado de no formar burbujas de aire, verificar que el tapón cierre herméticamente y mezclar enérgicamente. Dejar asentar el precipitado a una tercera parte del frasco de la muestra (Fig. 78a).

Agregar 1 mL de ácido sulfúrico concentrado introduciendo la punta de la pipeta por debajo de la superficie de la muestra, tapar y agitar enérgicamente hasta disolver por completo el precipitado (Fig. 78b).

Nota: Usar equipo de seguridad y trabajar en la campana de extracción (Fig. 81).

Tomar una alícuota de 10 mL de muestra y pasar a un matraz Erlenmeyer de 25 mL (Fig. 78c). Titular la alícuota con tiosulfato de sodio 0.01N, adicionar hasta obtener un color amarillo paja (Fig. 79). Agregar 10 gotas de almidón al 0.1% (color azul) (Fig. 80a), y seguir adicionando tiosulfato hasta que la alícuota se torne incolora (Fig. 80b), anotar el volumen gastado.

Nota: Hacer por triplicado la titulación de cada muestra.

## Cálculos

$(V1 \times N1)(5.6)(1000) \times K = \text{contenido de oxígeno en mL/L}$

$$K = \frac{\text{Vol. del frasco muestra} - 2}{\text{Vol. del frasco}}$$

1 meq de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1= 5.6 mL de  $\text{O}_2$  (S,T,P estándar)

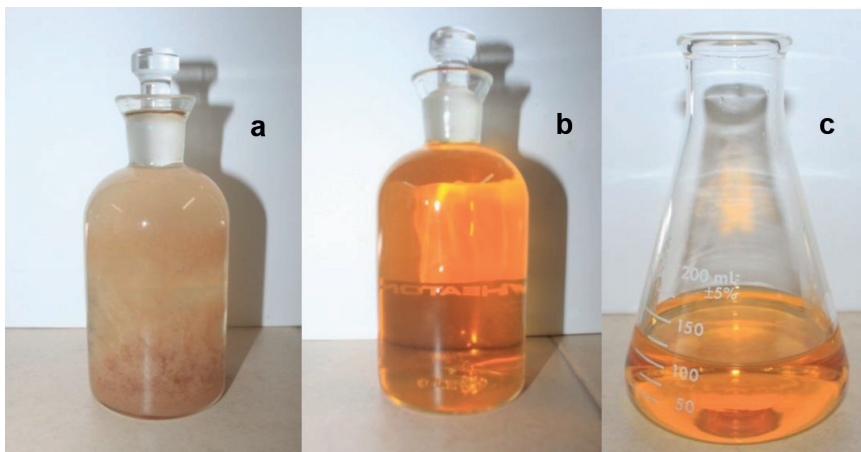
V1 = mL de tiosulfato de sodio,

N1 = normalidad del tiosulfato de sodio,

Las muestras a medir serán:

- Agua de un cuerpo natural o artificial.
- Agua de un cuerpo natural o artificial agitada vigorosamente.
- Agua de la llave.

- Agua de la llave después de agitarla vigorosamente.
- Agua destilada.
- Agua destilada después de agitarla vigorosamente.



**Fig. 78.** a) Muestra con el precipitado de oxihidróxido de manganeso; b) muestra después de la adición de ácido sulfúrico con la liberación de yodo y c) alícuota de la anterior.



**Fig.79.** Titulador electrónico con muestra a la que, se añadió tiosulfato de sodio y adquirió un color amarillo paja.



**Fig. 80.** a) Muestra después de la adición de almidón y b) muestra titulada.



**Fig. 81.** Campana de extracción de gases para trabajo con materiales peligrosos.

## Cuestionario

- Registrar los resultados en la siguiente tabla:



**Tabla 9**

Registro de las mediciones de oxígeno y otros parámetros que mida el oxímetro disponible

	Agua de cuerpo natural	Agua de la llave	Agua destilada
Sin agitar			
Agitada			

- Las muestras a medir serán como lo indica la tabla.
- ¿De qué color es el precipitado de las muestras que tienen mayor cantidad de oxígeno disuelto al agregar el ácido sulfúrico en comparación con las que tienen menos oxígeno?
- ¿Por qué es de diferente color el precipitado en función de la cantidad de oxígeno disuelto?
- ¿De qué color son las muestras que tienen mayor cantidad de oxígeno disuelto al agregar el ácido sulfúrico en comparación con las que tienen menos oxígeno?
- ¿Cómo podría explicar esta observación en los colores?

### **Bibliografía citada**

American Public Health Association (APHA) y American Water Works Association. (1998). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20 Edition. American Public Health Association. Washington DC. 1368 pp.

### **Bibliografía recomendada**

Carpenter, J. H. (1965). The accuracy of Winkler method for dissolved oxygen analysis. *Limnology Oceanography*, 10(1), 135- 140.

Carritt, D. E. y Carpenter, J. H. (1966). Comparison and evaluation of currently employed modifications of the Winkler method for determining dissolved oxygen in sea water. *Journal of Marine Research*, 24(3), 286- 318.

Grasshoff, K., Ehrthardt, M. y Kremling, K. (1983). *Methods of Seawater Analysis*, ed. Verlag Chemie. 61 -72 pp.

Montgomery, H., Thom, N. S. y Cockburn, A. (1964). Determination of dissolved oxygen by the Winkler method and the solubility of oxygen in pure water and sea water. *Journal of Applied Chemistry*, 14(7), 280- 296.

# Práctica XXX

## Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno a 5 días (DBO<sub>5</sub>)

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

La determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) es una prueba empírica que con procedimientos de laboratorio estandarizados mide cuánto requiere el agua de oxígeno; es una medida que representa la materia orgánica fácilmente degradable que fácilmente consume el oxígeno disuelto en el agua.

El método de autoconsumo de oxígeno tiene una amplia aplicación para evaluar las variaciones de materia orgánica por un sistema. Existen muchas variantes en el uso de este método, hay desde procedimientos que implican diluir la muestra que son útiles cuando se analizan aguas con muy alto contenido de materia orgánica como son los efluentes de drenajes y plantas de tratamiento. Para los fines de la acuicultura se utiliza normalmente el agua de la muestra sin diluir y una duración de la incubación de 5 días. Agua con DBO que en 5 días no sea posible evaluarse por consumo total de oxígeno, no será útil para acuicultura. El principio del método consiste en llenar una botella hermética con el agua de la muestra, a esta agua se le adiciona previamente oxígeno disuelto por aireación, se le mide el oxígeno disuelto, se le deja en incubación por 5 días a 25°C y se le vuelve a medir el oxígeno disuelto.

La diferencia entre el oxígeno inicial y el final, representa la demanda bioquímica de oxígeno (Rodier, 1990).

## Objetivo

Aprender la determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno en 5 días en agua para uso en acuicultura.

## Materiales

Materiales del método de Winkler, si la determinación se realizará de manera química.

Materiales del método de membrana selectiva si la determinación de oxígeno se realizará con oxímetro.

Botellas de boca ancha.

Aireadores con manguera.

Bomba para acuario.

## Desarrollo

Colocar la muestra de agua en una botella de boca ancha. Poner en aireación 10 minutos y reposar sin aireación durante 10 minutos. Tomar una parte de la muestra y medir la concentración de oxígeno disuelto por cualquiera de los dos métodos arriba mencionados.

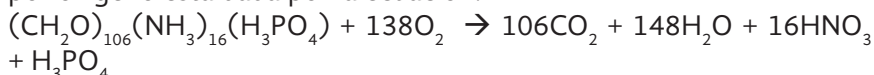
Colocar la muestra en una botella de DBO y llevar a incubación en la obscuridad a 25°C durante 5 días. Determinar la concentración de oxígeno disuelto por cualquiera de los métodos arriba mencionados.

## Cálculos

Oxígeno inicial ( $Ox_i$ ) – oxígeno final ( $Ox_f$ ) =  $DBO_5$

## Cuestionario

Suponiendo que la composición media del plancton y su degradación por oxígeno está dada por la ecuación:



· ¿A cuántos mg de materia orgánica representa una demanda bioquímica de oxígeno de 1 mg?

## **Bibliografía citada**

Rodier, J. (1990). Análisis de las aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar; química, fisicoquímica, bacteriología, biología. Omega. 659 pp.

## **Bibliografía Recomendada**

NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO5) y residuales tratadas. Método de prueba (cancela a la NMX-AA-028-1981). Comisión Nacional del Agua.

# Práctica XXXI

## Evaluación de las variaciones diurnas de oxígeno disuelto para cálculo de producción de oxígeno por fotosíntesis y consumo por respiración del estanque

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

En la acuicultura, normalmente con un mínimo de recursos, es necesario evaluar de manera rápida la calidad del agua y estimar la capacidad de carga del sistema. Una variable fundamental es la concentración de oxígeno disuelto y sus variaciones, la determinación de oxígeno disuelto en el agua se puede realizar a través de sensores de manera rápida y económica. Para estimar la capacidad de carga del sistema un parámetro útil es el estado trófico del cuerpo de agua que se puede evaluar a partir de mediciones de oxígeno disuelto con el uso del método de la curva diaria de oxígeno.

El método de la curva diaria de oxígeno consiste en medir oxígeno disuelto a lo largo del ciclo diurno que permite estimar las tasas de fotosíntesis y respiración; de ser posible medir temperatura y salinidad que permitirán obtener los valores de la tasa de intercambio de oxígeno con la atmósfera. Este se puede utilizar para evaluar la capacidad de carga con anterioridad al establecimiento de las instalaciones o durante su operación.

### Objetivo

Aprender a estimar el estado trófico de un cuerpo de agua a partir de las mediciones de oxígeno disuelto a lo largo de un ciclo diurno.

## **Materiales**

Los indicadores en la práctica de medición de oxígeno disuelto, ya sea a través de sensor o por determinación de Winkler.

## **Desarrollo**

### *Frecuencia de la medición*

La frecuencia de medición puede variar entre una y tres horas. Realizar mediciones a mayor frecuencia proporcionará una variación mayor en los datos producidos por fenómenos locales de mezcla turbulenta, los sistemas distróficos presentarán mayor variabilidad. Las variaciones tendrán un impacto sobre los cálculos de productividad primaria, respiración y difusión con la atmósfera (Staeher *et al.*, 2010). Asimismo, mediciones con frecuencias mayores a tres horas serán poco exactas porque los niveles máximos y mínimos de oxígeno pueden quedar enmascarados particularmente en las horas del mediodía y al amanecer, respectivamente.

### *Duración de la medición*

Con mediciones de una y tres horas, durante un ciclo completo de 24 horas, los valores obtenidos de productividad primaria, respiración y difusión con la atmósfera son reproducibles y confiables (Staeher *et al.*, 2010).

### *Sitio de la medición*

Se puede considerar que, en los estanques de acuicultura normalmente someros, el agua se encuentra toda mezclada por lo que la medición se realizará de manera subsuperficial, a menos de que sean aguas extraordinariamente claras se puede suponer que no existe fotoinhibición de la fotosíntesis.

### *Método de Cálculo*

En el agua la cantidad de oxígeno disuelto está en función de los fenómenos biológicos principalmente por la fotosíntesis y respiración, además de procesos físicos como el intercambio de gases con la atmósfera

por difusión y el transporte horizontal de oxígeno (advección) (Kemp y Boynton, 1980).

Por lo anterior las variaciones de oxígeno disuelto por unidad de tiempo ( $\Delta O_2$ ) estarán dadas por:

$$\Delta O_2 = O_{2f} - O_{2i} \quad (1)$$

Donde, los subíndices i y f indican inicial y final respectivamente y para el tiempo (t) su incremento  $\Delta t$  se define por:

$$\Delta t = t_f - t_i \quad (2)$$

El cambio de oxígeno disuelto con respecto al tiempo será:

$$\frac{dO_2}{dt} = \frac{\Delta O_2}{\Delta t} \quad (3)$$

Los niveles de concentración de oxígeno disuelto estarán definidos por los diferentes aportes (fotosíntesis, difusión y advección) y consumos (respiración, difusión y advección) que ocurren en el sistema, por lo tanto, sus cambios en un instante serán de acuerdo con Odum (1956):

$$\frac{dO_2}{dt} = Pf - Cr + Dif + Adv \quad (4)$$

Donde:

$dO_2/dt$  = es el cambio de oxígeno con respecto al tiempo

Pf = tasa de producción por fotosíntesis.

Cr = tasa de consumo por respiración.

Df = tasa de intercambio con la atmósfera.

Adv = tasa de intercambio por advección

### *Advección*

Para el cálculo de la advección se debe de considerar los flujos de oxígeno que conjuntamente con el agua ingresan y salen del sistema.

De esta manera:

$$Adv = Q_{in} [O_{2in}] - Q_{out} [O_{2out}] \quad (5)$$

Donde:

$Q_{in}$  = es el flujo de entrada

$Q_{out}$  = es el flujo de salida

$[O_{2in}]$  = es la concentración de oxígeno disuelto en el agua de ingreso  
 $[O_{2out}]$  = es la concentración de oxígeno disuelto en el agua de egreso

En condiciones estables y con tasas de evaporación despreciables donde  $Q_{in} = Q_{out}$ , se calcula así:

$$Adv = Q_{in} ([O_{2in}] - [O_{2out}]) \quad (6)$$

En cuerpos de agua o cultivos con tasas de recambio de agua bajas (menores al 10%), se puede despreciar el valor de la advección.

La estimación del intercambio gaseoso entre el agua se puede calcular de la siguiente manera (Odum y Hoskin 1958):

La tasa de intercambio del gas por difusión entre el agua y la atmósfera es proporcional a la razón del valor de la concentración de oxígeno disuelto y el de la saturación de oxígeno en el agua, es decir:

$$Dif \propto S \quad (7)$$

Donde:

$$S = 1 \frac{[O_2]}{sat} \quad (8)$$

S = Fracción del déficit de oxígeno disuelto con respecto a la concentración de saturación

Dif = Tasa de intercambio de  $O_2$  por difusión

$[O_2]$  = Concentración de oxígeno disuelto

Sat = Concentración calculada de saturación de oxígeno disuelto

Sat se calcula a partir de la ecuación de Weiss

$$\ln C = A_1 + A_2(10^2 \times T^{-1}) + A_3 \ln(T \times 10^{-2}) + A_4(T \times 10^{-2}) + Sal(B_1 + B_2 T \times 10^{-2} + B_3 T^2 \times 10^{-4}) \quad (9)$$

$A_1 =$	-173.4292	$B_1 =$	-0.033096
$A_2 =$	249.6339	$B_2 =$	0.014259
$A_3 =$	143.3483	$B_3 =$	-0.0017
$A_4 =$	-21.8492		

Donde:

C = es la concentración de saturación de oxígeno en mL/L.

Sal = es la salinidad en ppm

T = es la temperatura en °K



Para transformar los valores de mL/L a mg/L. Considerando las condiciones estándar de un gas (25°C y 1 atm) una mol equivale a 22.4 l, ya que el peso molecular del O<sub>2</sub> es 32 entonces:

$$1 \text{ mL O}_2 = 32 \div 22.4 \quad (10)$$

Es decir: 1mL/L equivale a 1.43 mg/l

La ecuación 7 se puede expresar también como:

$$S = \frac{[Sat]-[O_2]}{Sat} \quad (11)$$

Para convertir la proporcionalidad 6 en una función se introduce una constante que se denomina K<sub>dif</sub> así:

$$Dif = K_{dif} S \quad (12)$$

Para obtener el valor de la constante se puede utilizar la ecuación 3 considerando que la advección es cero.

$$Dif = \frac{dO_2}{dt} - pf + Cr \quad (13)$$

En esta situación la tasa de cambio de oxígeno disuelto es función solamente de las tasas de fotosíntesis, respiración y el intercambio por difusión. Suponiendo que en algunos momentos del día el valor de la tasa de fotosíntesis es igual al de la tasa de respiración, por la ecuación 12 se concluye que la tasa de cambio de oxígeno disuelto será exclusivamente función de la difusión.

$$Dif = \frac{dO_2}{dt} \quad (14)$$

Los instantes del día en que las tasas de respiración y de fotosíntesis se igualan son el atardecer y el amanecer, en el caso del primero la disminución de la energía luminosa necesaria para llevar a cabo la fotosíntesis disminuye, lo que provoca que la tasa de producción de oxígeno decaiga, en esta condición los fotosintetizadores consumen oxígeno por respiración provocando que esta última aumente; dado que el aumento en la tasa de respiración y el decremento de la fotosíntesis ocurren de manera gradual, en algún instante del atardecer las tasas de fotosíntesis y respiración se igualan. Por otro lado, al amanecer ocurre el proceso inverso del atardecer, porque el aumento de la luz provoca que

los organismos fotosintetizadores reinicien su producción de oxígeno y detengan su consumo, lo que tiene como consecuencia un aumento en la tasa de producción de oxígeno vía fotosíntesis y un decremento en la tasa de consumo por respiración; ya que el aumento de la intensidad luminosa es gradual, los cambios de estas dos tasas ocurren de manera similar, por lo que en algún momento del amanecer las tasa de producción y consumo se igualan también.

Por todo lo anterior y en base a la ecuación 11:

$$Kdif = \frac{Dif}{S} \quad (15)$$

y

$$Kdif = \frac{\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{Pf=Cr}}{S_{Pf=Cr}} \quad (16)$$

Normalmente es imposible medir las concentraciones de oxígeno disuelto en el agua de manera continua, los cálculos de tasa de cambio calculados a partir de ellos por lo tanto, tampoco son continuos, no se puede asumir que las tasa calculadas contengan los valores en las condiciones del atardecer y amanecer anteriormente mencionadas se cumplan, por esto y debido a que se considera que la constante de difusión es igual a lo largo del día; se puede suponer que la diferencia entre los valores calculados de  $dO_2/dt$ , en la madrugada y en la tarde, corresponden al valor de la difusión, entonces se tiene que:

$$Dif = \left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{am} - \left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{pm} \quad (17)$$

y utilizando la igualdad en la ecuación 11:

$$Kdif = \frac{\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{am} - \left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{pm}}{S_{am} - S_{pm}} \quad (18)$$

Donde:

Kdif = Constante de difusión

$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{am}$  = Tasa de cambio de oxígeno disuelto al amanecer

$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_{pm}$  = Tasa de cambio de oxígeno disuelto al atardecer

$S_{am}$  = Déficit del oxígeno al amanecer

$S_{pm}$  = Déficit del oxígeno al amanecer

La selección y combinación de los valores de  $dO_2/dt$  del atardecer y del amanecer para incluirlos en la ecuación 17 debe ser tal que al aplicar la ecuación 18 el resultado sea muy cercano a cero, de esta manera se refuerza la certeza de estar utilizando las tasas de cambio en las cuales la tasa de producción de oxígeno disuelto por fotosíntesis es igual a la tasa de consumo por respiración.

$$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)^* = \left(\frac{dO_2}{dt}\right) - Dif \quad (19)$$

Donde:

$\left(\frac{dO_2}{dt}\right)^*$  es el cambio de oxígeno disuelto con respecto al tiempo corregido por difusión.

A partir de  $\int_{t_1}^{t_2} \left(\frac{dO_2}{dt}\right)^*$  para los valores de  $\left(\frac{dO_2}{dt}\right)^* > 0$  se estima la producción de oxígeno por fotosíntesis neta y para los de  $\left(\frac{dO_2}{dt}\right)^* < 0$  se estima la respiración neta.

La integración de los valores de fotosíntesis y respiración se pueden integrar a partir de la regla del trapecio, es decir:

$$\frac{\left[\left(\frac{dO_2}{dt}\right)_1^* + \left(\frac{dO_2}{dt}\right)_2^*\right] \times dt}{2} \quad (20)$$

Notar que la integración en este sentido solo será útil si ambos valores de  $(dO_2/dt)^*$  tienen el mismo símbolo. Cuando tienen símbolos diferentes deberá de calcularse el área de cada una de los triángulos.

### *Interpretación de los resultados*

Para entender el significado de los valores obtenidos se debe calcular el valor del coeficiente producción neta/respiración neta (P/R), si este valor es mayor que uno la comunidad en el agua se considera autotrófica, si el valor es menor que uno la comunidad es heterotrófica.

Las comunidades autotróficas producen la materia orgánica y el oxígeno que producen y la diferencia de la producción neta – respiración neta, dará el valor de oxígeno que se “gana” o se pierde diariamente en el agua. En un cultivo o un cuerpo de agua eutrofizado los valores de la relación P/R son menores que 1, en las comunidades distróficas o

cultivos con problemas de calidad de agua los valores son mucho menores que 1.

*Ejemplo de cálculo de fotosíntesis, respiración y difusión*

Datos medidos el día 3 de octubre del 2014 en el lago del Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara (CUC UdG).

**Tabla 10**  
Datos de variación diaria de oxígeno

Fecha y hora	Oxígeno disuelto mg/l	Temperatura °C	Salinidad UPS
03/10/2014 06:50	1.2	28.2	0.2
03/10/2014 09:05	0.8	28.1	0.2
03/10/2014 11:07	1.97	28.4	0.2
03/10/2014 13:00	5.17	29.3	0.2
03/10/2014 15:00	9.1	30.2	0.2
03/10/2014 17:40	10.58	30.6	0.2
03/10/2014 19:00	9.21	30.2	0.2
03/10/2014 21:15	6.08	29.6	0.2
03/10/2014 23:08	3.55	29.2	0.2
04/10/2014 01:02	1.98	29	0.2
04/10/2014 04:10	1.14	28.7	0.2
04/10/2014 05:05	0.72	28.6	0.2
04/10/2014 07:05	0.6	28.3	0.2

Con la ecuación 3, por ejemplo:

$$\frac{dO_2}{dt} = \frac{0.8-1.2}{9:05-6:50} = -0.18$$

Entonces:

**Tabla 11**  
Ejemplo de cálculo de tasa de cambio de oxígeno

Fecha y hora	Oxígeno disuelto mg/l	dO <sub>2</sub> /dt
03/10/2014 06:50	1.2	
03/10/2014 09:05	0.8	-0.18
03/10/2014 11:07	1.97	0.58
03/10/2014 13:00	5.17	1.7
03/10/2014 15:00	9.1	1.96
03/10/2014 17:40	10.58	0.56
03/10/2014 19:00	9.21	-1.03
03/10/2014 21:15	6.08	-1.39
03/10/2014 23:08	3.55	-1.34
04/10/2014 01:02	1.98	-0.83
04/10/2014 04:10	1.14	-0.27
04/10/2014 05:05	0.72	-0.46
04/10/2014 07:05	0.6	-0.06

A través de la regla del trapecio integramos las áreas debajo de los valores de dO<sub>2</sub>/dt con el mismo símbolo así con la ecuación 20:

$$\frac{(0.58 + 1.7) \times 2.033}{2} = 2.147$$

Así las áreas para los diferentes pares de dO<sub>2</sub>/dt del mismo signo son:

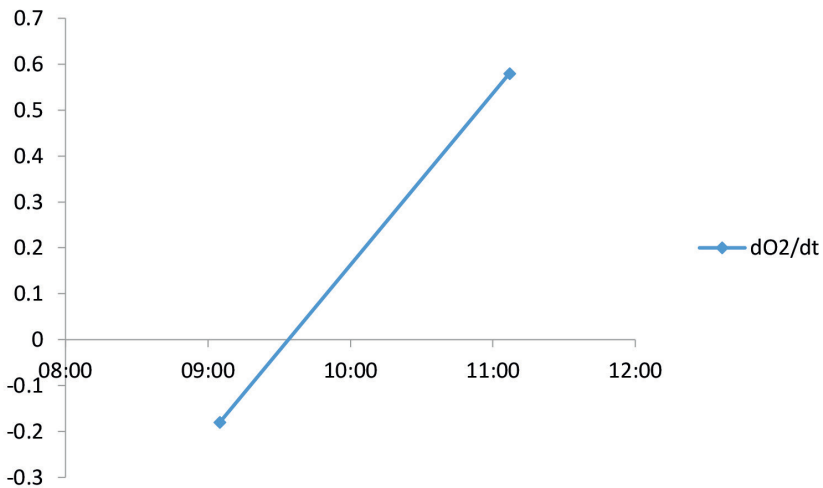
**Tabla 12**  
Cálculo de áreas por el método del trapecio

Fecha y hora	dO <sub>2</sub> /dt	Área
03/10/2014 06:50		
03/10/2014 09:05	-0.18	
03/10/2014 11:07	0.58	2.147
03/10/2014 13:00	1.7	3.66
03/10/2014 15:00	1.96	3.66
03/10/2014 17:40	0.56	
03/10/2014 19:00	-1.03	-2.7225
03/10/2014 21:15	-1.39	-2.57

Fecha y hora	$dO_2/dt$	Área
03/10/2014 23:08	-1.34	-2.0615
04/10/2014 01:02	-0.83	-1.723
04/10/2014 04:10	-0.27	-0.334
04/10/2014 05:05	-0.46	-0.52
04/10/2014 07:05	-0.06	

Para calcular las de signo diferente

Por ejemplo (9:05, -0.18) y (11:07, 0.58) deberá de calcularse de la siguiente manera considerando la siguiente gráfica:



**Fig. 82.** Integración de las áreas de los triángulos de la tasa de cambio de oxígeno.

Observar que en esta circunstancia el área a integrar es la de dos triángulos separados para esto, calcular la hora de intersección con el eje de las x para poder establecer la altura de los triángulos a partir de la ecuación de la línea recta:

$$y = m(x) + b$$

Donde:

m = pendiente de la recta

b = ordenada al origen

La pendiente se puede calcular a partir de los puntos que tenemos con la ecuación:

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1}$$

Sustituyendo con los datos y transformando las horas a decimal:

$$m = \frac{0.58 - (-0.18)}{11.1167 - 9.0833}$$

Se obtiene que  $m = 0.3737$ .

Utilizando un par de datos se obtiene el valor de  $b$  a partir de la ecuación de la recta:

$$0.58 = 0.3737 \times 11.1167 + b$$

$$b = 0.58 - 4.1543$$

$$b = -3.5743$$

asignándole valor de 0 (cero) a  $y$  para obtener la intersección con el eje de las  $x$  tendremos que:

$$0 = 0.3737 x + (-3.5743)$$

Que es lo mismo que:

$$x = \frac{3.5743}{0.3737}$$

Que es lo mismo que 9.565 que en sexagesimal es 9:33.

Ahora la altura será la distancia entre las 9:05 y las 9:33, es decir 28 minutos o 0.4813 de hora.

Entonces el área del triángulo de la izquierda a la intersección será:

$$area = \frac{-0.18 \times 0.4813}{2}$$

Es decir -0.0433.

Para el área del triángulo a la derecha de la intersección, la altura será la distancia 3 entre 9:33 y las 11:07, es decir 1:34 o bien 1.567 horas en decimal.

El área será:

$$area = \frac{-0.18 \times 0.4813}{2}$$

Es decir 0.454.

Entonces hacemos la suma de todas las áreas positivas:

2.147
3.66
3.36
0.131
0.45

**Nota:** se incluye el valor del triángulo calculado entre las 17:40 y las 19:00. La suma será 9.748 que tiene unidades de mg/l y corresponde a la producción neta de oxígeno.

Entonces la suma de todas las áreas negativas:

-2.7225
-2.57
-2.0615
-1.723
-0.334
-0.52
-0.0433
-0.444

La suma será: -10.418 que tiene unidades de mg/l y corresponde al consumo neto de oxígeno a lo largo del día.

Para calcular la respiración total del sistema se asume que es igual a lo largo de todo el día por lo que se consideran el promedio de las  $dO_2/dt$  del día con valores negativos en la noche en los que se asume que la respiración es la que guía las concentraciones de oxígeno disuelto.

Con los datos anteriores se obtiene que el promedio de la respiración es de 1.655 mg/L h por lo que a lo largo del día será  $(1.3023 \times 24)$  39.72 mg/L.



Con la suma de los valores de respiración total del día (39.72) y la producción neta de oxígeno (9.748) se obtiene la producción bruta de oxígeno 49.479 mg/L d.

En resumen:

**Tabla 13**

Resumen del ejemplo de cálculo de producción y consumo de oxígeno

Producción neta de oxígeno	9.75 mg/l d
Respiración neta de oxígeno	10.42 mg/l d
Respiración total del sistema	39.72 mg/l d
Producción bruta del sistema	49.48 mg/l d

Para la estimación de la difusión con la atmósfera se siguen los siguientes pasos:

- a) Calcular la concentración de saturación de oxígeno con la ecuación 9
- b) Los valores obtenidos se usan con la concentración medida en la ecuación 11

Se muestran los resultados de este procedimiento con los datos medidos el día 3 de octubre del 2014 en el lago del CUC.

**Tabla 14**

Datos para el cálculo de intercambio agua-atmósfera

Fecha y hora	[OD] mg/l medido	T °C	T °K	S UPS	[OD] mg/l saturación	S
03/10/2014 06:50	1.2	28.2	301.36	0.2	7.77	0.85
03/10/2014 09:05	0.8	28.1	301.26	0.2	7.79	0.90
03/10/2014 11:07	1.97	28.4	301.56	0.2	7.74	0.75
03/10/2014 13:00	5.17	29.3	302.46	0.2	7.61	0.32
03/10/2014 15:00	9.1	30.2	303.36	0.2	7.5	-0.21
03/10/2014 17:40	10.58	30.6	303.76	0.2	7.44	-0.42
03/10/2014 19:00	9.21	30.2	303.36	0.2	7.5	-0.23
03/10/2014 21:15	6.08	29.6	302.76	0.2	7.59	0.20
03/10/2014 23:08	3.55	29.2	302.36	0.2	7.63	0.53
04/10/2014 01:02	1.98	29	302.16	0.2	7.66	0.74
04/10/2014 04:10	1.14	28.7	301.86	0.2	7.7	0.85

Fecha y hora	[OD] mg/l medido	T °C	T °K	S UPS	[OD] mg/l saturación	S
04/10/2014 05:05	0.72	28.6	301.76	0.2	7.71	0.91
04/10/2014 07:05	0.6	28.3	301.46	0.2	7.76	0.92

A partir de las suposiciones enunciadas para la ecuación 14 se seleccionan los pares de datos donde se probarán las suposiciones, ya que se cuenta con dos datos alrededor del amanecer y dos, alrededor del atardecer.

Considerando:

1. Los valores de las 9:05 del día 3 y las 7:05 del día 4 como valores del amanecer.
2. Los valores de las 17:40 y 19:00 del día 3.

Y calculando las Kdif con la combinación de un dato del amanecer con uno del atardecer.

Los resultados de estos son:

**Tabla 15**

Datos seleccionados para el cálculo de Kdif

S am	dO <sub>2</sub> /dt am	S pm	dO <sub>2</sub> /dt pm	K dif
0.9	-0.18	-0.42	0.56	0.56
0.9	-0.18	-0.23	-1.03	0.75
0.9	-0.06	-0.42	0.56	0.46
0.9	-0.06	-0.23	-1.03	0.84

Con los valores de Kdif se calcula con la ecuación 12 la difusión para los pares de datos con los que se realizó el cálculo de Kdif y se hace la corrección por difusión a los dO<sub>2</sub>/dt usados con la ecuación 19. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

**Tabla 16**

Cálculo de las diferentes Kdif

K dif	Dif am	Dif pm	dO <sub>2</sub> /dt * am	dO <sub>2</sub> /dt * pm
0.56	0.50	-0.10	-0.68	0.66
0.75	0.67	-0.14	-0.86	-0.89
0.46	0.42	-0.03	-0.48	0.59
0.84	0.78	-0.05	-0.84	-0.98

Como se menciona en el texto la selección de  $K_{dif}$  a usar es aquella que los valores de  $dO_2/dt^*$  los más cercanos a cero, en el caso del presente ejemplo estos valores son los del tercer renglón por lo que se considera que la  $K_{dif}$  será 0.46.

Con la  $K_{dif}$  y la ecuación 19 se obtienen los  $dO_2/dt^*$ , los resultados se presentan en la siguiente tabla:

**Tabla 17**

Tasas de cambio de oxígeno corregidas por difusión con la atmósfera

Fecha y hora	$dO_2/dt^*$
03/10/2014 09:05	-0.59
03/10/2014 11:07	0.24
03/10/2014 13:00	1.55
03/10/2014 15:00	2.06
03/10/2014 17:40	0.75
03/10/2014 19:00	-0.92
03/10/2014 21:15	-1.48
03/10/2014 23:08	-1.59
04/10/2014 01:02	-1.17
04/10/2014 04:10	-0.66
04/10/2014 05:05	-0.88
04/10/2014 07:05	-0.49

Con estos valores se realiza nuevamente la integración de la producción de oxígeno y consumo, y corresponden a los valores de fotosíntesis y respiración.

Los resultados en el día utilizado de ejemplo y con los valores presentados, son:

**Tabla 18**

Resultados del ejemplo de producción y consumo de oxígeno

Producción neta de oxígeno	9.34 mg/l d
Respiración neta de oxígeno	13.9 mg/l d
Respiración total del sistema	24.7 mg/l d
Producción bruta del sistema	34.0 mg/l d

La relación P/R en este caso será:

$$9.34/13.9 = 0.67$$

Esto, lleva a la conclusión que el lago del CUC es heterotrófico y que tiene un déficit de oxígeno de:

$$9.34 - 13.9 = -4.56$$

Ahora bien, considerando los valores sin la difusión P/R:

$$9.748/10.418 = 0.94$$

Y el déficit de oxígeno será:

$$9.748 - 10.418 = 0.67$$

Calculando la diferencia de producción neta de oxígeno, sin corregir y corregido por difusión tendremos que:

$$9.34 - 9.748 = -0.408$$

Que representa el oxígeno disuelto que se perdió a la atmósfera por litro de agua a lo largo del ciclo.

Calculando la diferencia de respiración neta de oxígeno, sin corregir y corregido por difusión tendremos que:

$$13.9 - 10.418 = 3.482$$

Que representa el oxígeno disuelto que se disolvió de la atmósfera al agua por litro a lo largo del ciclo.

Si sumamos las ganancias a las pérdidas:

$$3.482 - 0.408 = 3.074$$

Que representa el oxígeno por litro de agua por día que se ganó por difusión con la atmósfera.

**Notas:**

Es frecuente que el oxígeno disuelto se presente en moles, para hacer la transformación solo hay que recordar que 32mg de oxígeno corres-

ponden a una mmol. De esta manera los 3.074 mg/l d de la difusión corresponden a:

$$3.074/32=0.096 \text{ mmoles/Ld}$$

Que con el prefijo adecuado serán 96 $\mu$ moles/Ld.

Para representar los datos en función del área del cuerpo de agua se debe conocer la profundidad y calcular el volumen por metro cuadrado que tiene el cuerpo de agua, en el caso del lago del CUC la profundidad promedio es de 2 metros, es decir hay 2,000 litros por metro cuadrado.

De esta manera los datos expresados por unidad de volumen y en miligramos por litros en las tablas anteriores, expresados en unidades molares y por área serán para el lago del CUC en el día utilizado de ejemplo:

**Tabla 19**

Producción y consumo de oxígeno por unidad de área

	$\mu$ moles/Ld	mmoles/m <sup>2</sup> d
No corregido por difusión		
P neta	305	610
R neta	336	672
R	1,242	2,484
P Bruta	1,546	3092
Corregido por difusión		
P neta	292	584
R neta	435	870
R	770	1,540
P Bruta	1,062	2124

### Cuestionario

Del ciclo de 24 horas realizado, de los siguientes valores en las tablas, sin corrección por difusión:

	Sin corrección por difusión	Corregida por difusión
Producción neta de oxígeno		
Respiración neta de oxígeno		
Respiración total del sistema		
Producción bruta del sistema		
P/R		
Variable		
K dif		
Difusión hacia la atmósfera		
Difusión al agua		
Producción bruta del sistema		

- ¿Qué conclusiones se obtienen sobre el estado trófico del cuerpo de agua analizado?
- ¿Podría ser útil para acuicultura?

### Bibliografía citada

- Kemp, W. M., y Boynton, W. R. (1980). Influence of biological and physical processes on dissolved oxygen dynamics in an estuarine system: implications for measurement of community metabolism. *Estuarine Coastal and Marine Science*, 11(4), 407-431.
- Odum, H. T. (1956). Primary production in flowing waters. *Limnology and Oceanography*, 1(2), 102-117.
- Odum, H. T. y Hoskin, C. M. (1958). Comparative studies on the metabolism of marine waters. Publications of the Institute of Marine Science, Texas, 5, 16-46.
- Staehr, P. A., Bade, D., Van de Bogert, M. C., Koch, G. R., Williamson, C., Hanson, P., Cole, J. J. y Kratz, T. (2010). Lake metabolism and the diel oxygen technique: State of the science. *Limnology and Oceanography: Methods*, 8(11), 628 – 644.

### Bibliografía recomendada

- Harrison, J. A., Matson, P. A., y Fendorf, S. E. (2005). Effects of a diel oxygen cycle on nitrogen transformations and greenhouse gas emissions in a eutrophied subtropical stream. *Aquatic Sciences*, 67(3), 308-315.

# Práctica XXXII

## Determinación de Amonio

Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta

### Introducción

El nitrógeno amoniacal puede existir en dos formas químicas dependiendo de las condiciones fisicoquímicas, principalmente del pH; como ión amonio  $\text{NH}_4^+$  y como amoniaco ( $\text{NH}_3$ ). La técnica presentada aquí mide indistintamente el ión amonio y el amoniaco que se denominará nitrógeno amoniacal.

En aguas naturales costeras, los aportes principales de nitrógeno amoniacal son: 1) la excreción de amonio de los animales, 2) la amonificación bacteriana y 3) la descomposición de la materia orgánica. Esto último es particularmente importante en los estanques acuícolas donde el alimento no consumido contiene un alto contenido proteico (Krom *et al.*, 1989). Otro aporte importante son las altas mortandades de fitoplancton.

A la par de que la concentración de nitrógeno amoniacal se incrementa en el agua donde se cultivan peces, la excreción del ión amonio disminuye y sus niveles en sangre y tejidos se incrementan. A consecuencia de esta elevación se presenta un incremento en el pH de la sangre, que tiene efectos deletéreos en las reacciones enzimáticas, en la estabilidad de las membranas, en la permeabilidad de las branquias y reduce la habilidad de la sangre para transportar oxígeno (Boyd, 1989).

Por otro lado, la concentración de nitrógeno amoniacal es afectada por la utilización de amonio como fuente de nitrógeno por el fitoplancton que la prefiere sobre otras especies químicas de nitrógeno, como el nitrito y el nitrato. Strickland *et al.*, (1969) y Eppley *et al.*, (1969) estudiaron la utilización de fuentes de nitrógeno de cuatro especies fitoplanctónicas, cultivadas en un medio de cultivo con nitrato y amonio como fuentes. Encontraron que el amonio es consumido preferentemente al nitrato.

La utilización preferencial del amonio como fuente de nitrógeno, parece ser universal en el fitoplancton.

Un factor que influye fuertemente en la concentración del nitrógeno amoniacal en el agua, es el potencial redox del medio, ya que éste es el que determina en qué especie química se encontrará la mayor parte del nitrógeno (Stum y Morgan, 1970).

Por esta razón, por la noche cuando los niveles de oxígeno disuelto alcanzan valores mínimos al igual que el potencial redox, la concentración de nitrógeno amoniacal se incrementa (Mires *et al.*, 1990).

La determinación de nitrógeno amoniacal se realiza en base a la descripción de Solórzano (1969). El método consiste en: al agua de la muestra se le trata de un medio alcalino de citrato con hipoclorito de sodio y fenol, en presencia de nitroprusiato de sodio como catalizador. El azul de iodofenol formado por el amoníaco se mide por su absorbancia a 640 nm.

El método de adición de estándares permite la obtención de la concentración de un componente en una muestra, a partir de dos suposiciones:

1. Que cualquier tipo de interferencia afectará uniformemente sin importar la cantidad de estándar añadido.
2. Que la técnica, a cero de concentración, no desarrolla color (cero de absorbancia) o que el mismo es insignificante.

La aplicación del método de adición de estándares consiste en la adición de cantidades conocidas de cloruro de amonio a cuadruplicados de cada muestra.

## Objetivos

- Aprender la técnica colorimétrica para la determinación de amonio en una muestra de agua.
- Calcular la concentración de amonio en una muestra de agua.

## Materiales (ver ANEXO I. Preparación de material para laboratorio en la página 216)

Campana de extracción  
Balanza analítica  
Vortex



Plancha de calentamiento  
Espectrofotómetro  
Espátulas de metal  
Pinzas  
Guantes de látex  
Tubos de ensayo (4 para cada muestra + 4 para cada blanco)  
Gradilla para tubos de ensayo  
Vasos de precipitados de 100 mL  
Matraz aforado de 100 mL  
Pipetas de repetición de 5 mL

### *Reactivos*

Toma de la Muestra sin filtrar (ver XXXVIII ANEXO II. Toma de la muestra en la página 148)

Agua destilada, recién hervida para evitar interferencias con la reacción.

1. Cloruro de mercurio al 3% (ver XXXIX ANEXO III. Solución de Cloruro de mercurio al 3% en la página 148).
2. Estándar B de amonio (ver XL ANEXO IV. Preparación de Estándar B (STD B) para Nitrito, Nitrato, Amonio y Fosfato en la página 148).
3. Solución Fenol Alcohol: pesar 10 g de fenol y mezclar con alcohol cpb 100 mL en un matraz aforado y conservar en refrigeración.
4. Solución Nitroprusiato (Nitroferricianato de sodio):  
Primero calcular cuántos mililitros se necesitan para, agregar 120  $\mu$ l de solución de nitroprusiato a cada tubo de la muestra incluyendo los blancos.  
Pesar un cristal y multiplicar el peso por 200, (esto debe igualar a los mililitros que se necesitan) agregar agua destilada recién hervida cuanto baste para los mililitros calculados ( $H_2O^{\circ}$  = peso del cristal en gramos X 200) agitar hasta disolver. NOTA: preparar únicamente lo necesario, una tonalidad verde indica oxidación de la solución y debe prepararse de nuevo.
5. Disolución alcalina: pesar 20 g de Citrato trisódico, 1g NaOH (Hidroxido de Sodio) y disolver en agua destilada recién hervida cpb 100 mL. NOTA: Almacenar solamente en botella de plástico debido a que la disolución es corrosiva y sellará cualquier tapón de vidrio.
6. Solución Oxidante: (preparar solo lo que se use) diluir 100 mL de Disolución alcalina en 30 mL de cloralex (se recomienda usar cloralex grado comercial y destapar uno nuevo cada vez). Primero

calcular cuántos mililitros se necesitan para, agregar 300 µl de solución oxidante a cada tubo de la muestra incluyendo los blancos.

## Desarrollo

Las muestras a analizar se proponen sean:

- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna.

Por cada muestra, poner 3 mL de ésta en 4 tubos de ensayo, poner dos blancos con 4 tubos de ensayo para cada uno y 3 mL de agua destilada en cada uno.

Para cada muestra y cada blanco en los 4 tubos de ensayo agregar 0, 100, 200 y 300 µl de Estándar B de amonio respectivamente y llevar al Vortex. Con esto se hace una curva de calibración para cada muestra, debido a que la determinación de la concentración de amonio en una muestra de agua incurre en muchas interferencias con el ambiente.

Con las pipetas de vidrio o repetición agregar 120 µl de Fenol Alcohol y llevar al Vortex, agregar 120 µl de Nitroprusiato de Sodio y llevar al Vortex, agregar 300 µl de solución oxidante y llevar al Vortex. Dejar reaccionar 1 hora en obscuridad (color estable por 24 horas) y leer en espectrofotómetro a 640 nm en absorbancia, usar como referencia agua destilada como cero de absorbancia antes de empezar a leer.

**NOTA: usar máscara antigases.**

## Cuestionario

- ¿Las muestras dieron color igual en la misma adición de estándar?
- ¿Qué muestra presentó la mayor concentración de amonio?

## Bibliografía citada

Boyd, C. E. (1989). *Water quality management and aeration in shrimp farming*. Alabama Agricultural Experiment Station (AAES) Reports. 70 pp.

- Eppley, R. W., Coatsworth, J. L. y Solórzano, L. (1969). Studies of nitrate reductase in marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 14(2), 194-205.
- Krom, M. D., Neori, A. y Van Rijn, J. (1989). Importance of water flow rate controlling water quality process in marine and freshwater fish ponds. *The Israeli Journal of Aquaculture/Bamidgeh*, 41(1), 23-33.
- Mires, D., Amit, Y., Avnimelech, Y., Diab, S. y Cochaba, M. (1990). Water quality in a recycled intensive fish culture system under field conditions. *The Israeli Journal of Aquaculture Bamidgeh*, 42(4), 110-121.
- Solórzano, L. (1969). Determination of ammonia in natural waters by phenol-hypoclorite method. *Limnology and Oceanography* 14, p 789.
- Strickland, J. D., Holm-Hansen, O., Eppley, R. W. y Linn, R. J. (1969). The use of a deep tank in plankton ecology. I. Studies of growth and composition of phytoplankton crops at low nutrient levels. *Limnology and Oceanography*, 14(1), 23-34.
- Stumm, W. y Morgan, J. (1970). *Aquatic chemistry; An introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*. Willey-Interscience. 583 pp.

### **Bibliografía recomendada**

- Kirkwood, D.S. (1992). Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Marine Chemistry*, 38(3),151-164.

# Práctica XXXIII

## Determinación de Nitrito

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

La determinación de la concentración de nitrito se realiza con el método colorimétrico que describe Strickland y Parsons (1972), en el cual al nitrito se le hace reaccionar con sulfanilamida en solución ácida, al compuesto así formado se le hace reaccionar con N-1-naftilendiamina (NED), produciendo un tinte altamente coloreado debido a un compuesto azoico.

### Objetivos

- Aprender la técnica colorimétrica para la determinación de nitrito en una muestra de agua.
- Calcular la concentración de nitrito en una muestra de agua.

### Materiales (ver ANEXO I. Preparación de material para laboratorio en la página 216)

Tubos de ensayo  
Gradilla para tubos de ensayo  
Pipetas de repetición de 5 mL  
Vasos de precipitados de 250 mL  
Botellas de plástico de 500 mL  
Vortex  
Espectrofotómetro

## Reactivos

Toma de la muestra filtrada (ver ANEXO II. Toma de la muestra en la página 216).

Cloruro de mercurio al 3 (ver ANEXO III. Solución de Cloruro de mercurio al 3% en la página 216).

Agua destilada

1. Sulfanilamida: disolver 50 mL de Ácido clorhídrico (HCl) en 300 mL de agua destilada, disolver 5 g de sulfanilamida y aforar con agua destilada cbp 500 mL. Almacenar en una botella de plástico.
2. Solución NED: disolver 0.5 g en agua destilada cuanto baste para 500 mL. Almacenar en una botella de plástico.

## Desarrollo

Las muestras a analizar se proponen sean:

- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna.

Por duplicado tomar 4 mL de muestra y colocarla en tubos de ensayo, hacer 6 blancos con 4 mL de agua destilada cada uno y preparar curva de calibración por duplicado (ver ANEXO V. Preparación de la curva de calibración para Nitrito, Nitrato y Fosfato en la página 217). A todos y cada uno de los tubos de ensayo agregar 100  $\mu$ l de sulfanilamida y llevar al Vortex, agregar 100  $\mu$ l de solución NED y llevar al Vortex. Dejar reaccionar 5 minutos en la obscuridad (color estable por 6 horas) y leer en espectrofotómetro a 543 nm en absorbancia, usar como referencia agua destilada como cero de absorbancia antes de empezar a leer.

## Cálculos

Las concentraciones de las muestras se obtienen a partir de una recta de regresión calculada con los estándares de concentración conocida y sus observancias obtenidas (ver ANEXO VI. Cálculos estadísticos en la página 218).

## Cuestionario

- ¿Qué muestra presentó la mayor concentración de nitrito?
- ¿Cómo se explica lo anterior?
- ¿El agua de la llave tiene nitritos?

### **Bibliografía citada**

Strickland, J. D. H. y Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Board Can. 167.

### **Bibliografía recomendada**

Kirkwood, D. S. (1992). Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Marine Chemistry*, 38(3),151-164.

# Práctica XXXIV

## Determinación de Nitrato

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

La concentración de nitrato se obtiene reduciendo la muestra con una columna de cadmio-cobre, usando la técnica de determinación de nitritos descrita en Strickland y Parsons (1972).

Para hacer el paso de la muestra por la columna de manera expedita, se utiliza una bomba peristáltica para impulsar la muestra.

Para obtener el valor de la concentración de nitrato de la muestra se utiliza el método descrito anteriormente para nitrito, con la diferencia que los estándares se preparan con nitrato de potasio.

El valor obtenido representa la suma del nitrito más el nitrato de la muestra, así que, para obtener la concentración del último, solo se resta a éste el valor de la concentración del nitrito.

### Objetivos

- Aprender la técnica colorimétrica para la determinación de nitrato en una muestra de agua.
- Calcular la concentración de nitrato en una muestra de agua.

### **Materiales (ver ANEXO I. Preparación de material para laboratorio en la página 216).**

Tubos de ensayo  
Gradilla para tubos de ensayo  
Pipetas de repetición de 5 mL  
Vasos de precipitados de 100 mL

Vortex  
Espectrofotómetro  
Bomba peristáltica (Fig. 82a)

### *Reactivos*

Toma de la muestra filtrada (ver ANEXO II. Toma de la muestra en la página 216).

Cloruro de mercurio al 3% (ver ANEXO III. Solución de Cloruro de mercurio al 3% en la página 216).

Agua destilada

1. Ácido clorhídrico (HCl) a [1 N]: diluir 10 mL en 90 mL de agua destilada.
2. Limadura de Cadmio o Cadmio en gránulos: 10 g.
3. Sulfanilamida: disolver 50 mL de Ácido clorhídrico (HCl) en 300 mL de agua destilada, disolver 5 g de sulfanilamida y aforar con agua destilada cbp 500 mL. Almacenar en una botella de plástico.
4. Solución NED: disolver 0.5 g en agua destilada cbp 500 mL. Almacenar en una botella de plástico.
5. Cloruro de amonio para columna ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ): disolver 125 g en agua destilada cbp 500 mL (Fig. 82c).
6. Solución de Sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) para activar la columna: disolver 4 g en 100 mL de agua destilada.

### *Preparación para la Columna*

Lavar durante un minuto la limadura de Cadmio con la solución de ácido clorhídrico, retirar y enjuagar 4 veces con agua destilada, retirar. Sumergir en solución de sulfato de cobre, dejar hasta que forme flóculos flotantes. Retirar y lavar con solución de cloruro de amonio diluida 1:40, agregar en la columna (Fig. 82b). Lavar durante 20 minutos con agua destilada ya en la columna.

### **Desarrollo**

Las muestras a analizar se proponen sean:

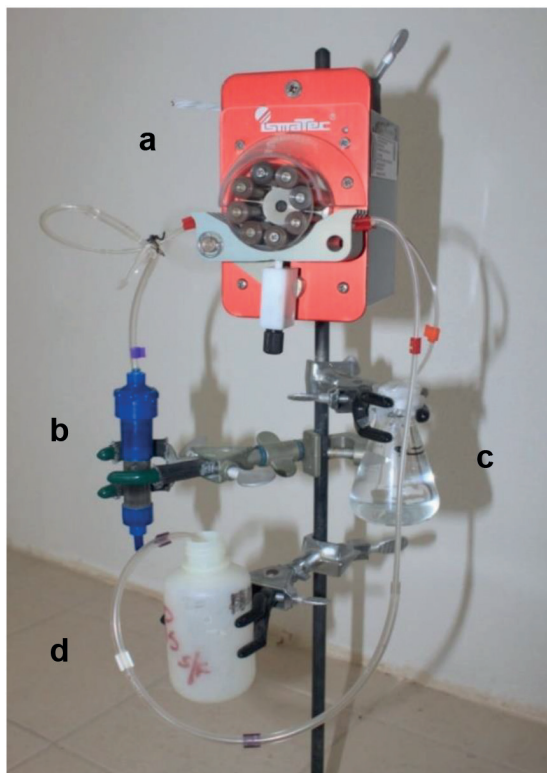
- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna



Tomar 25 mL de muestra y lavar la columna durante 5 minutos (Fig. 82d), coleccionar 1 minuto de muestra en tubo de ensayo. Hacer 6 blancos y 10 diluciones para la curva de calibración. Agregar 100  $\mu$ l de sulfanilamida y llevar al Vortex, agregar 100  $\mu$ l de NED y llevar al Vortex, para cada tubo de ensayo. Dejar reaccionar 5 minutos (color estable por 6 horas) y leer en espectrofotómetro a 543 nm de absorbancia, usar como referencia agua destilada como cero de absorbancia antes de empezar a leer.

### *Cálculos*

Las concentraciones de las muestras se obtienen a partir de una recta de regresión calculada con los estándares de concentración conocida y sus observancias obtenidas (ver ANEXO VI. Cálculos estadísticos en la página 218).



**Fig. 83.** a) Bomba peristáltica, b) columna, c) solución de cloruro de amonio y d) muestra.

## **Cuestionario**

- ¿Qué muestra presentó la mayor concentración de nitrato?
- ¿Cómo se explica lo anterior?
- ¿El agua de la llave tiene nitratos?

## **Bibliografía citada**

Strickland, J. D. H. y Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Board Can. 167.

## **Bibliografía recomendada**

Kirkwood, D. S. (1992). Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Marine Chemistry*, 38(3),151-164.

# Práctica XXXV

## Determinación de Fosfatos

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

El fósforo es un constituyente fundamental de los seres vivos debido a su participación en funciones esenciales: 1) estructurales, en el caso de moléculas como el ADN (ácido desoxirribonucleico), algunas enzimas y varios cofactores de las mismas, o bien, 2) en el manejo de energía en los procesos celulares por medio del ATP (adenosin trifosfato) (Trudinger y Swaine, 1979). Sin embargo, su utilización como nutriente por los productores primarios, está limitada a su disponibilidad en forma reactiva (orto-fosfato) (Heyman y Lundgren, 1988).

La relación estequiométrica entre el fosfato y el nitrógeno en la composición de la materia orgánica y, en particular, del fitoplancton, ha sido sujeto de numerosas investigaciones, que han dado por resultado que el valor de esta relación es muy variable, consecuencia de varios factores entre los que se pueden enumerar:

1. Factores genéticos: ya que en las mismas condiciones de cultivo (en laboratorio y en medio ambiente natural) diferentes especies de fitoplancton, poseen una composición distinta que se refleja en la razón N: P.
2. Factores fisiológicos: debido a que se ha encontrado que una misma especie de fitoplancton en diferentes condiciones ambientales (tanto en el campo como en el laboratorio) las diferencias en la composición del medio de cultivo y el régimen de iluminación producen diferentes valores de esta razón N: P (Morris, 1980).

La determinación de fosfatos es como la describen Strickland y Parsons (1972) por el método colorimétrico con molibdato de amonio.

## Objetivos

- Aprender la técnica colorimétrica para la determinación de fosfato en una muestra de agua.
- Calcular la concentración de fosfato en una muestra de agua.

## Materiales (ver ANEXO I. Preparación de material para laboratorio en la página 216).

Tubos de ensayo  
Gradilla para tubos de ensayo  
Pipetas de repetición de 5 mL  
Vasos de precipitados de 250 mL  
Espectrofotómetro

## Reactivos

Toma de la muestra filtrada (ver ANEXO II. Toma de la muestra en la página 216).

Cloruro de mercurio al 3% (ver ANEXO III. Solución de Cloruro de mercurio al 3% en la página 216).

Agua destilada

1. Solución Molibdato de amonio: disolver 15 g en agua destilada cbp 500 mL.
2. Solución Ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ): disolver 140 mL en 900 mL de agua destilada.
3. Solución de Ácido Ascórbico: (preparar solo la necesaria y agregarla en último lugar)  
Primero calcular la cantidad necesaria de mililitros de acuerdo a la tabla.  
 $\text{Áscorbico (g)} = \text{volumen a preparar (mL)} \times 0.054 \text{ (g)}$ .
4. Tartrato de Potasio y Antimonio: disolver 0.34 g en agua destilada cbp 250 mL.  
Cantidad de mezcla de reacción a preparar según el número de muestras (incluyendo la curva de calibración, los blancos y el duplicado de las muestras)

**Tabla 20**  
Preparación de la mezcla de reacción para fosfatos

Molibdato	100	80	60	50	40	20	10	6	2
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	250	200	150	125	100	50	25	15	5
Ascórbico	100	80	60	50	40	20	10	6	2
Tartrato	50	40	30	25	20	10	5	3	1
Total de muestras	500	400	300	250	200	100	50	30	10

## Desarrollo

Las muestras a analizar se proponen sean:

- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna

Por duplicado tomar 3 mL de muestra y colocarla en tubos de ensayo, hacer 6 blancos con 3 mL de agua destilada cada uno y preparar curva de calibración por duplicado (ver ANEXO V. Preparación de la curva de calibración en la página 217).

Preparar la mezcla de reacción y agregar 1 mL a todos y cada uno de los tubos de ensayo, dejar reaccionar 2 horas en la obscuridad (color estable por 2 horas) y leer en espectrofotómetro a 885 nm en absorbancia.

### *Cálculos*

Las concentraciones de las muestras se obtienen a partir de una recta de regresión calculada con los estándares de concentración conocida y sus observancias obtenidas (ver ANEXO VI. Cálculos estadísticos en la página 218).

## Cuestionario

- ¿Qué muestra presentó la mayor concentración de fosfatos?
- ¿Cómo se explica lo anterior?
- ¿El agua de la llave tiene fosfatos?

## **Bibliografía citada**

- Heyman, U. y Lundgren, A. (1988). Phytoplankton biomass and production in relation to phosphorus. Some conclusions from field studies. *Hydrobiologia*, 170(1), 211-227.
- Morris, I. (1980). *The Physiological ecology of phytoplankton. Studies in ecology*. Blackwell, 625 pp.
- Strickland, J. D. H. y Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Board Can. 167.
- Trudinger, P. A. y Swaine, D. J. (Eds.) (1979). *Biogeochemical cycling of mineral-forming elements*. Vol 3 Elsevier. 1º Ed. 611 pp.

## **Bibliografía recomendada**

- Kirkwood, D. S. (1992). Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Marine Chemistry*, 38(3), 151-164.

# Práctica XXXVI

## Material Suspendido: sólidos totales y materia orgánica en el particulado

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

Los sólidos totales (ST) y materia orgánica en el particulado (MOP) se determinan utilizando los filtros GFC (Strickland y Parsons, 1972) Para conocer el peso del filtro antes de usarlo (tara) se lleva a cabo el siguiente procedimiento: a los filtros se les seca a 80°C por un tiempo mínimo de 24 horas, en una estufa de temperatura controlada. Al sacarlos de ésta se colocan a enfriar en un desecador para que en el proceso de enfriamiento los filtros no adquieran humedad, incrementando de esta manera su peso. Una vez a temperatura ambiente se pesan en una balanza analítica.

Una vez en el laboratorio los filtros se pesan nuevamente, después de utilizarlos con el agua de la muestra. Al peso obtenido se resta el peso de la tara y al valor resultante dividido entre el volumen filtrado se le denomina sólidos totales (mg/l). El valor obtenido con esta técnica tiene un coeficiente de variación que se estima de un 4%.

Una vez realizado lo anterior a los filtros se les “quema” en la mufla por un tiempo de 4 horas a una temperatura de 400°C (Páez-Osuna y Mandelli, 1985). Se pesan y al valor obtenido, se resta el peso antes de quemarlos y el resultado, el peso perdido por ignición, es atribuido a que la materia orgánica de la muestra se transforma en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O que se pierden del filtro y dejan de contribuir a su peso. A este valor de pérdida por ignición dividido entre el volumen filtrado se le denomina materia orgánica particulada (MOP).

## Objetivos

- Aprender la técnica para la determinación de sólidos suspendidos.
- Calcular las pérdidas por ignición, sólidos suspendidos totales y cenizas.

## Materiales

Filtros de microfibra de vidrio de 1.2  $\mu\text{m}$  luz de malla (GFC)

Portafiltros

Palillos para dientes de madera

Papel aluminio

Cajas de petri

Pinzas

Jeringa de plástico desechable de 50 mL sin aguja

Guantes de asbesto

Balanza analítica

Desecador con sílica gel

Mufla

Estufa de temperatura controlada

## Desarrollo

### *Preparación de los filtros*

Para garantizar que los filtros estén secos antes de usarlos, en una cápsula de ignición colocar una cantidad suficiente de filtros y llevarlos a una estufa de secado con temperatura controlada a 80°C por un mínimo de 24 horas. Cumplido el tiempo, retirar la cápsula de ignición y colocarla dentro de un desecador, verificando que cierre herméticamente (para que en el proceso no adquieran humedad e incrementen de esta manera su peso) y dejar que se enfríen a temperatura ambiente durante 2 horas.

Una vez a temperatura ambiente, pesar los filtros en una balanza analítica, este será el “peso tara” de cada filtro. Guardar cada filtro por separado, en una caja de petri enumerada y registrar el peso en una bitácora.



En un vaso de precipitados poner al menos 4 palillos de dientes por cada filtro, y realizar el mismo procedimiento de secado que para los filtros. Almacenar tapando el vaso con papel aluminio.

Las muestras a analizar se proponen sean:

- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna.

Realizar el siguiente procedimiento para cada una de las muestras mencionadas anteriormente.

#### *Toma de la muestra*

Utilizando las pinzas (Fig. 83c) colocar un filtro (previamente pesado) en el portafiltros (Fig. 83b). Tomar el agua de la muestra con una jeringa de plástico (Fig. 83a) y pasarla a través del portafiltros tanto como éste lo permita y anotar en la bitácora el “volumen filtrado”. Para retirar el exceso de agua en el filtro, llenar la jeringa con aire dos veces y pasarlo a través del portafiltros.

Partir 2 palillos por mitad y colocarlos formando un cuadrado en el fondo de la caja de petri (esto evitará que se pegue el filtro al fondo de la caja), con las pinzas colocar el filtro sobre los palillos y colocar la tapa de la caja. De ser necesario, almacenar en refrigeración máximo 24 horas.

#### *Secado de la muestra*

Con la caja de petri cerrada y los palillos, colocar los filtros a secar a 80°C en estufa de secado con temperatura controlada, durante 4 días. Finalizado el tiempo, utilizando guantes de asbesto retirar las cajas de petri de la estufa, llevarlas al desecador, cerrarlo y dejar enfriar durante 2 horas. Una vez a temperatura ambiente, pesarlos en la balanza analítica, éste será el “peso filtrado”, anotarlo en la bitácora y desechar los palillos.

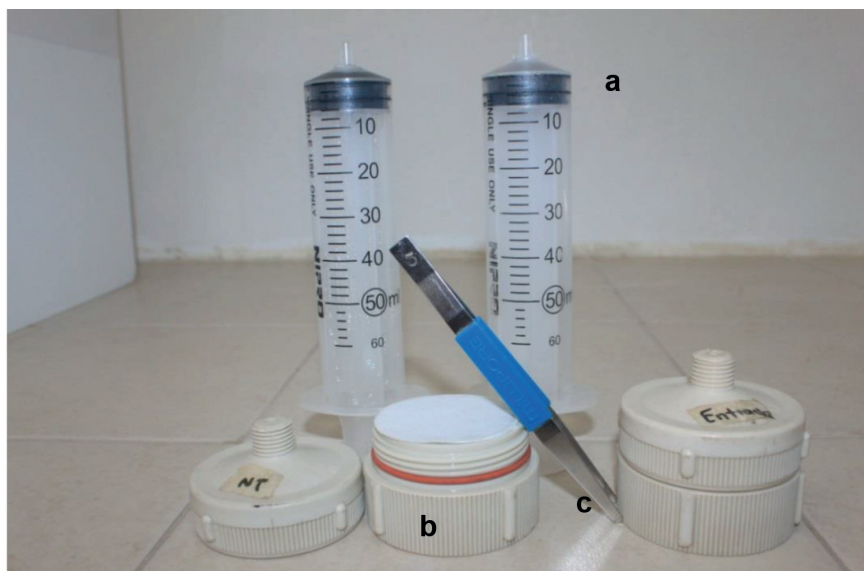
Una vez realizado lo anterior, los filtros se “quemán” colocando las cajas de petri sin tapa en la mufla a 400°C durante 4 horas (anotar el orden de los filtros dentro de la mufla, debido a que los números se borrarán), terminado el tiempo esperar 24 horas antes de abrir la mufla para evitar que el filtro se licúe por el cambio brusco de temperatura. Para garantizar que los filtros no adsorbieron humedad en la espera, colocarlos con la caja de petri tapada dentro de la estufa de secado con

temperatura controlada, a 80°C durante 24 horas. Al finalizar, colocar a enfriar en un desecador cerrado durante 2 horas. Una vez a temperatura ambiente, pesar los filtros en la balanza analítica para obtener el “peso quemado” y anotarlo en la bitácora.

### Cálculos

Con los datos obtenidos y registrados en la bitácora, realizar los siguientes cálculos:

1. Sólidos suspendidos totales (SST) = peso filtrado – tara.
2. Pérdidas por ignición (PI) = peso filtrado – peso quemado.  
Cenizas = peso quemado – tara.
3. Material suspendido:
4. SST/L = Sólidos suspendidos totales ÷ volumen filtrado.  
PI/L = Pérdidas por ignición ÷ volumen filtrado.  
Cenizas/L = Cenizas ÷ volumen filtrado.



**Fig. 84.** a) Jeringas de plástico, b) portafiltros (uno abierto con el filtro colocado y otro cerrado) y c) pinzas para filtro.

## **Cuestionario**

- Las muestras de agua de la llave y destilada ¿presentaron sólidos suspendidos?
- Las muestras de agua estancada de charco y cisterna ¿tenían la misma proporción de materia orgánica en los sólidos suspendidos?
- ¿Cómo explicarías estos resultados?

## **Bibliografía citada**

- Páez-Osuna, F. y Mandelli, E. F. (1985).  $^{210}\text{Pb}$  in a tropical coastal lagoon sediment core. *Estuarine, coastal and shelf science*, 20(3), 367-374.
- Strickland, J. D. H. y Parsons, T. R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Bull. Fish. Res. Board Can. 167.

## **Bibliografía recomendada**

- Cary, G. A., McMahon, J. A. y Kuc, W. J. (1987). The effect of suspended solids and naturally occurring dissolved organics in reducing the acute toxicities of cationic polyelectrolytes to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 6(6), 469-474.

# Práctica XXXVII

## Determinación de pigmentos fotosintéticos

*Saúl Rogelio Guerrero Galván  
Angélica Berenice Mejía Acosta*

### Introducción

El método descrito determina los tres tipos de clorofilas comúnmente encontradas en algas planctónicas, clorofilas *a*, *b* y *c*.

La determinación y cálculo de la concentración de clorofilas es como se describe en Rodier (1990) con la modificación sugerida por Holm-Hansen y Riemann, (1978) en cuanto a que se utiliza como solvente metanol, en lugar de acetona.

### Objetivo

Medir las concentraciones de pigmentos fotosintéticos en el agua.

### Materiales

Filtros de microfibra de vidrio de 1.2  $\mu\text{m}$  luz de malla (GFC)

Portafiltros

Jeringa de plástico desechable de 50 mL sin aguja

Perlas de vidrio de 2mm de diámetro

Frascos ámbar de 10 mL

Tubos de ensayo

Tubos cónicos de 15 mL para centrífuga

Gradilla para tubos de ensayo

Pipetas Pasteur de vidrio

Pinzas

Vortex  
Balanza analítica  
Centrífuga  
Metanol grado analítico

## **Desarrollo**

*Preparación de los filtros (ver práctica XXXV. Material suspendido: sólidos totales y materia orgánica en el particulado en la página 206).*

Las muestras a analizar se proponen sean:

- a) Agua de la llave
- b) Agua destilada
- c) Agua estancada de charco
- d) Agua estancada de un tinaco o cisterna.

Realizar el siguiente procedimiento para cada una de las muestras mencionadas anteriormente.

### *Toma de la muestra*

Utilizando las pinzas colocar un filtro en el portafiltros. Tomar el agua de la muestra con una jeringa de plástico y pasarla a través del portafiltros tanto como éste lo permita y anotar en la bitácora el “volumen filtrado”. Para retirar el exceso de agua en el filtro, llenar la jeringa con aire dos veces y pasarlo a través del portafiltros.

Tomar el filtro con las pinzas y almacenarlo en un frasco ámbar con 10 mL de metanol y mantenerlo en refrigeración máximo 8 días.

### *Destrucción del filtro*

Tomar con las pinzas 15 perlas y colocarlas en un tubo de ensayo agregando el filtro y el metanol, molerlo hasta homogenizar en el Vortex, pasar la mezcla a un tubo cónico.

Con la balanza analítica calibrar tubos con el mismo peso agregando metanol para lograrlo. Para que queden equilibrados en la centrífuga colocar los tubos de igual peso uno frente a otro. Programar la centrífuga a 3000 rpm a 4°C durante 5 minutos.

## Lectura de absorbancia

Tomar con la pipeta Pasteur el sobre nadante sin recuperar la pastilla del filtro y colocar en un tubo de ensayo. Leer en espectrofotómetro a: 480 nm, 510 nm, 630 nm, 645 nm, 663 nm, 665 nm, 750 nm en absorbancia. Se blanquea con metanol entre cada cambio de absorbancia.

## Cálculos

Las ecuaciones para calcular clorofilas *a*, *b* y *c* son conforme a UNESCO (1966):

Fórmula para calcular clorofila *a* =  $11.64 E_{663} - 2.16 E_{645} + 0.10 E_{630}$

Fórmula para calcular clorofila *b* =  $20.97 E_{645} - 3.94 E_{663} - 3.66 E_{630}$

Fórmula para calcular clorofila *c* =  $54.22 E_{630} - 14.81 E_{645} - 5.53 E_{663}$

La ecuación para calcular carotenoides sin tomar en cuenta la naturaleza del cultivo, es conforme a Creitz y Richards (1955).

Fórmula para calcular carotenoides vegetales =  $7.6 (E_{480} - 1.49 E_{510})$

## Cuestionario

- ¿Cuál de las muestras tuvo la mayor concentración de pigmentos?
- Explicar el dato de clorofilas del agua de la cisterna.
- Explicar el dato de clorofilas del agua del charco.

## Bibliografía citada

Creitz, G. I. y Richards, F. A. (1955). The estimation and characterization of plankton populations by pigment analysis. 3. A note on the use of millipore membrane filters in the estimation of plankton pigments. *Journal of Marine Research*, 14(3), 211-216.

Holm-Hansen, O. y Riemann, B. (1978). Chlorophyll a determination: improvements in methodology. *Oikos*, 30(3), 438-447.

Rodier, J. (1990). Análisis de las aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar; química, fisicoquímica, bacteriología, biología. Omega. 659 pp.

UNESCO. (1966). *Working group of photosynthetic pigments. Monographs on oceanographic methodology*, Publ. UNESCO. 66 pp.

## **Bibliografía recomendada**

Bricaud, A., Babin, M., Morel, A. y Claustre, H. (1995). Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: Analysis and parameterization. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C7), 13321-13332.

# Anexos

## **ANEXO I. Preparación de material para laboratorio**

### *Cristalería común y botellas de plástico para muestras*

Remojar en solución de extrán al 2% en agua de la llave de un día a otro. Lavar con escobillón o fibra esponja, enjuagar con agua de la llave por 4 ocasiones, enjuagar con agua destilada por 4 ocasiones y escurrir. Botellas DBO, solo enjuagar con agua de la llave.

## **ANEXO II. Toma de la muestra**

### *Muestra sin filtrar*

Enjuagar una botella de 135 mL con agua de la muestra, tomar la muestra sin burbujear, agregar 3 gotas de solución de Cloruro de mercurio (HgCl) al 3% y almacenar en refrigeración.

### *Muestra filtrada*

Jeringa de plástico de 50 mL, sin aguja.

Filtro de nitrocelulosa de 0.45  $\mu\text{m}$  de luz de malla (no importa esterilidad)

Portafiltros

Botella de 135 mL

Con unas pinzas colocar el filtro en el centro del portafiltros, si el filtro se toca con las manos o se rompe, reemplazarlo. Tomar el agua de la muestra con la jeringa, pasarla a través del portafiltros y colectarla en una botella de 135 mL. Agregar 3 gotas de solución de Cloruro de mercurio al 3% y almacenar la muestra en refrigeración.



### **ANEXO III. Solución de Cloruro de mercurio al 3%**

Pesar 3 gramos de Cloruro de mercurio II ( $\text{HgCl}_2$ ) disolver con agua destilada cuanto baste para (cpb) 100 mL en un vaso de precipitados. Colocarlo con una mosquita en la plancha de agitación hasta disolver. Almacenarlo en un matraz aforado y etiquetado en refrigeración. Y para uso en muestreos, almacenar en un gotero de 50 mL en refrigeración.

#### *Bibliografía recomendada*

Kirkwood, D. S. (1992). Stability of solutions of nutrient salts during storage. *Marine Chemistry*, 38(3),151-164.

### **ANEXO IV. Preparación de Estándar B (STD B) para Nitrito, Nitrato, Amonio y Fosfato**

Según el nutriente a medir tomar el estándar A correspondiente. Con la pipeta tomar 1 mL de estándar A y tirarlo, de esta manera se lava la puntilla de la pipeta con la solución. Tomar 1 mL de estándar A y diluir en un matraz aforado con agua destilada cuanto baste para (cpb) 100 mL. Preparar nuevo cada vez que se use.

*NOTA: Para medir amonio, el agua destilada es recién hervida.*

### **ANEXO V. Preparación de la curva de calibración para Nitrito, Nitrato y Fosfato**

El volumen de STD B y agua destilada dependen del nutriente a medir. Tirar la primera toma de estándar B para lavar la puntilla de la pipeta con la solución.

### *Ejemplo para medir Nitrito:*

Primera dilución: con la pipeta tomar 4 mL de STD B y agregar 4 mL de agua destilada. Agitar, tomar 4 mL de la mezcla y ponerla en el primer tubo de ensayo de la curva de calibración (Fig. 84).

Segunda dilución: a la mezcla anterior agregar 4 mL de agua destilada, agitar, tomar 4 mL y ponerla en el segundo tubo de ensayo de la curva de calibración. Se repiten los pasos hasta la dilución 12 y los 4 mL sobrantes se tiran. Para el duplicado se repiten los pasos desde la primera dilución.



**Fig. 85.** Curva de calibración de nitritos. Primer tubo de la izquierda es un blanco, y de derecha a izquierda diluciones de estándar B a  $\frac{1}{2}$  sucesivamente.

## **ANEXO VI. Cálculos estadísticos**

*Fórmula para calcular el coeficiente de correlación (r):*

$$r = \frac{S_{xy}}{S_x S_y}$$

$S_{xy}$  = Covarianza (x, y)

$S_x$  = desviación estándar de x

$S_y$  = desviación estándar de y

Fórmula para calcular la Covarianza:

$$S_{xy} = \frac{\sum_1^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n - 1}$$

Fórmula para la desviación estándar:

$$S_x = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Ecuación general de la recta:

$$y = mx + b$$

Fórmula para calcular la ordenada al origen o intercepto ( $b$ ):

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

Fórmula para calcular la pendiente ( $m$ ):

$$m = r \left( \frac{S_y}{S_x} \right)$$

Fórmula para calcular la T de Student de un coeficiente de correlación:

$$t = r \sqrt{\frac{n - 1}{1 - r^2}}$$

Para establecer la significancia de la  $t$  utilice la tabla correspondiente de un libro de estadística o bien con la función de distribución de  $t$  de student de Excel.

# Índice de tablas

Tabla 1.	Transformación del porcentaje de mortalidad a números Probit . . . . .	54
Tabla 2.	Estadios de inducción de la anestesia en langostinos del género <i>Macrobrachium</i> . . . . .	59
Tabla 3.	Estadios de recuperación de la anestesia en los organismos del género <i>Macrobrachium</i> . . . . .	59
Tabla 4.	Formato para registro de la historia clínica del organismo. . . . .	95
Tabla 5.	Características de los estadios gonadales . . . . .	108
Tabla 6.	Valores de oxígeno disuelto establecidos para peces. . . . .	133
Tabla 7.	Valores de oxígeno disuelto establecidos para camarón . . . . .	134
Tabla 8.	Registro de las mediciones de oxígeno y otros parámetros que mida el oxímetro disponible . . . . .	141
Tabla 9.	Registro de las mediciones de oxígeno y otros parámetros que mida el oxímetro disponible . . . . .	148
Tabla 10.	Datos de variación diurna de oxígeno . . . . .	159
Tabla 11.	Ejemplo de cálculo de tasa de cambio de oxígeno . . . . .	160
Tabla 12.	Cálculo de áreas por el método del trapecio . . . . .	160
Tabla 13.	Resumen del ejemplo de cálculo de producción y consumo de oxígeno . . . . .	164
Tabla 14.	Datos para el cálculo de intercambio agua-atmósfera . . . . .	164
Tabla 15.	Datos seleccionados para el cálculo de Kdif . . . . .	165
Tabla 16.	Cálculo de las diferentes Kdif . . . . .	165
Tabla 17.	Tasas de cambio de oxígeno corregidas por difusión con la atmósfera . . . . .	166
Tabla 18.	Resultados del ejemplo de producción y consumo de oxígeno. . . . .	166
Tabla 19.	Producción y consumo de oxígeno por unidad de área. . . . .	168
Tabla 20.	Preparación de la mezcla de reacción para fosfatos . . . . .	184

# Índice de figuras

<b>Fig. 1.</b>	Anatomía externa de <i>Oreochromis</i> sp.. . . . .	9
<b>Fig. 2.</b>	Anatomía externa de <i>Cherax quadricarinatus</i> . . . . .	9
<b>Fig. 3.</b>	Anatomía externa de camarón de río del género <i>Macrobrachium</i> . . . . .	10
<b>Fig. 4.</b>	Anatomía externa de un cangrejo macho Portunido del género <i>Callinectes</i> . . . . .	11
<b>Fig. 5.</b>	Piscinas o contenedores de 20 mil litros. . . . .	20
<b>Fig. 6.</b>	Tanques o contenedores de 4 mil litros. . . . .	21
<b>Fig. 7.</b>	Acuarios de 40 litros . . . . .	21
<b>Fig. 8.</b>	Unidades plásticas de 60 litros.. . . .	21
<b>Fig. 9.</b>	Bomba sumergible con flotador para labores de mantenimiento . . . . .	21
<b>Fig. 10.</b>	Bomba sumergible para uso con filtros biológicos. . . . .	21
<b>Fig. 11.</b>	Filtro de caja o cascada para acuarios y unidades plásticas. . . . .	22
<b>Fig. 12.</b>	Calentador con termostato. . . . .	22
<b>Fig. 13.</b>	Cubeta perforada, con coples para drenaje . . . . .	25
<b>Fig. 14.</b>	Interior de la cubeta. Tubo perforado para evitar taponamientos. . . . .	25
<b>Fig. 15.</b>	Materiales filtrantes (de izquierda a derecha): tubo corrugado, tezontle, gravilla, guata y estopa. . . . .	26
<b>Fig. 16.</b>	Biofiltro terminado y en funcionamiento (como contenedor se utilizó una caja plástica rectangular de 80 L). . . . .	26
<b>Fig. 17.</b>	Toma lateral <i>Oreochromis</i> sp. en ángulo de 90°. . . . .	30
<b>Fig. 18.</b>	Toma frontal de <i>Cardisoma crassum</i> tomada a 45°. . . . .	30
<b>Fig. 19.</b>	Toma dorsal de <i>Cardisoma crassum</i> tomada a 90°. . . . .	30
<b>Fig. 20.</b>	Toma lateral de <i>Macrobrachium tenellum</i> tomada a 90°. . . . .	31
<b>Fig. 21.</b>	Toma dorsal de <i>Macrobrachium tenellum</i> tomada a 90°. . . . .	31
<b>Fig. 22.</b>	Vista lateral de <i>Eleotris picta</i> tomada a 15°. . . . .	31
<b>Fig. 23.</b>	Vita lateral de <i>Cyprinus carpio</i> tomada a 10°. . . . .	31
<b>Fig. 24.</b>	Tipos de alimento comercial para peces y crustáceos. a) alimento para peces (flotante), b) alimento para crustáceos (sumergible), c) alimento en hojuelas (especies ornamentales) y d) alimento microparticulado (larvas). . . . .	34
<b>Fig. 25.</b>	Estanque en forma de "Y".. . . .	41
<b>Fig. 26.</b>	Quistes de <i>Artemia franciscana</i> en proceso de hidratación. . . . .	45
<b>Fig. 27.</b>	Eclosionador de quistes de <i>Artemia franciscana</i> . . . . .	45

<b>Fig. 28.</b>	<i>Artemia franciscana</i> adulta dentro del eclosionador. . . . .	45
<b>Fig. 29.</b>	Quistes de <i>Artemia franciscana</i> en proceso de eclosión . . . . .	53
<b>Fig. 30.</b>	Nauplio de <i>Artemia franciscana</i> . . . . .	53
<b>Fig. 31.</b>	Concentraciones a evaluar. . . . .	54
<b>Fig. 32.</b>	Ejemplo de la obtención de la CL50 en una gráfica de dosis–respuesta. . . . .	55
<b>Fig. 33.</b>	Captura de peces con atarraya. . . . .	63
<b>Fig. 34.</b>	Etapas de la anestesia en peces: a) hiperexcitabilidad, b) sedación y c) anestesia. . . . .	63
<b>Fig. 35.</b>	Peces que se han recuperado de la anestesia. . . . .	63
<b>Fig. 36.</b>	Modelo para ilustrar la relación de Matiz, Saturación y Brillantez (HSB), como un cono con vista lateral (a) y vista superior (b). . . . .	67
<b>Fig. 37.</b>	Selección de imagen a evaluar. . . . .	67
<b>Fig. 38.</b>	Imagen cargada en el programa. . . . .	68
<b>Fig. 39.</b>	Selección del área para analizar de la imagen. . . . .	68
<b>Fig. 40.</b>	Ejemplares de <i>Macrobrachium tenellum</i> mantenidos en fondo blanco (derecha) y fondo negro (izquierda). . . . .	72
<b>Fig. 41.</b>	Cromatóforos de <i>Macrobrachium tenellum</i> en diferentes estadios de desarrollo. . . . .	73
<b>Fig. 42.</b>	Índice de cromatóforos (Hogben y Slome, 1931). . . . .	77
<b>Fig. 43.</b>	Cromatóforos en la región cefálica de carpa koi. . . . .	77
<b>Fig. 44.</b>	Cría de carpa mantenida en color de fondo blanco . . . . .	77
<b>Fig. 45.</b>	Cría de carpa mantenida en color de fondo negro . . . . .	77
<b>Fig. 46.</b>	Índice de cromatóforos (Hogben y Slome, 1931). . . . .	81
<b>Fig. 47.</b>	Identificación de larva. . . . .	81
<b>Fig. 48.</b>	Jaula entomológica con recipientes con larvas de mosquitos y almohadillas húmedas. . . . .	82
<b>Fig. 49.</b>	Organismos acuáticos usados para los bioensayos de predación de larvas. a) juveniles de <i>Macrobrachium tenellum</i> , b) preadulto de <i>Macrobrachium tenellum</i> y c) juveniles de <i>Dormitator latifrons</i> . . . . .	82
<b>Fig. 50.</b>	Densidad de siembra de peces. . . . .	88
<b>Fig. 51.</b>	a) Muerte de un pez mediante punción cerebral y b) observación externa del organismo. . . . .	92
<b>Fig. 52.</b>	Disección del opérculo de un pez y los cuatro arcos branquiales. . . . .	93
<b>Fig. 53.</b>	Disección de un pez donde se observan los órganos expuestos. . . . .	93
<b>Fig. 54.</b>	Órganos del pez colocados individualmente en cajas de petri. . . . .	94
<b>Fig. 55.</b>	a) Disección bajo microscopio estereoscópico del aparato digestivo de un pez y b) observación de un tremátodo. . . . .	94
<b>Fig. 56.</b>	Extracción de sangre de un pez vía punción en vena caudal. . . . .	100

<b>Fig. 57.</b>	Método para determinar el hematocrito en peces. a) Tubo capilar heparinizado, b) centrífuga para microhematocrito y c) calibrador Vernier. . . . .	100
<b>Fig. 58.</b>	Procedimiento para realizar biopsia de piel en peces. a) observación de la anatomía externa, b) raspado de la superficie de la piel, c) colocación de la muestra sobre un portaobjetos y d) observación de la muestra al microscopio.. . . .	101
<b>Fig. 59.</b>	Biopsia de branquias en peces. a) corte de una porción de las branquias y b) colocación de la muestra sobre portaobjetos para su observación en el microscopio. . . . .	101
<b>Fig. 60.</b>	Extracción de la masa ovígera de <i>Macrobrachium tenellum</i> con unas pinzas de disección. . . . .	106
<b>Fig. 61.</b>	Huevos de <i>Macrobrachium tenellum</i> sumergidos en solución de hipoclorito de sodio al 0.05% (separación de la masa ovígera) . . . . .	106
<b>Fig. 62.</b>	Conteo de huevos de <i>Macrobrachium tenellum</i> con ayuda de un microscopio estereoscópico y contador manual . . .	106
<b>Fig. 63.</b>	Exposición de la zona cefalotorácica para extracción de la gónada y hepatopáncreas en <i>Macrobrachium tenellum</i> . . .	107
<b>Fig. 64.</b>	a) Extracción de gónada y b) hepatopáncreas en <i>Macrobrachium tenellum</i> .. . . .	107
<b>Fig. 65.</b>	Hembras de langostino <i>Macrobrachium tenellum</i> en diferentes estadios de madurez gonadal. a) Estadio III (vitelogénesis intermedia), b) estadio IV y c) estadio V (desovado).. . . . .	108
<b>Fig. 66.</b>	Biometrías para moluscos bivalvos.. . . . .	113
<b>Fig. 67.</b>	Anatomía del ostión de roca. . . . .	113
<b>Fig. 68.</b>	Diferencias genitales entre macho y hembra de tilapia. La hembra presenta tres orificios (ano, oviducto y uretra) mientras que el macho solo dos (ano y uretra). La uretra en ambos casos es casi imperceptible. El oviducto de la hembra presenta forma de media luna. En el macho el aparato genital externo se observa como una papila. Esquema tomado de FAO, 1976. . . . .	117
<b>Fig. 69.</b>	a) Genitales de tilapia hembra y b) genitales de tilapia macho.	117
<b>Fig. 70.</b>	Sistema de recirculación para eclosión de huevos de tilapia, con eclosionador tipo jarra McDonald. . . . .	117
<b>Fig. 71.</b>	Langosta australiana adulta: a) macho y b) hembra. . . . .	122
<b>Fig. 72.</b>	Hembra adulta de langosta australiana con embriones en abdomen. . . . .	122
<b>Fig. 73.</b>	Reproductores de carpa koi. Macho en color blanco, hembra en color naranja. . . . .	126

<b>Fig. 74.</b>	Crías de carpa koi. a) alimentándose con alimento particulado. . . . .	126
<b>Fig. 75.</b>	Pez cebra <i>Danio rerio</i> : a) macho y b) hembras . . . . .	130
<b>Fig. 76.</b>	Oxímetro YSI 85 para medir oxígeno, conductividad, salinidad y temperatura. . . . .	140
<b>Fig. 77.</b>	Medición de oxígeno disuelto con agitación para funcionamiento del sensor. . . . .	140
<b>Fig. 78.</b>	a) Muestra con el precipitado de oxihidróxido de manganeso; b) muestra después de la adición de ácido sulfúrico con la liberación de yodo y c) alícuota de la anterior . . . . .	146
<b>Fig.79.</b>	Titulador electrónico con muestra a la que, se añadió tiosulfato de sodio y adquirió un color amarillo paja. . . . .	146
<b>Fig. 80.</b>	a) Muestra después de la adición de almidón y b) muestra titulada.. . . .	147
<b>Fig. 81.</b>	Campana de extracción de gases para trabajo con materiales peligrosos. . . . .	147
<b>Fig. 82.</b>	Integración de las áreas de los triángulos de la tasa de cambio de oxígeno. . . . .	161
<b>Fig. 83.</b>	a) Bomba peristáltica, b) columna, c) solución de cloruro de amonio y d) muestra. . . . .	180
<b>Fig. 84.</b>	a) Jeringas de plástico, b) portafiltros (uno abierto con el filtro colocado y otro cerrado) y c) pinzas para filtro. . .	189
<b>Fig. 85.</b>	Curva de calibración de nitritos. Primer tubo de la izquierda es un blanco, y de derecha a izquierda diluciones de estándar B a ½ sucesivamente. . . . .	197



*Acuicultura Experimental y Calidad de Agua. Prácticas*  
se terminó de imprimir en diciembre de 2017  
en los talleres de Ediciones de la Noche  
Madero 687, Zona Centro  
Guadalajara, Jalisco.

El tiraje fue de 80 ejemplares

[www.edicionesdelanoche.com](http://www.edicionesdelanoche.com)

**A** *cuicultura experimental y calidad de agua. Prácticas* está dirigido a los alumnos de las asignaturas del mismo nombre de la licenciatura en Biología del Centro Universitario de la Costa de la Universidad de Guadalajara, aunque puede ser tomado como fuente de consulta por otras instituciones cuyos planes de estudio abarquen las temáticas integradas en el mismo.

A través de treinta y siete prácticas se busca que el alumno pueda adquirir competencias en diversas áreas como: mantenimiento, cultivo, manejo, reproducción, diagnóstico patológico, nutrición y alimentación de organismos acuáticos en confinamiento y en el análisis de la calidad de agua como soporte para la vida acuática. Se hace especial énfasis en el uso de material y equipo de laboratorio y las normas de seguridad. El desarrollo de las prácticas permite la puesta a punto de habilidades, la inmediata evaluación de los conocimientos teóricos y técnicos y su cuestionamiento con base en los resultados obtenidos.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA



ISBN 978-607-742-975-3



9 786077 429753